

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kawasan Malesia merupakan wilayah yang memiliki keanekaragaman tumbuhan tropis yang cukup besar. Kawasan Malesia terbentang dari beberapa negara Asia Tenggara, Papua Nugini dan sebagian Kepulauan Pasifik. Persebaran tersebut terbagi menjadi tiga subregion, yaitu Malesia Barat, Malesia Timur dan Malesia Selatan. Ciri khas dari kawasan Malesia adalah hutan tropis dengan keanekaragaman hayati tinggi dari berbagai jenis yang dapat bernilai ekonomis. Secara fitogeografi pun Indonesia termasuk ke dalam kawasan Malesia (Abidin & Pradhana, 2020)

Indonesia merupakan negara tropika yang terletak antara 6° lintang utara (LU) dengan 11° lintang selatan (LS) dan antara 94° dengan 141° bujur timur (BJ) dan berada di antara benua Asia dengan benua Australia serta Samudera Pasifik dan Samudra Hindia (Wirjohamidjojo & Swarinoto, 2010). Kondisi geografis tersebut menjadikan Indonesia memiliki banyak pulau. Data kepulauan yang telah dilaporkan oleh Setiawan (2022) bahwa Indonesia memiliki pulau kurang lebih sebanyak 17.504. Hal tersebut menjadikan Indonesia menyandang julukan lain yaitu sebagai negara mega-biodiversitas dengan keadaan pulau yang banyak sehingga menjadikan Indonesia kaya akan keanekaragaman jenis flora dan fauna di setiap wilayahnya (Indrawan *et al.*, 2012). Pada tahun 2017 Indonesia memiliki catatan data tumbuhan kurang lebih 31.750 jenis (Retnowati *et al.*, 2019) dengan 25.000 jenis di antaranya adalah tumbuhan berbunga serta sebanyak 55% di antaranya merupakan tumbuhan endemik asli Indonesia (Kusmana & Hikmat, 2015).

Tumbuhan endemik merupakan tumbuhan yang ditemukan berada pada wilayah tertentu dan menjadi eksklusif. Hal tersebut disebabkan karena tumbuhan jenis endemik akan secara alami memiliki kemampuan adaptasi dengan kondisi wilayah geografisnya (Foggi *et al.*, 2015). Adaptasi dengan lingkungan tersebut dapat menyebabkan terjadinya mutasi. Mutasi merupakan sebuah perubahan dalam bentuk genetik yang menimbulkan adanya keanekaragaman genetik (Sofro, 1994).

Keanekaragaman genetik jenis endemik diperkirakan tinggi karena tumbuhan jenis endemik telah beradaptasi dengan lingkungan wilayahnya sehingga terjadi adanya perubahan genetik yang berbeda dengan tumbuhan lainnya yang cenderung unik dan khas.

Salah satu tumbuhan endemik yang berada di Indonesia dan kawasan Malesia adalah tumbuhan sirih dari keluarga Piperaceae. Piperaceae merupakan suku dari ordo Piperales yang memiliki ciri aroma daun aromatik (Wanda & Agustin, 2019). Menurut catatan yang dimiliki oleh Jaramillo & Manos (2001) dalam Asmarayani (2018) pada sebuah analisis filogenetik mengkonfirmasi bahwa genus *Piper* terbagi ke dalam dua wilayah biogeografi yang ada di dunia yaitu Neotropika kurang lebih sebanyak 1300 spp. dan Paleotropika sebanyak 700 spp. dengan rincian Asia sebanyak 600 spp. dan Pasifik Selatan sebanyak 100 spp. Umumnya habitat alami suku Piperaceae merupakan tempat yang lembap dan kaya akan humus (Munawaroh, 2018). Sebaran wilayah akan memperlihatkan perbedaan karakter morfologinya, yaitu pada jenis yang ada di Neotropika cenderung semak dengan bunga yang biseksual, sedangkan Paleotropika Pasifik Selatan semak dengan perbungaan dioseus, dan Asia tumbuh dengan akar pemajat dan dioseus (Asmarayani, 2018). Oleh sebab itu, keluarga Piperaceae banyak tersebar luas di kawasan tropis dan subtropis termasuk di wilayah Indonesia dan sekitarnya (Tjitrosoepomo, 1994). Keanekaragaman Piperaceae yang melimpah itu sendiri memiliki banyak kandungan manfaat. Sebagian masyarakat umumnya menggunakan tumbuhan sirih sebagai obat. Di antara jenis-jenis yang digunakan sebagai obat adalah jenis-jenis endemik seperti *P. porphyrophyllum* N.E.Br. dan *P. decumanum* L. yang aktif digunakan sebagai obat antiinflamasi (Yudi & Nugroho, 2016), antibakteri (Salleh *et al.*, 2012) dan antitoksin (Dapar *et al.*, 2020).

Data dari keanekaragaman genetik dapat menjadi sumber informasi yang penting untuk suatu individu agar dapat digunakan dalam menggambarkan daya adaptasi, kekerabatan antar individu, seleksi genotipe, dan manajemen plasma nutfah (Meng *et al.*, 2012). Studi variasi genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya keanekaragaman genetik dalam suatu populasi dan sebagai landasan untuk pemuliaan serta upaya konservasi. Keanekaragaman genetik ini dapat terjadi pada tingkat susunan ekosistem dengan komponen jenis, populasi, genotipe individu

Vini Ayuni, 2023

KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

hingga tingkat molekuler yang dapat mempengaruhi penampakan fenotipe ataupun fisiologi (Abidin & Pradhana, 2020). Pengetahuan yang semakin luas mendorong dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai studi keanekaragaman genetik dengan berbagai metode dan pendekatan perlakuan yang berbeda. Pada mulanya pendekatan analisis keanekaragaman genetik yang banyak dilakukan adalah menggunakan pendekatan karakter morfologi seperti yang dilakukan oleh Franckowiak (1997), yaitu menggunakan marka morfologi sebagai langkah awal untuk identifikasi karena pengamatan mudah dilakukan. Namun, pendekatan dengan karakter morfologi memiliki keterbatasan dalam waktu dan kemampuan panca indra pada kondisi lingkungan yang fluktuatif (Fu *et al.*, 2008). Pendekatan analisis lainnya adalah menggunakan marka isoenzim (Aicher, 1990) dan marka DNA (Weising *et al.*, 1994) yang hingga sampai saat ini terus berkembang untuk keperluan analisis pendekatan yang lebih komprehensif dalam studi keanekaragaman genetik.

Marka DNA atau yang biasa disebut dengan penanda molekuler DNA, umum digunakan untuk menandai posisi dari gen atau sifat karakteristik khusus (Priyono & Putranto, 2014). Pendekatan menggunakan penanda molekuler dapat menganalisis genom secara akurat dan meminimalisir kesalahan karena faktor lingkungan. Penanda molekuler DNA menggunakan PCR merupakan metode dalam perbanyakan fragmen DNA menggunakan enzim *polymerase* pada temperatur yang tinggi secara berulang dengan mesin PCR secara *in vitro* (Puspitaningrum *et al.*, 2018). Alasan digunakannya PCR karena dapat menampilkan hasil dalam waktu yang singkat dan memiliki sensitivitas yang tinggi (Popping *et al.*, 2010). Jenis penanda DNA yang banyak digunakan adalah AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), SSRs (*Simple Sequence Repeats-SSRs*), RAPD (*Random Amplified Polymorphisms DNA*), dan ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*). Laporan Arif *et al.*, (2011) yang melakukan beberapa analisis dari metode tersebut menyatakan bahwa urutan penanda DNA molekuler berdasarkan tingkat kekuatan analisis adalah dimulai dari SSR, AFLP, dan RAPD. Adapun penanda molekuler *Sequence-related amplified polymorphism* (SRAP) dilaporkan oleh Zeng, (2012) merupakan penanda genetik terbaru yang memiliki keakuratan hasil tinggi. SRAP

Vini Ayuni, 2023

KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

mulai banyak digunakan karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu marka molekulernya sederhana dan efisien untuk pembuatan peta gen, analisis sidik jari, *gene tagging*, dan cDNA yang menargetkan ORF sehingga memudahkan isolasi untuk sekuensing (Zhao *et al.*, 2009).

SRAP merupakan penanda yang mengamplifikasi daerah *Open Reading Frames* (ORF) pada DNA. Penelitian yang sebelumnya telah dilakukan oleh Li dan Quiros tahun 2001 pada *Brassica oleracea* L. menunjukkan bahwa 20% penanda SRAP mampu memperlihatkan keterkaitan pemetaan gen (Li & Quiros, 2001). Pada penelitian lainnya yang dilakukan oleh Wei *et al.*, tahun 2011 menggunakan AFLP dan SRAP untuk menguji hubungan antara aksesori budidaya *E. rutaecarpa* var. *rutaecarpa* dan *E. rutaecarpa* var. *officinalis*, dan untuk membandingkan utilitas dari dua sistem penanda. Lokus SRAP menghasilkan fragmen yang dapat dinilai lebih sedikit daripada AFLP (188 vs. 353), tetapi menghasilkan tingkat polimorfisme yang lebih tinggi (77,1% vs. 64,6%) dan lebih banyak pita spesifik varietas. Perhitungan keragaman genetik Nei dan indeks informasi Shannon menunjukkan bahwa SRAP mengungkapkan tingkat variasi yang lebih tinggi di dalam dan di antara taksa ini daripada AFLP. Pemeriksaan jarak genetik pada populasi (aksesi yang dikelompokkan berdasarkan provinsi) menunjukkan tingkat divergensi populasi yang lebih tinggi dari pola pita SRAP daripada AFLP di kedua var. *rutaecarpa* (0,1002 vs. 0,0498) dan var. *officinalis* (0,2086 vs. 0,1231). Demikian pula, analisis metode UPGMA dari kedua aksesori individu dan kelompok yang dikelompokkan berdasarkan asal provinsi menghasilkan topologi yang hampir identik untuk kedua penanda, tetapi pohon berbasis SRAP memiliki korespondensi yang sedikit lebih tinggi dengan ukuran jarak ($r_{SRAP} = 0,98$, $r_{AFLP} = 0,94$). Sehingga Wei *et al.*, mengusulkan SRAP adalah metode yang lebih disukai, karena jarak genetik dan polimorfisme yang lebih tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh Nabilla *et al.*, (2021), mendukung penggunaan SRAP dalam menganalisis keanekaragaman genetik pada *P. betle* L.. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi primer yang terpilih menghasilkan pola amplifikasi yang jelas dan polimorfik, dengan koefisien kesamaan (0.62), nilai Nei (0.0985) dan indeks shannon (0.01459). Dengan demikian, keanekaragaman genetik pada *P. betle* menggunakan SRAP termasuk kedalam kategori rendah. Pada penelitian yang

Vini Ayuni, 2023

KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

dilakukan Shaye *et al.*, (2018) juga, menyatakan bahwa SRAP cocok digunakan dalam identifikasi keanekaragaman genetik suatu tumbuhan

Walaupun demikian, sejauh ini belum terdapat data dan penelitian mengenai persebaran dan keanekaragaman genetik *Piper* spp. endemik yang ada di Indonesia dengan penanda SRAP. Maka dari itu, penelitian ini bermaksud untuk mengetahui keanekaragaman genetik serta kekerabatan dari Piperaceae endemik yaitu *P. porphyrophyllum* (Malesia Barat), *P. decumanum* (Malesia Timur), *P. celebicum* Blume (Malesia Tengah), dan *P. cyrtostachys* Ridl. (Malesia Barat) dengan menggunakan analisis SRAP.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan sebelumnya, rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana keanekaragaman genetik dan kekerabatan *Piper* spp. endemik di kawasan Malesia dengan menggunakan analisis SRAP?

1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan, maka pertanyaan penelitian yang diajukan adalah sebagai berikut:

- 1) Bagaimana keanekaragaman genetik *Piper* spp. endemik Malesia menggunakan analisis SRAP?
- 2) Bagaimana hubungan kekerabatan *Piper* spp. endemik Malesia menggunakan analisis SRAP?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini berdasarkan pertanyaan penelitian yang telah diajukan di atas adalah sebagai berikut:

- 1) Mendapatkan informasi keanekaragaman genetik *Piper* spp. endemik di berbagai daerah di kawasan Malesia dengan menggunakan analisis SRAP
- 2) Mendapatkan informasi hubungan kekerabatan *Piper* spp. endemik di berbagai daerah di kawasan Malesia dengan menggunakan analisis SRAP

1.5 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah penelitian, agar penelitian ini terfokus pada hasil yang diharapkan, adalah sebagai berikut:

- 1) Jumlah sampel jenis *Piper* spp. yang digunakan berjumlah 25 aksesi hasil koleksi peneliti Badan Riset dan Inovasi Nasional yaitu Rani Asmarayani dan Deby Arifiani. Sampel tersebut terdiri dari delapan *P. porphyrophyllum*, enam *P. decumanum*, enam *P. celebicum*, dan lima *P. cyrtostachys* yang berada di kawasan Malesia.
- 2) Keanekaragaman gen dan kekerabatan yang diamati hanya pada empat jenis endemik yaitu *P. porphyrophyllum*, *P. decumanum*, *P. celebicum*, dan *P. cyrtostachys* yang merupakan tumbuhan endemik di berbagai daerah di kawasan Malesia.
- 3) Identifikasi keanekaragaman genetik menggunakan marka SRAP.
- 4) Amplifikasi DNA menggunakan sepuluh pasang primer berdasarkan hasil seleksi pasangan primer yang telah dilakukan, yaitu: Me4-Em2, Me4-Em5, Me5-Em2, Me5-Em5, Me4-Em4, Me5-Em4, Me4-Em1, Me5-Em1, Me4-Em3, Me2-Em1.
- 5) Analisis pengelompokkan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages* (UPGMA).

1.6 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

- 1) Menambah sumber informasi data hubungan kekerabatan dan keanekaragaman genetik *Piper* spp. endemik.
- 2) Menambah sumber informasi ilmu bidang biologi mengenai biosistemika molekuler mengenai tumbuhan *Piper* spp. endemik.
- 3) Sebagai sumber pengetahuan untuk mendukung penelitian selanjutnya menggunakan analisis penanda molekuler marka SRAP.

1.7 Struktur Organisasi Skripsi

Isi utama dalam penyusunan skripsi ini mengikuti aturan penulisan dari Pedoman Penulisan Karya Tulis Ilmiah UPI Tahun 2019 yang terdiri dari lima bab utama. Dimulai dari pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan temuan, serta diakhiri dengan saran, implikasi dan rekomendasi. Adapun struktur organisasi dari penulisan skripsi ini adalah sebagai berikut:

1) BAB I Pendahuluan

Pada bagian pendahuluan tersusun atas latar belakang, rumusan masalah, batasan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan dilakukannya penelitian, hipotesis dan pemaparan manfaat dari penelitian yang dihasilkan. Latar belakang penelitian ini membahas mengenai keragaman hayati di Indonesia yang melimpah yang dipengaruhi oleh faktor geografis antar wilayah. Faktor geografis Indonesia membentuk tumbuhan endemik antar wilayahnya. Tumbuhan endemik merupakan tumbuhan eksklusif. Salah satu tumbuhan endemik yang ada di Indonesia dan masih sedikit data yang disajikan adalah tumbuhan Piperaceae. Tumbuhan Piperaceae atau yang dikenal dengan tumbuhan lada pada sebagian varietas lain banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat. Tumbuhan Piperaceae ini bervariasi dan memiliki ragam jenis. Ragam jenis yang dihasilkan disebabkan karena adanya keanekaragaman genetik pada setiap individunya. Identifikasi keanekaragaman genetik dapat dilakukan dengan berbasis metode PCR menggunakan penanda genetik. Penanda genetik yang digunakan pada penelitian ini adalah penanda genetik SRAP yang mampu merepresentasikan kelompok jenis tumbuhan, lebih stabil dan terbaharukan. Penggunaan penanda SRAP pada penelitian ini ditujukan sebagai keperluan data untuk mengetahui keanekaragaman genetik dan kekerabatan jenis endemik Piperaceae yaitu *P. porphyrophyllum*, *P. decumanum*, *P. celebicum*, dan *P. cyrtostachys* dengan menggunakan metode terbaru yaitu penanda genetik SRAP.

2) BAB II Tinjauan Pustaka

Pada bagian tinjauan pustaka berisikan hasil dari kajian literatur yang memuat sumber sumber penelitian terdahulu yang relevan dengan penelitian yang dilakukan. Hal tersebut disajikan dalam skripsi ini untuk mendukung penelitian ini agar lebih terarah dan terstruktur. Tinjauan pustaka pada penelitian ini meliputi konsep keanekaragaman genetik yang berkaitan dengan hubungan kekerabatan yang tergambarkan dalam pohon filogenetika untuk memaparkan asal-usul terjadinya hubungan kekerabatan antarspesies *Piper* spp. kawasan Malesia. Adapun tinjauan pustaka lainnya

mengenai botani *P. porphyrophyllum*, *P. decumanum*, *P. celebicum*, *P. cyrtostachys*. yang digunakan dalam penelitian, konsep SRAP berdasarkan penelitian terdahulu, dan adanya gambaran umum dari konsep endemisitas dan geografi kawasan Malesia yang merupakan kawasan besar yang meliputi wilayah Indonesia.

3) BAB III Metode Penelitian

Pada bagian metode penelitian ini berisikan tentang pemaparan jenis penelitian, prosedur penelitian, serta pada tahap analisis data yang dilakukan pada penelitian ini. Metode penelitian memuat jenis penelitian, sampel penelitian, waktu dan lokasi penelitian, pemaparan alat dan bahan penelitian, prosedur penelitian, serta analisis data penelitian secara *in silico*. Prosedur penelitian diawali dengan penggunaan sampel daun sebanyak 20 sampel dengan nomor koleksi yang telah tersedia. Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi DNA, uji kualitatif DNA genom, amplifikasi DNA, uji kuantifikasi DNA, hingga dilanjutkan pada tahap analisis data secara *in silico* menggunakan UPGMA.

4) BAB IV Temuan dan Pembahasan

Pada bagian hasil dan temuan memaparkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan dan diinterpretasikan dalam bentuk tulisan yang dapat dikaitkan dengan temuan atau penelitian sebelumnya yang relevan dengan penelitian yang dilakukan. selanjutnya disusun pembahasan untuk menginterpretasikan hasil tersebut. Temuan dari penelitian ini memperoleh nilai keragaman genetik pada setiap jenis *Piper* endemik, Memberikan gambaran terkait hubungan kekerabatan *Piper* Endemik .yang berkaitan dengan kandungan keragaman genetiknya.

5) BAB V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Pada ini menjelaskan secara keseluruhan simpulan dan implikasi penelitian berdasarkan hasil dan temuan yang telah didapatkan serta memaparkan rekomendasi untuk penelitian selanjutnya. Harapannya dengan adanya simpulan, implikasi dan saran dalam penelitian ini dapat menjadi referensi tambahan untuk penelitian selanjutnya.