

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Edelweiss Jawa

Edelweiss Jawa (*Anaphalis javanica*) merupakan tumbuhan berbunga dari suku Asteraceae yang biasanya tumbuh di daerah pegunungan (Aliadi dkk., 1990). Spesies ini disebut edelweis seperti edelweis alpen (*Leontopodium alpinum*) karena bunganya juga tahan lama dan tidak mudah rusak. Edelweis Jawa memiliki bunga majemuk yang berjumlah banyak dengan susunan yang rapat (Hidayat dkk., 2016). Mahkota bunga berwarna putih kecoklatan. Bunga berukuran 4-6 mm dan terletak dalam karangan bunga berupa bulir bercabang-cabang. Penyerbukannya dibantu oleh angin dan serangga (Yuzammi dkk., 2010; van Steenis, 2010).

Edelweis Jawa merupakan tumbuhan berbentuk perdu yang memiliki rambut putih, bercabang lebar dan dapat tumbuh tinggi hingga 4 m. Batang dan dahan bagian bawah gundul, ranting berdaun putih kelabu, merunduk, pada ujung atas terdapat daun-daun sempit yang mengumpul dan bonggol-bonggol bunga putih yang melimpah. Daun tumbuh lebat di dahan dan ujung batang, berbentuk lanset, berwarna kelabu kehijauan, ujung lancip, tepi rata, berukuran 6 x 0,6 cm dan yang kecil 2 x 0,15 cm, lembaran daun halus mirip beludru dan terletak mengelilingi batang (van Steenis, 2010).

Edelweis ini tersebar dari Gunung Gede ke arah timur hingga Gunung Tengger pada ketinggian 2.000 – 3.600 m. Tersebar juga di Sumatra bagian tengah (G. Kerinci, G. Singgalang), dan selatan (G. Dempo), Sulawesi (G.

Bonthain di barat daya dan G. Lokon di timur laut), Bali dan Lombok. Bunga Edelweiss menjadi sumber makanan bagi serangga bangsa Hemiptera, Thysanoptera, Lepidoptera, Diptera dan Hymenoptera. Tidak hanya bunganya, kulit batang Edelweis menjadi tempat hidup lumut dan lichen seperti *Cladonia calycantha*, serta ranting Edelweis dijadikan sarang oleh burung Murai (*Turdus* sp.) (van Leuween, 1933 dalam Aliadi dkk., 1990).



Gambar 1. Tumbuhan Edelweiss Jawa (*Anaphalis javanica*) (Yuzammi dkk., 2010)

*Anaphalis* lain pada umumnya disebut capo dan memiliki ciri-ciri khas yang berbeda. Capo daun panjang (*Anaphalis longifolia*) dapat dibedakan dari *Anaphalis* lain terlihat dari daunnya yang panjang berukuran 16 x 1,8 cm dan yang kecil 3 x 0,2 cm. Capo besar (*Anaphalis maxima*) daunnya berukuran paling besar berbentuk lonjong atau lanset dengan ukuran 14 x 2,5 cm dan yang kecil 6 x 2 cm. Capo lengket (*Anaphalis viscida*) memiliki kelenjar rambut yang terasa lengket ditangan (Yuzzami dkk., 2010).

## B. Keanekaragaman Genetik

Keanekaragaman genetik menyatakan jumlah total karakter genetik yang berkontribusi terhadap variasi dalam suatu spesies (Caliskan, 2012). Keanekaragaman genetik menandakan adanya perbedaan antar individu yang mempengaruhi karakter fenotip. Keanekaragaman genetik menurut Amos dan Harwood (1998) dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ukuran populasi dan *inbreeding depression*. Ukuran populasi yang terbatas menurut Frankham dkk. (2002) dapat menyebabkan terjadinya hanyutan genetik yang dapat mengakibatkan adanya sifat yang hilang yang diwariskan dari pendahulunya. Populasi yang kecil dan populasi yang terisolasi juga mengakibatkan terjadinya perkawinan antar garis keturunan yang sama (*inbreeding depression*) sehingga tidak muncul sifat atau variasi genetik yang baru. Hal tersebut juga berperan pada terjadinya seleksi alam.

Keanekaragaman genetik secara umum didapatkan melalui mutasi atau aliran gen dari populasi lain, sedangkan rendahnya keanekaragaman terjadi melalui *genetic drift* secara pasif atau secara aktif melalui seleksi alam (Amos dan Harwood, 1998). Besarnya populasi, cara reproduksi dan seleksi dapat mempengaruhi struktur genetika dalam suatu populasi (Finkeldey, 2007). Keanekaragaman genetik diperlukan bagi suatu populasi untuk dapat beradaptasi terhadap perubahan lingkungan. Keanekaragaman genetik dapat dideskripsikan menggunakan polimorfisme, rata-rata heterozigositas, dan keragaman alel (Frankham dkk., 2002).

Informasi mengenai keragaman genetik dan juga struktur populasi dapat membantu pemuliaan tumbuhan dalam hal pemilihan induk untuk penyilangan, sehingga dapat menghasilkan perluasan *gene pool* yang rasional, dan identifikasi materi yang menyembunyikan nilai gen untuk peningkatan tumbuhan. Dengan adanya informasi genetik dapat diketahui sktruktur genetik populasi asli, dan dapat dirancang strategi konservasi, serta pengelolaan yang berkelanjutan (Caliskan, 2012).

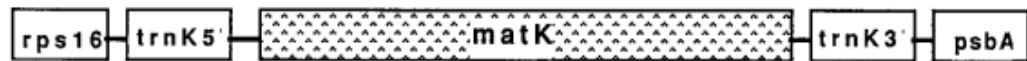
### C. Analisis Genetik Molekuler

#### 1. Marka Molekuler

Informasi genetik yang terdapat dalam tumbuhan terdistribusi dalam tiga genom yaitu nukleus, mitokondria, dan kloroplas. DNA kloroplas (cpDNA) pada tanaman merupakan yang terkecil dibandingkan dengan genom mitokondria dan genom inti. Gen cpDNA yang biasa digunakan yaitu *rbcL*, *ndhF*, *rpl16*, *matK*, *atpB* dan banyak gen lainnya (Patwardhan dkk., 2014).

Gen *matK* merupakan salah satu gen yang dapat digunakan untuk *barcoding* dan analisis filogeni serta genetika populasi tumbuhan. *matK* merupakan salah satu *coding section* dari genom plastid yang paling cepat mengalami perubahan dan secara konsisten menunjukkan perbedaan yang tinggi antara spesies Angiosperma, dan memenuhi kriteria yang sama dengan gen *COI* (*cytochrome oxidase I*) yang merupakan standar *barcoding* pada hewan sehingga direkomendasikan sebagai lokus untuk DNA *barcoding* tanaman oleh *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL)

(Hollingsworth dkk., 2009 ; Hollingsworth dkk., 2011). *matK* memiliki panjang hingga 1500 bp pada sebagian besar Angiosperma (Hilu dkk., 2003), terletak di antara 5' dan 3' exon *trnK*, tRNA-lysine (Gambar 2) (Kar dkk., 2015).



Gambar 2. Lokasi gen *matK*

Tingginya laju substitusi nukleotida dan asam amino pada *matK* menghasilkan sinyal filogenetik yang tinggi untuk pemecahan masalah hubungan kekerabatan pada tanaman pada semua tingkat taksonomi (Hilu dkk., 2003).

## 2. Analisis Molekuler Berbasis PCR

Sampel DNA yang akan diamplifikasi harus terlebih dahulu diisolasi dan dilakukan purifikasi (pemurnian) untuk mengurangi senyawa kontaminan yang terkandung didalamnya. Daun muda pada umumnya digunakan sebagai materi genetik sumber DNA karena pada daun muda mengandung lebih sedikit komponen fenolik dibandingkan daun yang tua. Sebelum DNA sampel daun tersebut diisolasi, perlu dilakukan penyimpanan sampel. Salah satu cara penyimpanan yang sederhana yaitu dengan menyimpan di dalam plastik zip atau amplop bersama dengan desikan (gel silika) untuk mencegah terjadinya rehidrasi yang dapat menyebabkan degradasi DNA (Weising dkk., 2005)

Menurut (Weising dkk., 2005) tahap isolasi DNA dimulai dari penghancuran sel dan jaringan yang pada umumnya sampel tanaman

dibekukan dalam nitrogen cair dan digerus untuk mendapatkan materi dalam bentuk serbuk. Pada tahap lisis diperlukan buffer lisis yang terdiri dari beberapa kombinasi komponen seperti berikut ini :

1. Detergen

Detergen diperlukan untuk menghancurkan membran dan denaturasi protein dari DNA. Bahan detergen yang paling sering digunakan yaitu CTAB yang bersifat kationik dan SDS serta sarkosil yang bersifat anionik.

2. Buffer

Buffer (berfungsi sebagai penyangga pH untuk mencegah aktivitas enzim pendegradasi yang biasanya terjadi antara pH 8 dan 9 pada tanaman. Buffer standar yang digunakan yaitu Tris-HCl.

3. Garam konsentrasi tinggi (>1 M NaCl)

Berfungsi untuk pemisahan protein (terutama histon) dari DNA, menjaga polisakarida dalam larutan selama presipitasi dengan etanol, dan dapat mengeluarkan (*salt out*) inhibitor PCR.

4. *Reducing agent*

Berfungsi untuk menghambat proses oksidasi yang secara langsung ataupun tidak langsung dapat merusak DNA. Bahan yang biasa digunakan yaitu  $\beta$ -mercaptoethanol, dithiothreitol atau asam askorbat.

5. Agen pengkhelat

Agen pengkhelat seperti *ethylenediaminetetracetic acid* (EDTA), *ethyleneglycoltetracetic acid* (EGTA), *o-phenanthroline*, atau

Chelex berfungsi untuk menangkap ion metal bivalent yang menstimulasi *metal-dependent* DNase dilepaskan dari sel.

Beberapa bahan lain yang biasa digunakan yaitu campuran phenol-chloroform atau chloroform-isoamyl bersamaan dengan dilakukan untuk memisahkan fase, dimana asam nukelat berada di cairan dan protein yang didenaturasi berada di interfase. Untuk menghilangkan senyawa polifenol atau sekunder lainnya digunakan bovin serum albumin (BSA) dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) sebagai adsorben polifenol (Weising dkk., 2005).

#### **D. PCR**

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu metode untuk memperbanyak (amplifikasi) potongan atau bagian DNA agar dapat terdeteksi (Viljoen dkk., 2005). Proses PCR memerlukan rangkaian berulang yang terdiri dari tiga tahapan utama yang dinyatakan sebagai siklus PCR (Chen dan Janes, 2002). Ketiga tahapan utama dalam siklus PCR terdiri dari :

a. Denaturasi

Ketika DNA untai ganda dipanaskan sampai pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$ , DNA tersebut akan terpisah (terdenaturasi) menjadi DNA untai tunggal yang memungkinkan primer untuk membuat cetakan DNA baru.

b. Penempelan Primer

Campuran reaksi pada suhu yang lebih dingin ( $50^{\circ}\text{C}$ ) memungkinkan primer untuk mengikat (hibridisasi) ke posisi komplementer pada cetakan DNA untai tunggal.

c. Pemanjangan

Larutan DNA untai tunggal dan primer yang dipanaskan kembali sampai suhu 72°C akan memulai terjadinya replikasi DNA.

Komponen-komponen yang diperlukan dalam proses PCR terdiri dari templat DNA (DNA Kromosom, DNA plasmid, atau fragmen DNA lain) yang didapat dari hasil isolasi DNA; primer yang berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi; dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*) yang terdiri dari dATP, dTTP, dCTP, dan dGTP; Buffer PCR; MgCl (Magnesium chloride); dan enzim Polimerase DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

**E. Hipotesis**

Keanekaragaman genetik dalam populasi di Merbabu dan Lawu menunjukkan variasi yang rendah karena terjadi isolasi populasi dan keanekaragaman genetik antar kedua populasi menunjukkan variasi yang tinggi karena kedua populasi terpisah cukup jauh dan tidak terjadi pertukaran gen. Hubungan kekerabatan *A. javanica* dengan spesies lain cukup tinggi terutama pada genus yang sama.