

ULASAN

Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek

Topik Hidayat¹ dan Adi Pancoro²

¹Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Pendidikan Indonesia, Jalan Dr. Setiabudhi No. 229, Bandung 40154

²Sekolah Ilmu Teknologi dan Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha No. 10, Bandung 40132

ABSTRACT

Molecular Phylogenetic Studies in Providing Basic Knowledge to Improve Quality of Genetic Resources of Orchid. Topik Hidayat and Adi Pancoro. Early information resulted from molecular phylogenetic studies of many important ornamental crops is often less attention to many growers and farmers. Phylogenetics is one of the most preferable method in systematics to reconstruct evolutionary relationships of groups of biological organisms in order to understand their biodiversities. This has been revolutionized by DNA sequences data. In this method, a group of organisms that shares many identical characteristics are considered to be closely related; deriving from a common ancestor and is assumed to have similar genetic patterns and biochemical properties. By these basic principles, molecular phylogenetics plays important roles in revealing a basic knowledge on pattern of relationships to which genetic resources can be improved. Over the past decade, botanists have done several thousand phylogenetic analyses based on molecular data of economically and horticulturally important crops. Orchids are the best example for this. There is no doubt that most orchid plants had played roles in horticulture and hybridization. At present, many infrageneric and intergeneric hybrids are available commercially. Successful hybridization can be achieved if two or more individual plants understudy are closely related in respect to their genetics and evolution.

Key words: Hybridization, molecular phylogenetics, orchid subtribe *Aeridinae*, quality of genetic resources.

PENDAHULUAN

Khusus bagi negara berkembang seperti Indonesia, sektor pertanian merupakan tulang punggung yang menyokong kehidupan bangsa dengan segala aspek-aspeknya. Salah satu bidang pertanian yang saat ini sedang mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang sangat pesat adalah hortikultura, terutama budi daya tanaman hias. Tidak diragukan lagi, tanaman anggrek merupakan salah satu primadona tanaman hias. Budidaya tanaman anggrek biasanya dilakukan

oleh para pelaku hortikultura melalui kawin silang antarjenis anggrek (hibridisasi) dalam upaya meningkatkan kualitas anggrek yang baru dihasilkan untuk memenuhi kebutuhan dan selera pasar (*market pull*). Namun demikian, seringkali para pelaku hortikultura menemui kendala bahwa anggrek baru yang dihasilkan sangat sensitif terhadap perubahan lingkungan dan tidak berumur panjang meskipun memiliki sifat-sifat vegetatif lain yang unggul (Frowine 2005). Bahkan pada beberapa kasus, dua jenis anggrek tidak bisa dihibridisasi. Para petani atau pelaku hortikultura yang lain tidak menyadari bahwa hal ini mungkin karena adanya ketidakcocokan dalam hal genetik (*genetic incompatibility*) dan evolusi dari kedua tanaman anggrek tersebut. Untuk itu perlu diupayakan informasi awal mengenai hubungan genetik dan/atau evolusi dari tanaman-tanaman yang akan dihibridisasi.

Filogenetika merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dalam sistematika untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (*phylogenetic relationship*). Seiring dengan kemajuan pesat biologi molekuler, data DNA saat ini telah digunakan dalam banyak penelitian filogenetika untuk menghasilkan informasi yang lebih akurat. Makalah ini mendeskripsikan prinsip-prinsip dasar filogenetika molekuler dan aplikasi kajiannya dalam usaha meningkatkan kualitas sumber daya genetik tanaman, dalam hal ini anggrek. Selain itu, dalam makalah ini juga dibahas beberapa hasil penelitian yang relevan.

SISTEMATIKA DAN FILOGENETIKA MOLEKULER

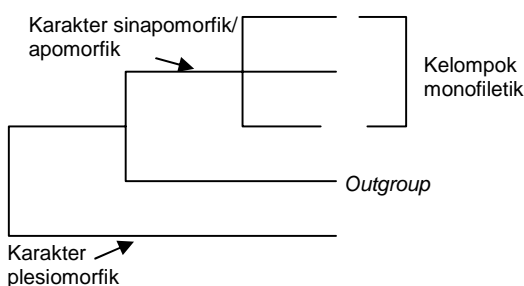
Dalam ilmu biologi, sistematika memiliki peran utama menyediakan perangkat pengetahuan untuk mengkarakterisasi organisme dan sekaligus mengenalinya dalam rangka memahami keanekaragaman. Secara fundamental, sistematika bertujuan untuk memahami dan mendeskripsikan keanekaragaman suatu organisme dan merekonstruksi hubungan kekerabatan dengan organisme lainnya (Gravendeel 2000) serta

mendokumentasikan perubahan-perubahan yang terjadi selama evolusi dan mengubahnya ke dalam sebuah sistem klasifikasi yang mencerminkan evolusinya (Systematics Agenda 2000). Oleh karena itu, salah satu tugas penting dari sistematika adalah merekonstruksi hubungan evolusi (*evolutionary relationship*) dari kelompok-kelompok organisme biologi. Sebuah hubungan evolusi yang direkonstruksi dengan baik dapat digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian-penelitian komparatif (*comparative investigations*) misalnya dalam bidang ekologi dan biogeografi.

Ada dua metode untuk merekonstruksi hubungan evolusi dari sebuah kelompok organisme biologi, yaitu fenetika dan kladistika. Kalau metode pertama menaksir hubungan evolusi berdasarkan kepemilikan karakter atau ciri yang sama (*overall similarity*) dari anggota-anggota suatu kelompok, maka yang kedua mendasari sebuah hubungan pada perjalanan evolusi karakter atau ciri dari setiap anggota suatu kelompok yang sedang dipelajari. Kladistika sering disebut atau ditulis di dalam literatur ilmiah sebagai filogenetika dan merupakan metode yang umum digunakan di dalam banyak penelitian sistematika.

Di dalam filogenetika, sebuah kelompok organisme yang anggota-anggotanya memiliki banyak kesamaan karakter atau ciri dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang; nenek moyang dan semua turunannya akan membentuk sebuah kelompok monofiletik (Gambar 1). Oleh karena itu, anggota-anggota di dalam kelompok monofiletik ini diasumsikan membawa sifat atau pola genetik dan biokimia yang sama (Topik 2005).

Dalam analisis filogenetika kelompok *outgroup* sangat dibutuhkan dan menyebabkan polarisasi karakter atau ciri, yaitu karakter apomorfik dan plesiomorfik. Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah dan diturunkan dan terdapat pada *ingroup*, sedangkan karakter plesiomorfik merupakan karakter *primitive*



Gambar 1. Pohon kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetika.

Sumber: Topik (2005).

yang terdapat pada *outgroup*. Karakter sinapomorfik adalah karakter yang diturunkan dan terdapat pada kelompok monofiletik. Gambar 1 memperlihatkan sebuah pohon kekerabatan sebagai hasil dari analisis filogenetika.

Penggunaan DNA dalam Studi Filogenetik

Karakter morfologi telah lama digunakan dalam banyak penelitian filogenetika. Dengan pesatnya perkembangan teknik-teknik di dalam biologi molekuler, seperti *polymerase chain reaction* (PCR) dan *sequencing* DNA, penggunaan sekuen DNA dalam penelitian filogenetik telah meningkat pesat dan telah dilakukan pada semua tingkatan taksonomi, misalnya famili, marga, dan spesies. Filogenetik molekuler menggabungkan teknik biologi molekuler dengan statistik untuk merekonstruksi hubungan filogenetika.

Pemikiran dasar penggunaan sekuen DNA dalam studi filogenetika adalah bahwa terjadi perubahan basa nukleotida menurut waktu, sehingga akan dapat diperkirakan kecepatan evolusi yang terjadi dan akan dapat direkonstruksi hubungan evolusi antara satu kelompok organisme dengan yang lainnya. Beberapa alasan penggunaan sekuen DNA (Hillis *et al.* 1996), yaitu (1) DNA merupakan unit dasar informasi yang mengkode organisme, (2) lebih memudahkan dalam mengekstrak dan menggabungkan informasi mengenai proses evolusi suatu kelompok organisme, sehingga mudah untuk dianalisis, (3) memudahkan dalam pembuatan model dari peristiwa evolusi secara komparatif, dan (4) menghasilkan informasi yang banyak dan beragam, dengan demikian akan ada banyak bukti tentang kebenaran suatu hubungan filogenetika.

Sekuen DNA telah menarik perhatian para praktisi taksonomi dunia untuk dijadikan karakter dalam penelitian filogenetika karena beberapa fakta. Pertama, sekuen DNA menawarkan data yang akurat melalui pengujian homologi yang lebih baik terhadap karakter-karakter yang ada (Baldwin *et al.* 1995). Kedua, sekuen DNA menyediakan banyak *character states* karena perbedaan laju perubahan basa-basa nukleotida di dalam lokus yang berbeda adalah besar (Moritz dan Hillis 1996). Ketiga, sekuen DNA telah terbukti menghasilkan sebuah hubungan kekerabatan yang lebih alami (Chase *et al.* 1993, Topik 2005).

Sumber karakter DNA dapat diperoleh dari inti (nDNA), kloroplas (cpDNA), dan mitokondria (mtDNA). Tabel 1 memuat beberapa sistem gen dan genom yang telah digunakan dalam penelitian filogenetika molekuler.

Analisis filogenetika molekuler merupakan proses bertahap untuk mengolah data sekuen DNA atau protein sehingga diperoleh suatu hasil yang menggambar-

Tabel 1. Beberapa sistem gen dan genom dalam studi filogenetik molekuler

Gen atau genom	Metode
DNA kloroplas	Analisis restriksi
Gen <i>rbcL</i> dari DNA kloroplas	Analisis sekuen DNA
Gen <i>matK</i> dari DNA kloroplas	Analisis sekuen DNA
DNA mitokondria	Analisis sekuen DNA
Gen RNA inti	Analisis sekuen DNA
Daerah ITS dari nrDNA	Analisis sekuen DNA
Kelompok gen repetitive:	
Knob heterokromatin	Analisis sekuen DNA
Gen CAB	Analisis sekuen DNA
Gen <i>rbcS</i>	Analisis sekuen DNA
Gen kopi tunggal	Analisis sekuen DNA

kan estimasi mengenai hubungan evolusi suatu kelompok organisme. Menurut Hershkovitz dan Leipe (1998) ada sejumlah asumsi yang harus diperhatikan sebelum menggunakan data sekuen DNA atau protein dalam analisis filogenetika, di antaranya, yaitu (1) sekuen berasal dari sumber yang spesifik, yaitu dari inti, kloroplas atau mitokondria, (2) sekuen bersifat homolog (diturunkan dari satu nenek moyang), (3) sekuen memiliki sejarah evolusi yang sama (misalnya bukan dari campuran DNA inti dan mitokondria), dan (4) setiap sekuen berkembang secara bebas.

Paling sedikit ada tiga tahap penting dalam analisis filogenetika molekuler, yaitu *sequence alignment*, rekonstruksi pohon filogenetika, dan evaluasi pohon filogenetika dengan uji statistik. Untuk merekonstruksi pohon filogenetika, saat ini telah tersedia beraneka ragam program komputer, misalnya Phyllip, PAUP, dan MrBayes.

HIBRIDISASI PADA ANGGREK DAN KUALITAS SUMBER GENETIK

Peningkatan kualitas sumber genetik melalui hibridisasi pada tanaman anggrek telah lama dilakukan orang. Pada prinsipnya, hibridisasi adalah menggabungkan sifat unggul dari dua jenis tanaman, atau bahkan lebih, melalui berbagai teknik. Hibridisasi pada anggrek umum terjadi di alam dengan bantuan polinator (Dressler 1993), dan secara buatan manusia dapat menjadi fasilitator untuk terjadinya penyerbukan.

Secara sederhana, hibridisasi dilakukan dengan mengambil serbuk sari menggunakan kuas, selanjutnya serbuk sari tersebut dengan hati-hati diletakkan di atas putik tanaman anggrek yang berbeda jenis. Dengan pesatnya kemajuan bioteknologi melalui hibridisasi somatik, dapat dilakukan fusi sel somatik, yang disebut dengan fusi protoplas. Melalui fusi protoplas, maka sifat-sifat unggul dari dua jenis tanaman dapat digabungkan, yang tidak dapat digabungkan secara seksual maupun aseksual (Witjaksono *et al.* 1998).

Selain rutin dilakukan pada anggrek, hibridisasi dengan teknik ini juga telah diterapkan pada tanaman buah-buahan, misalnya jeruk dan apokat (Witjaksono dan Litz 2002).

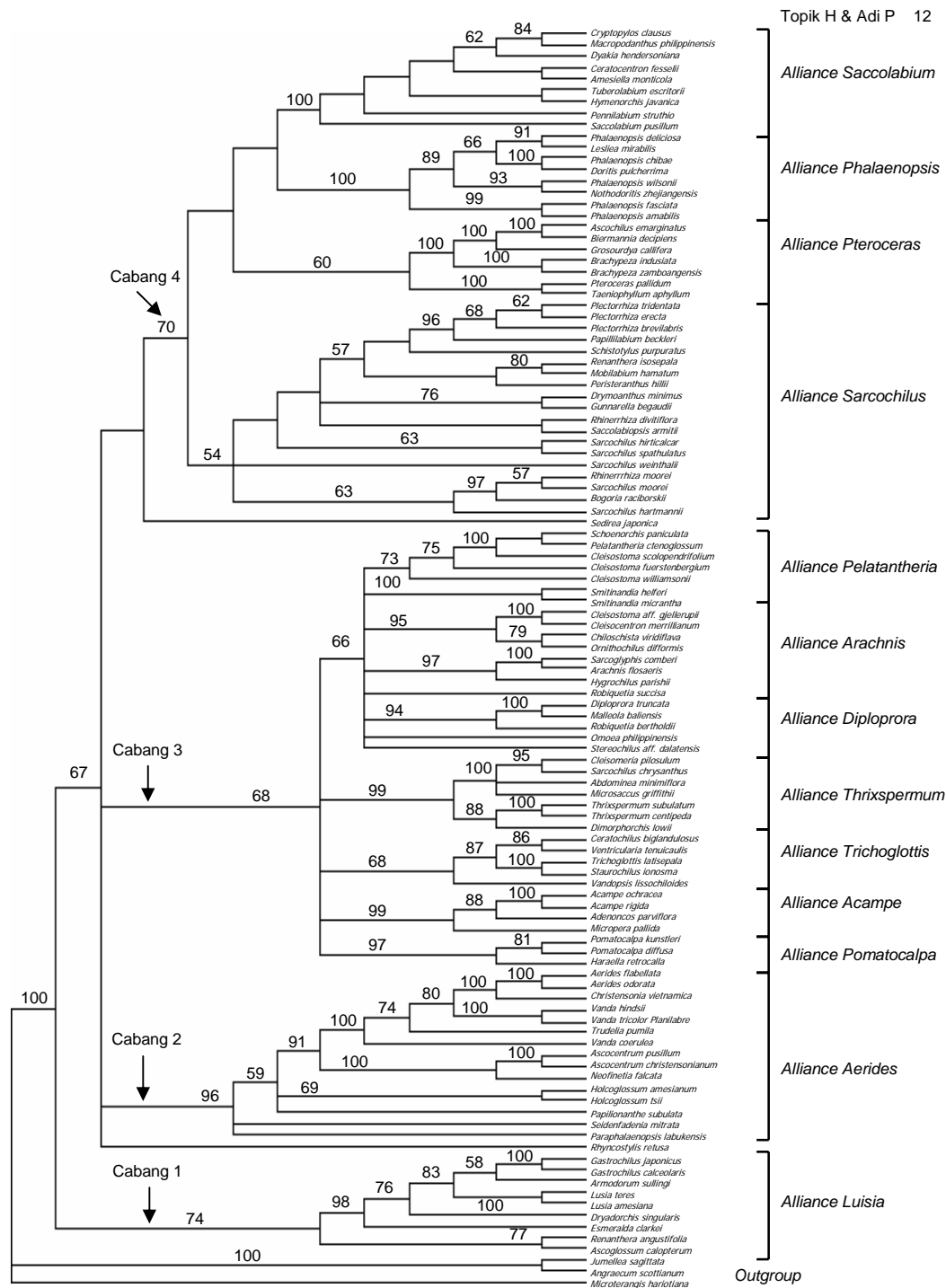
Karena dalam hibridisasi terjadi penggabungan dua atau lebih sifat dari jenis tanaman yang berbeda, maka prasyaratnya adalah tanaman-tanaman tersebut harus memiliki pola genetik yang sama (Frowine 2005), sehingga memiliki kecenderungan untuk menjalani jalur evolusi yang sama (Li dan Graur 1991). Dengan kata lain bahwa tanaman-tanaman yang akan dihibridisasi harus memiliki hubungan evolusi atau kekerabatan (filogenetika) yang dekat. Dalam konteks filogenetika, tanaman-tanaman ini harus memiliki hubungan monofiletik, yaitu berasal dari satu nenek moyang yang sama. Sebaliknya, jika hubungan kekerabatan tanaman-tanaman yang akan dihibridisasi adalah non monofiletik maka salah satu yang timbul adalah reaksi penolakan karena tidak ada kecocokan genetik seperti yang sering terjadi dalam banyak kegiatan hibridisasi (Frowine 2005).

HUBUNGAN FILOGENETIK PADA ANGGREK SUBTRIBE *AERIDINAE*

Subtribe *Aeridinae* merupakan salah satu kelompok tanaman anggrek dengan jumlah anggota besar, sangat beranekaragam, dan rumit dalam konteks taksonomi. Kelompok, yang kebanyakan anggotanya memiliki nilai komersial tinggi sebagai tanaman hias tumbuh secara monopodial dan kebanyakan hidup sebagai epifit yang menyebar luas di daerah temperata, daerah tropis Asia, Australia, kepulauan pasifik di sebelah timur, bahkan sampai ke Afrika di sebelah barat.

Analisis filogenetika molekuler terhadap anggrek subtribe *Aeridinae* dengan menggunakan sekuen DNA dari inti dan kloroplas menghasilkan beberapa kelompok monofiletik, yang disebut dengan istilah *alliance* (Topik *et al.* 2005, Gambar 2). Kebanyakan sampel anggrek yang digunakan dalam penelitian ini hidup liar di hutan-hutan belantara hutan hujan tropis. Selain memiliki implikasi terhadap dunia taksonomi anggrek *Aeridinae* itu sendiri, hasil penelitian ini diharapkan berimplikasi positif terhadap upaya-upaya berbagai pihak untuk meningkatkan kualitas sumber genetiknya melalui kegiatan hibridisasi.

Berdasarkan Gambar 2, maka dapat direkomendasikan bahwa hibridisasi dapat dilakukan antarjenis di dalam *alliance* yang sama, misalnya pada *alliance Aerides*. Pada *alliance* ini terdapat beberapa jenis dari marga *Aerides*, *Vanda*, *Ascocentrum*, *Trudelia*, *Christensonia*, *Paraphalaenopsis*, *Rhyncostilis*, *Seidenfadenia*, *Holcoglossum*, dan *Neofinetia*, yang satu dengan



Gambar 2. Pohon filogenetika berdasarkan data gabungan dari sekuen DNA kloroplas (gen *matK*) dan inti (daerah ITS) menggunakan program PAUP. Angka menunjukkan nilai bootstrap (Topik et al. 2005).

lainnya dapat dihibridisasi. Di pasar tanaman anggrek hias, banyak sekali hibrid-hibrid yang diperoleh dari hibridisasi antarmarga (*intergeneric*) atau antarjenis dalam satu marga (*infrageneric*) dalam *alliance* ini, misalnya yang paling populer adalah *Aerides*, *Vanda*,

dan *Rhyncostylis*. Persilangan dengan anggrek liar dalam *alliance* ini seperti *Christensonia*, *Seidenfadenia*, dan *Paraphalaenopsis* telah menambah plasma nutfah anggrek *Aeridinae* (Topik 2005).

Tabel 2. Contoh anggrek hibrid intergenerik dan infragenerik dalam *alliance Aerides*.

Nama hibrid	Simbol	Marga-marga yang dihibridisasi
<i>Aeridovanda</i>	Aerv	<i>Aerides</i> x <i>Vanda</i>
<i>Ascocenda</i>	Asco	<i>Ascocentrum</i> x <i>Vanda</i>
<i>Christieara</i>	Chtra	<i>Aerides</i> x <i>Ascocentrum</i> x <i>Vanda</i>
<i>Darwinara</i>	Dar	<i>Ascocentrum</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Micholitzara</i>	Mchza	<i>Aerides</i> x <i>Ascocentrum</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Vanda</i>
<i>Nakamotoara</i>	Nak	<i>Ascocentrum</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Vanda</i>
<i>Perreiraara</i>	Prra	<i>Aerides</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Rhynchovanda</i>	Rhv	<i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Ronnyara</i>	Rnya	<i>Aerides</i> x <i>Ascocentrum</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Sanjumeara</i>	Sjma	<i>Aerides</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Vanda</i>	V	<i>Vanda</i> x <i>Vanda</i>
<i>Vandaeranthos</i>	Vths	<i>Aerides</i> x <i>Vanda</i>
<i>Vandofinetia</i>	Vf	<i>Neofinetia</i> x <i>Vanda</i>
<i>Vandofinides</i>	Vfds	<i>Aerides</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Vanda</i>
<i>Vascostylis</i>	Vasco	<i>Ascocentrum</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>
<i>Viraphandhuara</i>	Vpda	<i>Aerides</i> x <i>Ascocentrum</i> x <i>Neofinetia</i> x <i>Vanda</i>
<i>Yonezawaara</i>	Yzwr	<i>Neofinetia</i> x <i>Rhyncostylis</i> x <i>Vanda</i>

Contoh lainnya yang menarik untuk dibahas adalah *alliance Phalaenopsis*. Biasanya para pelaku hortikultura hanya melakukan hibridisasi antarjenis dalam marga *Phalaenopsis*. Tetapi, seperti dapat dilihat pada Gambar 2, dapat direkomendasikan bahwa jenis dari marga *Phalaenopsis* juga dapat dihibridisasi dengan jenis dari marga *Lesliea*, *Doritis*, dan *Nothodoritis*. Dalam konteks taksonomi, Yukawa *et al.* (2005) bahkan mengusulkan unifikasi dari marga-marga dalam *Phalaenopsis alliance* menjadi satu marga, yaitu *Doritis*. Hal ini disebabkan karena sangat dekatnya hubungan genetik dan evolusi mereka.

Tabel 2 menyajikan beberapa contoh anggrek hibrid dari kelompok monofiletik *alliance Aerides*.

UPAYA UNTUK MENINGKATKAN KUALITAS SUMBER DAYA GENETIK TANAMAN ANGGREK

Pada bagian terakhir makalah ini disampaikan bahwa upaya peningkatan kualitas sumber genetik dan plasma nutfah dari berbagai produk pertanian tidak akan berjalan baik tanpa kerja sama yang baik dan berkelanjutan antara para *stakeholders* seperti peneliti, petani, dan pemerintah. Sebenarnya berbagai model aktivitas kolaborasi untuk kegiatan serupa sudah dibangun dan dikembangkan. Pemerintah pusat pada beberapa tahun ke belakang telah menawarkan hibah-hibah penelitian yang mensyaratkan adanya kolaborasi antara peneliti, petani, perusahaan, dan pemerintah setempat, tetapi implementasi di lapang menemui banyak kendala.

Peneliti, dalam hal ini peneliti dalam bidang botani, mengalami kesulitan dalam melakukan kajian dan mendiseminasi hasil-hasil kajian mereka yang relevan karena terbatasnya sarana dan prasarana.

Masih banyak petani, dalam hal ini sebagai pelaku hortikultura, yang tidak acuh terhadap perkembangan ilmu, mungkin karena keterbatasan ilmu dan pengetahuan yang mereka miliki. Kolaborasi antara *stakeholders* dapat ditingkatkan di masa yang akan datang. Kolaborasi ini hendaknya diwujudkan dengan membentuk jejaring antara peneliti botani di lembaga penelitian maupun di perguruan tinggi dengan petani di lapang sebagai ajang pertukaran informasi. Melalui jejaring ini diharapkan penelitian yang dilakukan peneliti botani sinergis dengan yang dibutuhkan oleh petani.

DAFTAR PUSTAKA

- Baldwin, B.G., M.J. Sanderson, J.M. Porter, M.F. Wojciechowski, C.S. Campbell, and M.J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. *Annual Missouri Botanic Garden* 82:247-277.
- Chase, M.W., D.E. Soltis, and R.G. Olmstead. 1993. Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annual Missouri Botanic Garden* 80:528-580.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Dioscorides Press, Portland, Oregon.
- Frowine, S.A. 2005. *Orchids for Dummies*. Wiley Publishing, Indianapolis.
- Gravendeel, B. 2000. Reorganising the orchid genus *Coelogyne*: A phylogenetic classification based on morphology and molecules. *National Herbarium Nederland*.
- Hershkovitz, M.A. and D.D. Leipe. 1998. Phylogenetic analysis. In Baxevanis, A.D. and B.F. Oullette (Eds.). *Bioinformatics a Practical Guide to The Analysis of Genes and Proteins*. John Wiley and Sons, New York.

- Hillis, D.M., C. Moritz, and B.K. Mable. 1996.** Molecular Systematic. 2nd Ed. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Li, W-H. and D. Graur. 1991.** Fundamentals of Molecular Biology. Sinauer Associates. Massachusetts.
- Moritz, C. and D.M. Hillis. 1996.** Molecular systematics: Context and controversies. *In* Hillis, D.M., C. Moritz, B.K. Mable. (Eds.). Molecular Systematics, 2nd edition, Sinauer Associate, Sunderland, MA, USA. p. 1-13.
- Systematics Agenda. 2000.** Charting the Biosphere. Technical Report. Herbarium, New York Botanical Garden, USA.
- Topik, H., T. Yukawa, and M. Ito. 2005.** Molecular phylogenetics of subtribe *Aeridinae* (*Orchidaceae*): Insights from plastid *matK* and nuclear ribosomal ITS sequences. *J Plant Res.* 18:271-284.
- Topik H. 2005.** Systematic study of subtribe *Aeridinae* (*Orchidaceae*). Disertasi The University of Tokyo, Japan.
- Witjaksono, R.E. Litz, and J.W. Grosser. 1998.** Protoplast isolation, culture and somatic embryo regeneration in avocado (*Persea americana* Mill.). *Plant Cell Rep.* 18:235-242.
- Witjaksono and R.E. Litz. 2002.** Somatic embryogenesis of avocado and its application for plant improvement. Proceeding of the International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits. 26th November-1st December 2000. Cairns, Australia. *Acta Hort.* 575:133-138.
- Yukawa, T., K. Kita, T. Handa, H. Topik, and M. Ito. 2005.** Molecular phylogenetics of *Phalaenopsis* (*Orchidaceae*) and allied genera: Re-evaluation of generic concepts. *Acta Phytotaxonomi et Geobotany* 56:141-162.
-