

ANALISIS FILOGENETIK ANGGREK *DENDROBIUM* BERDASARKAN SEKUEN ITS rDNA

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *DENDROBIUM* BASED ON ITS rDNA SEQUENCE

Desti Wulan Ramdhini¹⁾, Miftahul Jannah¹⁾

¹⁾Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam As-Syafi'iyah,
Jl. Raya Jatiwaringin No.12, Jaticempaka, Kec. Pondokgede, Kota Bekasi, Jawa Barat, 17411

*Corresponding author: destiwwulan@gmail.com

Abstrak

Dendrobium merupakan salah satu genus terbesar ketiga dari famili *Orchidaceae*. Antara spesies *Dendrobium* satu dengan yang lain memiliki perbedaan yang menunjukkan keunikan atau ciri khas masing-masing, diantaranya perbedaan dari segi morfologi. Namun, penggunaan karakteristik morfologi untuk menentukan kekerabatan kurang optimal. Hal ini dikarenakan karakteristik morfologi tumbuhan sangatlah bervariasi serta dapat berubah tergantung kondisi lingkungan. Karena itu, karakterisasi berdasarkan molekuler perlu dilakukan untuk menganalisis hubungan kekerabatan secara tepat dan akurat. ITS merupakan salah satu penanda molekuler DNA yang sering digunakan oleh para ahli karena ITS memiliki beberapa keunggulan untuk analisis filogenetik.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat kekerabatan dari beberapa jenis *Dendrobium* berdasarkan sekuen ITS menggunakan analisis filogenetik dari software MEGA X dengan input data dari gen bank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Sample yang digunakan adalah nukelotida 10 jenis *Dendrobium* yaitu, *Dendrobium bellatulum*, *Dendrobium aduncum*, *Dendrobium candidum*, *Dendrobium aphyllum*, *Dendrobium brymerianum*, *Dendrobium nindii*, *Dendrobium secundum*, *Dendrobium thyrsoflorum*, *Dendrobium macrophyllum*, dan *Dendrobium anosmum*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rekonstruksi pohon filogenetik *Dendrobium* menggunakan *outgroup Renanthera matutina* dari famili *Orchidaceae* terbagi menjadi dua klad utama. Klad I terdiri dari 8 jenis yaitu, *D. aphyllum*, *D. anosmum*, *D. aduncum*, *D. candidum*, *D. brymerianum*, *D. bellatulum*, *D. thyrsoflorum* dan *D. secundum*. Jenis-jenis ini bersatu yang didukung dengan nilai *bootstrap* 100. Kemudian Klad II terdiri dari 2 jenis yaitu, *D. nindii* dan *D. macrophyllum*. Dua jenis ini bersatu yang didukung dengan nilai *bootstrap* 91. Hasil analisis kekerabatan ini menunjukkan pengelompokan jenis *Dendrobium* berdasarkan kesamaan genetik.

Kata kunci: *Dendrobium*, Filogenetik, ITS rDNA

Abstract

Dendrobium is one of the third largest genera of the *Orchidaceae* family. There are differences between *Dendrobium* species that show the uniqueness or characteristics of each, including differences in morphology. However, the use of morphological characteristics to determine kinship is less than optimal. This is because the morphological characteristics of plants vary widely and can change depending on environmental conditions. Therefore, molecular-based characterization needs to be done to analyze relationship relationships precisely and accurately. ITS is one of the molecular markers of DNA that is often used by experts because ITS has several advantages for phylogenetic analysis.

This study aims to see the relationship between several types of *Dendrobium* based on ITS sequences using phylogenetic analysis from MEGA X software with input data from the NCBI

(National Center for Biotechnology Information) gene bank. The samples used were 10 types of *Dendrobium* nucleotides, namely, *Dendrobium bellatulum*, *Dendrobium aduncum*, *Dendrobium candidum*, *Dendrobium aphyllum*, *Dendrobium brymerianum*, *Dendrobium nindii*, *Dendrobium secundum*, *Dendrobium thyrsoflorum*, *Dendrobium anmumhyllum*, and *Dendrobium macrophyllum*.

The results of this study indicate that the reconstruction phylogenetic trees of *Dendrobium* using the *Renanthera matutina* outgroup of the *Orchidaceae* family is divided into two main clades. Clad I consists of 8 types, namely, *D. aphyllum*, *D. anosmum*, *D. aduncum*, *D. candidum*, *D. brymerianum*, *D. bellatulum*, *D. thyrsoflorum* and *D. secundum*. These types are united which are supported with a bootstrap value of 100. Then Klade II consists of 2 types, namely, *D. nindii* and *D. macrophyllum*. These two species are united which is supported by a bootstrap value of 91. The results of this kinship analysis show the grouping of *Dendrobium* species based on genetic similarities.

Keyword: *Dendrobium*, Phylogenetic, ITS rDNA

PENDAHULUAN

Dendrobium merupakan salah satu genus dari famili *Orchidaceae* terbesar ketiga yang mencapai sekitar 1184 spesies di dunia. Di Indonesia genus anggrek ini merupakan kekayaan sumber daya genetik yang banyak terdapat di kawasan Timur, seperti Papua dan Maluku. Sumber daya genetik tersebut belum dimanfaatkan secara optimal sebagai tetua dalam persilangan untuk menghasilkan keturunan yang memiliki karakteristik sesuai dengan yang diinginkan konsumen (Widiastoety, Solvia, dan Soedarjo, 2010).

Antara spesies *Dendrobium* satu dengan yang lain tentu memiliki perbedaan yang menunjukkan keunikan atau ciri khas masing-masing, diantaranya perbedaan dari segi morfologi. Namun, penggunaan karakteristik morfologi untuk menentukan kekerabatan dirasakan kurang akurat. Banyak perdebatan mengenai pengelompokan tersebut. Hal ini dikarenakan karakter morfologi tumbuhan sangat bervariasi. Kelemahan dari analisis hubungan kekerabatan berdasarkan morfologi adalah penanda ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan (Farooq dan Azam, 2002).

Karena keterbatasan karakteristik morfologi tersebut dibutuhkan karakter lain yang dapat mendukung sistematika anggrek yaitu karakter molekuler (Zulfahmi, 2013). Penanda molekuler merupakan segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. Karena berkaitan dengan materi genetik, tingkat akurasi penanda molekuler lebih sesuai dalam menghasilkan pola kekerabatan. Karakterisasi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan anggrek *Dendrobium* sangat penting untuk keberlanjutan konservasi dan meningkatkan kegunaan dari sumber genetik tanaman (Wang et al., 2009).

Pada penelitian ini yang digunakan adalah sekuen ITS (*Internal Transcribed Spacer*). ITS merupakan salah satu penanda molekuler DNA yang sering digunakan oleh para ahli untuk menganalisis kekerabatan pada tumbuhan, baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan rendah. Menurut (Baldwin *et al.* 1995). ITS memiliki beberapa keunggulan untuk analisis filogenetik, diantaranya yaitu letaknya yang berulang-ulang di sepanjang DNA genom, mudah mengalami mutasi sehingga dapat menunjukkan variasi sikuen yang dapat membantu menentukan pola kekerabatan, dan berukuran kecil yaitu kurang dari 700 pasang basa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat kekerabatan dari beberapa jenis *Dendrobium* berdasarkan sekuen ITS menggunakan analisis filogenetik dari software MEGA X dengan input data dari gen bank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

MATERIAL DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop dan ATK. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sample nukleotida dari beberapa jenis *Dendrobium* dari Gen Bank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Berikut sample nukleotida 10 jenis *Dendrobium* yang diambil dari Gene Bank:

Tabel 1. Data sample kultivar *Dendrobium* dari GeneBank

No	Nama kultivar	GeneBank accession number	Panjang sekuen (bp)
1	<i>D. bellatulum</i>	EU592015.1	640
2	<i>D. aduncum</i>	GU339110.1	637
3	<i>D. candidum</i>	KX792017.1	640
4	<i>D. aphyllum</i>	AF355573.1	639
5	<i>D. brymerianum</i>	AF362036.1	640
6	<i>D. nindii</i>	AY239985.1	675
7	<i>D. secundum</i>	AY239993.1	655
8	<i>D. thyrsiflorum</i>	AY240001.1	644
9	<i>D. macrophyllum</i>	AY239979.1	669
10	<i>D. anosmum</i>	EU477499.1	638

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *in silico*. Semua sample yang digunakan diinput langsung dari Gen Bank NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Analisis Filogenetik *Dendrobium*

Data sekuen disejajarkan menggunakan ClustalW 1.6. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan program MEGA X dengan metode Maximum Likelihood menggunakan analisis *bootstrap* 1000.

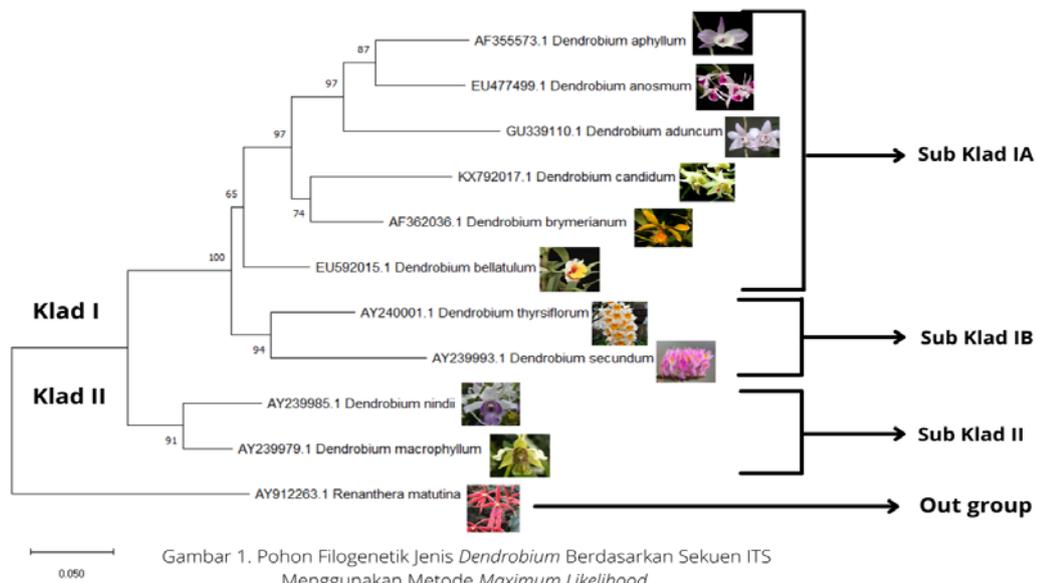
HASIL DAN PEMBAHASAN

Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan *outgroup* yaitu *Renanthera matutina* dari famili *Orchidaceae*. Kladogram dengan metode *Maximum Likelihood* terbagi menjadi dua klad utama (Gambar 1).

Klad I terdiri dari 8 jenis yaitu, *D. aphyllum*, *D. anosmum*, *D. aduncum*, *D. candidum*, *D. brymerianum*, *D. bellatulum*, *D. thyrsiflorum* dan *D. secundum*. Jenis-jenis tersebut bergabung dan didukung dengan nilai *bootstrap* 100 artinya, hubungan kekerabatan dari 8 jenis *Dendrobium* tersebut sangat dekat.

Klad I terbagi menjadi dua sub klad yaitu sub klad IA dan sub klad IB. Sub klad IA terdiri dari *D. aphyllum*, *D. anosmum*, *D. aduncum*, *D. candidum*, *D. brymerianum* dan *D. bellatulum*. Pada *D. aphyllum*, *D. anosmum* dan *D. aduncum* ketiga jenis ini bersatu dan didukung dengan nilai *bootstrap* 97 yang berarti ketiganya memiliki hubungan kekerabatan yang dekat tetapi, *D. aduncum* tidak bersatu dengan *D. aphyllum* dan *D. anosmum* dimungkinkan karena morfologi dari jenis ini berbeda dengan 2 jenis *Dendrobium* tersebut. Jenis *D. aphyllum*, dan *D. anosmum* memiliki nilai *bootstrap* 87. Secara morfologi, diameter

bunga ±5cm, sebelum berbunga kedua jenis ini akan merontokan semua daunnya setelah itu bunga muncul serempak, jenis *Dendrobium* ini memiliki pseudobulb yang menebal serta jenis tersebut dikenal memiliki bau yang harum seperti aroma dupa dan sering dikenal dengan sebutan anggrek dupa. Kemudian jenis *D. candidum* dan *D. brymerianum* bersatu dengan nilai *bootstrap* 74, kedua jenis ini hanya bisa tumbuh di tempat yang dingin. Selanjutnya jenis *D. bellatulum* memiliki nilai *bootstrap* 64 serta tidak bersatu dengan ke 5 jenis *Dendrobium* lainnya dimungkinkan bahwa *D. bellatulum* hanya sedikit memiliki kesamaan karakteristik dan morfologi dengan ke 5 jenis *Dendrobium* yang lain.



Sub klad IB terdiri dari jenis *D. thyrsoiflorum* dan *D. secundum*. kedua jenis ini bersatu dengan nilai *bootstrap* 94. Kedua jenis *Dendrobium* ini memiliki tinggi tanaman yang tidak jauh berbeda sekitar 41-60 cm (L.C. De. 2015), dan ciri khasnya yaitu memiliki bunga bergerombol dari dekat ujung batang, serta batang yang menggantung ke bawah.

Klade II hanya terbagi satu sub klad yaitu jenis *D. nindii* dan *D. macrophyllum*. Kedua jenis *Dendrobium* tersebut merupakan salah dua spesies papan atas endemik Indonesia paling Timur-Papua. Maka dari itu kedua jenis tersebut bersatu dengan nilai *bootstrap* 91. Habitat dari kedua jenis *Dendrobium* ini adalah tempat panas dan biasa tumbuh di hutan-hutan bakau tepi pantai. Persamaan karakteristik antara dua jenis tersebut antara lain bentuk bunganya bertanduk, petal bunga oval serta bentuk ujung petal lancip dan bentuk labellum sama. Kedua jenis tersebut sangatlah mirip apabila dilihat sekilas namun, perbedaan yang mencolok yaitu pada warna bunganya. Warna bunga dari *D. nindii* putih dan labellumnya berwarna ungu, sedangkan jenis *D. macrophyllum* memiliki bunga warna kehijauan dan labellumnya berwarna ungu kemerahan.

KESIMPULAN

Berdasarkan studi filogenetik 10 jenis *Dendrobium* berdasarkan sekuen ITS menggunakan analisis *Maximum Likelihood* menghasilkan dua klade utama. Klade I terdiri dari 8 jenis yaitu, *D. aphyllum*, *D. anosmum*, *D. aduncum*, *D. candidum*, *D. brymerianum*, *D. bellatulum*, *D. thyrsoiflorum* dan *D. secundum*. Jenis-jenis ini bersatu yang didukung dengan nilai *bootstrap* 100. Kemudian Klade II terdiri dari 2 jenis yaitu, *D. nindii* dan *D. macrophyllum*. Dua jenis ini bersatu yang didukung dengan nilai *bootstrap* 91. Hasil analisis

kekerabatan ini menunjukkan pengelompokan jenis *Dendrobium* berdasarkan kesamaan genetik.

REFERENSI

- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ. 1995. *The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiospermae phylogeny*. Annals of the Missouri Botanical Garden 82(2): 247-277.
- Farooq, S., and F. Azam. 2002. Molecular Markers in Plant Breeding-I: Concepts and Characterization. Pakistan Journal of Biological Sciences. 5 (10): 1135-1140.
- L.C. De, A.N. Rao, P.K. Rajeevan, Manoj Srivastava, Geetamani Chhetri. 2015. *Morphological Characterization In Dendrobium Spesies*. Journal Of Global Bioscience. Vol. 4 (1), : 1198-1215.
- Wang, H.Z., Feng S., Lu, J., Shi, N., Liu, J. 2009. Phylogenetic study and molecular identification of 31 *Dendrobium* species using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Scientia Horticulturae. 8 (6): 1-8
- Widiastoety, D., Solvia N. dan Soedarjo, M. 2010. *Potensi Anggrek Dendrobium dalam Meningkatkan Variasi dan Kualitas Anggrek Bunga Potong*. Jurnal Litbang Pertanian. 29 (3): 101- 106.
- Zulfahmi. (2013). *Penanda DNA untuk Analisis Genetik Tanaman*. Jurnal Agroteknologi, 3 (2), hlm. 41-52.