

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Biologi *Rafflesia*

##### 2.1.1 Morfologi *Rafflesia*

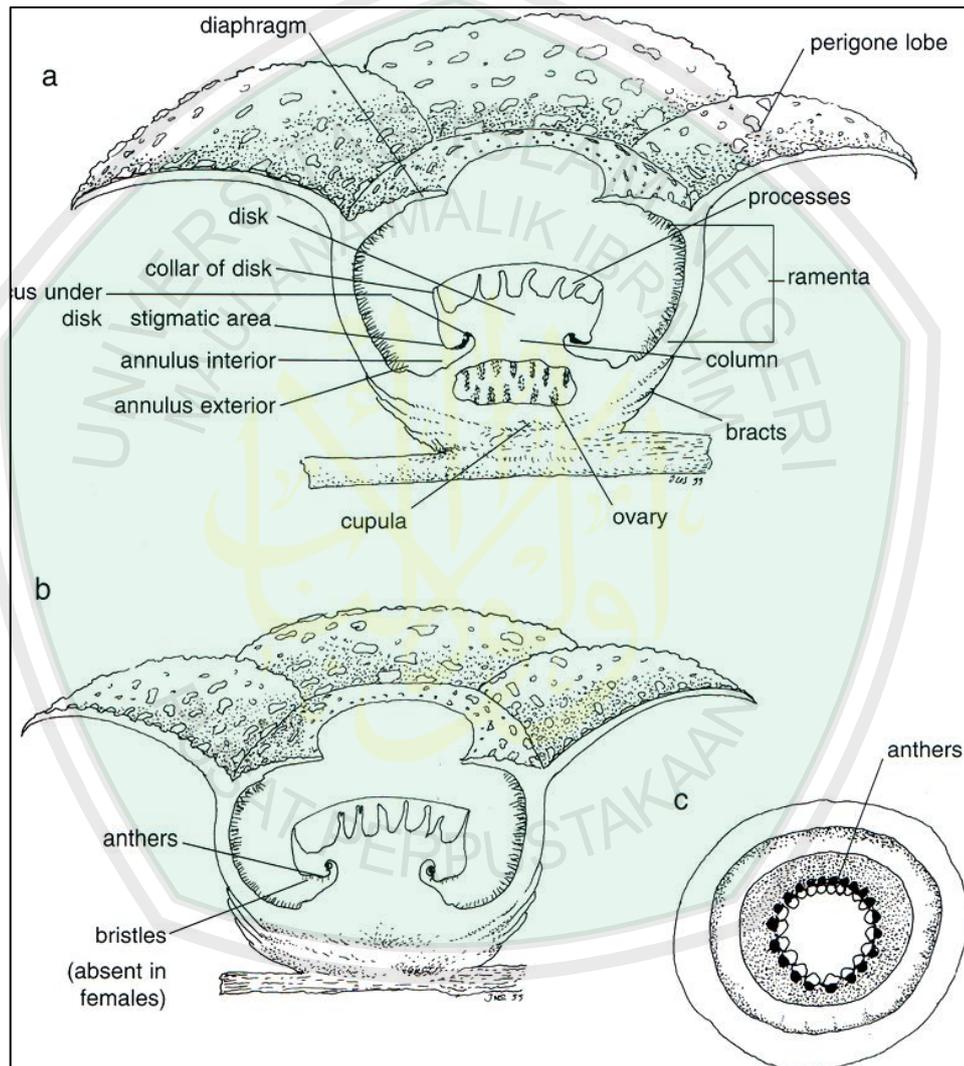
Pada *Rafflesia*, organ vital seperti daun, batang dan akar tereduksi hingga menyisakan bagian bunga saja sebagai organ reproduksi penerus keturunannya (Kuijt, 1969). *Rafflesia* memiliki *haustorium* yang berfungsi untuk menempel pada inang sekaligus menyerap nutrisi yang dibutuhkan. (Zuhud *et. al* 1998). Bunga jantan dan betinanya terpisah pada individu yang berbeda. Knop dan bunga jantan memiliki anter, sedangkan knop dan bunga betina tidak memiliki anter. Bunga betina lebih pendek dan luas dibanding bunga jantan (Nais. 2001).



Gambar 2.1 Penampakan morfologi *Rafflesia arnoldii* (Davis *et. al.*, 2007)

Susatya (2011), menjelaskan bahwa karena uniknya, bunga *Rafflesia* memiliki istilah tersendiri untuk menamakan bagian-bagian tubuhnya, berbeda dengan istilah yang digunakan pada tumbuhan berbunga pada umumnya. Karakter

morfologi pada *Rafflesia* meliputi: haustorium, helai perigon, tabung perigon, *diaphragma*, lubang *diaphragma*, braktea, kopula, cakram, prosesi, annulus dalam, annulus luar (Susatya, 2011). Bagian-bagian tubuh *Rafflesia* secara terperinci disajikan pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.2. Anatomi *Rafflesia*. a. bunga betina; b. dan c Bunga jantan (Nais, 2001)

### 2.1.2 Sistematika dan Pesebaran *Rafflesia*

*Rafflesiaceae* terdiri dari 8 marga yang beranggotakan sekitar 50 spesies, umumnya terdapat di daerah tropik indo-malaysia, antara lain *Rafflesia*,

*Rhizanthus*, dan *Sapria* (Kuijt dalam Zuhud *et. al.* 1998). Susatya (2011), menjelaskan bahwa *Rafflesia* terdiri dari 25 jenis. Jenis-jenis *Rafflesia* tersebut sebagaimana disajikan pada tabel 2.1

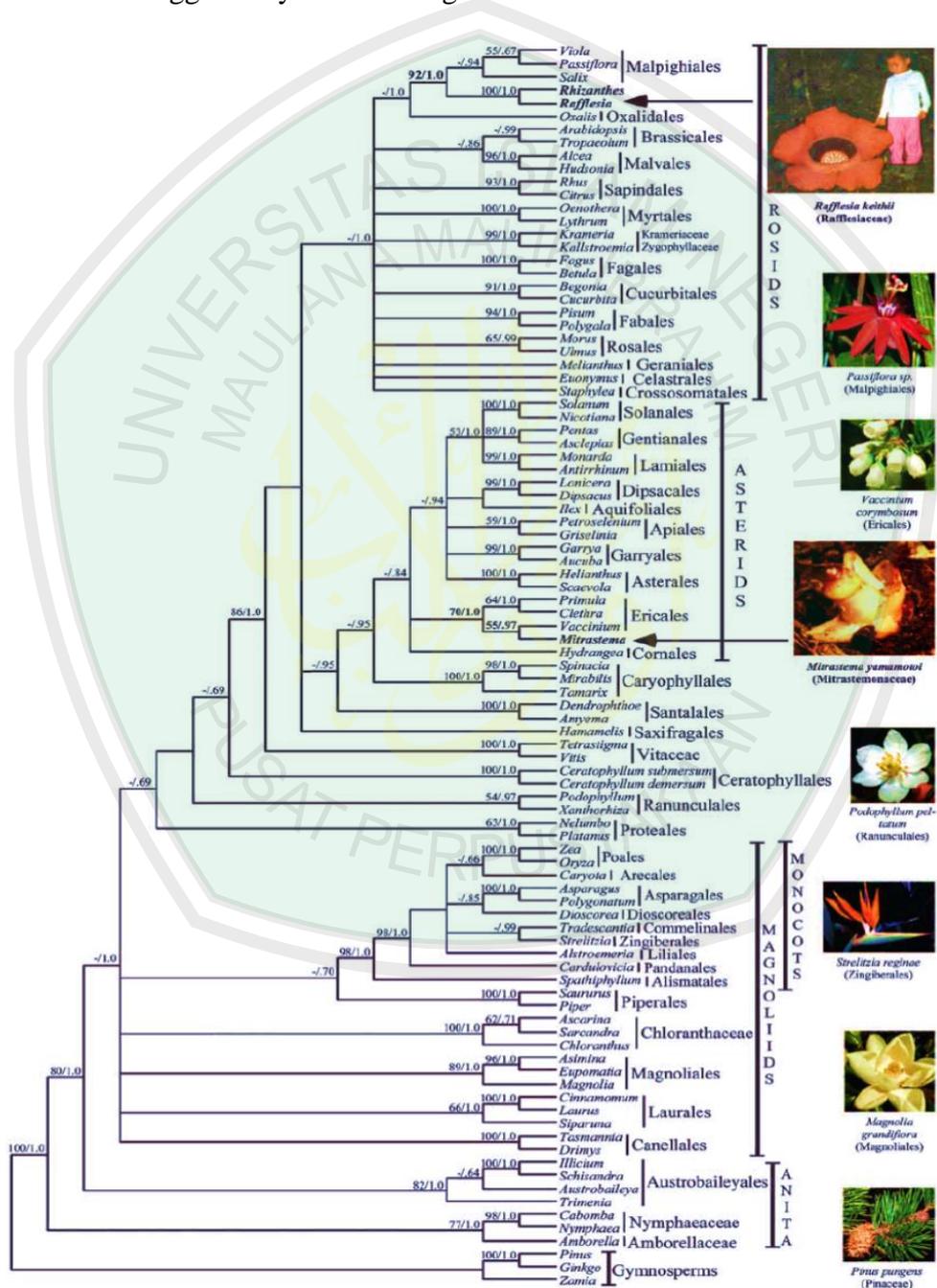
Tabel 2.1 Jenis-Jenis *Rafflesia* di dunia

Jenis-jenis <i>Rafflesia</i>	Catatan
<i>Rafflesia arnoldi</i> R. Br	Brown (1821), Pulau Lebar, Bengkulu
<i>R. patma</i> Blume	Blume (1825), Nusa Kambangan, Jateng
<i>R. manillana</i> Teschermacher	Teschermacher (1825), Pulau Leyte, Philipina
<i>R. rochussenii</i> Teijsm. & Binn.	Teijsmam & Bennendjik (1850), Gunung Gede Pangrango, Jabar
<i>R. tuan-mudae</i> Becc	Beccari (1868), Gunung Pueh, Sarawak
<i>R. hasseltii</i> Suringar	Suringar (1879), Muara laboh, Sumbar
<i>R. schadenbergiana</i> Goeppert	Goeppert (1884), Mindanao, Philipina
<i>R. cantleyi</i> Solms-Laubach	Solms-Laubach (1910), Perak, Malaysia
<i>R. atjehensis</i> Kooders	Kooders (1918), Lokop, Aceh
<i>R. zollingeriana</i> Kooders	Kooders (1918), Puger, Jember, Jawa Timur
<i>R. gadutensis</i> Meijer	Meijer (1984), Ulu Gadut, Padang, Sumbar
<i>R. keithii</i> Meijer	Meijer (1984), Sungai Melaut, Sabah
<i>R. kerrii</i> Meijer	Meijer (1984), Ranong, Philipina
<i>R. microphylora</i> Meijer	Meijer (1984), Lokop, Leuser, Aceh
<i>R. pricei</i> Meijer	Meijer (1984), Mamut Copper Mine, Sabah
<i>R. tengku-adlinii</i> Mat-Saleh & Latiff	Mat-Saleh & Latiff (1989), Mount Trus Madi, Sabah
<i>R. speciosa</i> Barcelona & Fernando	Barcelona & Fernando (2002), Pulau Panay, Philipina
<i>R. azlanii</i> Latiff & Wong	Latiff & Wong (2004), Kinta, Perak
<i>R. mira</i> Fernando & Ong	Fernando & Ong (2005), Mindanao
<i>R. bengkuluensis</i> Susatya, Arianto & Mat-Salleh	Susatya, Arianto & Mat-Salleh (2005), Talang Tais, Bengkulu
<i>R. baletei</i> Barcelona & Cajano	Barcelona & Cajano (2006), Luzon, Philipina
<i>R. lobata</i> Galang & Madulid	Galang & Madulid (2006), Central Panay, Philipina
<i>R. leonardi</i> Barcelona & Pelsner	Barcelona & Pelsner (2006), Luzon, Philipina
<i>R. aurintia</i> Barcelona <i>et. al</i>	Barcelona <i>et al</i> (2009), Luzon, Philipina
<i>R. lawangensis</i> Mat-Salleh, Mahyuni <i>et Susatya</i>	Mat-Salleh, Mahyuni <i>et Susatya</i> (2010), Leuser, Aceh

Sumber: Susatya, 2011

Taksonomi *Rafflesia* sampai saat ini masih didasarkan pada bentuk dan struktur morfologi penampakan bunga namun, Bendiksby *et. al.*, (2010) telah

melakukan pendekatan molekular berdasarkan materi genetik yang berhasil diisolasi, diamplifikasi dan di-sequencing oleh Barkman *et. al.*, (2008). Barkman *et. al.*, (2004) juga telah mencoba memetakan kedudukan *Rafflesia* dengan tumbuhan tinggi lainnya secara filogenetik.



Gambar 2.3 Kedudukan filogenetik *Rafflesia* dengan tumbuhan tinggi yang lain (Barkman *et. al.*, 2004)

Bunga *Rafflesia* hanya tumbuh di kawasan Asia Tenggara yang meliputi Indonesia, Thailand, Semenanjung Malaya dan Philipina. Deskripsi mengenai jenis-jenis *Rafflesia* telah dikompilasi oleh dengan baik oleh Beaman *et. al.*, (1998), Meijer (1997) dan diperbaharui lagi oleh Nais (2001).

Allah berfirman dalam surat At-Thaha ayat 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

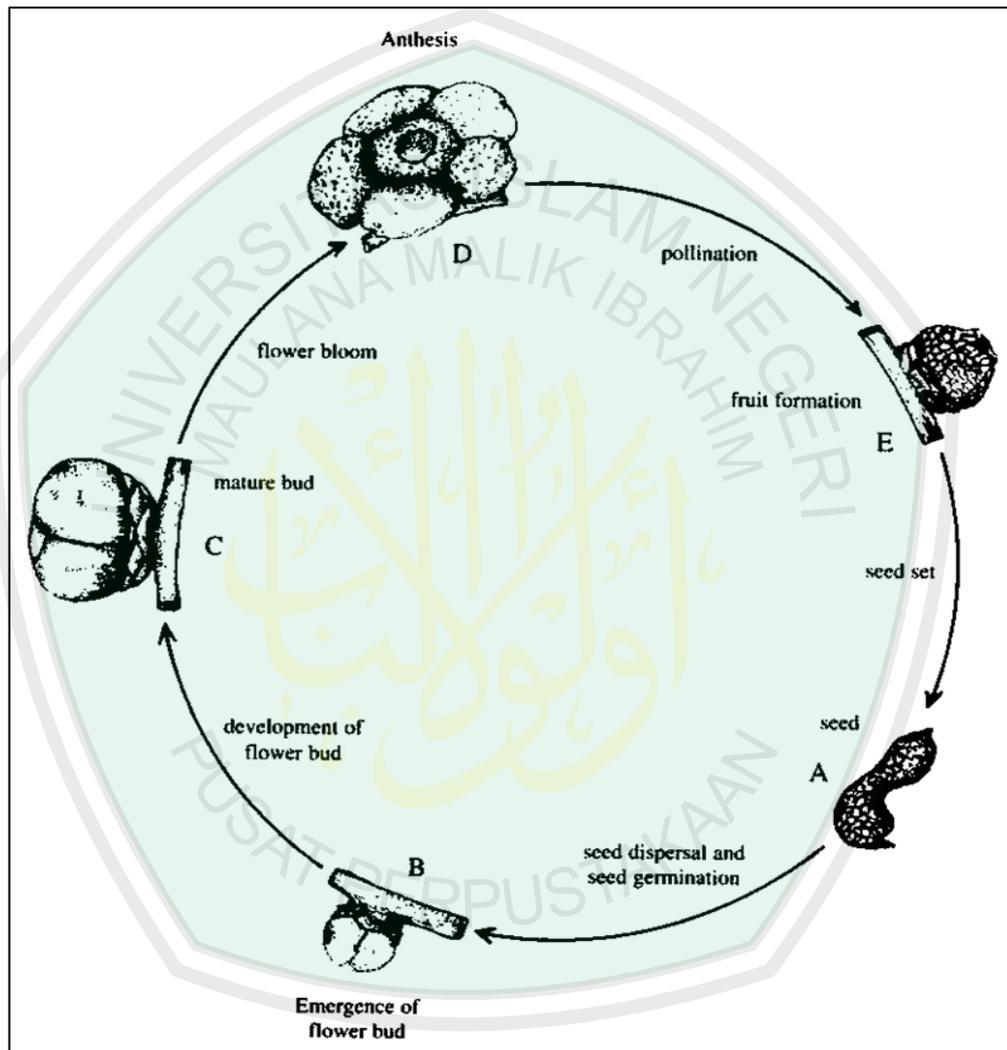
Artinya: “Yang Telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang Telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (Q.S. At-Thaha: 53).

Dalam ayat ini Allah menjelaskan diantara bukti keagungan dan kekuasaannya adalah menurunkan air dari langit dan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam, oleh karena itu tumbuhan yang sudah ditumbuhkan oleh Allah Swt. Keanekaragaman tersebut nampak pada tingkat spesies *Rafflesia*.

### 2.1.3 Siklus Hidup dan Ekologi

Siklus hidup *Rafflesia* meliputi: perkecambahan biji; perkembangan *Rafflesia* di dalam inang (fase kopula); munculnya kuncup bunga; perkembangan bunga (fase brakta); proses mekar; pembusukan bunga; pemasakan buah dan biji; serta pemencaran biji *Rafflesia* (Nais, 2001 dimodifikasi oleh Susatya, 2011). Jika diperhatikan, tahapan fase vegetatif (pembentukan organ daun dan batang) tidak terjadi dalam siklus hidup *Rafflesia*. Hal tersebut merupakan khas dalam proses pembungaan *Rafflesia*, yang akhirnya menjadi pembeda *Rafflesia* (*Rafflesiaceae*)

dari *Spermatophyta* lainnya. Pada umumnya perkembangan bunga tumbuhan tinggi diawali dari proses perkembangan organ vegetatif kemudian terjadi transisi dari fase vegetatif ke fase generatif (Salisbury, 1995).



Gambar 2.4 Rekonstruksi Siklus Hidup *Rafflesia* (Nais, 2001)

Keterangan:

- Biji (diperlukan waktu 2-3 tahun untuk menuju fase B)
- Kopula (diperlukan waktu 272-400 hari untuk menuju fase C)
- Braktea (diperlukan waktu 1-14 hari untuk mekar)
- Bunga mekar (diperlukan waktu 5-7 hari bunga mekar hingga membusuk)
- Buah Masak (diperlukan 6-8 bulan buah masak setelah bunga mekar)

Pandangan Al-Qur'an terhadap proses perkembangan tumbuhan digambarkan pada beberapa ayatNya, di antaranya disebutkan dalam Q.S. Al-An'aam:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: *Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman. (QS. Al-An'aam: 99)*

Secara tersirat, ayat di atas menjelaskan tentang sebuah pemahaman yang sistemik tentang siklus hidup tumbuhan secara umum sekaligus menjelaskan bahwa mekanisme perkembangan tumbuhan secara bertahap, dimulai dari perkecambahan; pertumbuhan vegetatif; pembungaan; perkembangan buah dan pemasakan buah, masing-masing didukung oleh faktor lingkungan. Perkembangan *Rafflesia* memiliki kajian tersendiri karena seolah terdapat deviasi dibandingkan tumbuhan tinggi pada umumnya. Sebagai tanda kehidupan biologis, mempelajari proses pembungaan merupakan salah satu bentuk manifestasi keimanan kepada Allah Swt., Tuhan semesta alam yang menciptakan *Rafflesia*.

Bunga *Rafflesia* hidup pada sistim perakaran atau batang tumbuhan inang *Tetrastigma*. Hubungan inang-parasit *Rafflesia* dan *Tetrastigma*. sangat unik dalam dunia tumbuhan. Meskipun *Tetrastigma* merupakan tumbuhan yang tersebar luas di Indonesia, tidak semua inang ditumbuhi *Rafflesia* (Susatya, 2011).

Penyerbukan *Rafflesia* adalah peristiwa yang belum diketahui secara ilmiah. Disebutkan oleh Nais, (2001) bahwa penyerbukan bagi *Rafflesia* merupakan hal yang sangat sulit karena melibatkan kombinasi berbagai faktor yang berakibat pada terbatasnya kesempatan untuk menghasilkan buah. Faktor-faktor tersebut diantaranya: bunga jantan dan betina terpisah; ketidakserempakan masa berbunga; masa periode berbunga yang pendek; viabilitas pollen yang terbatas. Sehingga keberadaan agen penyerbuk sangatlah penting. Penyerbukan *Rafflesia* diperantarai oleh lalat. Lalat tersebut dapat memasuki bagian bunga *Rafflesia* hingga mencapai bagian polen yang cukup dalam.

Meskipun angin tidak berperan langsung sebagai agen penyerbukan, namun angin dapat menyebarkan aroma khas dari bunga *Rafflesia* sehingga dapat mendatangkan serangga penyerbuk. Angin merupakan agen penyerbuk dari beberapa jenis tumbuhan. Peranan angin dalam menyerbukan (mengawinkan) tumbuhan digambarkan dalam Al-Qur'an surat Al-Hijr:

وَأَرْسَلْنَا الرِّيحَ لَوَاحِحَ فَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَسْقَيْنَاكُمُوهُ وَمَا أَنْتُمْ لَهُ بِخَازِنِينَ ﴿٢٢﴾

Artinya:”dan Kami telah meniupkan angin untuk mengawinkan (tumbuh-tumbuhan) dan Kami turunkan hujan dari langit, lalu Kami beri minum kamu dengan air itu, dan sekali-kali bukanlah kamu yang menyimpannya.” (Q.S. Al-Hijr ayat 22)

*Rafflesia* berkembang biak dengan biji yang penyebarannya dibantu oleh binatang. Beberapa referensi menyebutkan serangga, angin, air maupun binatang mamalia seperti landak, tupai, babi hutan hingga gajah namun semua bersifat masih perkiraan dan perlu diteliti lebih jauh (Susatya, 2011). Kulit buahnya keras yang memang hanya dapat dipecahkan oleh binatang-binatang tersebut.

Zuhud *et. al.*, (1998) menjelaskan bahwa *Rafflesia* dapat ditemukan baik di hutan primer maupun hutan sekunder. Penyebarannya sangat tergantung pada penyebaran tumbuhan inangnya yaitu *Tetrastigma*. Namun demikian tidak semua *Tetrastigma* ditumbuhi *Rafflesia* walaupun di habitatnya sekalipun. *Rafflesia* umumnya ditemukan pada inang yang hidup di tempat-tempat yang dekat dengan sumber mata air. Ketinggian dan kemiringan lahan tempat tumbuhnya sangat bervariasi tergantung dari jenisnya, mulai 5 m (*Rafflesia patma* di Jawa Barat) hingga 1400 m di atas permukaan air laut (*Rafflesia pricei* di Sabah dan *Rafflesia rochusenii* di Jawa Barat).

## 2.2 Teknik Isolasi DNA

Porebski, S.L., *et. al.*, (1997) menyatakan bahwa, metode isolasi DNA tumbuhan yang umum digunakan adalah metode CTAB (*Cetyltrimethyl Ammonium Bromide*) dan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*). Akan tetapi, metode ini juga telah banyak mengalami modifikasi disesuaikan dengan tujuan isolasi dan jenis tumbuhan yang akan diisolasinya. Proses pengeluaran DNA dari nukleus, mitokondria maupun organel lain dengan cara diekstraksi dan dilisiskan biasanya dilakukan dengan homogenasi dengan penambahan bufer ekstraksi atau bufer lisis agar DNA tidak rusak.

Pada kondisi sampel tertentu, untuk membantu lisis membran sel/nukleus/organel atau juga dinding sel maka sampel tumbuhan dimasukkan ke dalam nitrogen cair dan langsung digerus sebelum ditambahkan bufer ekstraksi. Senyawa yang digunakan untuk memaksimalkan hasil isolat DNA yang murni ditambahkan yaitu fenol, kloroform, dan isoamil-alkohol (Fatciyah, 2011). Kotoran akibat lisis sel dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Proses sentrifugasi dengan kecepatan tinggi akan mengendapkan tepung berwarna putih (DNA) dan menempel di dasar tabung ependorf.

Secara kimiawi penghancuran sel dilakukan dengan memanfaatkan senyawa kimia seperti *ethylenediamine tetraacetic* (EDTA), *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) dan Triton X-100. EDTA berfungsi sebagai perusak sel dengan cara mengikat ion magnesium (ion ini berfungsi untuk mempertahankan aktifitas enzim nuklease yang merusak asam nukleat). Enzim proteinase K dapat digunakan untuk menghancurkan protein dan enzim RNAse digunakan untuk menghancurkan RNA sehingga DNA dapat diisolasi secara utuh (Muhammad, S.A., dan Praseno. 1991). Untuk membantu terjadinya lisis biasanya dilakukan inkubasi pada suhu sekitar 60° C. Dalam proses ini biasa digunakan senyawa-senyawa *phenol*, *chloroform* dan *isoamyl alcohol* untuk memaksimalkan proses lisis (Sambrook, 1989).

Kontaminan yang umum ditemukan adalah polisakarida yang dapat mengganggu proses PCR dengan cara menghambat aktivitas *Taq polimerase*, atau polifenol yang dalam keadaan teroksidasi akan mengikat DNA secara kovalen. Untuk menghindari hal ini jaringan yang digunakan dipertahankan agar tetap

dingin sebelum dan selama proses ekstraksi. Selain itu dilakukan penambahan antioksidan seperti PVP (Wilkins dan Smart, 1996).

Setelah dilakukan ekstraksi, maka proses dilanjutkan dengan presipitasi DNA dengan menggunakan etanolabsolut atau isopropanol. Selain DNA, semua bahan yang lain akan larut dalam etanol yang dingin. Dengan demikian, saat dilakukan sentrifugasi, maka DNA akan mengendap dan terpisah dari senyawa-senyawa atau bahan lain.

Fatchiyah, (2011) menjelaskan bahwa, selama proses ekstraksi DNA beberapa hal yang bisa terjadi adalah: DNA patah-patah selama proses isolasi; DNA terdegradasi oleh enzim nuklease; terjadi kontaminasi oleh polisakarida dan metabolit sekunder ikut terisolasi

### **2.3 Uji Hasil Isolat DNA**

Kuantitas DNA diukur melalui spektrofotometri sinar ultra-violet dengan alat spektrofotometer. Banyaknya radiasi ultraviolet yang diserap oleh larutan DNA berbanding lurus dengan banyaknya DNA dalam sampel. Penyerapan sinar tersebut oleh nukleotida secara maksimal dicapai pada  $\lambda$  260 nm, sedangkan penyerapan maksimal oleh protein dicapai pada  $\lambda$  280 nm. Kemurnian larutan DNA tersebut dapat dilihat dengan membagi nilai  $A_{260/280}$ . Molekul DNA dikatakan murni jika rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8 – 2,0. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1,8 maka masih ada kontaminasi protein atau fenol di dalam larutan (Sulandari, S dan M.S.A. Zein. 2003).

Uji kualitatif standar yang digunakan untuk identifikasi, pemisahan, dan purifikasi fragmen DNA adalah menggunakan elektroforesis gel agarosa. Migrasi

elektroforesis DNA melalui gel agarosa dipengaruhi oleh faktor ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi DNA, arus listrik, dan suhu. Pewarna etidium bromida (EtBr) digunakan untuk alat identifikasi dan mengukur semikualitatif fragmen DNA yang terpisah dalam gel. EtBr ini akan terikat di antara dua untai ganda DNA, sehingga pita DNA dalam agarosa akan berpendar karena pewarna ini mengandung zat fluoresen. Ikatan DNA-EtBr ini akan terkespos pada sinar UV level medium, sekitar panjang gelombang  $\lambda 300$  nm (Fatciyah, 2011).

#### **2.4 Herbarium**

Herbarium merupakan suatu spesimen dari bahan tumbuhan yang telah dimatikan dan diawetkan melalui metode tertentu. Herbarium biasanya dilengkapi dengan data-data mengenai tumbuhan yang diawetkan, baik data taksonomi, morfologi, ekologi, maupun geografinya. Selain itu dalam herbarium juga memuat waktu dan nama pengkoleksi (Steenis, 1950).

Fungsi Herbarium adalah sebagai berikut:

- a. Sebagai pusat referensi; merupakan sumber utama untuk identifikasi tumbuhan bagi para ahli taksonomi, ekologi, petugas yang menangani jenis tumbuhan langka, pecinta alam, para petugas yang bergerak dalam konservasi alam.
- b. Sebagai lembaga dokumentasi merupakan koleksi yang mempunyai nilai sejarah, seperti tipe dari taksabaru, contoh penemuan baru, tumbuhan yang mempunyai nilai ekonomi dan lain-lain.

- c. Sebagai pusat penyimpanan data ahli kimia memanfaatkannya untuk mempelajari alkaloid, ahli farmasi menggunakan untuk mencari bahan ramuan untuk obat kanker, dan sebagainya

Terdapat beberapa kelemahan pada herbarium yaitu; spesimen mudah mengalami kerusakan akibat perawatan yang kurang memadai maupun karena frekuensi pemakaian yang cukup tinggi untuk identifikasi dan pengecekan data secara manual, tidak bisa diakses secara bersama-sama oleh beberapa orang, biaya besar; tidak bisa diakses sewaktu-waktu dan tidak dapat diakses dari jarak jauh (Waluyo, 2000).

