Universiteit
Leiden
The Netherlands

Systematics, epidermal defense and bioprospecting of wild orchids

Kusuma Wati, R.

Citation
Kusuma Wati, R. (2021, March 25). *Systematics, epidermal defense and bioprospecting of wild orchids*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/3157143

Version:	Publisher's Version
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/3157143

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

The handle https://hdl.handle.net/1887/3157143 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Kusuma Wati, R.
Title: Systematics, epidermal defense and bioprospecting of wild orchids
Issue Date: 2021-03-25

Ringkasan

Indonesia merupakan negara kepulauan tropis yang memiliki 17.000 pulau serta terletak diantara dua benua (Asia dan Australia) dan dua samudera (Samudera Pasifik dan Samudera Hindia) . Indonesia merupakan pusat biodiversitas kedua terbesar setelah Brazil untuk tumbuhan dan hewan darat, bahkan menjadi yang tertinggi jika digabung dengan biodiversitas laut. Indonesia merupakan tempat tumbuh dari 25% dari total tumbuhan berbunga di dunia, dimana 40% diantaranya merupakan endemik Indonesia. Berdasarkan survey terkini diketahui ada 7,622 jenis anggrek yang tersebar pada 7 bioregion di Indonesia. Dengan jumlah ini lebih dari 30% dari jenis anggrek di dunia merupakan tumbuhan asli Indonesia. Lebih dari dua puluh abad, riset anggrek Indonesia kini beralih dari penemuan dan deksripsi jenis baru menuju ke konservasi dan studi lingkungan.

Tesis ini menggambarkan peralihan fokus riset anggrek Indonesia sebagaimana dijelaskan pada paragraf sebelumnya. Pada Bab 2, saya menyajikan kunci interaktif multibahasa, tersedia secara daring (http://glomera.linnaeus.naturalis.nl), yang dapat digunakan pada berbagai halaman peramban tanpa harus mengunduh perangkat lunak apapun. Kunci identifikasi ini berisi karakter dari 169 jenis *Glomera*, marga dalam anggrek kalung (Coelogyninae – Epidendroideae) yang belum diamati secara komprehensif pada panduan lapangan terbaru atau survei berbasis daring. Dengan kunci identifikasi ini, anggrek dapat diidentifikasi sampai tingkat jenis dengan menggabungkan kombinasi karakter vegetatif, perbungaan, distribusi dan ekologi sebagai langkah awal untuk revisi taksonomi lebih lanjut. Dalam bab ini, saya menghimbau siapa pun yang berkepentingan dengan anggrek liar di Asia Tenggara untuk menyumbangkan pengamatan terbaru guna memperbaharui informasi terkini tentang sebaran jenis yang belum banyak dikenal ini sehingga mendapatkan wawasan lebih banyak tentang status konservasi jenis tersebut.

Dalam Bab 3, saya membahas tentang tantangan umum koleksi anggrek di luar habitatnya di kebun raya. Sebagian besar jenis anggrek memerlukan suhu, kelembapan, tingkat cahaya dan konsentrasi nutrisi yang sangat spesifik untuk memicu pembungaan dan mempertahankan agar tumbuhan ini tetap hidup, bahkan banyak spesies yang tetap hidup tanpa bunga atau mati beberapa saat setelah dikoleksi dari hutan. Hal ini sangat menghambat identifikasi hingga

tingkat jenis untuk koleksi tersebut karena kunci identifikasi sangat memerlukan karakter bunga. Barkoding DNA yang diperoleh dari spesimen tipe yang mempunyai bunga merupakan alat potensial untuk proses identifikasi yang lebih cepat untuk koleksi hidup yang tidak mempunyai bunga, akan tetapi hanya sedikit kurator herbaria yang mengizinkan pengambilan sampel herbarium tipe. Saya mendapatkan izin untuk melakukan ekstraksi DNA dari sejumlah kecil daun dari specimen tipe dan non-tipe dari marga yang jarang diketahui dari anggrek kalung, *Glomera* Blume yang diawetkan di herbarium Naturalis Biodiversity Center dan Herbarium Bogoriense yang dikoleksi sejak 194 tahun lalu. Saya menggunakan empat kombinasi primer untuk mengurutkan genom inti ITS dari spesimen tipe dan koleksi hidup tanpa bunga dan mendapatkan sekuen Sanger untuk spesimen kering dan koleksi hidup. Dengan sekuen pendek yang diperoleh, beberapa koleksi hidup tanpa bunga dapat diidentifikasi hingga tingkat jenis. Banyak dari koleksi hidup yang dianalisis belum dapat diidentifikasi dan kemungkinan merupakan jenis baru. Hasil ini menunjukkan bahwa barkoding DNA yang diperoleh dari spesimen tipe dapat memberikan informasi taksonomi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi untuk koleksi hidup tanpa bunga. Saya mengusulkan kebijakan yang fleksibel mengenai izin untuk menghasilkan barkoding DNA dari spesimen tipe untuk dapat mengidentifikasi spesimen tanpa bunga dalam koleksi hidup sehingga akan ada perlindungan lebih baik untuk marga anggrek yang tidak banyak diketahui.

Setelah spesimen anggrek yang diketahui sebaran geografisnya dalam koleksi hidup dapat diidentifikasi hingga level jenis, hasil ini dapat digunakan untuk memproduksi biji dan benih untuk reintroduksi dari jenis tesebut ke alam liar jika spesies tersebut punah secara lokal. Dan agar upaya pelestarian ini tetap berlanjut maka tumbuhan dalam koleksi harus tetap sehat dan hidup selama bertahun-tahun. Dalam Bab 4, saya fokus pada tantangan lain dari koleksi anggrek: mencegah hama herbivora. Fakta yang menarik di lapangan adalah jenis anggrek epifit lebih tidak rentan terhadap hama herbivora dibandingkan jenis anggrek terestrial. Studi untuk menganalisis ketahanan anggrek terhadap hama herbivora memerlukan pendekatan yang terintegrasi, yang menggabungkan studi anatomi trikoma epikutikular dan lapisan lilin dengan eksperimen perilaku herbivora. Dalam studi ini, pertama kalinya saya menunjukkan bahwa anggrek terrestrial *Orchis mascula* dan *Calanthe triplicata*, spesies pertama gugur daun dan kedua

hijau sepanjang tahun, mempunyai sistem perlindungan yang berbeda terhadap herbivora siput tanah dibandingkan dengan dua jenis anggrek epifit hijau sepanjang tahun *Dendrochilum pallidiflavens* dan *Trichotosia ferox*, dengan menggunakan histokimia dan eksperimen sentrifuse. Ketebalan dari lapisan lilin serta kepadatan dan histokimia trikoma kelenjar dan non-kelenjar pada epikutikular daun anggrek diamati menggunakan mikroskop cahaya, mikroskop pemindai elektron dan mikroskop transmisi elektron. Total daya yang diperlukan untuk melepaskan dua jenis siput yang berbentuk berbeda, *Subulina octona* dan *Pleurodonte isabella* diukur menggunakan mesin sentrifuse yang dilengkapi oleh strobe tersinkronisasi. Siput ditempatkan dalam dua sisi, tegak lurus atau sejajar dengan urat utama pada daun anggrek, dan pada sisi adaxial (bagian atas) atau abaxial (bagian bawah). Hasil yang diperoleh memberikan dua fakta baru. Pertama, posisi siput tegak lurus atau sejajar dengan urat utama mempengaruhi kinerja spesies lebih kecil yang diuji. Kedua siput terlepas lebih cepat pada sisi yang ditutup oleh lapisan lilin tebal atau trikoma non-kelenjar epikutikular dengan kepadatan tinggi yang mengandung lignin. Studi ini menyoroti pentingnya histologi dan kombinasi dengan eksperimen daya perlekatan untuk mendapatkan pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme pertahanan yang digunakan berbagai jenis anggrek epifit dan terestrial untuk mencegah hama siput herbivora. Dengan pengetahuan ini, individu anggrek dengan kombinasi sifat protektif yang optimal seperti lapisan lilin tebal atau trikoma non-kelenjar yang mengandung lignin dan panjang dapat dipilih untuk program pemuliaan dan reintroduksi di masa mendatang.

Tantangan lain dalam memelihara koleksi spesimen anggrek adalah banyaknya waktu yang dibutuhkan untuk menjaga agar tumbuhan tetap hidup. Pekerjaan tersebut termasuk menyiram setiap hari, memberi pupuk dan memberi naungan pada setiap jenis anggrek sesuai dengan kebutuhan spesifiknya dan menjaganya tetap terlindungi dari hama herbivora. Pekerjaan ini hanya bisa dilakukan secara manual tanpa bantuan robot. Dalam Bab 5, saya fokus pada potensi sumber pendapatan tambahan yang dapat dihasilkan untuk membayar staff untuk memelihara koleksi anggrek yang membutuhkan banyak tenaga. Pendapatan tambahan dapat dihasilkan dengan membentuk kolaborasi inovatif antara publik dan swasta dengan memanfaatkan senyawa bioaktif yang dipanen dari anggrek. Anggrek kalung telah banyak digunakan dalam praktik pengobatan tradisional selama berabad-abad. Bioassay yang dilakukan sebelumnya pada subset spesies

yang tidak terkait menunjukkan bioaktivitas antimikroba, anti peradangan dan antioksidan yang menjanjikan, dan hasil ini memberikan bukti eksperimental untuk sifat obat yang tercatat dalam pengobatan tradisional. Namun tidak satupun dari jenis ini telah diteliti secara etnobotani dalam konteks filogenetik, setidaknya pada saat saya memulai proyek PhD ini. Dalam tesis saya, saya melakukan bioprospeksi komparatif pada sekelompok anggrek liar menggunakan metode respon biologis dan target organ EBDCS (Standar Pengumpulan Data Botani Ekonomi). Penggunaan anggrek dalam pengobatan tradisional tercatat dalam buku dan jurnal. Bioassay menggunakan mikroba pathogen manusia dilakukan dengan 3 kali pengulangan untuk ekstrak yang didapatkan dari berbagai ekstraktan yang diperoleh dari daun dan pseudobulb anggrek jenis *Coelogyne cristata* dan *C. fimbriata* yang dibudidayakan di dalam maupun di luar rumah kaca. Filogeni molekular Coelogyninae berdasarkan sekuens DNA ribosom inti ITS dan kloroplas matK yang diperoleh dari total 148 jenis direkonstruksi dengan Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) dan Bayesian Inference menggunakan MrBayes. Perbandingan bioprospekting EBDCS dan respon biologis dilakukan dengan menggunakan skrip R yang telah disesuaikan. Total 28 jenis anggrek kalung yang dapat diperoleh informasi penggunaan tradisional yang mencakup 19 kategori target organ dan 1 kategori respon biologis dengan 3 status karakter yang berbeda. Ekstrak etanolik yang diperoleh dari daun *C. fimbriata* ditemukan dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Yersenia enterocollitica* dan hasil ini mengkonfirmasi efek antimikroba yang telah tercatat dalam literatur. Ekstrak daun memiliki sifat antimikroba yang sama untuk tanaman yang dibudidayakan di luar dan di dalam rumah kaca. Tiga kluster dengan potensi tinggi untuk aktivitas antimikroba terdeteksi untuk metode klasifikasi target organ EBDCS sedangkan delapan kluster terdeteksi untuk metode klasifikasi respons biologis. Saya menyimpulkan bahwa metode klasifikasi respons biologis lebih efektif dalam mengungkap kluster yang mengarah ke kluster spesies dengan potensi tinggi sebagai obat dibandingkan dengan metode klasifikasi EBDCS. Saya merekomendasikan untuk menerapkan metode ini pada marga lain untuk lebih mengeksplorasi potensi ekonomi senyawa bioaktif anggrek Indonesia.