

Makalah Akademia

BIOLOGI MOLEKUL PENENTUAN HUBUNGAN EVOLUSI PAKU PAKIS

Oleh
TS JACQUELINE BINTI JOSEPH

Fakulti Perladangan dan Agroteknologi,
UiTM Cawangan Sabah,
Kampus Kota Kinabalu, Beg Berkunci 71,
88997 Kota Kinabalu, Sabah

jacqueline@uitm.edu.my

Editor: Mohd Syahril Mohd Zan

"Kumpulan paku-pakis merupakan kumpulan pteridofit yang dikenali pasti oleh ahli taksonomi sebagai kumpulan yang bermasalah dari segi taksonomi."

Taksonomi adalah merupakan kajian dalam bidang sains yang menekankan amalan pengelasan organisma hidup berdasarkan kepada persamaan dan perbezaan sifat organisma tersebut. Sifat yang dimaksudkan ini adalah berbentuk fizikal luaran yang dikenali sebagai morfologi. Salah satu sebab yang menyumbang kepada permasalahan taksonomi dalam paku-pakis adalah disebabkan oleh morfologi di kalangan individu paku-pakis yang hampir sama terutamanya melibatkan spora. Ini menyebabkan proses pengecaman agak sukar dilakukan. Lebih mencabar, organisma sentiasa terdedah kepada fenomena biologi seperti proses adaptasi, diversifikasi ekologi dan biogeografi.

Ini juga menyumbang kepada kesilapan dan ralat dalam pengelasan paku-pakis mengikut kumpulan yang betul. Sehingga ke hari ini, pengelasan yang melibatkan paku-pakis masih tidak stabil dan memerlukan perhatian daripada ahli taksonomi untuk memberikan deskripsi morfologi yang sesuai, pengelasan dan penamaan saintifik yang betul. Bagi mengatasi masalah ini, biologi molekul menawarkan teknologi yang mengintegrasikan teknik penjujukan *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang berguna dalam menyediakan maklumat pengelasan yang betul. Biologi molekul dilihat sebagai alternatif terbaik dalam mengatasi masalah ini berbanding penggunaan data morfologi kerana data molekul berevolusi lagi cepat berbanding dengan data morfologi dan ia membantu dalam memberikan gambaran jelas dalam hubungan antara organisma.

BIOLOGI molekul memainkan peranan penting dalam mengkaji dan menentukan hubungan filogenetik atau evolusi di dalam kumpulan organisma hidup. Malah, biologi molekul dapat menyelesaikan isu yang berkaitan dengan hubungan filogenetik yang bermasalah di dalam kumpulan organisma yang disebabkan oleh ketidakpastian asal-usul, leluhur dan sejarah evolusi organisma tersebut.

Meskipun pendekatan konvensional menggunakan kaedah morfologi atau pengelasan secara kladistik digunakan secara meluas bagi mengenalpasti satu-satu organisma, kaedah ini dianggap kurang praktikal dan memerlukan kemahiran identifikasi yang teliti. Hanya ahli-ahli taksonomi dan botani yang terlatih sahaja berupaya membuat pengelasan dengan betul melalui pemerhatian mata kasar dan mikroskop serta pemeriksaan morfologi menggunakan kekunci dikotomi.

Penyelidikan menggunakan aplikasi data molekul menggunakan sampel pakis dapat diringkaskan melalui melalui beberapa peringkat penting dalam biologi molekul (rujuk Gambar 1) seperti berikut; (1) Kutipan sampel segar paku-pakis, (2) Penyediaan spesimen herbarium, (3) Pengekstrakan sampel asid deoksiribonukleik (DNA), (4) Tindak balas berantai polimerase (Polymerase Chain Reaction – PCR) dan (5) Penjujukan genom (DNA sequencing).



Pakis segar yang dikutip di lapangan diproses sebagai spesimen kering.



Sedikit sampel pakis segar dimasukkan ke dalam plastik kedap udara bersama dengan gel silika untuk dibawa ke makmal.



70% etanol direnjis ke atas spesimen bagi memastikan ia dapat bertahan dalam tempoh perjalanan balik ke makmal.



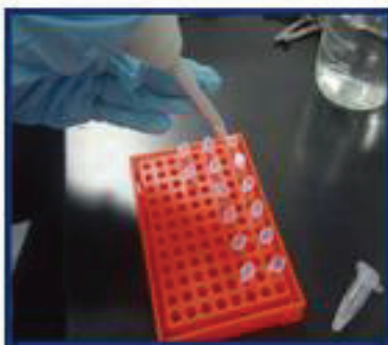
Contoh spesimen pakis yang telah dikeringkan dan lengkap dengan deskripsi morfologi dan penamaan.



Sampel pakis dicampurkan bersama pasir laut di dalam lesung dan dihancurkan menggunakan alu sehingga membentuk serbuk halus.



900 μ l *Cetrimonium bromide* dicampurkan bersama serbuk sampel pakis yang telah dihancurkan.



Sampel DNA pakis diproses bagi memperbanyakkan salinan DNA melalui teknik PCR.



Produk daripada PCR akan diproses menggunakan mesin penjujukan DNA.

Gambar 1. Peringkat penting dalam biologi molekul

Penggunaan gel elektroforesis juga dilihat amat penting bagi mengesahkan kehadiran jalur DNA di dalam sampel selepas pengekstrakan sampel DNA dan selepas proses PCR. Sekiranya jalur DNA kurang jelas atau langsung tidak kelihatan dalam gel elektroforesis, disarankan untuk membuat pengoptimuman sampel DNA dengan cara menambah atau mengurangkan lagi kuantiti DNA dan mengubah kuantiti reagen di dalam campuran utama PCR (*PCR mastermix*).

Kesemua spesimen herbarium telah melalui proses identifikasi secara perbandingan kepada morfologi spesimen tersebut dengan spesimen pakis lain yang terdapat di Herbarium Taman Kinabalu, Herbarium Pusat Penyelidikan Perhutanan Sandakan dan Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia, Kepong. Hasil jujukan DNA yang diperolehi dibersihkan terlebih dahulu agar bebas daripada kontaminasi bendasing dan diproses kepada jujukan yang boleh digunakan. Perolehan keputusan jujukan DNA tersebut boleh dimuatnaik ke pangkalan data <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> bagi tujuan pendaftaran dan pengesahan identiti sampel pakis tersebut menggunakan aplikasi BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Kemudian, kesemua jujukan tersebut digunakan untuk membina pokok filogenetik melalui perisian PAUP (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony*). Dua analisis data turut digunakan bagi membantu dalam pemilihan pokok filogenetik yang bersesuaian iaitu *Maximum Parsimony* dan *Maximum Likelihood*.

Walau bagaimanapun, terdapat kekurangan penggunaan aplikasi PAUP menyebabkan kurang mendapat sambutan di kalangan para penyelidik mahupun pelajar pascasiswazah disebabkan oleh penggunaannya yang kurang mesra pengguna dan mengambil masa yang agak lama sehingga mencecah 3-5 hari untuk penjaan pokok filogenetik dengan mengambil kira saiz sampel yang besar. Terkini, perisian seperti *TreeViewer* dan *MEGA* menjadi pilihan ramai dalam penjaan pokok filogenetik.

“Secara kesimpulannya, data molekul merupakan kaedah yang praktikal dalam mengatasi permasalahan pengkelasan organisma tetapi data ini masih perlu disokong oleh data morfologi bagi mengukuhkan justifikasi hubungan evolusi yang sah bagi kumpulan organisma yang bermasalah dari segi taksonomi.”

