

Analisis Filogenetik Genus *Alocasia***(*Filogenetic Analysis of Genus Alocasia*)**

Azalia Sheehan Darupamenang*, Beivy J Kolondam, Nio Song Ai, Trina E Tallei

Program Studi Biologi, Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*Email korespondensi: azalia.sheehan@yahoo.co.id

(Article History: Received July 15, 2022; Revised August 20, 2022; Accepted August 31, 2022)

ABSTRAK

Alocasia (Araceae) merupakan tumbuhan yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena dapat dimakan dan dijadikan sebagai tanaman hias, salah satunya yaitu *Alocasia Jacklyn*. Informasi mengenai tumbuhan ini masih sangat sedikit. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi dan merekonstruksi pohon filogenetik *Alocasia Jacklyn* menggunakan DNA barcode gen *matK* dan *rbcL*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Alocasia Jacklyn* termasuk genus *Alocasia*. Analisis variasi sekuens gen *rbcL* menunjukkan adanya perbedaan 4-7 nukleotida dengan spesies kerabat terdekatnya dan perbedaan 6-15 nukleotida dengan spesies kerabat terjauh. Analisis sekuens gen *matK* menunjukkan tidak ada perbedaan basa nukleotida dengan spesies kerabat terjauhnya, akan tetapi terdapat perbedaan 21 nukleotida dengan spesies kerabat terjauhnya. Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa *Alocasia Jacklyn* yang menggunakan penanda gen *rbcL* menunjukkan bahwa, *Alocasia Jacklyn* berkerabat dekat dengan *Alocasia macrorrhizos* yang posisinya ditunjukkan pada pohon filogenetik, menggunakan *matK* menunjukkan bahwa, *Alocasia Jacklyn* berkerabat dekat dengan *Alocasia longiloba* dan menggunakan gen gabungan dari *rbcL-matK* menunjukkan bahwa *Alocasia Jacklyn* berkerabat dekat dengan *Alocasia macrorrhizos* dan semuanya termasuk dalam kelompok monofiletik dengan sesama genus *Alocasia* karena berasal dari keturunan yang sama. Kata kunci: Variasi sekuens; Filogenetik; Monofiletik; Gen *matK*; Gen *rbcL*; *Alocasia Jacklyn*

ABSTRACT

Alocasia (famili: Araceae) is a genus of plants with economic value because they can be eaten and some of them are known as decorative plants, such as *Alocasia Jacklyn*. The information about *Alocasia Jacklyn* is still very limited. This study aimed to identify and reconstruct phylogenetic trees of *Alocasia Jacklyn* using the DNA barcode of *matK* and *rbcL* genes. Analysis of variations sequences of *rbcL* genes indicated of there was a difference of 4-7 nucleotides with the nearest relative but had a difference of 21 nucleotides with the farthest relative. The result of phylogenetic tree construction indicated there *Alocasia Jacklyn* is based on *rbcL* are siblings with *Alocasia macrorrhizos* in the position of phylogenetic tree, using *matK* indicated there *Alocasia Jacklyn* was closely related with *Alocasia longiloba* and using a combination of *rbcL-matK* genes indicated there *Alocasia Jacklyn* was siblings with *Alocasia macrorrhizos* and all of them included in the monophyletic group from the same genus of *Alocasia* because they're from the same ancestry.

Keywords: Variations sequences; Phylogenetic; Monophyletic; *matK* gene; *rbcL* gene; *Alocasia Jacklyn*

PENDAHULUAN

Keanekaragaman jenis flora di Indonesia tersebar dari sabang sampai Merauke. Salah satu jenis flora yang banyak tumbuh tetapi sedikit diketahui manfaatnya oleh masyarakat ialah famili Araceae. Famili Araceae tersebar di seluruh pulau di Indonesia, yaitu Kalimantan (297 spesies), Sumatera (159 spesies), Sulawesi (49

spesies), dan Jawa (67 spesies) (Maretni *et al.* 2017).

Araceae memiliki banyak manfaat. Bagian umbinya memiliki karbohidrat yang sangat tinggi yang tersusun atas *amilum* (amilosa dan amilopektin) (Bago 2020). Jenis yang dapat dimakan antara lain talas (*Colocasia esculenta*) dan porang (*Amorphophallus muelleri*) (LIPI 2020).

Araceae juga dimanfaatkan sebagai tanaman hias karena memiliki daun dan bunga yang indah (Kurniawan dan Asih 2012). Beberapa diantaranya berasal dari jenis *Caladium*, *Aglaonema*, *Alocasia*, *Xanthosoma*, *Homalomena* dan *Spathiphyllum* (Hartanti et al. 2020). *Araceae* juga dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan misalnya untuk mengobati kejang, demam, asma, patah tulang, dan sakit kepala (Sulaiman dan Mansoor 2002).

Filogenetik merupakan kajian sejarah evolusi berdasarkan prinsip-prinsip nenek moyang dan keturunan yang sama (Ziemert dan Jensen 2012). DNA *barcode* dapat digunakan untuk merekonstruksi pohon filogenetik dengan menggunakan gen pengkode standar yang telah direkomendasikan oleh CboL (*Consorsium Barcode of Life*) yaitu *rbcL* (*ribulose- 1,5-biphosphate carboxylase oxygenase*) dan *matK* (*maturase K*) (Lawodi et al. 2013). Beberapa penelitian lebih banyak menggunakan gen *matK* dibandingkan *rbcL*. Hal ini dikarenakan bahwa, walaupun gen *matK* sulit untuk diamplifikasikan namun memberikan resolusi yang lebih tinggi di bandingkan dengan gen *rbcL* (Hollingsworth et al. 2011). Gen *matK* juga dinilai lebih akurat dalam mengidentifikasi karena dapat membedakan sampai pada tingkat spesies sedangkan gen *rbcL* hanya dapat membedakan sampai pada tingkat genus (Lawodi et al. 2013; Kolondam 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai posisi tanaman *Alocasia* Jacklyn, yang diklaim merupakan jenis baru yang ditemukan di Sulawesi Utara dan belum memiliki nama spesies. Selain itu juga, penelitian ini berdampak tidak langsung pada upaya konservasi tanaman ini. Apabila tidak ada upaya konservasi maka, populasi dari tanaman *Alocasia* Jacklyn akan menurun bahkan mungkin punah di habitat aslinya. Oleh karena itu pengetahuan mengenai kekerabatan dari tumbuhan ini penting dilakukan agar bisa dianalisis manfaatnya untuk penelitian lebih lanjut.

METODE

Spesimen *Alocasia* Jacklyn diperoleh dari toko niaga elektronik. Penelitian dilakukan mulai bulan November 2021 hingga Februari 2022. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gunting, mikropipet, *termoblock*, *freezer*, ultrasentrifugasi, *vortex*, PCR TPersonal (Bimetra), tangki elektroforesis, *gel casting trays*, *combs*, *UV – Transluminator*, *power supply*, *marker* dan komputer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman *Alocasia* Jacklyn, plastic sampel, label, alkohol 70%, tips mikropipet, tabung Eppendorf, *microtube* untuk PCR, Ekstraksi menggunakan Quick DNA Plant/Seed Miniprep Kit (Zymo Research, D6020), 2x MyTaq HS red Mix (Bioline, BIO-25048), PCR primer *rbcL* & *matK*, *buffer* TBE, 100 bp DNA *Ladder*, akuades (ddH₂O), gel agarose, sarung tangan, dan masker. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah DNA *barcoding*.

Pengambilan data dilakukan dengan menggunakan proses ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan Teknik PCR, Elektroforesis DNA. Amplicon disekuensing dan hasilnya berupa elektroferogram, diedit menggunakan *geneious*. Hasil yang berupa sekuens DNA dianalisis basic local alignment search tool (BLAST) (Altschul et al. 1990), untuk pencarian sekuens yang memiliki kemiripan. Penjajaran sekuens dilakukan pada situs Multalin (<http://www.sacs.ucsf.edu/cgi-bin/multalin.py>) untuk penjajaran sekuens (Corpet 1988). Analisis filogenetik dilakukan menggunakan MEGA11 (Tamura et al. 2021).

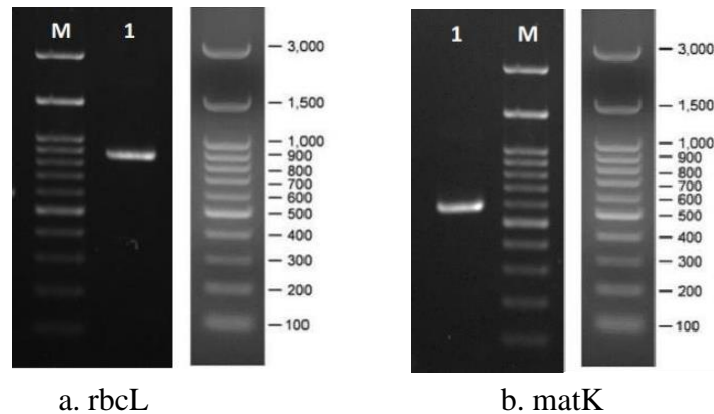
HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi DNA *Barcode*

Amplifikasi gen *matK* dan *rbcL* menggunakan sampel *Alocasia* Jacklyn berhasil dilakukan. Hal ini dikarenakan primer *matK* maupun *rbcL* menempel dengan sangat baik pada gen *matK* dan *rbcL* sampel sehingga saat dilakukan elektroforesis, pola pita yang dihasilkan terlihat sangat jelas (Gambar 1). Kualitas

DNA yang baik ditunjukkan dengan pita DNA yang terang sehingga layak untuk di sekuensing. Hakim (2014) melaporkan, DNA yang memiliki kualitas baik tersebut

layak dijadikan sebagai cetakan untuk amplifikasi dengan menggunakan Teknik PCR.



Gambar 1. a. Hasil elektroforesis DNA gen *rbcL* dan DNA target 800 bp dan 900 bp.
b. Hasil elektroforrsis DNA gen *matK* dan DNA target 500 bp dan 600 bp.

Hasil Sekuensing Gen *rbcL*

Berdasarkan hasil sekuens, diketahui bahwa spesies *Alocasia Jacklyn* memiliki hubungan kekerabatan dengan beberapa genus selain *Alocasia* yaitu *Pinellia*, *Colocasia*, *Typhonium*, *Arum*, *Dracunculus*, *Stuednera*, dan juga *Arisaema*. Sekuens tanaman *Alocasia Jacklyn* yang disejajarkan dengan spesies dari masing-masing genus terbagi menjadi 5 kelompok dengan perbedaan nukleotida keseluruhannya yaitu pada 31 titik dengan urutan basa nomor 9, 16, 23, 31, 38, 51, 66, 87, 122, 135, 136, 164, 166, 241, 244, 262, 281, 282, 288, 358, 361, 362, 406, 421, 496, 541, 563, 564, 580, 583, & 586.

Hasil Sekuensing Gen *matK*

Berdasarkan hasil sekuens, tanaman *Alocasia Jacklyn* memiliki hubungan kekerabatan selain dengan Genus *Alocasia* juga dengan Genus *Leucocasia* dan *Arisaema*. Sekuens tanaman *Alocasia Jacklyn* yang disejajarkan dengan spesies dari masing-masing genus terbagi menjadi 9 kelompok. Perbedaan nukleotida keseluruhannya terdapat pada 38 titik dengan urutan basa nomor 28, 96, 111, 156, 163,

201, 202, 205, 239, 254, 255, 258, 259, 284, 296, 326, 345, 344, 346, 372, 419, 469, 510, 522, 531, 559, 570, 575, 577, 610, 631, 649, 685, 688, 718, 748, 794, 802.

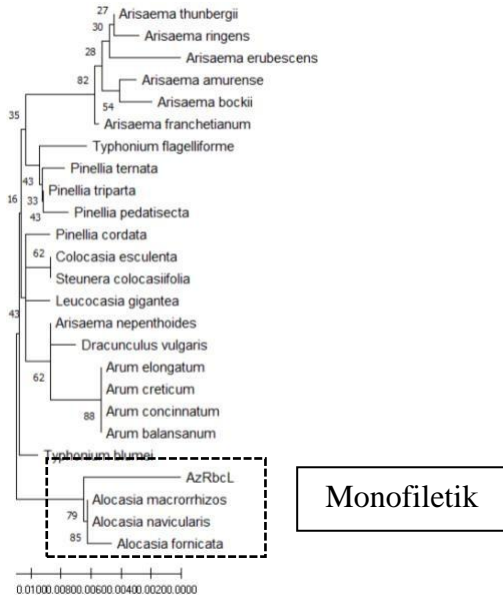
Hasil Sekuens Gen Rangkaian (*rbcL-matK*)

Sekuens gabungan dari tanaman *Alocasia Jacklyn* dilakukan dengan metode *concatenation* (rangkaiannya) (Weirsrock *et al.* 2012). Sekuens hasil rangkaian disejajarkan dengan spesies dari masing-masing genus dengan menggunakan sekuens rangkaian *rbcL* dan *matK* menunjukkan adanya perbedaan basa nukleotida yang terdapat pada 19 titik dengan urutan basa nomor 28, 156, 163, 201, 202, 205, 259, 284, 345, 346, 372, 468, 473, 522, 531, 577, 688, 708, dan 802.

Hasil Rekonstruksi Pohon Filogenetik Gen *rbcL*

Gambar 2 menunjukkan pohon filogenetik yang direkonstruksi menggunakan gen *rbcL* dengan model UPGMA dengan berdasarkan metode Kimura's 2-parameter (Kimura 1980). Filogeni menunjukkan perjalanan makhluk hidup yang berevolusi dari satu nenek

moyang. Pohon filogenetik juga menunjukkan adanya spesies yang berkerabat dekat satu sama lain, dan juga yang berkerabat jauh.

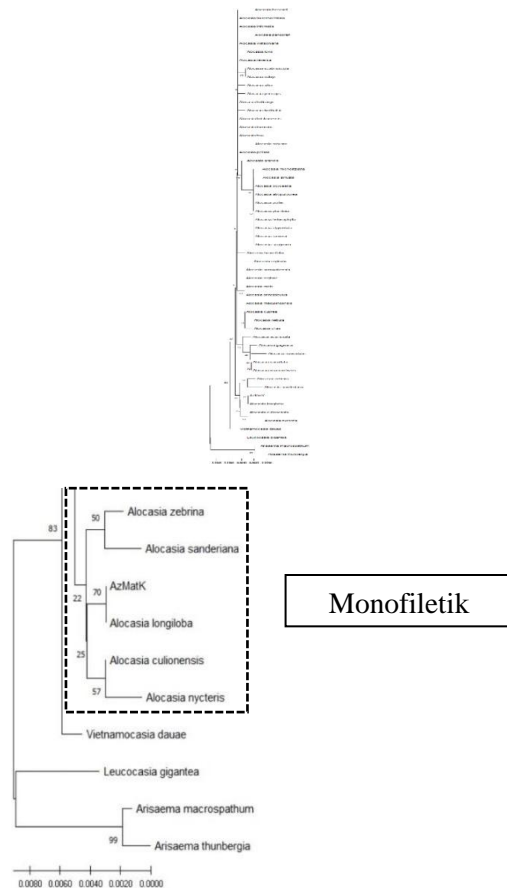


Gambar 2. Pohon filogenetik *rbcL* *Alocasia* Jacklyn yang dibangun dengan model UPGMA dalam software MEGA11. Bootstrap dilakukan sebanyak 100 kali replikasi. Jarak genetic menggunakan metode Kimura-2-parameter.

Posisi AzRbcL (*Alocasia* Jacklyn) berada dalam satu *cluster* (kelompok) yang sama namun dari cabang yang berbeda dengan spesies *Alocasia macrorrhizos*, *A. navicularis* dan *A. fornicata*. Ini menandakan bahwa keempat spesies tersebut berkerabat dekat, dan bersifat monofiletik. Kelompok monofiletik merupakan sekumpulan taksa yang berasal dari taksa tunggal (satu nenek moyang), yang mencakup semua taksa yang diturunkan dari satu tetua yang sama, serta tetua itu sendiri (Slobodian dan Pastana 2020).

Hasil Rekonstruksi Pohon Filogenetik Gen *matK*

Alocasia Jacklyn (*AzMatK*) berada satu kelompok yang sama dengan spesies *A. longiloba*. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua spesies ini merupakan kerabat dekat. *Alocasia* Jacklyn juga masih berkerabat dekat dengan *A. culionensis* dan *A. nycteris* yang berada pada satu kelompok yang sama tetapi pada cabang yang berbeda. *A. zebrina* dan *A. sanderiana* berkerabat dekat dan berada dalam batang pohon yang sama, sehingga termasuk dalam kelompok monofiletik (Gambar 3).



Gambar 3.a. Pohon filogenetik *matK* *Alocasia* Jacklyn yang dibangun dengan metode UPGMA dalam software MEGA11. Bootstrap dilakukan untuk 1000 kali replikasi pohon, dan jarak genetic menggunakan metode Kimura-2-parameter. b. perbesaran pohon filogenetik *matK*

Jacklyn berkerabat dekat dengan *A. macrorrhizos* (jarak genetik 0.005).

DAFTAR PUSTAKA

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW dan Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215: 403-410
- Corpet F (1988) Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic acids research*, 16(22), 1088-10890.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Demkow U, Ploski R (2016) *Clinical Applications for Next-Generation Sequencing*. Academic Press, UK.
- Hakim AA (2014) Identifikasi Molekuler Undur-Undur Laut dari Perairan Pantai Cilacap Berdasarkan Marka Gen *Cytochrome Oxidase* Subunit I (COI) [Skripsi]. Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan FPIK, IPB, Bogor.
- Hartanti REDP, Gumiri S, Sunariyati S (2020) Keanekaragaman dan Karakteristik Habitat Tumbuhan Famili *Araceae* di Wilayah Kecamatan Jekan Raya Kota Palangka Raya. [Jurnal] Magister Pendidikan Biologi FP, UNPAR, Palangka Raya.
- Hollingsworth PM, Little DP (2011) Choosing and using a plant DNA barcode. *PloS ONE* 6(5): e19254
- Kurniawan A, Asih NPS (2012) *Araceae di Pulau Bali*. E-book. Jakarta. LIPI-Press.
- Kolondam BJ, Lengkong E, Mandang J, Pinaria A, Runtunuwu S (2013) Barcode DNA *Anthurium* Gelombang Cinta) *Anthurium plowmanii* berdasarkan gen *rbcL* dan *matK*. *Jurnal bioslogos*. 3(1): 17-25.
- Lawodi EN, Tallei TE, Mantiri FR, Kolondam BJ (2013) Variasi genetik tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi berdasarkan gen *matK* *Pharmacon* 2(4): 114 s/d 121.
- LIPI (2020) Potensi dan Popularitas *Araceae* di Masa Pandemi.
<http://lipi.go.id/berita/%20Potensi%20dan%20Popularitas%20Araceae%20di%20Masa%20Pandemi/22143> [06 November 2021]
- Maretni S dan Mukarlina MT (2017) Jenis-jenis Tumbuhan Talas (*Araceae*) di Kecamatan Rasau Jaya Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*. 6(1): 52.
- Slobodian V, Pastana MNL (2020) Monophyletic, In: Vonk, J., Shackelford, T. (eds) *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_1182-1
- Sulaiman B dan Mansoor M (2002) *Medicinal Aroids Conservation: A Case Study Of Floral Garden, School Of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia*. Proceedings of The 4 'IMT-GT UNINET Conjerence. Pp: 216-2019.
- Tallei TE dan BJ Kolondam (2016) DNA barcoding of Sangihe Nutmeg (*Myristica fragrans*) using *matK* gene. *HAYATI Journal of Biosciences* 22(1): 41-47.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11,

Molecular Biology and Evolution 38(7)
3022-3027.

<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Weisrock DW, Smith SD, Chan LM, Biebouw K, Kappeler PM, dan Yoder AD (2012) Concatenation and concordance in the reconstruction of mouse lemur phylogeny: an empirical demonstration of the effect of the allele sampling in phylogenetics. *Molecular biology and evolution*, 29(6), 1615-1630.

<https://doi.org/10.1093/molbev/mss008>