

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kantong Semar

Kantong semar (*Nepenthes* spp.) merupakan jenis flora unik dan mulai banyak dikembangkan sebagai tanaman hias. Menurut Bhau dkk. (2009) Indo-Malaysia dikenal sebagai pusat evolusi genus *Nepenthes*. Banyak spesies dari genus *Nepenthes* merupakan jenis endemik di wilayah tertentu dengan wilayah persebaran yang sangat terbatas.

Menurut Natalia dkk. (2014), kantong semar merupakan jenis flora dilindungi di Indonesia, berdasarkan pada Peraturan Pemerintah RI no.7 tahun 1999. Menurut Puspaningtyas dan Wawaningrum (2007), faktor eksploitasi kantong semar yang tumbuh di dekat puncak gunung untuk tujuan komersial dan perubahan iklim mikro akibat kerusakan habitat menjadi sumber tekanan utama dalam keberlangsungan kantong semar. Mansur (2013) menyatakan bahwa kantong semar memiliki beberapa manfaat, antara lain manfaat ekologis sebagai pengendali hama, manfaat medis sebagai obat luka bakar dan untuk mengecilkan pori-pori (*astringent*), serta manfaat estetika untuk digunakan sebagai tanaman hias.

Menurut Kitching (2004) *Nepenthes gymnamphora* Reinw. ex Nees merupakan tanaman berkantong yang terdapat di pulau Jawa dan Pulau Sumatera (Indonesia). Kantong *Nepenthes gymnamphora* Reinw. ex Nees di Jawa mengandung jaringan makanan yang lebih sederhana dibandingkan jenis *Nepenthes* yang ada di Sumatera. Spesies yang biasa ditemukan di

dalam kantongnya berupa spesies safrofagus (ditemukan oleh Thienemann tahun 1932). *Nepenthes gymnamphora* Reinw. termasuk jenis flora dilindungi dan masuk daftar CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species*) Apendix II.

Menurut Mansur (2002) *Nepenthes gymnamphora* Reinw. (Gambar 1) memiliki nama lokal “sorok raja mantri” dan wilayah persebarannya adalah di sekitar Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur. *Nepenthes gymnamphora* Reinw. tumbuh pada ketinggian 900-2400 mdpl. Beberapa lokasi tumbuh *Nepenthes gymnamphora* Reinw. antara lain Gunung Salak, Gunung Gede, Gunung Merbabu, Gunung Semeru, dan Gunung Lawu. Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa *Nepenthes gymnamphora* juga ditemukan di kawasan Gunung Merapi. Adapun klasifikasi ilmiah *Nepenthes gymnamphora* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Caryophyllales
Famili : Nepenthaceae
Genus : *Nepenthes*
Spesies : *Nepenthes gymnamphora* Reinw. ex Nees



Gambar 1. *Nepenthes gymnamphora* Reinw.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mansur (2002) di sekitar wilayah Taman Nasional Gunung Halimun, *Nepenthes gymnamphora* Reinw. memiliki ciri morfologi yaitu memiliki batang memanjat dengan panjang mencapai 5-6 inchi berwarna hijau berbentuk hampir bulat dengan diameter >5 mm. Daunnya berbentuk elips sampai lanset dengan panjang 14-30 cm, dengan tendril yang panjangnya 14-30cm. Seperti halnya jenis *Nepenthes* lainnya, *Nepenthes gymnamphora* juga memiliki kantong atau *pitcher*.

Menurut Mansur (2002), kantong pada *Nepenthes* dibagi menjadi dua bagian yaitu *upper pitcher* dan *rossette pitcher*. *Upper pitcher* memiliki bentuk pinggang (*hipped-shaped*) yang berwarna hijau sampai hijau dengan bintik merah, tinggi kantong 15-18cm, tidak memiliki sayap, bentuk penutup (*lip*) orbikular dengan ukuran 4x4.5 cm, pinggir mulut kantong atau bibir kantong (*peristome*) berwarna hijau sampai merah (ketebalan 3-10 mm), dan tendril tumbuh di belakang kantong. *Rossette pitcher* memiliki bentuk silinder dengan warna bercorak merah keunguan dengan tinggi kantong 8-12 cm dan diameter 3-4 cm, memiliki dua sayap dan berbulu (berambut), dan tendril tumbuh di depan atau pinggir kantong.

Berdasarkan hasil penelitian Gaume dkk. (2016), kantong atau *pitcher* yang dimiliki tiap jenis *Nepenthes* berbeda-beda satu dengan yang lainnya. Masing-masing kantong memiliki kemampuan dan kecenderungan menangkap jenis mangsa yang berbeda-beda pula. Hal ini juga dikemukakan oleh Bauer dkk. (2012) yang menyatakan bahwa perbedaan bentuk kantong antar jenis *Nepenthes* ini dikatakan sebagai bentuk adaptasi terhadap

lingkungannya. Perubahan bentuk kantong menunjukkan adanya pola evolusi morfologi *Nepenthes* untuk tetap bertahan hidup.

Menurut Mansur (2002), konservasi *Nepenthes gymnamphora* Reinw. memiliki syarat tumbuh spesifik yaitu suhu udara rendah (rata-rata 15⁰C) dengan kelembaban udara rata-rata 80%. *Nepenthes gymnamphora* Reinw. tumbuh di lingkungan dataran tinggi dan persebarannya terbatas, sehingga konservasi *in-situ* akan lebih baik daripada konservasi *ex-situ*, walaupun konservasi *ex-situ* masih bisa dilakukan dengan syarat tumbuh yang dipenuhi yaitu ketinggian di atas 900 m dpl. Perbanyakkan *Nepenthes gymnamphora* Reinw. bisa dilakukan dengan cara stek batang, anakan, atau kultur jaringan dengan media tumbuh yang lebih baik digunakan adalah lumut (*moss*).

B. Keragaman Genetik dan Konservasi Genetik

Menurut Indrawan dkk. (2007), keragaman genetik merupakan salah satu faktor yang ikut menentukan keberhasilan adaptasi oleh populasi terhadap perubahan lingkungan. Pengaruh faktor keragaman genetik dalam menentukan kemampuan adaptasi yaitu individu dengan alel atau kombinasi alel tertentu kemungkinan akan memiliki sifat yang membuatnya mampu bertahan dan berkembangbiak dalam kondisi lingkungan yang baru. Keragaman genetik dalam populasi dapat bervariasi mulai dari langka hingga berlimpah. Keragaman genetik juga dapat mengalami penyusutan atau hilang secara acak, biasanya terjadi pada populasi kecil. Ancaman penyusutan keanekaragaman genetik dalam populasi kecil juga dapat terjadi akibat

peristiwa *inbreeding*. Oleh karena itu, populasi kecil rentan terhadap kepunahan sehingga perlu dikonservasi.

Salah satu bentuk konservasi yang penting adalah konservasi genetik. Menurut Syukur dkk. (2012) konservasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara *in-situ* dan *ex-situ*. Konservasi *in-situ* biasanya dilakukan dalam wilayah yang dilindungi atau taman nasional, di tempat asal spesies tanaman. Konservasi *ex-situ* bisa dilakukan di kebun raya atau di *gene bank* (berupa koleksi benih, jaringan *in-vitro*, atau kalus yang belum terdiferensiasi. Lembaga resmi di Indonesia yang khusus menangani sumber daya genetik adalah Komisi Nasional Plasma Nutfah (KNPN).

Penelitian yang terkait keragaman *Nepenthes* sp. di Indonesia masih jarang untuk melihat keragaman genetik dari analisis molekuler, termasuk penelitian pengaruh budidaya dan konservasi *ex-situ*. Penelitian *Nepenthes* sp. yang biasa dilakukan di Indonesia adalah penelitian keanekaragaman dari yang diidentifikasi segi morfologi, contohnya penelitian oleh Puspaningtyas dan Wawangningrum (2007) di Talang-Sumatera Barat dan Mansur (2002) mengenai *Nepenthes gymnamphra* Nees di Taman Nasional Gunung Halimun serta penelitian pola persebaran *Nepenthes* sp., contohnya penelitian oleh Natalia dkk. (2014) untuk *Nepenthes khasiana* Hook.f. di Gunung Rorekautimbu Kawasan Taman Nasional Lore Lindu.

Kurata dkk. (2008) melakukan penelitian mengenai hubungan keragaman genetik dengan struktur geografis lokasi tumbuh *Nepenthes vieillardii* di New Caledonia menggunakan analisis *DNA haplotype* dari *DNA*

kloroplas menggunakan 5 *spacer*. Sampel yang digunakan berjumlah 294 sampel dari 16 populasi yang berasal dari 5 wilayah regional utama yang berbeda, yaitu regional pegunungan utara (*northern mountain region/ NM*; 3 daerah lokasi), regional pesisir timur (*eastern coastal region/EC*; 4 daerah lokasi), regional *massif* selatan (*southern massif region/SM*; 4 daerah lokasi), regional dataran selatan (*southern plains region/SP*; 4 daerah lokasi), dan regional Ile des Pins (*Ile des Pins region/IP*; 1 daerah lokasi), kemudian dianalisis monofili, keragaman genetik (polimorfisme), dan filogenetiknya. Hasil yang didapat menunjukkan adanya perbedaan genetik antar populasi, bahkan antar populasi dalam wilayah regional utama yang sama. Hasil analisis keragaman haplotipe dan persebaran haplotipe antar populasi juga menunjukkan pola yang berbeda antar wilayah regional utama, yang mengindikasikan adanya isolasi jarak geografis yang juga terlihat pada hasil filogenetik.

Penelitian lainnya dilakukan oleh Bhau dkk. (2009) untuk melihat keragaman genetik *Nepenthes khasiana* Hook.f. dengan analisis polimorfisme. Sampel diambil sebanyak 6 populasi yang mewakili 6 lokasi tumbuh kemudian dianalisis menggunakan ISSR dan RAPD. Hasil yang didapat menunjukkan adanya differensiasi genetik antar populasi dan kemungkinan isolasi yang terlalu lama menyebabkan pola adaptasi menuju arah evolusi dengan peningkatan ekspresi gen atau pengurangan karakter. Chaveerach dkk. (2006) juga melakukan penelitian yang sama untuk *Nepenthes mirabilis* dari 4 lokasi yang berbeda menggunakan penanda ISSR.

Hasil yang didapat menunjukkan tingginya polimorfisme populasi yang terpisah secara geografis, sehingga dapat disarankan untuk melakukan konservasi dalam lingkup lokasi perlindungan yang kecil untuk tetap menjaga keanekaragaman genetiknya.

Menurut Bell dan Collins (2008), kemampuan adaptasi populasi terhadap perubahan lingkungan tergantung pada kecepatan perubahan dan lama waktu perubahan, yang terjadi dalam seleksi alam. Perubahan yang terjadi dengan cepat akan membuat populasi harus beradaptasi lebih cepat, sehingga beberapa populasi yang memiliki kemampuan adaptasi yang kurang memadai akan mengalami seleksi, lalu menyusut, dan bisa mengakibatkan kepunahan. Akan tetapi, dalam kondisi sebenarnya, tidak ada populasi yang beradaptasi secara permanen, karena lingkungan selalu berubah lebih cepat atau lebih lambat. Populasi yang berada di dalam lingkungan yang jarang berubah akan lebih mampu beradaptasi sepanjang waktu.

Adaptasi yang dilakukan suatu populasi terhadap perubahan lingkungan menjadi keterbatasan dalam konservasi *ex-situ*. Keterbatasan tersebut termasuk habitat artifisial yang sesuai untuk organisme yang dikonservasi, penyusutan keanekaragaman genetik, tekanan kawin sanak/kawan dalam (*inbreeding depression*), dan akumulasi dari alel-alel yang hilang. Populasi kecil dalam koleksi untuk konservasi *ex-situ* yang dilakukan di kebun raya juga menjadi masalah mendasar dalam konservasi, karena populasi kecil lebih rentan dibandingkan populasi yang besar (Kasso dan Balakrishnan, 2013).

C. Analisis Genetik Molekuler

1. Penanda *DNA* Kloroplas *trnL*

Pemilihan sumber materi genetik (*DNA*) harus melewati evaluasi laju mutasi dan pewarisan serta harus mengandung *DNA* dalam jumlah yang cukup untuk dianalisis. Tiga jenis sumber *DNA* yang terdapat pada sel tumbuhan yaitu *DNA* nukleus (*nuclear DNA/nDNA*), *DNA* kloroplas (*chloroplast DNA/cpDNA*), dan *DNA* mitokondria (*mitochondrial DNA/mtDNA*) yang memiliki kemampuan berbeda untuk digunakan dalam analisis filogenetik dan kemampuan untuk dimanipulasi (Caputo, 1997). *DNA* kloroplas dapat menjadi bukti kuat monofili sehingga menjadi sumber *DNA* yang paling baik dalam rekonstruksi filogenetik, khususnya tanaman terestrial (Soltis dkk., 1992).

DNA kloroplas merupakan sumber *DNA* yang paling banyak digunakan dalam penelitian filogeni tumbuhan, dengan banyak keuntungan sistematis. Bentuk *DNA* kloroplas adalah sirkuler, panjangnya 135-160 kb dalam angiosperma dan mengandung dua segmen identik. *DNA* kloroplas melimpah dalam sel tumbuhan sehingga mudah untuk diekstrak dalam jumlah besar, informasi genetik yang melimpah, dan strukturnya dapat menunjukkan laju mutasi yang rendah dan perubahan genetik. *DNA* kloroplas juga sangat sesuai untuk penelitian hubungan jarak taksa, seperti palalelis analisis morfologi (Caputo, 1997).

Region trnL adalah *region DNA* kloroplas yang paling banyak digunakan untuk identifikasi dan klasifikasi spesies (Singh, 2012). *Region trnL* (UAA) merupakan bukan merupakan *region* pengkode (*non coding region*). *Region trnL* memiliki sekuens yang telah digunakan secara luas untuk rekonstruksi filogeni tanaman yang berkerabat dekat (Taberlet dkk., 2007).

2. Analisis Molekuler Berbasis PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik untuk memperbanyak sampel *DNA* dengan membentuk dua terminal oleh fragmen *DNA* yang didesain khusus (primer atau oligonukleotida). Perbanyakannya yang dilakukan dengan *DNA* sangat spesifik, yang ditentukan dengan spesifikasi primer melalui hibridisasi yang sesuai dengan *DNA* target yang akan diperbanyak. Primer yang digunakan ada dua jenis untuk masing-masing *strand*, yaitu *forward primer* dan *reverse primer* (Pelt-Verkuil dkk., 2008).

Metode PCR membutuhkan 3 bahan utama dalam memperbanyak *DNA*, yaitu enzim polimerase, basa nukleotida dan primer. Enzim polimerase berfungsi untuk membentuk untai molekuler yang panjang dengan menyatukan sumber basa nukleotida (dNTPs) sesuai dengan *DNA* cetakan dan primer bertugas untuk memberikan lokasi spesifik yang akan digandakan oleh *DNA* polimerase. Proses utama dalam metode PCR terdiri dari tahap utama yaitu:

- a. Denaturasi, yaitu proses *DNA* sampel untai ganda diberi suhu tinggi (sampai 94 °C) sehingga terpisah dan menjadi untai tunggal
- b. Penempelan (*annealing*), penempelan primer pada untai tunggal *DNA* template dengan hibridisasi secara komplementer menggunakan suhu yang lebih rendah
- c. Pemanjangan, dilakukan dengan suhu yang lebih tinggi dari suhu reaksi penempelan (biasanya 72°C) untuk mensintesis replikasi *DNA*

3. Filogenetik Molekuler

Filogenetika merupakan cabang ilmu biologi yang mengelompokkan organisme-organisme berdasarkan kesamaan karakter atau cirinya. Kesamaan karakter dianggap menunjukkan kedekatan hubungan antar organisme dan merupakan penurunan karakter dari nenek moyang yang sama (Nugroho dan Rahayu, 2017).

Menurut Hidayat dan Pancoro (2008), kemajuan pesat biologi molekuler semakin menunjang perolehan informasi yang lebih akurat sebagai penunjang penelitian filogenetika. Penelitian molekuler sangat membantu dalam memberi informasi awal mengenai hubungan genetik dan/atau evolusi tanaman-tanaman yang memiliki sensitifitas dan adaptasi tinggi terhadap lingkungan, termasuk peristiwa hibridisasi. Menurut Soltis, dkk. (1992), *DNA* kloroplas dapat digunakan sebagai marker dalam analisis filogenetik dan analisis maternal hibridisasi.

Data sekuens molekuler digunakan sebagai data yang dapat menyelesaikan masalah dalam filogenetika yang berdasarkan karakter

morfologi, biokimia, ataupun fisiologi. Data sekuens molekuler memberikan data yang pasti termasuk secara statistik. Data molekuler dan data morfologi juga sering dikombinasikan dalam studi filogenetik, untuk melihat pola evolusi dan penyusuran nenek moyang organisme (Wood dkk., 2004).

Menurut Hidayat dan Pancoro (2008), beberapa alasan dalam penggunaan data sekuens DNA dalam filogenetik antara lain:

- a. DNA adalah unit dasar yang berisi informasi pengkode organisme
- b. Proses mengekstrak dan menggabungkan informasi tentang evolusi suatu kelompok organisme lebih mudah dilakukan, sehingga sangat membantu dalam proses analisis
- c. Pembuatan model untuk peristiwa evolusi secara komparatif lebih mudah
- d. Informasinya lebih banyak dan beragam, sehingga bukti kebenaran hubungan filogenetiknya akan lebih bervariasi

Alamsyah dan Ito (2013) melakukan penelitian analisis filogenetik molekuler famili Nepenthaceae dengan ITS sebanyak 57 sampel dari 56 spesies. Penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya kecenderungan pola kedekatan berdasarkan lokasi asal yang sama. Berdasarkan penelitian tersebut juga diperoleh data analisis filogenetik secara molekuler dengan ITS yang cenderung sesuai dengan hasil analisis filogenetik secara morfologi, yaitu berdasarkan karakter peristome pada *upper pitcher*. Pembagian tujuh *subclade* pada analisis

ITS sama dengan pembagian *subclade* pada analisis morfologi, kecuali pada spesies *Nepenthes mindanaoensis*, *Nepenthes alata*, *Nepenthes ovata*, dan *Nepenthes densiflora*.

D. Hipotesis

Kegiatan budidaya dalam konservasi *ex-situ* memiliki pengaruh terhadap kedekatan genetik *Nepenthes gymnamphora* Reinw., yaitu antara populasi Kebun Raya Baturraden dengan populasi Gunung Merapi karena adanya pola adaptasi.

