

HUBUNGAN KEKERABATAN BAMBU BERDASARKAN GEN *rbcl* BERBASIS ANALISIS *IN SILICO* SEBAGAI BUKTI ADANYA EVOLUSI MOLEKULER

Ika Hanifatul Masruroh¹, Nadya Ismi Putri Triesita², Sulistiono³, Agus Muji Santoso⁴

Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Nusantara PGRI Kediri

Email: ikahanifa22@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan bambu menggunakan sekuen gen *rbcl* berbasis *in silico* serta membuktikan evolusi dapat dikaji dengan pendekatan molekuler. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif, dilakukan pada bulan Maret sampai Mei 2018 di Kampus I Universitas Nusantara PGRI Kediri. Bahan penelitian berupa sekuens gen *rbcl* bambu yang diunduh dari laman genbank NCBI. Sekuens gen *rbcl* yang diunduh disejajarkan dengan aplikasi *Notepad*, kemudian dipreparasi menggunakan aplikasi *BioEdit* dan selanjutnya dilakukan konstruksi pohon filogeni dengan aplikasi *Mega 6*. Konstruksi pohon filogeni bambu menggunakan metode statistik *UPGMA*, *Bootstrap method* 1000 kali ulangan dan model pohon *Maximum Composite likelihood*. Hasil konstruksi pohon filogeni dari 14 spesies bambu berdasarkan gen *rbcl*, terbentuk *group* utama dan *out group*. *Group* utama terdiri 10 spesies bambu yang membentuk 2 klaster. Klaster 1 terdiri dari *C. spectabilis* dan *C. liebmannii*. Klaster 2 terdiri dari 8 spesies bambu yang berkerabatan dekat, yaitu *Bambusa bambos*, *B. mutipex*, *B. emiensis*, *Oatea acuminata*, *O. galuca*, *Chusquea spectabilis*, *C. liebmannii*, *Guadua chacoensis*, *G. angustifolia* dan *G. weberbaueri*. *Out group* terdiri dari *Phyllostachys edulis*, *P. nigra*, *Fargesia nitida* dan *F. spathacea*. Pada pohon filogeni masing-masing spesies yang memiliki tingkat kekerabatan paling dekat dikelompokkan pada cabang yang sama. Berdasarkan homologi sekuens gen *rbcl*, spesies bambu yang memiliki genus yang sama belum tentu memiliki kekerabatan yang lebih dekat dibandingkan dengan spesies bambu dari genus yang berbeda. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pengembangan sumber belajar biologi SMA.

Kata Kunci:

gen *rbcl*,
kekerabatan,
bambu,
in silico,
evolusi molekuler

PENDAHULUAN

Bambu adalah tanaman yang masuk ke dalam Poaceae (Tjitrosoepomo, 2007), memiliki keanekaragaman yang tinggi hingga mencapai 1250-1350 jenis (Widjaja dan Karsono, 2004). Menurut Mayasari dan Suryawan (2012) ketersediaan tanaman ini di alam memang melimpah, tetapi pemanfaatannya yang tidak dikelola dengan baik akan mengancam kelestariannya. Tanaman ini memiliki manfaat besar bagi ekonomi

masyarakat dan dimanfaatkan manusia sejak ribuan tahun lalu untuk memenuhi berbagai kebutuhan hidup manusia (Widjaja, 2001). Dewasa ini bambu telah dipromosikan sebagai tanaman konservasi dan sebagai tanaman yang dapat dijadikan solusi permasalahan lingkungan (Balittri, 2011). Menurut Kurniawan (2002) penelitian mengenai hubungan kekerabatan tanaman dan karakteristik tingkat genetik sangat dibutuhkan untuk kegiatan pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah.

Analisis kekerabatan tanaman dapat menggunakan karakter molekuler berupa sekuens DNA yang dapat mengatasi kelemahan data morfologi yang diketahui memiliki keterbatasan dan cenderung dipengaruhi lingkungan (Suparman 2012). Menurut Julisaniah (2008) karakter molekuler lebih efektif dan memberikan data yang lebih akurat terhadap karakter-karakter yang ada. Karakter molekuler tumbuhan dapat diambil dari sekuens DNA kloroplas dan mitokondria (Suparman 2012).

Consortium Barcode of Life (2009) merekomendasikan gen *rbcL* sebagai barcode tumbuhan dan analisis kekerabatan tumbuhan. Gen *rbcL* merupakan gen yang terdapat pada organel kloroplas. Menyandi subunit besar enzim fotosintesis ribulosa 1,5-bifosfat karboksilase/oksiginase (*RuBisKo*) dan akseptor karbon utama pada semua eukariotik fotosintetik dan sianobakteria (Bhattacharyya, 2016). Gen *rbcL* memiliki struktur yang stabil, tidak mengalami rekombinasi dan diturunkan secara uniparental, serta laju mutasi dan evolusi sekuens gen *rbcL* sangat lambat dari gen-gen kloroplas lainnya (Basith, 2015).

Evolusi merupakan rangkaian proses perubahan yang terjadi pada makhluk hidup yang berlangsung sedikit demi sedikit dalam jangka waktu yang lama (Arbi, 2012). Semenjak Darwin mengungkapkan teori evolusi pada pertengahan abad ke 18 (Sidharta, 1995), sampai saat ini teori evolusi masih menjadi perdebatan dan menimbulkan pro dan kontra (Saputra, 2017). Terlepas dari perdebatan tersebut, teori evolusi terus mengalami perkembangan. Seiring dengan perkembangan IPTEK pengkajian evolusi dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan. Pengkajian dapat dilakukan dengan pendekatan molekuler, genetika populasi, ekologi, paleontologi dan sistematik (Karmana, 2009).

Pada masa moderen ini kajian evolusi lebih banyak menggunakan pendekatan molekuler, oleh karena itu perlu ditingkatkan pemahaman dan pendalaman terhadap pendekatan evolusi molekuler. Pendekatan evolusi molekuler mengkaji evolusi dari sejarah rekaman urutan DNA atau RNA dan produknya (protein). Evolusi berbasis urutan nukleotida merupakan salah satu bagian evolusi molekuler yang berkaitan dengan terjadinya mutasi, insersi, delesi, dan inversi. Pengkajian evolusi molekuler membutuhkan dukungan berupa data-data molekuler (Karmana, 2009).

Berdasarkan hasil studi pendahuluan di SMAN 5 Kediri, ditemukan beberapa masalah pada materi evolusi, yaitu: (1) siswa belum memahami bahwa pendekatan evolusi dapat dilakukan secara molekuler, (2) guru belum memahami secara mendalam mengenai konsep evolusi molekuler, (3) konten sumber belajar yang digunakan siswa belum mengikuti perkembangan IPTEK, contoh-contoh evolusi yang dimuat hanya menunjukkan evolusi yang terjadi pada morfologi saja dan belum memberikan contoh evolusi molekuler. Berdasarkan latar belakang tersebut perlu sumber belajar yang kontennya mengikuti perkembangan IPTEK yang menjelaskan evolusi molekuler dan memberikan contoh evolusi molekuler.

Menurut Helmi (2016) pembelajaran materi evolusi di sekolah tidak dapat dipandang mudah bagi guru-guru biologi. Hal tersebut terjadi karena berbagai faktor, diantaranya adalah guru kurang memahami materi evolusi dan bahan ajar biologi evolusi sangat minim dan tidak

menarik, materi evolusi adalah materi kontroversi dan masih mengalami penolakan di negara yang berbasis agama. Samapai saat ini, banyak peneliti yang berusaha untuk memecahkan masalah tersebut.

Pengembangan sumber belajar merupakan salah satu tindakan yang dapat dilakukan untuk mengatasi keterbatasan pengetahuan siswa dan guru SMAN 5 Kediri pada materi evolusi, khususnya evolusi molekuler. Menurut Imtihana dkk (2014) pengembangan sumber belajar dari hasil riset bermanfaat memberikan informasi hasil penelitian terbaru dan fakta autentik dari data hasil penelitian. Nuha dkk (2016) berhasil mengembangkan sumber belajar berbasis penelitian untuk mata kuliah evolusi dengan memanfaatkan data hasil penelitian evolusi dan molekuler. Berdasarkan hal tersebut, hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengembangan sumber belajar biologi SMA pada materi Evolusi.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian diskriptif eksploratif, dilakukan pada bulan Maret sampai Mei 2018 di Kampus I Universitas Nusantara PGRI Kediri. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *hardware* berupa perangkat keras laptop Asus X45Y dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) 4 *gigabyte* dengan perangkat komputer meliputi CPU, monitor, *keyborad*, dan *mouse* yang terhubung dengan koneksi internet melalui sinyal *wi-fi*. Digunakan *software* berupa *Microsoft Office Windows 7*, aplikasi *Notepad*, aplikasi DNA *BioEdit* dan aplikasi *MEGA6*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sekuens gen *rbcl* kloroplas bambu yang diunduh dari laman genbank NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Digunakan sekuens gen *rbcl* dari 14 spesies bambu, yaitu *Phyllostachys edulis*, *P. nigra*, *Fargesia nitida*, *F. spathacea*, *Bambusa bambos*, *B. mutipex*, *B. emiensis*, *Otatea acuminata*, *O. galuca*, *Chusquea spectabilis*, *C. liebmannii*, *Guadua chacoensis*, *G. angustifolia* dan *G. weberbaueri* yang diunduh dari laman genbank NCBI. Sekuens gen *rbcl* yang telah diunduh disejajarkan dengan aplikasi *Notepad*, kemudian dipreparasi menggunakan aplikasi *BioEdit* dan selanjutnya dilakukan konstruksi pohon filogeni dengan aplikasi *Mega 6*. Konstruksi pohon filogeni bambu menggunakan metode statistik *UPGMA*, *Bootstrap method* 1000 kali ulangan dan model pohon *Maximum Composite likelihood*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sekuens gen *rbcl* bambu yang berhasil diunduh dari laman genbank NCBI memiliki panjang yang bervariasi. Analisis kekerabatan dapat dilakukan apabila sekuens gen *rbcl* bambu sudah dipreparasi. Dilakukan pensejajaran sekuens gen *rbcl* dari 14 spesies bambu tersebut dengan aplikasi *notepad*, kemudian dilakukan preparasi sekuen gen *rbcl* dengan aplikasi *BioEdit* untuk mendapatkan panjang sekuen gen yang sama. Hasil preparasi 14 spesies bambu didapatkan panjang sekuen gen *rbcl* yang sama yaitu 1436 bp (**Gambar 1**).

	10	20	30	40	50	60
<i>G. angustifo</i>	ATGTCACCCACAAACAGAAACTAAAGCAAGTGTGGATTTAAAGCTGGTGTAAAGGATTAT					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>					
<i>P. nigra</i>					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>					
<i>F. nitida</i>					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>					

	70	80	90	100	110	120
<i>G. angustifo</i>	AAATTGAATTACTACACCCCGGAGTATGAAACCAAGGATACGATATCTTGGCAGCATTC					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>C.....					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>C..T.....					
<i>B. emeiensis</i>C.....					
<i>O. acuminata</i>C.....					
<i>P. nigra</i>C..T.....					
<i>B. multiplex</i>C.....					
<i>B. bambos</i>C.....					
<i>C. liebmanni</i>C.....T					
<i>F. nitida</i>C..T.....					
<i>C. spectabil</i>C.....A.....					
<i>F. spathacea</i>C..T.....					

	130	140	150	160	170	180
<i>G. angustifo</i>	CGAGTAACTCCTCAGCCGGGGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGGGCTGCAGTAGCTGCCGAA					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>C.....					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>C.....					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>C.....					
<i>P. nigra</i>C.....					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>					
<i>F. nitida</i>C.....					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>C.....					

	190	200	210	220	230	240
<i>G. angustifo</i>	TCTTCTACTGGTACATGGACAACGTTTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTAC					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>					
<i>P. nigra</i>					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>					
<i>F. nitida</i>					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>					

	250	260	270	280	290	300
<i>G. angustifo</i>	AAAGGACGATGCTATCACATCGAGCCCGTTGTTGGGGAGGAAAAATCAATATATCGGTAT					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>G.....T.....					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>					
<i>P. nigra</i>G.....T.....					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>T.....					
<i>F. nitida</i>G.....T.....					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>G.....T.....					

	310	320	330	340	350	360
<i>G. angustifo</i>	GTAGCTTATCCATTAGACCTATTTGAAGAGGGTTCTCTTACTAACATGTTTACTTCCATT					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>					
<i>P. nigra</i>					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>					
<i>F. nitida</i>					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>					

	370	380	390	400	410	420
<i>G. angustifo</i>	GTGGGTAACGTATTTGGTTTCAAAGCCCTACCGCTCTACGCTGGAGGATCTGCGAATT					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>					
<i>B. emeiensis</i>					
<i>O. acuminata</i>					
<i>P. nigra</i>					
<i>B. multiplex</i>					
<i>B. bambos</i>					
<i>C. liebmanni</i>					
<i>F. nitida</i>					
<i>C. spectabil</i>					
<i>F. spathacea</i>					

	430	440	450	460	470	480
<i>G. angustifo</i>	CCCAC TACTTATTCAAAAAC TTTCCAAGG TCCGCC TCA TGGTATCCAAG TTGAAAGGGAT					
<i>G. chacoensi</i>					
<i>O. glauca</i>C.....					
<i>G. weberbaue</i>					
<i>P. edulis</i>C.....					
<i>B. emeiensis</i>T.....					
<i>O. acuminata</i>C.....					
<i>P. nigra</i>C.....					
<i>B. multiplex</i>T.....					
<i>B. bambos</i>T.....					
<i>C. liebmanni</i>G.....					
<i>F. nitida</i>C.....					
<i>C. spectabil</i>G.....					
<i>F. spathacea</i>C.....					

	490	500	510	520	530	540
<i>G. angustifo</i>	AAAGTTGAACAAGTACGGCCGT	CCTTTTTTGGGATGTACTATTA	AAACCAAAATGGGATTA			
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>
<i>B. multiplex</i>
<i>B. bambos</i>
<i>C. liebmanni</i>
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>
<i>F. spathacea</i>
	550	560	570	580	590	600
<i>G. angustifo</i>	TCCGCAAAAATTA	TGGTAGAGCGTGTATGAGTGTCTACGGGTGGACTTGATTTACC				
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>
<i>B. multiplex</i>
<i>B. bambos</i>
<i>C. liebmanni</i>
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>
<i>F. spathacea</i>
	610	620	630	640	650	660
<i>G. angustifo</i>	AAAGATGATGAAAACGTA	AACTCACAACCATTATGCGCTGGAGGGACCGTTTGTCTTT				
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>
<i>B. multiplex</i>
<i>B. bambos</i>
<i>C. liebmanni</i>
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>
<i>F. spathacea</i>
	670	680	690	700	710	720
<i>G. angustifo</i>	TGTGCCGAAGCAATTTATAAAGCACAGGCCGAAACCGGTGAAATCAAGGGGCATTACTTG					
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>
<i>B. multiplex</i>
<i>B. bambos</i>
<i>C. liebmanni</i>
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>
<i>F. spathacea</i>
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>
<i>F. spathacea</i>

```

        670      680      690      700      710      720
G. angustifo  TGTGCCGAAGCAATTATATAAAGCACAGGCCGAAACCGGTGAAATCAAGGGGCATTACTTG
G. chacoensi  .....
O. glauca     .....
G. weberbaue  .....
P. edulis     .....T.
B. emeiensis  .....TC.....
O. acuminata  .....
P. nigra      .....T.
B. multiplex  .....TC.....
B. bambos     .....TC.....
C. liebmanni  .....T.....T.....A.
F. nitida     .....T.
C. spectabil  .....T.
F. spathacea  .....T.
    
```

```

        730      740      750      760      770      780
G. angustifo  AATGCGACTGCAGGTACA-GTCGAAGAAATGATGAAGAGACCTATATTTGCCGAGAGAATT
G. chacoensi  .....
O. glauca     .....T.....T.....G.
G. weberbaue  .....
P. edulis     .....T.....G.
B. emeiensis  .....T.....T.....G.....G.
O. acuminata  .....T.....T.....G.
P. nigra      .....T.....G.
B. multiplex  .....T.....T.....G.....G.
B. bambos     .....T.....T.....G.....G.
C. liebmanni  .....T.....G.
F. nitida     .....T.....G.
C. spectabil  .....A.....T.....G.
F. spathacea  .....T.....G.
    
```

```

        790      800      810      820      830      840
G. angustifo  AGGGGCTCCTATTGTAATGCATGACTACTTAAC TGGGGGATTTACCGCAAATACTAGTTT
G. chacoensi  .....
O. glauca     .....
G. weberbaue  .....
P. edulis     .....T.....C.....C.
B. emeiensis  .....C.....T.
O. acuminata  .....
P. nigra      .....T.....C.....C.
B. multiplex  .....C.....T.
B. bambos     .....G.....C.....T.
C. liebmanni  .....C.
F. nitida     .....T.....C.....C.
C. spectabil  .....T.....C.....T.
F. spathacea  .....T.....C.....C.
    
```

```

        850      860      870      880      890      900
G. angustifo  GGCTCATTATTGCCGCGACAATGGCC TACTTCTT CACATT CACCGGGCAATGCATGCAGT
G. chacoensi  .....
O. glauca     .....
G. weberbaue  .....
P. edulis     .....
B. emeiensis  .....
O. acuminata  .....A.
P. nigra      .....
B. multiplex  .....
B. bambos     .....
C. liebmanni  .....
F. nitida     .....
C. spectabil  .....A.
F. spathacea  .....
    
```

```

          910          920          930          940          950          960
    G. angustifo  TATTGATAGACAGAAAAATCATGGTATGCATTTTCGGTATTAGCTAAAGCATTGCGTAT
    G. chacoensi  .....
    O. glauca     .....
    G. weberbaue .....
    P. edulis     .....
    B. emeiensis  .....
    O. acuminata  .....
    P. nigra      .....
    B. multiplex  .....
    B. bambos     .....
    C. liebmanni  .....
    F. nitida     .....
    C. spectabil  .....
    F. spathacea  .....
  
```

```

          970          980          990          1000         1010         1020
    G. angustifo  GTCTGGGGGAGATCATGTCCACGCCGGTACAGTAGTAGGTAAGTTAGAAGGGGAACGGGA
    G. chacoensi  .....
    O. glauca     .....A.....
    G. weberbaue .....
    P. edulis     .....
    B. emeiensis  .....A.....
    O. acuminata  .....A.....
    P. nigra      .....
    B. multiplex  .....A.....
    B. bambos     .....A.....
    C. liebmanni  .....A.....
    F. nitida     .....
    C. spectabil  .....A.....
    F. spathacea  .....
  
```

```

          1090         1100         1110         1120         1130         1140
    G. angustifo  CGGTGTCTTTTTCACCTCAGGACTGGGTATCCATGCCAGGTGTTATACCGGTGGCTTCAGG
    G. chacoensi  .....
    O. glauca     .....A.....
    G. weberbaue .....
    P. edulis     .....A.....T.....
    B. emeiensis  .....A.....
    O. acuminata  .....A.....
    P. nigra      .....A.....T.....
    B. multiplex  .....A.....
    B. bambos     .....A.....
    C. liebmanni  .....A.....G.....
    F. nitida     .....A.....T.....
    C. spectabil  .....A.....
    F. spathacea  .....A.....T.....
  
```

```

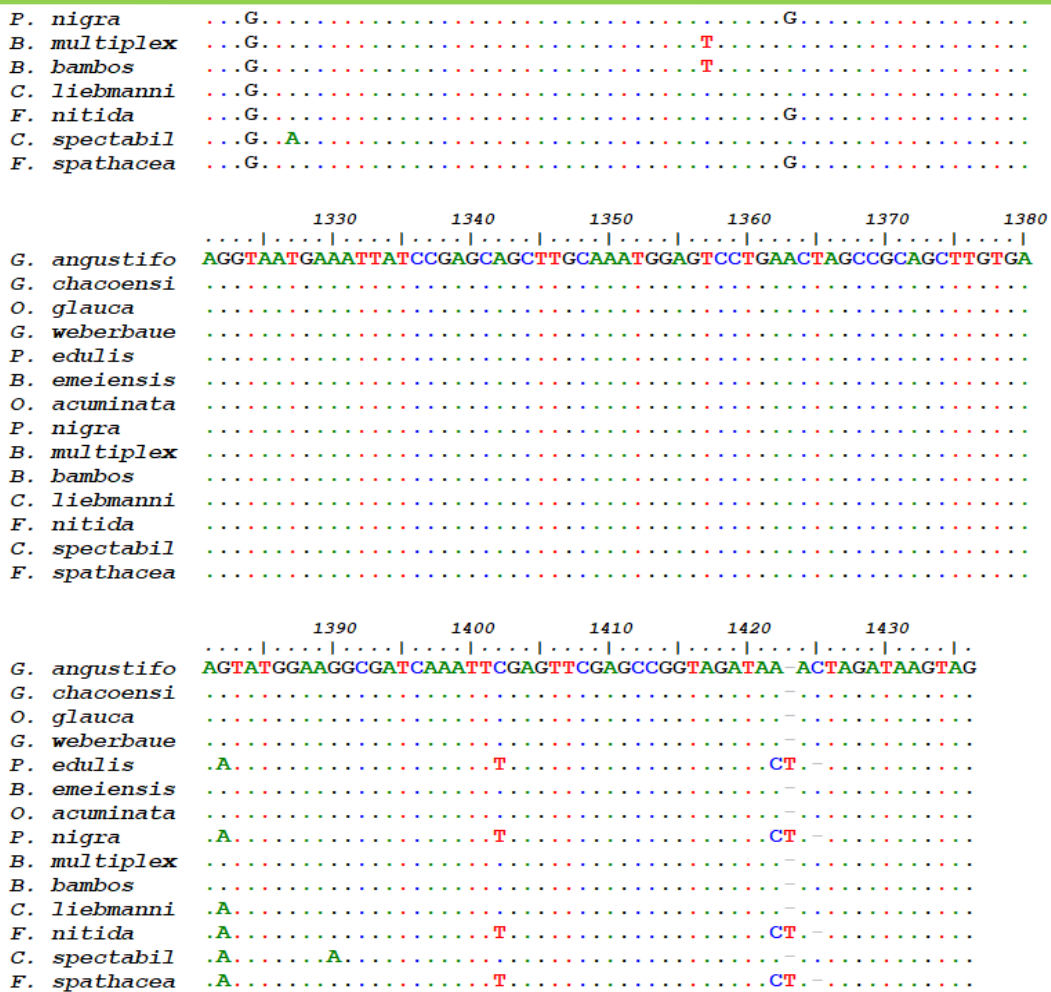
          1150         1160         1170         1180         1190         1200
    G. angustifo  GGGTATTCATGTTTGGCATATGCCAGCTCTGACCGAAATCTTTGGAGATGATCCGTATT
    G. chacoensi  .....
    O. glauca     .....
    G. weberbaue .....
    P. edulis     .....
    B. emeiensis  .....T.....
    O. acuminata  .....
    P. nigra      .....
    B. multiplex  .....T.....
    B. bambos     .....T.....
    C. liebmanni  .....C.....
    F. nitida     .....
    C. spectabil  .....T.....
    F. spathacea  .....
  
```


	1090	1100	1110	1120	1130	1140
<i>G. angustifo</i>	CGGTGTCCTTTTCAC	TCAGGACTGGGTAT	CCATGCCAGGTG	TATACCGGTGGCT	CAGG	
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>A.....
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>A.....T.....
<i>B. emeiensis</i>A.....
<i>O. acuminata</i>A.....
<i>P. nigra</i>A.....T.....
<i>B. multiplex</i>A.....
<i>B. bambos</i>A.....
<i>C. liebmanni</i>A.....G.....
<i>F. nitida</i>A.....T.....
<i>C. spectabil</i>A.....
<i>F. spathacea</i>A.....T.....

	1150	1160	1170	1180	1190	1200
<i>G. angustifo</i>	GGGTATTCATGTTTGG	CATATGCCAGCTCT	GACCGAAATCTTTGG	GAGATGATTCCGTATT		
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>T.....
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>
<i>B. multiplex</i>T.....
<i>B. bambos</i>T.....
<i>C. liebmanni</i>C.....
<i>F. nitida</i>
<i>C. spectabil</i>T.....
<i>F. spathacea</i>

	1210	1220	1230	1240	1250	1260
<i>G. angustifo</i>	ACAAATTTGGTGGAGG	AACTTTAGGACATC	CTTGGGAAATGCAC	CTGGTGCAGCAGCTAA		
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>
<i>B. emeiensis</i>
<i>O. acuminata</i>
<i>P. nigra</i>T.....
<i>B. multiplex</i>
<i>B. bambos</i>
<i>C. liebmanni</i>T.....
<i>F. nitida</i>T.....
<i>C. spectabil</i>T.....
<i>F. spathacea</i>T.....

	1270	1280	1290	1300	1310	1320
<i>G. angustifo</i>	TCGAGTGGCTTTAGA	AAGCTTGTGTACA	AGCTCGTAACGA	AGGACGCGATCTTG	CTCGTGA	
<i>G. chacoensi</i>
<i>O. glauca</i>
<i>G. weberbaue</i>
<i>P. edulis</i>G.....G.....
<i>B. emeiensis</i>G.....T.....
<i>O. acuminata</i>



Gambar 1. Sekuens Gen *rbcl* dari 14 Spesies Bambu

Berdasarkan hasil analisis sekuen gen *rbcl* empat belas spesies bambu, dijumpai perbedaan urutan basa nukleotida. Perbedaan tersebut terjadi karena adanya mutasi. Pada *O. glauca* dan *O. acuminata* terdapat perbedaan hanya pada nukleotida ke-886. Terjadi mutasi transisi pada *O. acuminata* dimana G (Guanine) menjadi A (Adenine). Pada tiga spesies *Bambusa* (*B. bambos*, *B. multiplex*, dan *B. emiensis*) juga terdapat perbedaan. Antara *B. emiensis* dengan *B. bambos* terdapat perbedaan pada nukleotida ke- 820, dimana pada *B. bambos* terjadi mutasi transisi A menjadi G. Pada mutasi transisi terjadi pergantian suatu pasangan basa yang mengakibatkan perubahan kode genetik, akan tetapi tidak merubah asam amino sehingga tidak mengakibatkan perubahan fungsi protein (Stansfield, 2006).

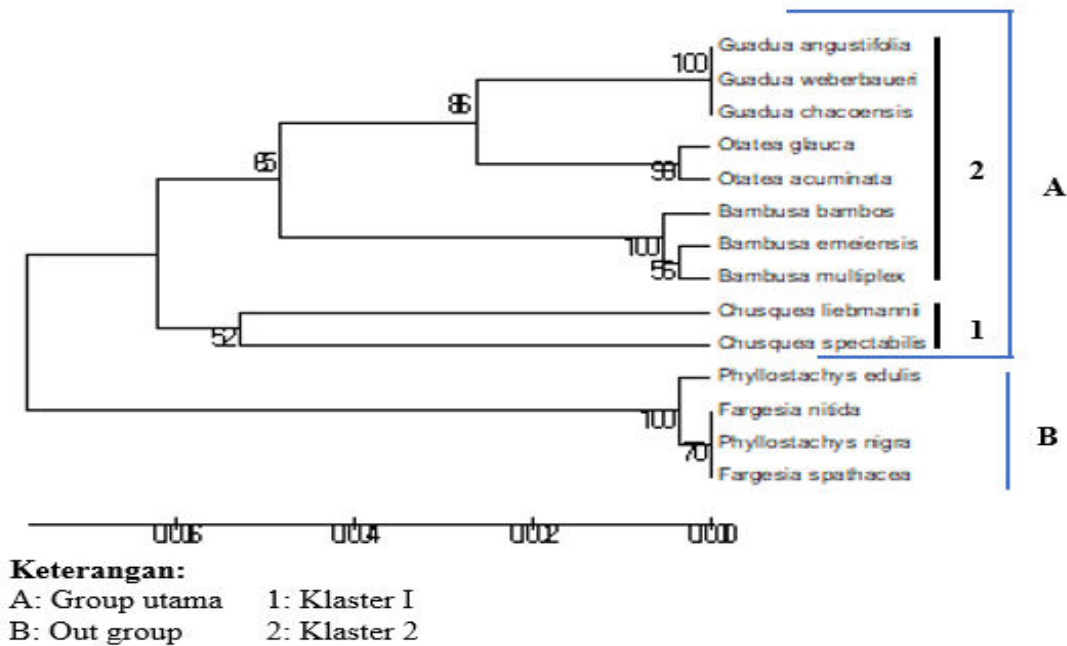
Pada sekuen gen *rbcl* empat belas bambu ditemukan juga mutasi transversi. Pada *Chusquea spectabilis* nukleotida ke-102 mengalami mutasi transversi. Nukleotida ke-102 *C. spectabilis* memiliki basa A, sedangkan tiga belas spesies yang lain memiliki basa T (*Thymine*). Mutasi transversi juga terjadi pada *C. liebmanni*. Pada nukleotida ke-1151 *C. liebmanni* berbasa C, sedangkan pada tiga belas spesies bambu yang lain berbasa G. Terjadinya mutasi transversi dapat mengakibatkan adanya perubahan asam amino yang terbentuk, sehingga mempengaruhi ekspresi gen (Nur, 2016).

Hasil pengamatan sekuen gen *rbcl* juga menemukan adanya peristiwa delesi. Spesies yang mengalami delesi pada nukleotida ke- 1423 adalah *B. bambos*, *B. mutipex*, *B. emiensis*, *O.*

acuminata, *O. Galuca*, *C. spectabilis*, *C. liebmannii*, *G. chacoensis*, *G. angustifolia* dan *G. weberbaueri*. Peristiwa delesi juga terjadi pada nukleotida ke-1425. Spesies yang mengalami delesi pada sekuen gen ke-1425 adalah *Phyllostachys edulis*, *Phyllostachys nigra*, *Fargesia nitida* dan *Fargesia spathacea*. Spesies yang mengalami delesi pada nukleotida ke- 1423 kehilangan basa nitrogen T sedangkan spesies yang mengalami delesi pada nukleotida ke- 1425 kehilangan basa nitrogen C.

Terdapat empat spesies (*P. edulis*, *P. nigra*, *F. nitida* dan *F. spathacea*) yang memiliki kesamaan. Kesamaan tersebut yaitu, empat spesies tersebut memiliki basa nitrogen yang sama pada urutan nukleotida tertentu, akan tetapi basa nitrogen pada urutan tersebut berbeda dengan sepuluh spesies yang lainnya. Empat spesies tersebut mengalami perbedaan dengan sepuluh spesies yang lain pada nukleotida ke 138, 246, 290, 555, 837, 1111, 1402, dan 1422. Contoh pada empat spesies tersebut mengalami mutasi transvers, dimana nukleotida ke-138 empat spesies tersebut berbasa C tetapi pada 10 spesies yang lain adalah G. Pada nukleotida ke-1402 dari empat spesies tersebut terjadi mutasi transisi, dimana basa C berubah menjadi T.

Sekuens gen *rbcl* dari empat belas spesies bambu yang telah disejajarkan, dipreparasi, dianalisis kekerabatannya. Analisis kekerabatan berdasarkan homologi sekuen gen *rbcl*. Semakin tinggi tingkat homologinya, semakin dekat kekerabatan antar jenis karena mutasi yang terjadi semakin rendah. Hal tersebut yang menjadi dasar konstruksi pohon filogeni bambu dengan menggunakan aplikasi *Mega6*.



Gambar 2. Pohon Filogeni 14 Spesies Bambu Berdasarkan Gen *rbcl*

Hasil konstruksi pohon filogeni bambu berdasarkan homologi sekuen gen *rbcl* menunjukkan bahwa empat belas spesies bambu membentuk *out group* dan *group* utama. *Out group* terdiri dari *Phyllostachys edulis*, *Phyllostachys nigra*, *Fargesia nitida* dan *Fargesia spathacea*. *Group* utama terdiri dari sepuluh spesies yaitu *B. bambos*, *B. mutipex*, *B. emiensis*,

O. acuminata, *O. Galuca*, *C. spectabilis*, *C. liebmannii*, *G. chacoensis*, *G. angustifolia* dan *G. weberbaueri*.

Spesies bambu yang berada pada *out group* mengalami peristiwa mutasi yang paling banyak. Pada *Phyllostachys edulis*, *Phyllostachys nigra*, *Fargesia nitida* dan *Fargesia spathacea* terjadi tujuh mutasi transversi. Selain itu, terjadi mutasi transisi sebanyak 12 kali pada *P. edulis*, sedangkan tiga spesies lainnya mengalami mutasi transisi sebanyak 13 kali pada urutan nukleotidanya.

Peristiwa delesi pada nukleotida ke-1423 dan 1425 merupakan salah satu faktor yang mendukung pembentukan *group* utama dan *out group*. Spesies bambu yang berada pada *group* utama mengalami delesi pada nukleotida ke-1423, sedangkan spesies bambu yang masuk *out group* terjadi delesi pada nukleotida ke- 1425.

Penelitian Wysocki dkk, (2015) mengenai evolusi bambu menggunakan genom kloroplas mendukung pengelompokan *group* utama dan *out group*. Hasil penelitian Wysocki dkk, (2015) spesies bambu dari *Bambusa*, *Otatea*, *Guadua*, *Chusquea*, *Hickelia*, *Greslania*, *Olmea* dan *Neoalba* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dan pada pohon filogeni mengelompok pada satu cabang pohon yang sama. Kelompok tersebut merupakan kelompok *Bambuseae*. Pada penelitian ini *group* utama termasuk ke dalam kelompok *Bambuseae*. Selain itu terdapat kelompok *Arundinarieae* yang teridri dari spesies bambu dari *Phyllostachys*, *Arundinaria*, *Indocalamus*, dan *Thamnochalamus* yang berada pada cabang pohon yang sama.

Terbentuknya *group* utama dan *out group* juga diperkuat oleh hasil *World Bamboo Congress* (2012). *WBC* (2012) mengelompokkan bambu menjadi 3 kelompok yaitu, *Arudinariae*, *Bambuseae* dan *Olyreae*. Spesies bambu yang ada pada *group* utama merupakan jenis bambu yang ada pada kelompok *Bambuseae*, sedangkan spesies bambu pada *out group* masuk kedalam kelompok *Arudinariae*.

Group utama pada pohon filogeni membentuk dua klaster. Klaster 1 terdiri dari *C. spectabilis* dan *C. liebmannii*. Spesies yang berada pada klaster satu memiliki kesamaan mengalami 3 kali mutasi transversi, akan tetapi terjadi pada urutan nukleotida yang berbeda-beda. *Chusquea spectabilis* mengalami mutasi transversi pada nukleotida ke-68, 102 dan 682, sedangkan *Chusquea liebmannii* mengalami mutasi pada nukleotida 68, 672 dan 682. Jumlah peristiwa mutasi transisi pada *C. spectabilis* empat belas kali, sedangkan pada *C. liebmannii* tiga belas kali.

Pada pohon filogeni, klaster 2 membentuk dua sub klaster, yaitu sub klaster **a** dan **b**. Sub klaster **a** terdiri dari tiga spesies dari *Bambusa*, sedangkan klaster **b** terdiri dari lima spesies dari *Otatea* dan *Guadua*. Spesies bambu yang berada pada sub klaster **a** (*B. bambos*, *B. mutipex*, *B. emiensis*) mengalami mutasi transversi lima kali. Mutasi transisi pada *B. bambos*, *B. mutipex* terjadi sebanyak sepuluh kali, sedangkan pada *B. emiensis* terjadi sembilan kali. Selain peristiwa mutasi, spesies yang berada pada sub klaster **a** mengalami delesi pada nukleotida ke- 741 dan 1423. Spesies bambu yang ada pada sub klaster **b** tidak mengalami mutasi pada sekuen gen *rbcL*-nya dan hanya mengalami peristiwa delesi dua kali pada nukleotida ke-739 dan 1423.

Terbentuknya klaster dan sub klaster pada *group* utama pohon filogeni sesuai dengan hasil *World Bamboo Congress* (2012). Seluruh spesies bambu yang ada pada *group* utama merupakan jenis bambu yang ada pada kelompok *Bambuseae*. Menurut *WBC* (2012) *Bambuseae* memiliki 9 sub kelompok, yaitu *Neotropical*, *Arthrostylidiinae*, *Chusqueinae*, *Guadunia*, *Paleotropical*, *Bambusinae*, *Hickliinae*, *Melocanninae* dan *Racemobambosinae*. Pada penelitian ini spesies yang berada pada klaster 1 merupakan sub kelompok *Chusqueinae*,

sedangkan pada klaster 2 terdiri dari 2 sub kelompok *Guadunia*, dan Bambusinae. Sub klaster **a** pada klaster 2 merupakan spesies bambu yang berada pada sub kelompok Bambusinae sedangkan sub klaster **b** merupakan spesies yang berada pada sub kelompok *Guadunia*.

Pengelompokan sub klaster **b** pada klaster 2 juga didukung oleh hasil penelitian Sanches (2011) mengenai evolusi bambu menggunakan sekuens gen *rpl 16*. Hasil konstruksi pohon filogeni 46 aksesi bambu, dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar. Tiga kelompok besar itu *Arthrosyldiinae*, *Guadunia* dan *Chusqueinae*. Kelompok *Guadunia* menguatkan sub klaster **b** dalam penelitian ini. Kelompok *Guadunia* terdiri dari *O. acuminata*, *O. Galuca*, *G. chacoensis*, *G. angustifolia*, *G. weberbaueri* dan 11 spesies bambu lainnya yang memiliki hubungan kekerabatan dekat. Pada penelitian Sanches (2011) tidak menggunakan *G. Chacoensis*, *G. Angustifolia* seperti pada penelitian ini, akan tetapi kedua spesies tersebut berdasarkan hasil analisis sekuens gen *rbcl* pada penelitian ini, tidak memiliki perbedaan urutan basa nukleotida dengan *G. weberbaueri*. Hal tersebut menjadi faktor yang menyebabkan kedua spesies tersebut *G. chacoensis* dan *G. angustifolia* berada pada sub klaster **b** dan cabang pohon yang sama bersama dengan *G. weberbaueri*. Pada pohon filogeni, masing-masing spesies yang memiliki tingkat kekerabatan paling dekat dikelompokkan pada cabang pohon yang sama (Sukri, 2014).

Hasil analisis kekerabatan bambu dengan pendekatan molekuler gen *rbcl* berbasis *in silico* menunjukkan bahwa, spesies yang berada pada genus yang sama belum tentu berkerabat dekat. Spesies yang tergabung dalam *out group* yaitu *Phyllostachys edulis*, *Phyllostachys nigra* memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat dengan *Fargesia nitida* dan *Fargesia spathacea*. *Phyllostachys edulis* membentuk cabang pohon sendiri, sedangkan *Phyllostachys nigra* berada pada cabang pohon filogeni yang sama dengan *F. nitida* dan *F. spathacea*. Pada *P. edulis* dan *P. nigra* hanya terdapat satu perbedaan pada nukleotida ke-1254, sedangkan *P. edulis* dengan *F. nitida* dan *F. spathacea* tidak memiliki perbedaan sama sekali sehingga berada pada cabang pohon yang sama.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, gen *rbcl* dapat digunakan untuk mengungkap kekerabatan bambu, serta membuktikan bahwa kajian evolusi dapat dilakukan dengan pendekatan molekuler. Hasil analisis *in silico* dan konstruksi pohon filogeni, empat belas spesies bambu membentuk *group* utama dan *out group*. *Group* utama terdiri atas sepuluh spesies yang membentuk 2 klaster, sedangkan *out group* terdiri dari empat spesies bambu. Spesies bambu yang berada pada genus yang sama belum tentu memiliki kekerabatan yang lebih dekat. Hal tersebut terjadi karena adanya variasi genetik atau perbedaan pada urutan nukleotida pada sekuens gen *rbcl*.

DAFTAR RUJUKAN

- Arbi, UY. 2012. Sejarah dan Bukti Evolusi Pada *Gastropoda*. *OSEANA* 37 (2), 41-51.
- Balitri. 2011. Potensi Bambu Sebagai Tanaman Konservasi Daerah Aliran Sungai. <http://balitri.litbang.pertanian.go.id/index.php/berita/berita-lain?77-potensi-bambu-sebagai-tanaman-konservasi-daerah-aliran-sungai>. (diakses pada 17 Januari 2018).
- Basith, A. 2015. Peluang Gen *rbcl* sebagai DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas untuk Mengungkap Keanekaragaman Genetik Padi Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Lokal

- Indoneia. *Prosiding Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi di FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta*, 938-941.
- Bhattacharya, B. 2016. *Botani Sistematis Edisi 2*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Consortium Barcode of Life (CBOL). 2009. A DNA Barcode for Land Plants. *PNAS*: 106 (31).
- Helmi. 2016. Pengembangan Bahan Ajar Evolusi Berbantuan Aplikasi CAMTASIA Studio 8 Sebagai Sarana Pembelajaran IPA Biologi SMA. *E-Jurnal Universitas Wiralodra* 1 (1), 31-37.
- Imtihana. 2014. Pengembangan Buklet Berbasis Penelitian Sebagai Sumber Belajar Materi Pencemaran Lingkungan di SMA. *Unnes Journal of Biology Education* 3 (2), 186-192.
- Julisaniah, NI. 2008. Analisis Kekekabatan Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Menggunakan Metode RAPD-PCR dan Isozim. *Biodiversitas* 9 (2), 99-102.
- Karmana, IW. 2009. Kajian Evolusi Berbasis Urutan Nukleotida. *Ganec Swara* 3 (3), 75-81.
- Kurniawan, H. 2002. Diversitas Genetik Plasma Nutfah Ubi jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lamb.) Asal Indonesia Berdasarkan Analisis Kluster Karakter Fenotipik. Tesis. Program Pascasarjana. Program Studi Ilmu Tanaman Bidang Kajian Utama Pemuliaan Tanaman. Universitas Padjajaran Bandung.
- Mayasari, A. dan Suryawan A. 2012. Keragaman Jenis Bambu dan Pemanfaatannya di Taman Nasional Alas Purwo. *Info BPK Manado* 2 (2), 139-154.
- Nur. A., Syahrudin. K. 2016. *Gandum: Peluang Pengembangan di Indonesia Aplikasi Teknologi Mutasi dalam Pembentukan Varietas Gandum Tropis*. Jakarta: Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Press.
- Nuha, U., Amin, A., Lestari, U. 2016. Pengembangan Buku Ajar Berbasis Penelitian Evolusi dan Filogenetik Molekuler untuk Mata Kuliah Evolusi di Universitas Jember. *Jurnal Pendidikan* 1 (9): 1791-1796.
- Sanchez, ER. 2011. Biogeography and Divergence Time Estimates of Woody Bamboos: Insights in The Evolution of Neotropical Bamboos. *Bol.Soc.Bot. Mex* 88, 67-75.
- Saputra, A. 2017. Persepsi Mahasiswa Calon Guru Biologi tentang Pembelajaran Materi Evolusi di SMA: Studi Kasus Mahasiswa Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta. *Bioeducation* 1 (1), 1-9.
- Sidharta, BR. 1995. Evolusi. Universitas Atmajaya: Yogyakarta.
- Stansfield, WD. 2006. Biologi Molekuler dan Sel. Erlangga: Jakarta
- Sukri, A. 2014. Analisis Filogeni Kerbau Lokal Indonesia (*Bubaus bubalis*) dengan Gen *cyt b* Berbasis Biogeografi Sebagai Bahan Aja Mata Kuliah Bioinformatika. *Disertasi*. Universitas Negeri Malang.
- Suparman. 2012. Markah Molekular dalam Identifikasi dan Analisis Kekekabatan Tumbuhan Serta Implikasinya bagi Mata Kuliah Genetika. *Jurnal BIOedukasi* 1 (1), 59-68.
- World Bamboo Congress. 2012. An Update Tribal and Subtribal Classification of The Bamboos (Poaceae:Bambusoideae). *World Bamboo Congress* 1 (2), 3-27.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. Taksonomi Tumbuhan (*Spermatophyta*). Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Widjaja, EA. 2001. Identifikasi Jenis-jenis Bambu di Kepulauan Sunda Kecil. Puslitbang Biologi LIPI: Bogor.
- Widjaja dan Karsono. 2004. Keanekaragaman Bambu di Pulau Sumba. *Biodiversitas* 6 (2), 95-100.

Wysocki, WP. 2015. Evolution of The Bamboos (Bambusoideae: Poaceae): A Full Plastome Phylogenomic Analysis. *Genome Evolution and Evolutionary Systems Biology. BMC Evolutionary Biology* 15 (50), 1-12.