

**Keragaman Genetik *Graptophyllum pictum* (L.) Griff dari Etnis
Indonesia Timur Berbasis *Sequence-Related Amplified Polymorphism***

***Genetic Diversity of Graptophyllum pictum (L.) Griff from Eastern Indonesia
Ethnics Based on *Sequence-Related Amplified Polymorphism****

**Wihda Aisarul Azmi¹, Husnawati¹, Puspa Julistia Puspita^{1*}, Ukhradiyah M. Safira¹,
Dyah Subositi², dan Anshary Maruzy²**

¹Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
(IPB University), Jl. Tanjung, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
Jl. Raya Lawu No 11, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa tengah 57792, Indonesia

Diterima 19 Mei 2022/Disetujui 6 Juli 2022

ABSTRACT

*Indonesia is in second after the Amazon Rainforest, with the world's highest number of endemic medicinal plants. Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) is one of the medicinal plants which Indonesian people have widely used. However, information on its genetic diversity is still lacking. This study aimed to achieve information about the genetic diversity of 52-accessions of *G. pictum* (L.) Griff from 11 Eastern Indonesia ethnics based on SRAP molecular marker. This study was conducted from November 2018 to January 2019. Fifty-two accessions of *G. pictum* (L.) Griff and 16 combinations of SRAP primers were used in this research. Diversity analysis was carried out based on the similarity index and dendrogram using NTSYS 2.0 program and PopGen 1.3. Forty-nine loci (44 polymorphic loci and five monomorphic loci) were found by using eight selected primer combinations with a percentage of polymorphic was 88.55%. The diversity between accessions was high (86%); meanwhile, between ethnicities was low (47.23%). Demta ethnicity had the highest diversity (81.63%), while Auyu had the lowest (2.04%). According to the dissimilarity index (DI) or diversity value which showed the kinship level, Bajawa and Auyu have the farthest kinship (DI = 1.0720). Therefore, the information in this research may benefit for supporting breeding programs and conservations of handeuleum.*

Keywords: dendrogram, handeuleum, medicinal plants, SRAP

ABSTRAK

*Indonesia menduduki peringkat kedua dengan jumlah tanaman obat asli tertinggi di dunia setelah Hutan Hujan Amazon. Handeuleum (*G. pictum* (L.) Griff) merupakan salah satu tanaman obat yang telah dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Indonesia, namun informasi mengenai keragaman genetiknya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai keragaman genetik 52 aksesori *G. pictum* (L.) Griff dari 11 etnis Indonesia Bagian Timur berdasarkan marka molekuler SRAP. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 hingga Januari 2019. Sebanyak 52 aksesori *G. pictum* (L.) Griff dan 16 kombinasi primer SRAP digunakan dalam penelitian ini. Analisis kekerabatan dilakukan berdasarkan nilai indeks similaritas dan konstruksi dendrogram dengan menggunakan program NTSYS 2.0 dan PopGene 1.3. Sebanyak 49 lokus (44 lokus polimorfik dan 5 lokus monomorfik) diperoleh dari delapan kombinasi primer terpilih dengan presentase polimorfik sebesar 88.55%. Keragaman genetik antar aksesori tergolong tinggi (86%) sedangkan antar etnis tergolong rendah (47.23%). Etnis dengan keragaman tertinggi adalah Demta (81.63%), sedangkan Auyu adalah Etnis dengan keragaman genetik yang paling rendah (2.04%). Berdasarkan nilai Indeks Dissimilarity (ID) atau nilai keragaman yang menunjukkan tingkat kekerabatan, Etnis Bajawa dan Auyu memiliki tingkat kekerabatan terjauh (ID = 1.0720). Informasi yang dihasilkan dalam penelitian ini bermanfaat untuk mendukung program pemuliaan dan konservasi daun wungu.*

Kata kunci: dendrogram, handeuleum, SRAP, tanaman obat

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: puspa.julistia@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang biasa disebut di daerah Jawa merupakan salah satu tumbuhan obat yang berasal dari Papua Nugini yang ditemukan juga di Jawa, Ternate, dan Maluku (Manoi, 2011). Daun wungu memiliki beragam nama di setiap daerah di tanah air, seperti ada yang mengenalnya dengan julukan handeuleum (Sunda), baulas (Papua), dan banyak lagi (Manoi, 2011). Tanaman ini merupakan salah satu tanaman obat yang telah dimanfaatkan secara luas, seperti obat ambeien (Astana *et al.*, 2017), diabetes (Hikmawati *et al.*, 2014), batu ginjal, penyakit ulu hati, borok dan lainnya (Khumaida *et al.*, 2008). Daun wungu termasuk tanaman yang layak untuk dikembangkan menjadi salah satu tanaman obat unggulan di Indonesia karena tanaman ini memiliki khasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit (Rosmala *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Jiangseubchatveera *et al.* (2015) menyebutkan bahwa daun wungu fraksi etil asetat mengandung total fenolik yang tertinggi dibandingkan pada fraksi heksana dan air, sehingga tumbuhan ini dapat dijadikan sumber alami yang kaya antioksidan. Selain itu, dari semua faksi daun wungu menunjukkan memiliki potensi sitotoksitas terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC50 pada kisaran 20.41-38.66 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Analisis keragaman genetik dari setiap sumber daya genetik yang tersedia perlu dilakukan untuk mendapatkan data deskripsi, karakter spesifik dari masing-masing genotipe baik secara morfologi maupun molekuler, serta untuk mengetahui kemiripan atau jarak genetik antar genotipe. Jarak genetik ini kemudian digunakan sebagai dasar untuk menentukan genotipe tetua dalam pengembangan varietas unggul suatu tanaman (Sari, 2017). Berdasarkan data GBIF (2017), hanya terdapat 3 varietas daun wungu yang telah terdaftar di seluruh dunia. Di sisi lain, Indonesia memiliki setidaknya 11 etnis daun wungu dari Indonesia Bagian Timur yang berpotensi menjadi tanaman obat unggulan.

Analisis keragaman genetik daun wungu dilakukan melalui pencarian keberadaan polimorfisme dari setiap etnis berbasis marka molekuler *Sequence related amplified polymorphism* (SRAP). SRAP memiliki kelebihan diantaranya, produktivitas dan reproduktivitas yang tinggi, stabil, merupakan marker kodominan yang juga memiliki beberapa marker dominan, dapat mendeteksi beberapa lokus tanpa diketahui informasi mengenai sekuensnya terlebih dahulu, serta menghasilkan produk PCR yang dapat langsung disekuensing (Jones *et al.*, 2010; Robarts dan Wolfe, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Zagorcheva *et al.* (2020) menunjukkan bahwa SRAP adalah marker yang sangat berpotensi dan efisien untuk mempelajari keragaman genetik pada lavender dan memiliki aplikasi yang lebih luas dalam pembibitan dan budidaya lavender.

Aksesi dan etnis daun wungu tersebar di seluruh Indonesia. Akan tetapi, informasi mengenai keragaman genetik daun wungu belum banyak dilaporkan, khususnya untuk etnis dan aksesi yang berasal dari Indonesia Bagian Timur. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi keragaman genetik daun wungu (*G. pictum* (L.) Griff) dari Etnis Indonesia Timur berbasis marka molekuler SRAP sehingga dapat menjadi dasar dalam budidaya varietas daun wungu yang unggul.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan ini dilaksanakan pada November 2018 sampai dengan Januari 2019. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor. Sampel yang digunakan adalah 52 aksesi *G. pictum* (L) Griff kering dari 11 etnis di Indonesia Bagian Timur, GeneJET *Plant Genomic DNA Purification Mini Kit* K0791 (Thermo Scientific, USA), proses amplifikasi berbasis Primer SRAP dilakukan dengan Dream Taq Green PCR *Master Mix* (2X) (Thermo Scientific, USA), Generuler 100 bp plus DNA *Ladder*, Generuler 1 kb plus DNA *Ladder*, *peq dye* (Peq Lab, USA), proteinase K (Thermo Fischer, USA), agarosa (Thermo Fischer, USA), DNA *loading dye* (Peq Lab, USA, TBE 10x, etanol 96%, *Nuclease Free Water* (NFW) (Thermo Fischer, USA), ddH₂O, dan Buffer Tris EDTA pH 8.

Skринing Primer SRAP dan Optimasi Suhu Annealing

Penelitian dimulai dengan dilakukan isolasi DNA genom, meliputi preparasi sampel, ekstraksi DNA genom, elektroforesis dan kuantifikasi DNA. Amplifikasi DNA daun wungu dilakukan menggunakan primer SRAP (Li dan Quiros, 2001). Primer terdiri atas 4 primer *forward* (Me1, Me2, Me3 dan Me4) dan 4 primer *reverse* (Em1, Em2, Em3 dan Em4) (Tabel 1).

Skринing primer SRAP dan optimasi suhu *annealing* dengan metode gradien dimana 16 kombinasi primer SRAP yang diseleksi diujikan pada 8 pasang suhu *annealing* yang berbeda antara 33.0-58.0 °C. Seleksi primer dilakukan berdasarkan kemampuan amplifikasi primer untuk menghasilkan fragmen DNA pada semua aksesi, memiliki pita yang jelas dan polimorfisme tinggi. Sebanyak 8 kombinasi primer SRAP yang memenuhi standar dipilih untuk selanjutnya digunakan dalam proses amplifikasi 52 sampel DNA daun wungu yang kemudian di visualisasi melalui elektroforesis dan *Gel Documentation System*.

Amplifikasi DNA Genom dengan Primer SRAP

Metode amplifikasi menggunakan metode Li dan Quiros (2001) dengan modifikasi. Total volume *cocktail* PCR yang digunakan adalah 25 μL dengan komposisi yaitu 1 μL DNA *template* (50 ng μL^{-1}), 0.7 μL *forward primer* (20 μM), 0.7 μL *reverse primer* (20 μM), 13 μL Dream Taq Green PCR *Master Mix* (2X) dan 9.6 μL *Nuclease Free Water*. Volume *template* DNA dan *free nuclease water* yang ditambahkan disesuaikan dengan konsentrasi DNA genom yang telah dikuantifikasi dengan konsentrasi akhir *template* DNA dalam 25 μL campuran *cocktail* PCR adalah 50 ng μL^{-1} .

Proses reaksi PCR yang dilakukan mengacu pada Li dan Quiros (2001) dengan sedikit modifikasi. Fase pre-denaturasi dilakukan pada suhu 94 °C selama 5 menit. Berikutnya dilakukan 5x siklus denaturasi pada suhu 94 °C

Tabel 1. Urutan basa nukleotida primer yang digunakan

No.	Jenis	Nama	Urutan basa nukleotida	Jumlah basa	Tm theory (°C)	Tm-5 (°C)
1	<i>Forward</i>	Me1	5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3'	17	50	45
2		Me2	5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3'	17	54	49
3		Me3	5'-TGAGTCCAAACCGGAAT-3'	17	50	45
4		Me4	5'-TGAGTCCAAACCGGACC-3'	17	54	49
5	<i>Reverse</i>	Em1	5'-GACTGCGTACGAATTAAT-3'	18	50	45
6		Em2	5'-GACTGCGTACGAATTTGC-3'	18	54	49
7		Em3	5'-GACTGCGTACGAATTGAC-3'	18	54	49
8		Em4	5'-GACTGCGTACGAATTTG-3'	17	50	45

Keterangan: Tm = Suhu annealing. Sumber: Li & Quiros (2001)

selama 1 menit, *annealing 1* pada suhu 44 °C (untuk suhu B atau 35.2 °C untuk suhu F) selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Setelah 5x siklus sebelumnya selesai, dilanjutkan 35x siklus berikutnya, yaitu denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, *annealing 2* pada suhu 57 °C (untuk suhu B atau 47.5 °C untuk suhu F) selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Fase berikutnya adalah fase *final extention* yang dilakukan pada suhu 72 °C selama 8 menit. Kemudian dilanjutkan dengan *holding temperature* pada suhu 4 °C. Elektroforesis dilakukan pada konsentrasi 2.5% agarose dengan menggunakan 1x bufer TBE selama 120 menit pada 70 volt, kemudian divisualisasi menggunakan *Gel Documentation System*.

Analisis Data

Fragmen DNA dari setiap aksesori yang dihasilkan oleh 8 primer terpilih di hitung berdasarkan kemunculan fragmen tersebut. Kemunculan fragmen DNA diberikan skor 1 dan 0 jika tidak muncul fragmen DNA. Oleh karena itu, monomorfik, polimorfik dan total alel dari setiap primer dihitung untuk menunjukkan bahwa primer yang digunakan memenuhi kriteria untuk melakukan uji polimorfisme dari suatu aksesori (Li et al., 2014).

Hasil skoring kemudian diolah menggunakan *software NTSYS 2.0 User Guide (1998); PopGene 1.3 User Guide (1999)*. Analisis yang dilakukan adalah perhitungan Indeks similaritas menggunakan rumus indeks similaritas DICE, konstruksi dendrogram dengan metode *Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Method (UPGMA)* dan analisis keragaman populasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat Polimorfisme

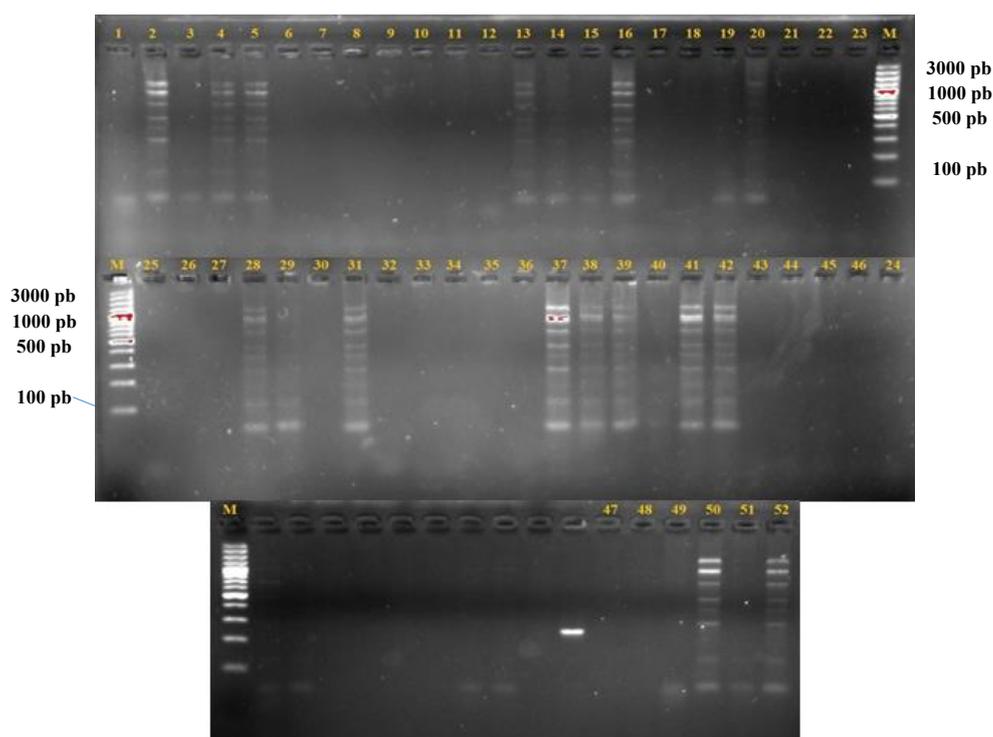
Hasil optimasi primer yang dilakukan menghasilkan 8 kombinasi primer terpilih yaitu F7, B6, B9, F8, B12, F10, B11 dan F4 dan 2 pasang suhu *annealing* terpilih yaitu F (35.2 °C dan 47.5 °C) dan B (44 °C dan 57 °C). Pemilihan primer dilakukan berdasarkan pembentukan pita yang jelas, tidak *smear*, banyak dan berukuran lebih dari 70 pb.

Delapan kombinasi primer SRAP yang digunakan hanya dapat mendeteksi keragaman genetik 30 dari 52 sampel daun wungu. Visualisasi fragmen DNA dikelompokkan menjadi fragmen monomorfik dan fragmen polimorfik. Fragmen monomorfik merupakan fragmen berukuran sama yang ditemukan di semua sampel daun wungu, sedangkan fragmen polimorfik merupakan fragmen DNA berukuran tertentu yang ditemukan pada satu sampel, tapi tidak pada sampel daun wungu lainnya (Calderón et al., 2016). Keberadaan fragmen monorfik menjadi dasar untuk melihat kekerabatan antar aksesori atau individu dalam suatu populasi, sedangkan variasi genetik dilihat berdasarkan keberadaan fragmen polimorfisme (Lathifah et al., 2016). Gambar 1 merupakan salah satu hasil elektroforegram dari kombinasi F7 yaitu *forward* Me2 dan *reverse* Em3 yang menghasilkan pita polimorfik paling banyak yaitu 9 pita.

Tabel 2 menunjukkan dari 8 kombinasi primer terpilih dihasilkan 49 total fragmen dengan ukuran fragmen berkisar antara 70-1200 pb, dengan total 44 lokus polimorfik dan 5 lokus monomorfik. Jumlah fragmen yang dihasilkan rendah, hal ini dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu sedikitnya jumlah sekuens primer yang komplemen dengan sekuens DNA target atau konsentrasi primer yang digunakan terlalu rendah.

Tingkat polimorfisme daun wungu pada penelitian ini sebesar 88.55%. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai Persentase Lokus Polimorfik (PLP) pada varietas daun wungu dari Indonesia bagian barat sebesar 72.23% dengan 41 lokus polimorfik dan 4 lokus monomorfik pada penelitian Andrianto et al. (2021). Hasil PLP dengan menggunakan primer SRAP jauh lebih tinggi daripada penelitian yang dilakukan oleh Subositi dan Widodo (2011) pada 3 varietas daun wungu yang lain dengan nilai sebesar 33.90% berdasarkan marka molekuler RAPD. Nilai PLP tertinggi pada penelitian ini di peroleh dari kombinasi primer F7, B9, F10, B11 dan F4 dengan nilai PLP = 100%.

Sedangkan PLP terendah diperoleh dari kombinasi F8 dan B12 (66.67%). Kombinasi F7 menghasilkan pita terbanyak, yaitu 9 pita, sedangkan kombinasi B12 menghasilkan pita paling sedikit, yaitu 3 pita. Tingginya nilai PLP menunjukkan bahwa primer memiliki kemampuan



Gambar 1. Hasil Amplikon 52 individu Daun Wungu menggunakan kombinasi primer F7 (kombinasi Me2 + Em3 dengan suhu 35.2 °C & 47.5 °C)

cukup tinggi dalam mengamplifikasi sekuens target dan mengungkap keberadaan fragmen polimorfik (Solin *et al.*, 2013).

Keragaman Genetik Antar Aksesi

Keragaman genetik antar aksesi daun wungu dilakukan untuk melihat hubungan antara aksesi dalam satu populasi kemudian dilakukan pengelompokan melalui

hasil skoring yang diperoleh. Proses skoring dilakukan dengan memberikan skor 1 (muncul pita) dan skor 0 (pita tidak muncul) kemudian diolah menggunakan *software* NTSYS 2.0 untuk analisis keragaman antar aksesi dengan melihat indeks disimilaritas (ID) DISTSQ serta konstruksi dendrogram berdasarkan indeks similaritas (IS) DICE.

Dendrogram dari 30 aksesi daun wungu Indonesia Bagian Timur dikonstruksi menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Method*)

Tabel 2. Profil pita hasil amplifikasi 30 individu daun wungu dari Indonesia Bagian Timur menggunakan 8 kombinasi primer SRAP

Suhu <i>annealing</i> I dan II	Primer	Kisaran ukuran pita (pb)	Jumlah pita	Pita monomorfik	Pita polimorfik	PLP (%)
35.2 °C dan 47.5 °C	F7	70-1200	9	0	9	100.00
44 °C dan 57 °C	B6	70-1200	8	2	6	75.00
44 °C dan 57 °C	B9	70-1200	6	0	6	100.00
35.2 °C dan 47.5 °C	F8	70-1200	6	2	4	66.67
44 °C dan 57 °C	B12	70-200	3	1	2	66.67
35.2 °C dan 47.5 °C	F10	70-600	4	0	4	100.00
44 °C dan 57 °C	B11	70-1200	7	0	7	100.00
35.2 °C dan 47.5 °C	F4	150-1200	6	0	6	100.00
Total			49	5	44	708.34
Nilai rata-rata			6.13	0.63	5.5	88.55

Keterangan: PLP = Persentase lokus polimorfik, B6 = Me2+Em2, B9 = Me3+Em1, B11 = Me3+Em3, B12 = Me3+Em4, F4 = Me1+Em4, F7 = Me2+Em3, F8 = Me2+Em4, F10 = Me3+Em2

pada fungsi SAHN (*sequential, agglomerative, hierarchial, and nested*) di NTSYS 2.0. Gambar 2 merupakan visualisasi dari matriks indeks similaritas (identitas genetik) DICE 30 aksesi daun wungu. Nilai koefisien kemiripan genetik yang diperoleh berkisar antara 0.07-0.93 yang berarti keragaman genetik 30 aksesi daun wungu dari 7 etnis Indonesia Bagian Timur berdasarkan marka SRAP adalah 7 sampai 93% (86%).

Klasterisasi dari 30 aksesi daun wungu asal Indonesia Bagian Timur yang dilakukan berdasarkan dendrogram pada Gambar 2 diperoleh 4 kluster yang tidak terkelompokkan sesuai dengan letak geografis asal etnisnya. Kluster I terdiri atas dua aksesi dari etnis Auyu asal Papua (47, 49). Kluster II terdiri atas 3 aksesi dari etnis Ondae yang berasal dari Sulawesi Tengah (12, 14, 15). Kluster III terdiri atas 9 aksesi dari beberapa etnis, yaitu etnis Demta asal Papua (1, 3, 51), Waigeo asal Papua Barat (17, 18), Duri asal Sulawesi Selatan (27, 29, 30), dan Kamoro asal Papua (40). Kluster IV terdiri atas 16 aksesi dari beberapa etnis, yaitu etnis Demta asal Papua (2, 4, 5, 50, 52), Ondae asal Sulawesi tengah (13), Waigeo asal Papua Barat (16, 19, 20), Duri asal Sulawesi Selatan (28, 31), Bajawa asal NTT (37, 38, 39), dan Kamoro asal Papua (41, 42).

Pembagian kluster dilakukan pada koefisien 0.40 pada dendrogram yang berarti 30 aksesi daun wungu tersebut terkelompokkan menjadi 4 kluster pada tingkat keragaman 0.60. Klasterisasi menggunakan metode UPGMA dilakukan untuk memetakan pola kekerabatan dari 30 aksesi daun wungu dari Indonesia Bagian Timur. Berdasarkan data ini diharapkan dapat memudahkan dalam menentukan individu-

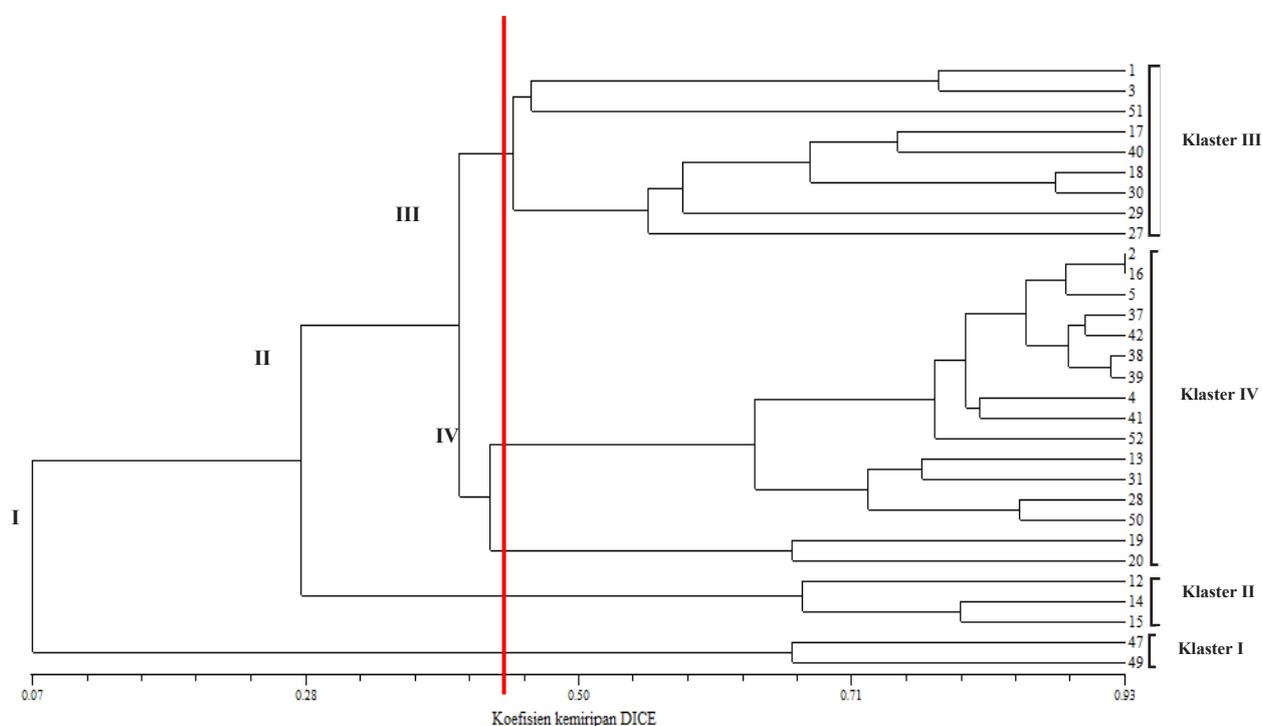
individu yang akan digunakan untuk pengembangan varietas unggul daun wungu.

Berdasarkan matriks indeks disimilaritas, salah satu aksesi dari Bajawa (No.37) dan Auyu (No. 47) yang memiliki jarak genetik terjauh ($ID = 0.7755$) dikategorikan memiliki keragaman yang tinggi. Sedangkan dua aksesi lain yang berasal dari Auyu dikategorikan memiliki keragaman yang sangat rendah karena memiliki jarak genetik terdekat. Berdasarkan nilai indentitas genetiknya, aksesi yang berasal dari etnis Bajawa dan Auyu adalah dua aksesi yang paling mungkin untuk digunakan dalam penyilangan tanaman ($IS = 0.22$). Menurut Kurniasih (2012), tanaman dengan indeks similaritas < 0.50 tergolong cukup baik digunakan untuk menghasilkan F1 dengan tingkat keragaman genetik yang tinggi.

Keragaman Genetik Antar Asal Etnis

Selain analisis keragaman genetik antar aksesi dalam satu populasi, keragaman genetik antar etnis juga dilakukan, dengan tujuan untuk melihat hubungan kekerabatan antar etnis dan juga dapat menentukan tetua dari daun wungu. Analisis dilakukan dengan menggunakan Gene 1.3 dari hasil skoring melalui fungsi *Dominant haploid data* pada 7 etnis. Parameter yang digunakan adalah jumlah alel aktual yang diamati (N_a), jumlah alel efektif (N_e), nilai keragaman genetik Nei (H) dan, indeks informasi *Shannon* (I)

Data yang tertera pada Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah alel efektif (N_e) yang diperoleh (1.3406) pada penelitian ini lebih kecil daripada jumlah alel yang diamati



Gambar 2. Dendrogram 30 aksesi daun wungu dari 7 etnis di Indonesia Bagian Timur metode UPGMA. Keterangan: 1-5 = Demta-Kerotong (Papua), 11-15 = Ondae-Sive (Sulawesi Tengah), 16-20 = Waigeo-Aluno Selese (Papua Barat), 27-28 = Duri-Romumu (Sulawesi Selatan), 29-31 = Duri-Kasikinan (Sulawesi Selatan), 37-39 = Bajawa-Raabeka (NTT), 40-42 = Kamoro-Batik Papua (Papua),

Tabel 3. Keragaman genetik setiap populasi pada 7 etnis *G. pictum* (L) Griff

Populasi	Provinsi	N ¹	Na ²	Ne ³	H ⁴	I ⁵	Jumlah lokus polimorfik	PLP ⁶ (%)
Demta	Papua	8	18.163	15.738	0.323	0.472	40	81.63
Ondae	Sulawesi Tengah	4	14.082	12.694	0.161	0.238	20	40.82
Waigeo	Papua Barat	5	17.347	15.304	0.300	0.438	36	73.47
Duri	Sulawesi Selatan	5	15.510	13.701	0.216	0.318	27	55.10
Bajawa	NTT	3	12.245	11.796	0.100	0.143	11	22.45
Kamoro	Papua	3	15.510	14.408	0.245	0.351	27	55.10
Auyu	Papua	2	10.204	10.204	0.010	0.014	1	2.04
Rata-rata		4.28	14.723	13.406	0.193	0.282	23.14	47.23

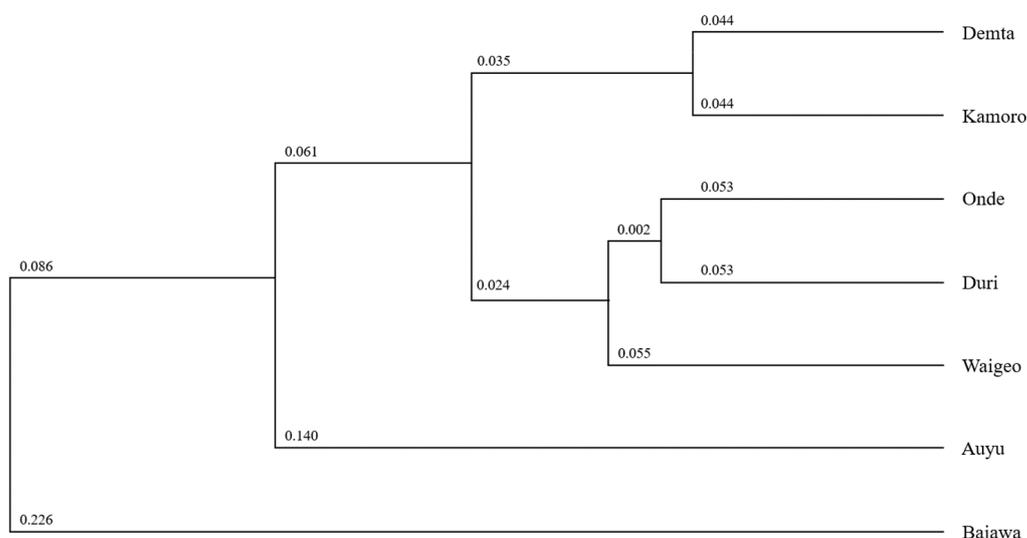
Keterangan: ¹N = jumlah aksesi; ²Na = jumlah alel yang diamati; ³Ne = jumlah alel efektif; ⁴H = keragaman genetik; ⁵I = indeks Shannon; ⁶PLP = persen lokus polimorfik

(Na) (1.4723). Nilai Na diperoleh dengan menghitung jumlah alel yang muncul, sedangkan Ne merupakan pendugaan keragaman alel yang muncul dalam suatu populasi. Frekuensi alel yang beragam dapat diartikan sebagai potensi genetik daun wungu yang terpendam. Lain halnya, jika frekuensi alel yang muncul seragam, nilai Na dan Ne (proporsi homozigot) akan berbanding terbalik pada suatu lokus yang ditemukan dalam suatu populasi (Riupassa 2016). Berdasarkan nilai Na dan Ne yang diperoleh, etnis Demta merupakan populasi dengan tingkat keragaman tertinggi dibanding etnis lainnya (Na = 1.8163 dan Ne = 1.5738).

Nilai H yang diperoleh pada penelitian ini tergolong rendah (rata-rata H = 0.1302). Nilai H baik berkisar antara 0 - 1. Semakin mendekati 1, maka tingkat keragaman semakin tinggi, begitu pula sebaliknya (Muriira *et al.*, 2018). Berdasarkan nilai H nya, etnis Demta memiliki tingkat keragaman populasi tertinggi dibanding etnis lainnya (H = 0.3227). Sedangkan berdasarkan nilai indeks informasi Shannon (I), nilai I pada penelitian ini tergolong rendah

(rata-rata I = 0.1881), dan sejalan dengan nilai Na, Ne dan H yang diperoleh. Menurut Adelina *et al.* (2016), tingkat keragaman rendah jika nilai $I \leq 1$, sedang jika $1 < I < 3$ dan tinggi jika $I \geq 3$. Etnis Demta memiliki nilai I tertinggi diantara etnis lainnya yang diamati pada penelitian ini ($I = 0.4723$). Hal ini berarti tingkat keragaman genetik dalam etnis Demta adalah yang tertinggi diantara etnis lainnya.

Analisis melalui konstruksi dendogram dengan metode UPGMA dilakukan berdasarkan Nei's 1978 *genetic diversity*. Gambar 3 merupakan dendogram dari 7 etnis daun wungu yang menggambarkan kekerabatan antarpopulasi. Tabel 4 menunjukkan bahwa populasi yang memiliki kekerabatan terdekat adalah populasi 1 (Demta) dengan populasi 6 (Kamoro) dari Papua, dengan jarak genetik (ID = *Index Dissimilarity*) sebesar 0.0882. Populasi yang memiliki kekerabatan terjauh adalah populasi 5 (Bajawa) dengan populasi 7 (Auyu) dengan nilai ID 1.0720. Etnis Bajawa berasal dari NTT biasa hidup di dataran tinggi yaitu 1547 mdpl, dengan tingkat kelembapan udara yang rendah yaitu 17.30-22.10 °C, dengan curah hujan 2000-3000 mm



Gambar 3. Dendogram 7 etnis daun wungu dari Indonesia Bagian Timur berdasarkan Nei's (1978) *genetic distance* dengan metode UPGMA

Tabel 4. Matriks identitas genetik (di atas diagonal) berdasarkan Nei's 1972 *genetic identity* dan jarak genetik (di bawah diagonal) berdasarkan Nei's 1978 *genetic distance*

Pop ID	1	2	3	4	5	6	7
1	-	0.848	0.895	0.882	0.819	0.916	0.710
2	0.165	-	0.899	0.899	0.581	0.784	0.873
3	0.111	0.107	-	0.894	0.713	0.842	0.782
4	0.126	0.106	0.112	-	0.661	0.880	0.813
5	0.200	0.543	0.338	0.425	-	0.877	0.342
6	0.088	0.243	0.172	0.128	0.131	-	0.626
7	0.342	0.136	0.246	0.207	10.720	0.469	-

Keterangan: Pop ID 1 = Demta; 2 = Ondae; 3 = Waigeo; 4 = Duri; 5 = Bajawa; 6 = Kamoro; 7 = Auyu

per tahun. Perbedaan geografis serta kondisi lingkungan yang signifikan antar kedua populasi, termasuk jenis tanah (etnis Bajawa jenis tanah kambisol, sedimen, vulkan, pH 6-7, gambut, podsolik, sedangkan etnis Auyu jenis tanah gleisol, podsolik, regosol, organosol) dapat mempengaruhi kekerabatan antar keduanya (Pujiono dan Setyowati 2015). Tabel 5 menunjukkan secara umum kondisi alam dan letak geografis dari etnis daun wungu asal Indonesia Bagian Timur. Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa Etnis Demta dan Kamoro yang memiliki jarak genetik terdekat memiliki suhu minimum dan maksimum rata-rata serta tingkat kelembapan udara tergolong sama, walaupun ada sedikit perbedaan dalam ketinggian dan curah hujan per

tahun. Adanya persamaan kondisi iklim dan geografis kedua etnis ini dapat menjadi salah satu sebab adanya kekerabatan genetik yang tinggi diantara etnis Demta dan etnis Kamoro. Kesamaan pola genetik antar etnis daun wungu juga dapat terjadi karena adanya pencampuran gen antar populasi yang terjadi pada pohon *Anthocephalus cadamba* di Indonesia (Nurtjahjaningsih *et al.*, 2014). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa manusia memegang peranan dalam pembentukan struktur genetik suatu populasi, domestikasi dan pencampuran asal-usul. Selain itu, juga disebutkan bahwa proses migrasi suatu etnis dapat juga menjadi faktor yang menentukan keragaman genetik dari daun wungu (Mccusker *et al.*, 2014)

Tabel 5. Karakteristik daerah secara umum berdasarkan lokasi (Pujiono dan Setyowati, 2015; Sudarmono, 2011)

Etnis	Lokasi	Ketinggian (dpl)	Suhu dan kelembapan	Curah hujan (per tahun)	Jenis tanah
Demta	Dataran tinggi	100-1500 m	20.9-35.5 °C dan tinggi	> 3000 mm	Podsolik merah kuning, Mediteran
Ondae	Pegunungan	>500 m	22.5-31.21 °C dan tinggi	2000-3000 mm	<i>Alluvium coastal deposits, kambuno granite, lake deposits, formasi Latimojong, meta limestone, serpentinite rocks, tineba volcanics</i>
Waigeo	Dataran rendah	100-300 m	23.60-30.70 °C dan tinggi	4306 mm	Tanah kapur (karst), podsolik, batuan basah vulkanik
Duri	Dataran tinggi	47-3293 m	25-28 °C	2300-2900 mm	Sedimen, podsolik
Bajawa	Dataran tinggi	1547 m	17.30-22.10 °C dan rendah	2530 mm	Kambisol, sedimen, vulkan, pH 6-7, gambut, podsolik
Kamoro	Pesisir	40 m	20.8-35 °C dan tinggi	3600 mm	Aluvial, gambut
Auyu	Dataran rendah	25-100 m	26-27 °C dan tinggi	2000-3000 mm	Gleisol, podsolik, regosol, organosol

KESIMPULAN

Delapan kombinasi SRAP pada penelitian ini tergolong informatif dan berpotensi dalam menghasilkan fragmen polimorfisme *G. pictum* (L) Griff dari Indonesia Bagian Timur dengan nilai PLP sebesar 88.55%. Keragaman genetik antar aksesori berdasarkan IS DICE cukup tinggi (86%). Keragamamaan antar etnis atau populasi tergolong rendah dengan nilai PLP sebesar 47.23% dan nilai indeks informasi Shannon 0.2819. Demta adalah etnis dengan keragaman populasi tertinggi (PLP = 81.63%). Berdasarkan nilai ID, jarak genetik terdekat diperoleh etnis Demta dan Kamoro (ID = 0.0882), jarak genetik yang terjauh adalah etnis Bajawa dan Auyu (ID = 1.0722). Sedangkan antar aksesori, aksesori dari Bajawa dan Auyu memiliki jarak genetik terjauh (ID = 0.7755), sehingga aksesori dari etnis Bajawa dan Auyu dapat digunakan sebagai tetua dalam penyilangan tanaman (IS = 0.22). Selain itu, etnis Bajawa diduga merupakan etnis tetua *G. pictum* (L) Griff dari Indonesia Bagian Timur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) melalui program RSTOJA 2018 yang telah menyediakan sampel dan dana penelitian. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB yang telah memberikan fasilitas selama pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [GBIF] Global Biodiversity Information Facility Secretariat. 2017. *Graptophyllum pictum* Griff. GBIF Backbone Taxonomy. <https://www.gbif.org/species/3173137> [01 Juli 2019].
- Adelina, M., S.P. Harianto, N. Nurcahyani. 2016. Keanekaragaman jenis burung di hutan rakyat Pekon Klungu Kecamatan Kotaagung Kabupaten Tanggamus. *J. Sylva Lestari*. 4:51-60.
- Andrianto, D., P.J. Puspita, U.M. Safira, D.O. Prastiwi, S. Hermita, D. Subositi, A. Maruzy. 2021. Genetic variability of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff accessions from western Indonesia by sequence related amplified polymorphism. *Biol. Life Sci. Forum*. 2:1-7.
- Astana, P.R.W., D. Ardiyanto, A.Triyono, T.A. Mana. 2017. Uji keamanan dan manfaat ramuan jamu untuk hemoroid dibandingkan dengan dosmin hisperidin. *Media Litbangker*. 27:57-64.
- Calderón, M.V., J.O. Mijangos-Cortés, J.Z.L. Manuel, F.S. Teyer, Q.M. Adriana, M.O.G. Matilde, A.C.M. Fernand, E.G. Francisco, G.F. Ortiz, J.M. Santamaria. 2016. Genetic characterization by amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers and morphochemical traits of *Carica papaya* L. genotypes. *Afr. J. Biotechnol.* 15:948-959.
- Hikmawati, E., A.P. Roswien, W. Nurcholis. 2014. Antidiabetic activity of ethanolic extract and its fraction of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff leaves as an α -glucosidase enzyme inhibitor. *J. Kedokteran Yarsi* 22:152-162.
- Jiangseubchatveera, N., B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, A. Teerawutgulrag, D. Santiarworn. 2015. The chemical constituents and the cytotoxicity, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 18:11-17.
- Jones, N., H. Ougham, H. Thomas, I. Pasakinskiene. 2010. Markers and mapping revisited: finding your gene. *New Phytologist*. 183:935-966.
- Khumaida, N., N.N. Kristina, D. Sartiami, T.L. Mardiningsih. 2008. Kearifan lokal penduduk Jawa Barat, Maluku, dan Papua dalam memanfaatkan tanaman obat handeuleum (*Graptophyllum pictum* L.). hal. 284-290. *Dalam* M. Hanafi, N. Artati, A. Darmawan, S. Fajriah (Eds.). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia (TOI) XXXV*. Serpong 13-14 November 2008.
- Kurniasih, S. 2012. Pemanfaatan Marka Molekul untuk Mendukung Perakitan Kultivar Unggul Kakao (*Theobroma cacao* L.) Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lathifah, A.U., I.D. Buwono, U. Subhan. 2016. Deteksi keragaman genotip hibrid ikan lele sangkuriang, mutiara transgenik dan mutiara non transgenik pada keturunan pertama. *J. Perikanan Kelautan* 7:111-120.
- Li, G., C.F. Quiros. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor. Appl. Genet.* 103:455-461.
- Li, X.Y., J. Li, Z.J. Zhao, F. Yang, Q.W. Fu, H.S. Liu, D.D. Wang, Y.C. Yang, Y.R. Wang. 2014. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) for studying genetic diversity and population structure of plants and other living organisms: A protocol. *J. Anim. Plant. Sci.* 24:1478-1486.
- Manoi, F. 2011. Analisa fitokimia dan kandungan bahan aktif dari lima aksesori tanaman handeuleum (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff). *J. Penelitian Pertanian Terapan* 11:15-24.

- Mccusker, M.R., N. Mandrak, B. Egeh, N.R. Lovejoy. 2014. Population structure and conservation genetic assessment of the endangered Pugnose Shiner, *Notropis anogenus*. *Conserv. Genet.* 15:343-353.
- Muriira, N.H., A. Muchugi, A. Yu, J. Xu, A. Liu. 2018. Genetic diversity analysis reveals genetic differentiation and strong population structure in *Calotropis* plants. *Scientific Reports.* 8:1-10.
- Nurtjahjaningsih, I.L.G., M. Qiptiyah, T. Pamungkas, A.Y.P.B.C. Widyamoko, A. Rimbawanto. 2014. Karakterisasi keragaman genetik populasi jabon putih menggunakan penanda *random amplified polymorphism* DNA. *J. Pemuliaan Tanaman Hutan* 8:81-92.
- Pujiono, E., R. Setyowati. 2015. Penilaian tingkat kerentanan sumber daya air terhadap variabilitas iklim di DAS Aesesa, Pulau Flores, Nusa Tenggara Timur. *J. Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan* 12:177-195.
- Riupassa, P.A. 2016. Keragaman genetik durian (*Durio* spp) berdasarkan penanda *inter-simple sequence repeat* (ISSR). Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Robarts, W.D.H., A.D. Wolfe. 2014. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: a potential resources for studies in plant molecular biology. *Appl. Plant Sci.* 2:1-13.
- Rosmala, A., N. Khumaida, D. Sukma. 2015. Perubahan morfologi dan pertumbuhan handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff) akibat iradiasi sinar gamma. *J. Agron. Indonesia* 43:235-241.
- Sari, V., Miftahudin, Sobir. 2017. Keragaman genetik bawang merah (*Allium cepa* L.) berdasarkan marka morfologi dan ISSR. *J. Agron. Indonesia* 45:175-181.
- Solin, N.W.N.M., Sobir, N.T. Mathius. 2013. Keragaman genetik populasi tetua saudara kandung (Sibs) kelapa sawit Dura Deli berdasarkan penanda DNA mikrosatelit. *B. Palma* 14:100-108.
- Subositi, D., H. Widodo. 2011. Intraspecific variation of Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) based on molecular characters in medicinal plant and traditional medicine research and development office. p. 343-346. *In* H Widjaja, S.S Achmadi, I.H Suparto, I. Batubara, Y. Rukayadi, Sulistyani, M. Rafi, L.K Darusman (Eds.). *Proceedings The Second International Symposium on Temulawak*. Biopharma Research Center. Bogor 24-29 May 2011.
- Zagorcheva, T., S. Stanev, K. Rusanov, I. Atanassov. 2020. SRAP markers for genetic diversity assessment of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) varieties and breeding lines. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 34:303-308.