

Jejak Evolusi dan Spesiasi Marga *Indigofera*

Muzayyinah

Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor Indonesia
(Alamat Instansi: Program Studi Pendidikan Biologi
FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta-Indonesia)
Diterima 07 Juni 2012, disetujui 21 Juli 2012

ABSTRACT-Initially trace the genealogy of a taxon is an impossibility, when only few parameters available. Many parameters must be taken into account in data collection. Genealogy of plants is much more complicated than other creatures. One of which that believed to trace the genealogy at the same time ensuring that there is speciation in plants is molecular identification, using either chloroplast genomes, mitochondrial genomes and nuclear genomes. Until recently molecular analysis options that address to what, and how *Indigofera* for the benefit of science.

Keywords: *evolution, speciation, Indigofera*

Review

Marga *Indigofera* termasuk salah satu anggota dari sukua *Leguminosae*. Sukua ini *Leguminosae* mempunyai jumlah jenis terbesar ketiga setelah *Asteraceae* dan *Orchidaceae*. Menurut data dari *Royal Botanic Gardens*, *Kew* and *Missouri Botanical Garden*, jumlah jenis pada *Angiospermae* 352.000 *Gymnospermae* 1000 *Pteridophyta* 13.000 dan *Bryophyta* 20.000. Jumlah jenis dari suku *Asteraceae* 27.773 *Orchidaceae* 27.135 dan *Leguminosae* 23.535 (Ariati *et al.* 2001). Suku *Leguminosae* dikelompokkan menjadi tiga anaksuku, yaitu *Mimosoideae*, *Papilionideae*, dan *Caesalpinioideae*.

Indigofera dalam bahasa latin berarti warna *indigo* yang menghasilkan warna biru alami dari organ daun dan batang. Marga *Indigofera* mempunyai

jumlah jenis sangat besar dan tersebar di seluruh wilayah tropik dan subtropik. Di seluruh dunia tercatat sejumlah 600-800 jenis (Willis 1985), 700 jenis (Sanjappa *et al.* 1985), dan 750 jenis (Xin-Fen 1912, Schrire 2009). Pusat keanekaragaman terbesar berada di Afrika dan Madagaskar berjumlah 550 jenis dan di Asia 105 jenis (Schrire *et al.* 2009). Lebih lanjut Kort & Thijsse (1985) menemukan sejumlah 39 jenis di Asia tenggara. Di China terdapat 81 jenis (45 endemik dan 2 introduksi) (Xin-Fen 2007), di Nigeria Barat terdapat 78 jenis, di Pakistan ditemukan 24 jenis, dan di Burma terdapat 27 jenis (Sanjappa *et al.* 1985), bahkan di Saudi Arabia teridentifikasi sebanyak 20 jenis dan lima varietas (Al-Ghamdi 2011). Revisi marga *Indigofera* Asia Tenggara yang dikerjakan oleh Kort & Thijsse (1985) menyatakan

jumlah jenis yang terdistribusi di Indonesia sebanyak 18 jenis.

Indigofera adalah sosok nama tumbuhan yang tidak asing bagi kalangan pecinta warna alami, pecinta batik tulis, dan herbalis. Beberapa tahun terakhir ini telah terjadi peningkatan penggunaan pewarna dan warna alami untuk pewarna tekstil, termasuk batik, makanan, farmasi, dan kosmetik. Permintaan meningkat sejalan dengan meningkatnya sifat pewarna sintetis beracun dan bersifat karsinogenik. Warna indigo yang oleh masyarakat umum dikenal dengan nila terkandung di dalam jenis tumbuhan *Indigofera*. Diantara banyak pewarna alami yang diakui di seluruh dunia, nila merupakan warna paling tua (Laitonjam & Wangkheirakpam 2011). Senyawa indigo yang terkandung dalam daun *Indigofera* merupakan turunan dari glukosida berwarna bentuk enol dari indoxyl yang dikenal dengan indican (indoxyl- β -D-glucoside). Warna biru Indigo bisa terbentuk dari indican yang mengalami fermentasi. Sifat warna biru, yang tidak luntur dan tetap tahan disebut sebagai “the king of colour”.

Jenis-jenis *Indigofera* penghasil warna alami tekstil adalah *I. tinctoria*, *I. anil*, *I. disperma*, *I. argentea*, *I. pseudotinctoria*, *I. augustifolia*, *I. arcuata*, *I. carolimaria*, *I. cinerea*, *I. coerulea*, *I. endecaphylla*,

I. arrecta, *I. glabra*, *I. hirsuta*, *I. indica*, *I. emarginata* (Georgievics 1892). Selain itu menurut Kort & Thijsse (1985) dan Guirola (2010), *I. arrecta*, *I. suffruticosa* subsp. *suffruticosa*, dan *I. suffruticosa* subsp. *guatemalensis* juga menghasilkan pewarna alami.

Kegunaan lain, *Indigofera* juga bermanfaat sebagai tumbuhan penutup tanah yaitu: *I. arrecta*, *I. hirsuta*, *I. spicata*, *I. suffruticosa*, dan *I. tinctoria*; penghasil senyawa toksik, yaitu *I. galeoides*, *I. hirsuta*, *I. linifolia*, *I. linnaei*, dan *I. spicata*. Diakui pula bahwa ekstrak *I. tinctoria* mengandung senyawa bioaktif flavonoid, saponin, tannin, steroid, terpen, phenol dan antroquinon. Ekstrak daun dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram⁺ dan kanker paru-paru (Renukadevi & Sultana 2011), antiepileptik (Garbhapu *et al.* 2011), dan sebagai antioksidan potensial (Philip *et al.* 2010).

Beberapa jenis *Indigofera* merupakan tumbuhan asli Indonesia yang ditemukan di Jawa dengan nama tom (Jawa) dan tarum (Sunda). Tumbuhan ini sangat mashur dimasa kolonial Belanda dan telah diekspor ke Eropa pada abad 13 bersama rempah-rempah. Menurut Georgievics (1892), kandungan indoginin dalam tumbuhan *Indigofera* yang berasal dari Indonesia yang dikenal dengan java indigo berkisar 56-98% merupakan

jumlah yang tinggi jika dibandingkan dengan tumbuhan dari India.

Adalah ironis nasib yang terjadi pada marga *Indigofera* ini, kemashuran warna yang dihasilkan sebagai warna alami tidak menjadikan tumbuhan ini menarik untuk diteliti. Tumbuhan ini begitu asing bagi peneliti namun sangat dirindukan oleh sebagian pembatik, pelestari lingkungan, herbalis, dan pecinta warna alami. Sangat minim informasi untuk marga *Indigofera* baik di luar maupun di Indonesia. Keterbatasan data baik karakter morfologi, anatomi, sitologi maupun karakter molekuler inilah yang mendorong untuk dikaji lebih lanjut informasi tentang *Indigofera*. Diakui hanya 12% dari sejumlah puak dan marga yang digunakan sebagai sampel penelitian baik secara morfologi maupun molekuler (Schrire *et al.* 2009). Sebagai langkah awal dalam mengumpulkan serpihan-serpihan data tentang tumbuhan *Indigofera*, maka tulisan ini dimaksud untuk menelusuri jejak evolusi serta kemungkinan adanya spesiasi dari marga *Indigofera* melalui ciri morfologi dan ciri lain yang dianalisis.

Ciri Marga *Indigofera*

Marga *Indigofera* masuk dalam subsukua *Papilionideae*. Pengelompokan dibawah sukua menjadi 3 subsukua, masih ada keraguan karena *Mimosoideae* dan *Papilionoideae* adalah monofiletik,

sedangkan *Caesalpinioideae* adalah parafiletik. Sistematika *Leguminosae* tradisional ini (tidak jarang) telah memodifikasi secara substansial urutan rekonstruksi berbasis filogenetik.

Linnaeus (1759) pada awalnya membedakan *Indigofera* menjadi 3 bagian yang didasarkan pada bentuk polong. Sebagai tipe dalam identifikasi adalah *Indigofera tinctoria*. *Anil* dan *Ameri* merupakan sinonim untuk marga *Indigofera*. Selanjutnya pada tahun 1760 marga *Anil* dan *Ameri* digabung kembali menjadi marga *Indigofera* (Linnaeus 1759). Pada perkembangan selanjutnya marga *Indigofera* merupakan peleburan kelompok marga lain yang telah dideskripsi seperti: *Sphaeridiophorum*, *Oustropus*, *Hemispadon*, *Eilemanthus*, *Amerocarpus*, *Achantonotus*, *Indigastrium*, *Microcharis*, dan *Vaughania* (Kort & Thijsse 1985).

Jika dianalisis, pengelompokan menuju marga tidak berdasarkan pada kandungan zat kimia tetapi cenderung pada ciri vegetatif. Karakter yang digunakan dalam penggolongan marga *Indigofera* meliputi tangkai daun menebal, bentuk daun, trikoma, perbungaan, bentuk dan kedudukan buah, bentuk kelenjar pada endocarp, tanin pada endocarp dan keberadaan asam amino kanavanin. Tidak semua karakter morfologi yang digunakan sebagai penanda meru-

pakan karakter unik, karena ciri trikoma-biramous merupakan karakter yang sama dengan karakter yang ada pada *Astragalus*. Adanya tangkai daun yang menebal merupakan ciri dalam *Tephrosieae*, *Robinieae* dan marga *Galegeae*. Perbungaan pada ketiak merupakan ciri dari *Robinieae*.

Marga *Indigofera* mempunyai perawakan berupa pohon, perdu, atau herba. Beberapa jenis mempunyai nodul pada akar (Kort & Thijssse 1984). Pada semua jenis permukaan batangnya mempunyai indumentum berupa trikoma uniseluler (*malpighiaceus*). *I. tinctoria* mempunyai trikoma pada permukaan epidermis, pada *I. erelensis* ditutup oleh trikoma dengan panjang berbeda. Pada *I. hirsuta* trikoma secara ekstrim tersebar pada satu sisi. Anggota *I. colutea* selain mempunyai trikoma biramous juga *pluriceluler* yang berkelenjar pada bagian ujung, tetapi cepat luruh. Beberapa jenis mempunyai tipe trikoma biramous pada permukaan bawah daun dan mempunyai kelenjar berwarna kuning-kehitaman (*I. glandulosa*). Bentuk kelenjar pada material hidup sering ditemukan berbeda dengan material kering. Ketika masih segar kelenjar bentuk bulat, tetapi dalam material kering berbentuk cakram.

Keanekaragaman bentuk daun dan bentuk polong menjadi karakter spesifik pada setiap jenis. *I. cordifolia*

mempunyai daun menjantung, *I. linifolia* abentuk daun memita, atau bundar telur sungsang memanjang, daun tunggal terdapat pada jenis *I. squalid*, *I. trifoliata*, *I. minbuensis*, dan *I. sootopensis*.

Perbungaan bentuktandan di ketiak daun terdapat pada semua jenis. Panjang perbungaan bervariasi, perbungaan yang sangat pendek terdapat pada *I. cordifolia*, ukuran perbungaan terpanjang pada jenis *I. laxiflora*. Braktea berbentuk segitiga memanjang dengan ujung lancip kadang menyegitiga atau loncos, panjang bervariasi, tidak ada brakteola. Bunga kupu-kupu, semua jenis mempunyai *vexillum* tertutup yang mempunyai trikoma, bentuk trikoma pada bunga bervariasi. Pada *I. trifoliata* mempunyai kelenjar hitam pada *vexillum* dan luna.

Seluruh jenis mempunyai bentuk buah polong, namun letak dan kedudukan polong terhadap cabang batang sangat bervariasi demikian pula bentuk polong. Polong pada *I. trifoliata* bersayap pendek sepanjang sutura, *I. glandulosa* bagian tepi melebar, sementara pada *I. nummularifolia* bentuknya *valcata* dan ujung meluncip seperti duri, *I. trifoliata* mempunyai kelenjar bentuk cakram pada permukaan bawah, *I. colutea* glandula tersebar, trikoma merebah pada seluruh permukaan polong. Pada *I. zollingeriana* kedudukan buah tegak dengan batang.

Bentuk buah polong yang bervariasi digunakan sebagai dasar pengelompokan kategori dibawah marga. Berdasarkan bentuk polong dan jumlah biji, marga *indigofera* dikelompokkan menjadi 4 yaitu: 1) *Acanthonotus (Echinate)*: polong bentuk lancor dengan ujung berduri, 2 bakal biji, 1 biji, contoh *I. nummularifolia*; 2) *Sphaeridiophorum*: polong bulat (spherical), 1 bakal biji, contoh: *I. linifolia*; dan 3) *Indigofera (Eu-indigofera)*: polong bundar; 1-20 ovul, contoh *I. tinctoria*; dan 4) *Amecarpus*: polong memipih, ovule 1-20 contoh: *I. senegalensis*. Sementara ciri percabangan trichoma, indumentum dalam veksilum dan bentuk polong digunakan sebagai ciri pembeda untuk pengelompokan jenis di Afrika.

Evolusi pada Marga *Indigofera*

Dalam memahami evolusi suatu takson diperlukan analisis komprehensif tentang ciri adaptif takson tersebut. Tumbuhan yang termasuk dalam suku *Leguminosae* mengalami peristiwa evolusi dibuktikan dengan ditemukannya fosil daun dan buah yang diidentifikasi sebagai anggota dari anakpuak *Glycininae*, puak *Phaseoleae*, subsukua *Papilionoideae*. Melalui pengamatan terhadap fosil yang ditemukan pada serpihan *diatomaceous* di wilayah Linyi Shandong China yang diperkirakan hidup pada pertengahan masa

Miocen diidentifikasi sebagai *Pueraria shanwangensis*. Pada masa yang sama fosil daun berbentuk daun trifolit ditemukan di wilayah Chojabaru Kepulauan Iki Jepang diidentifikasi sebagai *P. miothunbergia* (Wang *et al.* 2010). Fosil lain dari suku *Leguminosae* ditemukan pula di Eropa, Amerika Utara, Australia, Slovenia, Austria dan Italia tetapi identifikasinya tidak sempurna.

Diversifikasi yang telah terjadi pada suku *Leguminosae* dimungkinkan oleh sifat koevolusi dengan polinator secara baik. Bunga yang actinomorfi dinyatakan lebih primitif dibandingkan dengan bunga yang zigomorfi. Laju evolusi dari actinomorfi ke dalam bentuk zigomorfi dipengaruhi oleh gen *cycloidea* (*CYC*) (Cronk 2006). Evolusi pada simetrisasi bunga ini terjadi karena adaptasi terhadap polinator. Bunga zigomorfi lebih efisien dengan bentuk bagian ventral bibir (labelum) yang mempunyai manfaat sebagai panduan visual dan tempat landasan bagi polinator. Jumlah benangsari yang mereduksi, menjadikan serangga mudah menjangkau nektar. Bunga pada *Papilionoideae* tersusun atas sepal, petal, dan organ generatif. Petal bermodifikasi menjadi tiga bagian yang disebut veksilum merupakan modifikasi dari petal bagian ventral, sayap merupakan modifikasi dari petal bagian lateral dan lunas merupakan modifikasi dari petal bagian

dorsal. Variasi dan perbedaan tipe petal epidermal merupakan ciri evolusi dari *Papilionideae* (Ojeda *et al.* 2009).

Karakter lain yang mengalami evolusi adalah perawakan, perawakan suatu takson dianggap sebagai ciri primitif. Perawakan dari *Leguminosae* sebagian besar pemanjat kuat, menjalar, dan perdu.

Penelitian lain terhadap sifat fisiologis adalah gelendong kristal protein (forisom) dalam jaringan elemen papilionoid. Identifikasi terhadap keberadaan forisom berekor dan tidak berekor menghasilkan keanekaragaman dalam puak *Papilionoideae*. Anakpuak *Galegeae* tidak semua anggotanya mempunyai forisom. Hal ini juga terjadi pada anaksuku *Caesalpinioideae* dan *Mimosoideae* (Peters *et al.* 2010).

Sejalan dengan evolusi yang terjadi pada *Leguminosae*, laju evolusi dalam marga *Indigofera* sangat dinamis. Evolusi yang terjadi pada *Indigofera* dipengaruhi oleh faktor geografis, ekologis, dan adaptasi (Schrire 2009). Penelitian molekuler pada marga *Indigofera* yang terdapat di negara Timur Jauh (Cina, Korea dan Jepang) dengan penanda nrDNA ITS oleh Choi & Kim (1997) bertujuan mengevaluasi status jenis yang ada dan mengetahui hubungan kekerabatan antar jenis. Anggota marga *Indigofera* yang diteliti adalah jenis *I. kirilowi*, *I. grandiflora*, *I. koreana*, *I. decora*, *I. venulosa* dan *I. pseudotinctoria*. Dari analisis peruntan DNA dihasilkan panjang pasangan basa pada wilayah ITS-1 230-240 bp, ITS-2 211-213 bp, sementara pada wilayah 5,8S sebesar 161 bp. Sementara ukuran dan isi untuk G + C pada wilayah ITS-1 (50,83 - 54,74%), ITS-2 (44,69 - 48,36%). Hasil analisis menunjukkan adanya tingkat evolusi yang berbeda antara ITS-1 dan ITS-2. Analisis menggunakan penanda molekuler ini dapat menjawab keraguan dan membuktikan bahwa *I. kirilowi* berbeda dengan *I. koreana* yang semula direkomendasikan sebagai sinonim. *I. kirilowi* telah mengalami kemandirian evolusi secara cepat dari tetuanya *I. pseudotinctoria*. Dari analisis ini pula dibuktikan telah terjadi evolusi pada jenis *I. decora* dan *I. venulosa* yang dipisahkan oleh Semenanjung Korea.

Schrire *et al.* (2009) meneliti hubungan filogenetik pada 190 jenis *Indigofera* yang berasal dari Afrika (173 jenis), Madagaskar 9 jenis, Asia 7 jenis dan Australia 1 jenis yang khusus dikoleksi dari wilayah Palaeotropikal dengan teknik nrDNA ITS dan morfologi. Data molekuler nrDNA ITS mendukung data morfologi yang mengelompokkan jenis *Indigofera* menjadi 4 subkelompok, yaitu subkelompok *I. argentea-I. nyassica*,

subkelompok *I. kirilowi-I. koreana*, subkelompok *I. decora-I. venulosa*, dan subkelompok *I. pseudotinctoria*.

subkelompok *I. compressa* - *I. tetrasperma*, subkelompok *I. mysorensis* - *I. uniflora* dan subkelompok *I. tanganyikensis* - *I. bainesii*. Jenis-jenis yang berkelompok menjadi satu subkelompok merupakan jenis yang mempunyai geografi dan ekologi yang sama. Dengan demikian, analisis dengan penanda molekuler mendukung asumsi bahwa evolusi terjadi karena faktor ekologi dan biogeografi.

Penelitian dengan teknik dan metode yang sama dilakukan oleh Schrire *et al.* (2009) terhadap 274 aksesori (266 jenis) *Indigofera* dan 5 marga lain sebagai outgroup. Indeks retensi sebesar 0,753, indeks konsistensi 0,213, jumlah nukleotid 833, indel 33, sementara karakter morfologi sebanyak 80 state. Data filogenetik menghasilkan 5 klade besar yaitu: CRIM klade, Paleotropical klade, Pantropical klade, Cape klade, dan Tethyan klade. CRIM merupakan kepanjangan dari *Cymopsis*, *Rhynchotropis*, *Indigastrum*, dan *Microcharis*). Masing-masing klade tersusun dari subklade dengan jumlah populasi berbeda dari *Indigofera* yang mempunyai tingkat kekerabatan terdekat dan mempunyai kesamaan genetik, morfologi, ekologi maupun geografi tinggi.

Spesiasi pada marga *Indigofera*

Spesiasi adalah proses kreatif yang mengarah pada penciptaan keanekaragaman jenis. Jenis baru yang terbentuk mampu mengadakan pertukaran gen atau melakukan perkawinan secara alami (*interbreeding*) untuk menghasilkan keturunan yang fertil. Anggota-anggota suatu jenis memiliki lungkang gen (*gene pool*) yang sama dan dengan aliran gen (*gene flow*) yang bebas di antara organisme-organismenya. Spesiasi merupakan puncak dari proses evolusi. Pertanyaan utama yang muncul adalah: apa penyebab spesiasi, dan bagaimana tingkat spesiasi bervariasi dari waktu ke waktu? Pertanyaan mendasar ini akan sulit dijawab ketika mempelajari spesiasi hanya menggunakan fosil. Untuk dapat menggambarkan apa dan bagaimana spesiasi terjadi, kita harus menggabungkan data genealogi dengan data filogenetik.

Dimasa lalu ada teknik untuk menggambarkan tingkat spesiasi dari pohon filogeni yang mencantumkan semua jenis menggunakan informasi pada waktu berlalu digambarkan secara grafis dengan memplot jumlah pewarisan melalui waktu. Jika tingkat spesiasi telah konstan selama waktu dan antara garis keturunan dan belum ada kepunahan, maka spesiasi dapat diperkirakan. Pendekatan ini telah digunakan untuk memperkirakan rata-rata tingkat spesiasi

selama radiasi di Hawaii pada suku-*Asteraceae* (Schrire *et al.* 2009). Namun pendekatan ini dipandang kurang akurat manakala didapatkan data yang tidak konsisten. Pendekatan itu harus memungkinkan estimasi lebih luas dari berbagai parameter, seperti tingkat parafiletik dan monofiletik serta frekuensi spesiasi hibrida.

Dimasa sekarang untuk memperkirakan adanya proses evolusi yang mengarah pada spesiasi dan bahkan terjadinya spesiasi disepakati, alat yang paling tepat digunakan adalah perunut DNA. Filogeni dengan data molekuler dapat menjelaskan pola percabangan yang tidak dapat dijelaskan dengan pendekatan klasik sebelumnya. Pendekatan perunut DNA lebih diterima karena DNA dan protein umumnya berevolusi lebih teratur, jumlahnya lebih melimpah dan merupakan data genetik. Tentu yang lebih diperhatikan adalah pemilihan wilayah sekuensing, teknik dan metode pengambilan sampel, demikian pula faktor geografi dan ekologi yang menjadi pertimbangan dalam penetapan sampel populasi. Selain faktor tersebut masih ada faktor lain yang sangat penting, yaitu adanya variasi dalam wilayah, variasi dalam taksa, adanya pergeseran dalam relung dan perkawinan aseksual yang mempunyai potensi untuk membentuk spesiasi (Barraclough & Nee, 2001).

Spesiasi pada populasi tumbuhan umumnya dapat disebabkan oleh mekanisme pengisolasian, mutasi dan seleksi alam, serta poliploidi. Mekanisme pengisolasian dapat terjadi karena adanya isolasi geografi pada populasi yang selanjutnya dapat menciptakan spesiasi simpatrik, alopatrik, peripatrik parapatric dan spesiasi simpatrik karena poliploidi.

Hasil penelitian Sotuyo *et al.* (2007) terhadap jenis *Caesalpinia hintonii* menarik untuk menjadi contoh pembuktian adanya spesiasi dengan keterbatasan data seperti tidak memiliki data fosil, waktu dan jarak penyebaran tidak diketahui, sehingga hipotesis mengenai adanya vikarian dan dispersal menjadi dasar pemikiran. Namun pemilihan sampel penelitian yang sangat cermat. Jenis *C. hintonii* merupakan jenis endemik di wilayah hutan kering Rio Balsas Depression (RBD) dan Tehuacan Cuicatlan Valley (TCV) yang terdiri atas 6 jenis. Analisis DNA pada amplifikasi wilayah intron trnL, wilayah spacer trnL-F, wilayah intergenik trnH-psbA dan wilayah accD-psal digunakan untuk melihat aliran genetik. Hasilnya menunjukkan tidak ada aliran genetik di wilayah timur yang dihuni *C. oyamae*, *C. epifanioidea* dan *C. melanadenia*. Pengamatan terhadap dua populasi dari *C. hintonii* di kedua wilayah menunjukkan kesamaan genetik tetapi morfologi ber-

beda. Kedua populasi bisa dianggap sebagai jenis samar (*criptik*). Tidak mudah untuk memutuskan adanya spesiasi pada *Caesalpinia oyamae* mengingat tidak terjadinya aliran gen antar jenis. Diversifikasi jenis ini menjadi kompleks terkait dengan kondisi lingkungan, orogeni, vulkanisme dan glasiasi. Oleh karena itu diperlukan data kompleks lainnya selain menggunakan data molekuler seperti DNA untuk menentukan tingkat spesiasi (Sotuyoet *al.* 2007).

Data molekuler untuk *Indigofera* sangat terbatas. Penelitian yang sudah dilakukan menggunakan pendekatan molekuler baru terbatas pada jenis di Afrika dan Korea. *Indigofera* dari Indonesia belum diteliti secara molekuler. Choi & Kim (1997) menganalisis nrDNA wilayah ITS dan 5,8S pada *Indigofera* yang ditemukan di China, Korea dan Jepang dengan menggunakan 6 jenis yang bermasalah. Permasalahan yang terjadi adalah adanya hipotesis bahwa antara *I. kirilowi* yang ditemukan di Chungnam Korea dianggap sinonim dari *I. koreana* yang ditemukan di Chunbuk Korea, *I. koreana* sangat mirip dengan *I. dekora* yang ditemukan di China.

Nilai divergensi yang dihasilkan dari analisis berkisar 0 - 13,49%, indeks konsistensi sebesar 0,97 dan indeks retensi sebesar 0,83; jumlah indel ITS-1= 17, ITS-2= 10; besarnya transisi untuk

ITS-1=10 dan ITS-2=5; sementara besarnya transversasi untuk ITS-1=25 dan untuk ITS-2=19; nilai divergensi antara jenis berkisar 0,00-1,15%. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa subseksi *Psiloceratae* yang terdiri atas 5 taksa merupakan monofiletik meskipun mempunyai resolusi rendah. Pada *I. kirilowi* ditemukan adanya penyimpanan dari jenis ancestor akibat evolusi secara mandiri yang ditandai oleh adanya variasi nukleotida yang tinggi. Secara genetik *I. koreana* berbeda dengan *I. kirilowi*. Data molekuler ini mendukung data morfologi yang berbeda antar kedua jenis tersebut, yaitu pada bunga, rambut pada bunga serta geografi, dimana untuk *I. koreana* terdapat di sebelah barat daya Korea sementara *I. kirilowi* terdapat di timur laut Korea. Dengan demikian adanya proses spesiasi di Semenanjung Korea ini menjadi bukti bahwa telah terjadi proses evolusi dalam marga *Indigofera*. Penyimpangan genetik juga terjadi pada *I. dekora* yang mengalami poliploidisasi dari tetuanya *I. pseudotinctoria*. Dengan demikian keraguan status takson antara *I. kirilowii* dengan *I. koreana* menjadi jelas. *I. dekora* merupakan hasil proses spesiasi melalui poliploidisasi.

Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih tak terhingga disampaikan kepada Bapak Mien A Rifai yang selalu mendorong untuk selalu menimba dan membaharui ilmu serta memberi masukan untuk sempurnanya tulisan ini. Terima kasih pula kepada teman-teman di BOT Departemen Biologi IPB yang telah berkenan membaca dan memberi masukan guna perbaikan tulisan ini dan segenap redaktur Jurnal Bioedukasi Program Studi Pendidikan Biologi FKIP UNS Solo yang menerbitkan makalah ini.

Daftar Pustaka

- Al-Ghamdi FA. (2011). "Seed Morphology of Some Species of *Indigofera* (*Fabaceae*) from Saudi Arabia (Identification of Species and Systematic Significance)". *American Journal of Plant Science*, 2,484-495.
- Ariati S.R., Titut Y.,Adi S. (2001). *Koleksi Polong-polongan Kebur Raya Purwodadi*. Kebun Raya Purwodadi, LIPI Lawang
- Barraclough TG & Nee S.(2001). "Phylogenetic and Speciation". *Trend in Ecology & Evolution* Vol.16:391-399
- Choi B.H and Kim J.H. (1997). "ITS Sequences and Speciation on far Eastern *Indigofera* (Leguminosae)". *Journal of Plant Research* 110:339-346
- Cronk Q.C. 2006. "Legume Flower Bear Fruit". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 103 (13): 4801-4802
- Garbhapu A, Yalavarthi P, Koganti P. 2011."Effect of Ethanolic Extract of *Indigofera tinctoria* on Chemically-Induced Seizures and Brain GABA Levels in Albino Rats". *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* Vol.14(4):318-326
- Georgievics V.G. 1892. *Der Indigo(Praktischen und Theoretischen Standpunkt)*. Leipzig & Wien. Franz Deuticke.
- Guirola C. (2010). "*Natural Dyes*". Association Flaar Mesoamerica: American .
- Harvey W. & OW. Sonder. (1894). *Flora Capensis Vol. 2. Leguminosae to Loranthaceae*. Lovell Reeve & Co:London.
- Jain S, Nayak S and Joshi P.(2010). "Phytochemical Study and Physical Evaluation of *Indigofera tinctoria* Leaves". *Pharmacia Globale (IJCP)*, Vol.01:1-5
- John P. & Angelini LG. (2009). "Indigo-Agricultural Aspect". *Handbook of Natural Colorants*. John Wiley & Sons:United Kingdom
- Kadolph S, (2008). "*Natural Dyes: A Traditional Craft Experience New Attention*". Departmen of

- Apparel, Educational Studies and Hospital management at Iowa State University: USA
- Kort ID. & Thijsse G. (1984). "Revision of The Genus *Indigofera* (*Leguminosae-Papilionoideae*) in Southeast Asia". *Blumea* 30 (1984): 89-151.
- Laitonjam W.S. and Wangkheirakpam S.D. (2011). "Comparative study of the major components of the indigo dye obtained from *Strobilanthes flaccidifolius* Nees. and *Indigofera tinctoria* Linn". *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* vol.3 (7): 108-116
- Linnaeus C. 1959. *Species Plantarum*. Bernard Quaritch LTD. Berdnar Quartch: London
- Masih T., Khan A., Meo AA., Akhtar T. (2005). "Palynological Studies of Some Genera of Leguminosae". *Journal Science & Technology. Peshawar University*. 2005, 29 (1): 19-26
- Ojeda, Ortega F., Cronk Q.C. (2009). "Evolution of Petal Epidermal Micromorphology in Leguminosae and Its Use as a Marker of Petal Identity". *Annals of Botany*. Nov: 104 (6): 1099-1100
- Peters WR., Haffer D., Hanakam C.B., Van Bel A.J.E., Knoblauch M. (2010). "Legume Phyloheny and The Evolution of A Unique Contractile Apparatus That Regulates Phloem Transport". *American Journal of Botany* 97 (5): 797-808
- Philip A, Philip S, Arul V, Padmakeerthiga B, Santha S, Sethupathy S. (2010). "Free Radical Scavenging Activity of Leaf Extracts of *Indigofera Aspalathoides*-An in vitro Analysis". *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol.2(6):322-328
- Renukadevi K.P. & Sultana S.S. (2011). "Determination of Bacterial, Antioxidant and Cytotoxicity Effect of *Indigofera tinctoria* on Lung Cancer Cell Line NCI - h69". *International Journal of Pharmacology* 7 (3): 356-362
- Rifai M.A. (1979). *Daftar Istilah Biologi*. Pusat Pembinaan dan Pengembangan Bahasa. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan: Jakarta
- Sanjappa M. (1985). "The Marga *Indigofera* L. (Fabaceae-papilionaceae) In Burma". *Reindwardtia Vol. 10* (2): 211-244.
- Schrire B.D., Lavin M., Barker N.P. and Forest F. (2009). Phylogeny of The Tribe *Indigofereae* (*Legu-*

- minosae-Papilionioideae*): Geographically Structure more in Succulent-Rich and Temperate Setting Than in Grass-Rich Environments). *American Journal of Botany* 96 (4): 816-825
- Siva, R. (2007). "Status of Natural dyes and dye-yielding Plants in India". *Current Science, Vol. 92.* (27):916-925
- Sotuyo S, Salinas A.D., Chase M.W., Lewis G.P, and Oyama K. (2007). "Cryptic Speciation in the *Caesalpinia hintonii* Complex (Leguminosae: Caesalpinioideae) in a Seasonally Dry Mexican Forest". *Annals of Botany* 100: 1307-1314
- Soladoye M.O., Sonibare M.A. and Chukwuma E.C. (2010). "Morphometric Study of the Marga *Indigofera* Linn. (*Leguminosae-Papilionanideae*) in South-Western Nigeria". *International Journal of Botany*:1-9
- Wang Q, Manchester S.R, Dilcher D.L. (2010). "Fruit and Foliage of *Pueraria* (leguminosae, Papilionoideae) From The Neogene of Eurasia and Their Biogeographic Implications". *American Journal of Botany* 97 (2): 1982-1998.
- Willis J.C. (1985). *A Dictionary of the Flowering Plants and Fern.* Cambridge University Press: London.
- Xin-Fen. (2007). "Two Newly Recorded Species of *Indigofera* (*Fabaceae*) in China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 45(6): 841-848