

UJI ANATOMI DAN MOLEKULER *SANSEVIERIA TRIFASCIATA*

Whika Febria Dewatisari (whika@upbjj.ut.ac.id)
Jurusan Biologi Universitas Terbuka

ABSTRACT

Sansevieria is an ornamental plant which has variation leaves on colour and form. It has unstabilization characteristic of genetic. This condition especially happens on species *Sansevieria trifasciata*. *Sansevieria trifasciata* which has been expressed to the colour and form of leaves. Variation in isozyme banding pattern knew morphological variation in species *S. trifasciata*. The aim of this research looked at difference of anatomical structure for organs, and any variation in their isozyme banding pattern of *S. trifasciata* "Green tiger", "Hahnii medio picta", "Green arrow", "Golden hahnii", serta "Hahnii cream". The approach were used morphology and microscopic observation of surface leaf, stalk, and root organs; isozyme banding pattern used electrophoresis method. The genetic diversity knew from the analyze result of isozyme based on the matrix of genetic distance which applied on the shape of dendrogram with Hierarchical Cluster Analysis metode average linkage (between groups) program SPSS 14. The results showed that genetic diversity of *S. trifasciata* "Hahnii cream", "Green arrow", "Hahnii medio picta", "Golden hahnii", and "Green tiger" have been found. Morphology observations, there was a unique character on *S. trifasciata* "Hahnii medio picta", while the microscopic observation on leaves organ, all varieties have the same form, "Green arrow" has different on stalk cells compared with the others varieties. Root cells of "Golden Hahnii" and "Hahnii cream" have same cell. The dendrogram resulting from peroxidase data of *S. trifasciata* was clustered in two groups while *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" has own character in group. Accordingly the esterase data showing it divided two group, *S. trifasciata* "Golden hahnii" has own character.

Keywords : isozyme, morphology, *sansevieria trifasciata*

Sansevieria merupakan tanaman hias yang mempunyai keanekaragaman warna dan bentuk daun, serta mudah tumbuh di halaman rumah tanpa banyak perawatan. Tanaman ini dibudidayakan karena keindahan struktur dan warna daunnya. Dengan bentuk, warna, ukuran, dan corak daun yang bervariasi menyebabkan tanaman ini bernilai ekonomi tinggi.

Untuk mempelajari keanekaragaman antar individu serta mengidentifikasi varietas dan hibrida dapat digunakan isozim (Murray *et. al.*, 1999). Isozim atau isoenzim adalah enzim yang terdapat dalam suatu organisme yang mengkatalis reaksi yang sama tetapi berbeda dalam sifat fisika dan kimianya. Perbedaan antara isozim diantara setiap kultivar disebabkan adanya lebih dari satu gen dalam suatu organisme yang mengkode setiap isozim. Pentingnya suatu organisme mempunyai isozim berbeda yang mampu mengkatalis reaksi yang sama, adalah perbedaan respon isozim terhadap faktor lingkungan. Sehingga apabila faktor lingkungan berubah, isozim yang paling aktif dalam lingkungan tersebut melaksanakan fungsinya dan membantu organisme bertahan hidup (Salisbury dan Ross, 1992).

Pengujian molekuler memberi sejumlah besar data untuk menentukan biodiversitas dan dapat digunakan untuk menetapkan tingkatan taksonomi (Karp *et al.*, 1996 ; Suranto, 2007). Sebagai contoh di Indonesia terdapat berbagai kultivar nenas dengan nama daerah yang berbeda-beda dan klasifikasi botani yang belum jelas. Pembagian tersebut berdasarkan pada kesamaan morfologi daun, ada tidaknya duri daun, warna daun, serta bentuk dan ukuran buah. Penanda biokimia seperti isozim merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengklasifikasi koleksi plasma nutfah, karena isozim relatif stabil terhadap lingkungan yang umumnya polimorfik (Hadiati dan Sukmadjaja, 2002). Demikian pula dengan bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*) yang memiliki keragaman warna bunganya meliputi merah, putih, merah jambu, orange, kuning, hingga warna-warna majemuk dapat diketahui hubungan kekerabatannya berdasarkan sifat morfologi dan pola pita isozim. Kacang tanah (*Arachis hypogea*) dengan dua varietas yang berbeda (Julisainah, 2002). Tribus *Alpiniae* dengan perbedaan sifat morfologi serbuk sarinya (Lestari, 2005). Begitu pula dengan padi (*Oryza sativa*) varietas Rojolele (Widiyanti, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk membedakan struktur anatomi dan mikroskopis dari beberapa organ dari varietas-varietas *S. trifasciata* dan membuktikan terjadinya variasi pola pita isozim sebagai penanda molekuler dari beberapa varietas *S. trifasciata*

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2008 sampai dengan Agustus 2008. Penelitian dilakukan di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Laboratorium Bioteknologi Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Bahan material tumbuhan: Lima macam *Sansevieria trifasciata* yaitu kultivar "Hahnii cream", "Green arrow", "Hahnii medio picta", "Golden hahnii", "Green tiger" sedangkan bahan untuk pembuatan isozim, antara lain **(1) buffer ekstraksi**: 1 M *Tris*, sukrosa 7 %, 2-mercaptoethanol, albumin, dan air suling; **(2) Gel poliakrilamid** : *Trisma base* , 1N HCL, TEMED, *Acrilamide*, BIS, *Amonium persulfate*, *Trisma base*, 1 N HCL, TEMED, *Acrilamide*, *Riboflavin* dan air suling ; **(3)Running buffer** : *Stock buffer*: *Trisma base*, *Glycine*, dan air suling; *Running buffer*: *buffer stock* dan air suling **(4) Pewarnaan** (Esterase: $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 , air suling, 0,1 M α -*Naphtyle propionate*, *Naphtyle propionate*, dan etanol; 0,1 M α -*Naphtyle acetat*, *Naphtyle acetat* , dan etanol, *Fast Blue RR Salt* ; Peroksidase: *Trisma base*, asam asetat glacial, air suling, *Amino Ethyl Carbazole*, *B naphtol*, aseton, H_2O_2 3 % ; **(5) Larutan fiksasi B**: 50 % alkohol, 5 % acetone, H_2O .

Pengamatan morfologi dan struktur mikroskopis beberapa organ seperti daun, batang semu, dan akar dari kelima kultivar *S. trifasciata*.

Persiapan Elektroforesis untuk Analisis pola pita isozim meliputi (i) Ekstraksi Sampel : oven, mortal, penangas air, tabung *efendorf*, *sentrifuge*, mikropipet (ii) Pembuatan media gel : magnetic stirer, gelas elektroforesis, sekat (*shield tube*), plat kaca, *magnetic stirer*, gelas elektroforesis, Sisir sampel, (iii) Proses elektroforesis : *electrophoresis bath*, klip penjepit dan *shield tube* dari plat kaca, *Power supply* (iv) Proses pewarnaan gel; baki plastik berukuran 20 X 15 cm, (v) Proses fiksasi gel ; plastik dan *freezer*, *cellophane*. (vi) Penyimpanan gel: *freezer*.

Data uji anatomis dalam penelitian ini dilakukan dengan cara membuat irisan melintang dan membujur dari organ daun, batang, dan akar dari beberapa varietas *S. trifasciata* kemudian diamati perbedaan susunan jaringan masing-masing varietas di bawah mikroskop.

Untuk percobaan elektroforesis, data tentang nilai Rf (perbandingan jarak migrasi isozim terhadap jarak migrasi *loading dye*) pada pola pita isozim. Data kuantitatif selanjutnya diubah menjadi data biner. Data kuantitatif dan data biner dianalisis dengan menggunakan hierarchical cluster analysis metode average linkage (between group) program SPSS 14 (Santoso, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

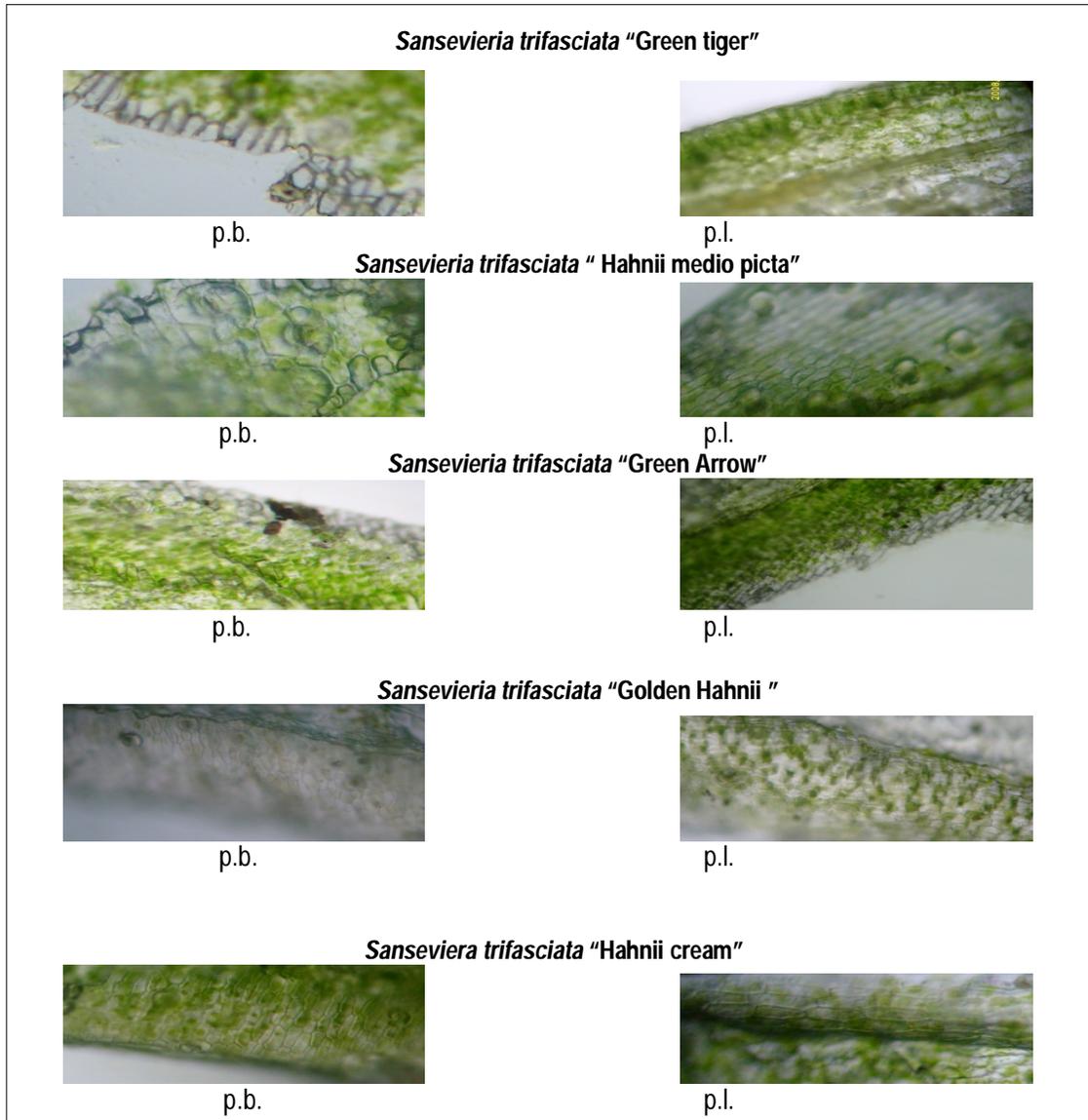
Hasil penelitian tentang sifat morfologi daun, batang dan akar dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 1. Morfologi Lima Varietas *Sansevieria trifasciata*

Sifat Morfologi	<i>S. trifasciata</i> "Green tiger"	<i>S. trifasciata</i> "Hahnii medio picta",	<i>S. trifasciata</i> "Green arrow"	<i>S. trifasciata</i> "Golden hahnii"	<i>S. trifasciata</i> "Hahnii cream"
Jumlah daun per tanaman	5 – 15 helai	3 – 6 helai	3 - 10	5 – 15 helai	2 – 6 helai
Daging daun	Berdaging lunak berair	Berdaging kaku berair	Berdaging kaku berair	Berdaging lunak berair	Berdaging lunak berair
Bangun daun	Oval	memanjang	Lanset	Oval	Oval
Panjang daun	5 - 10 cm	15 - 30 cm	10 –15 cm	5 - 10 cm	5- 10 cm
Lebar daun	3 – 9 cm	4 – 9 cm	2 - 3 cm	3 - 6 cm	3 - 6 cm
Ujung daun	Meruncing	Meruncing	Meruncing	Meruncing	Meruncing
Warna daun :					
1) permukaan	hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal	hijau muda mendekati putih	hijau tua dengan semburat garis-garis hijau muda horizontal	hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna kuning	hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna putih tipis
2) bawah	hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal	hijau muda mendekati putih	hijau tua dengan semburat garis-garis hijau muda horizontal cokelat	hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna kuning	hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna putih tipis
Warna akar	cokelat	cokelat		oranye	putih kekuningan

Varietas yang memiliki helaian daun banyak terdapat pada "Green tiger" dan "Golden hahnii". Varietas yang memiliki helaian daun paling luas adalah "Hahnii medio picta". Helaian daun yang paling panjang dan sempit dimiliki oleh "Green arrow". Warna dan corak daunnya serupa dengan "Green tiger" tetapi helaian daun "Green arrow" lebih kaku dan tebal. "Hahnii cream" dan "Golden hahnii" mempunyai ukuran daun yang serupa. Berdasarkan warna akar, *S. trifasciata* "Green tiger", "Hahnii medio picta", dan "Green arrow" berwarna coklat, sedangkan "Golden hahnii" berwarna oranye dan "Hahnii cream" berwarna putih kekuningan.

Pada pengamatan anatomi mikroskopis daun, sel-sel pada setiap varietas berbentuk hexagonal. Varietas "Green tiger", "Green arrow", "Golden hahnii", dan "Hahnii cream" mempunyai bentuk sel yang sama yaitu hexagonal sempit dan memanjang, sedangkan varietas "Hahnii medio picta" mempunyai sel-sel daun berbentuk hexagonal yang lebih besar dan melebar. Sama halnya pada sifat morfologi, pada mikroskopis daun ini "Hahnii medio picta" mempunyai karakter sel-sel yang paling berbeda dengan varietas lainnya (Gambar 1).

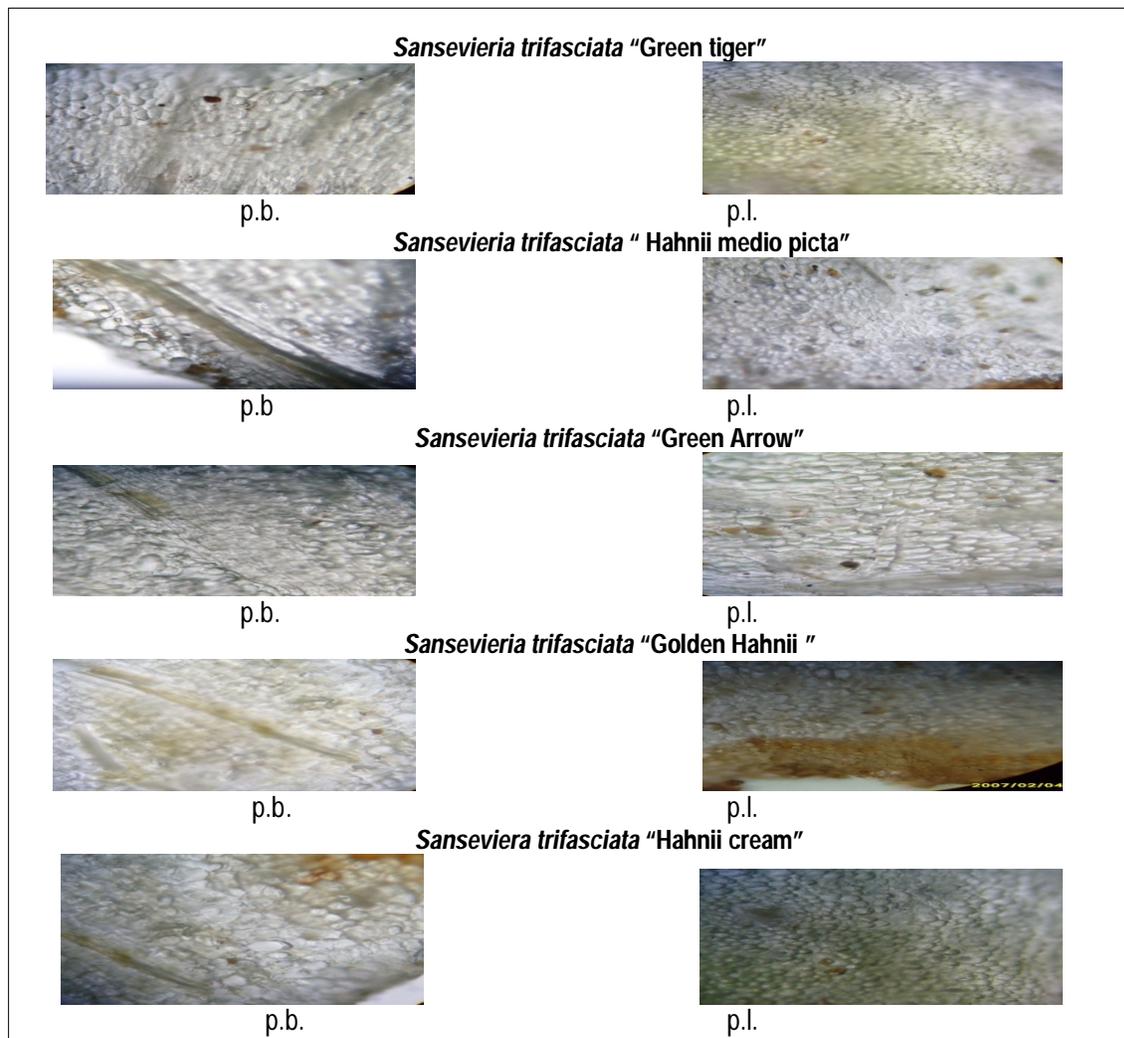


Gambar 1. Penampang melintang dan membujur organ daun lima varietas *S.trifasciata* dengan Perbesaran 100X

Ket : p.b. = penampang bujur
p.l. = penampang lintang

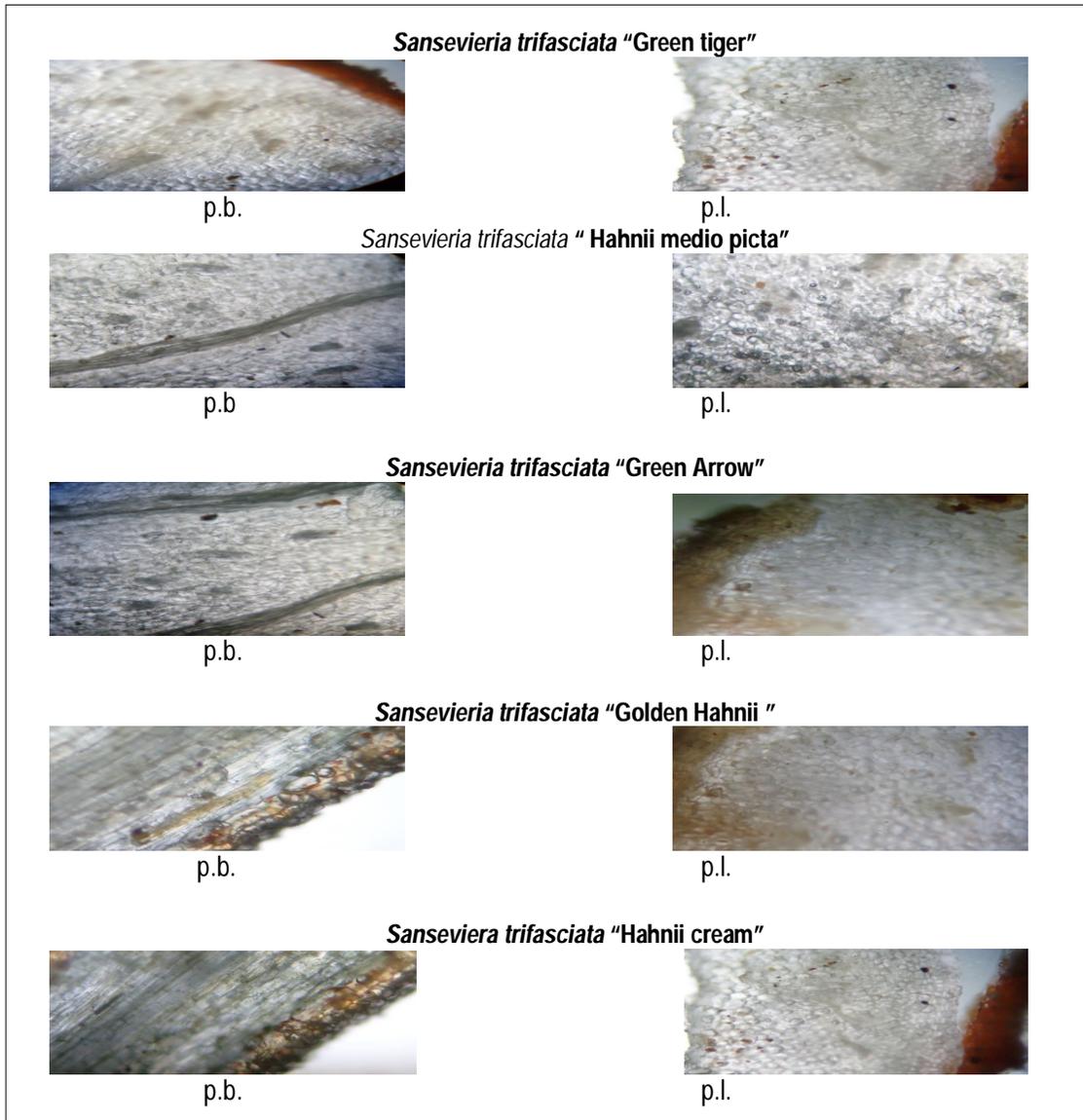
Pada pengamatan anatomi mikroskopis batang yang dipotong secara melintang dan membujur, sel-sel batang pada setiap varietas sama, kecuali sel-sel batang pada varietas "Green arrow". Berbeda dengan pengamatan morfologi dan mikroskopis daun sebelumnya. Varietas "Green arrow" khusus pada batang memiliki perbedaan yang kontras di mana sel-selnya bentuknya memanjang tidak seperti varietas-varietas lainnya yang memiliki sel-sel yang membulat (Gambar 2).

Secara morfologi *S. trifasciata* memiliki daun yang tebal karena kandungan airnya yang tinggi. Bentuknya bermacam-macam, ada yang berbentuk silinder dan ada yang mempunyai helaian kaku seperti pedang. Demikian pula dengan warna dan corak yang bervariasi dan bermacam – macam, dari warna hijau, kuning, dan putih (Robert, 2007).



Gambar 2. Penampang melintang dan membujur organ batang lima varietas *S.trifasciata* dengan perbesaran 100x.

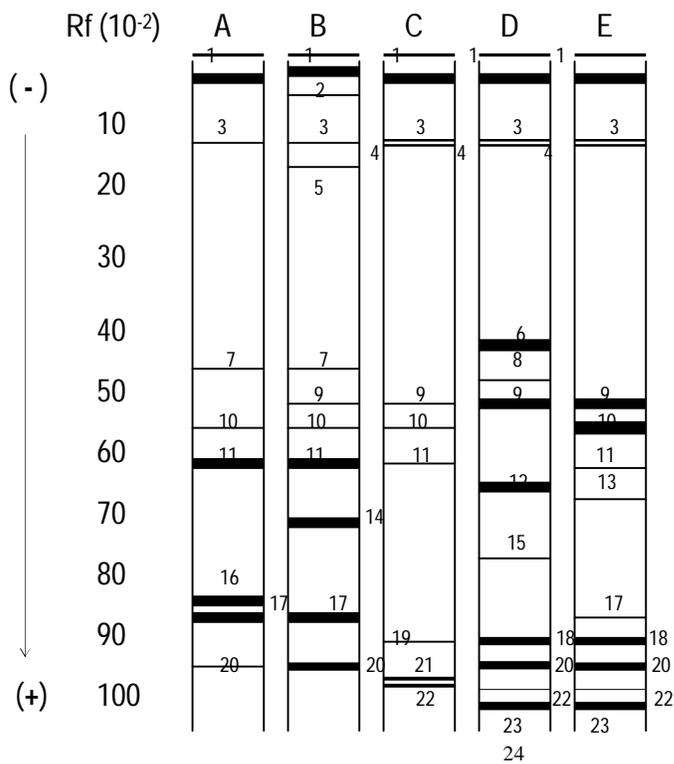
Ket : p.b. = penampang bujur
p.l. = penampang lintang



Gambar 3. Penampang melintang dan membujur organ akar lima varietas *S.trifasciatai* dengan perbesaran 100X

Ket : p.b. = penampang bujur
p.l. = penampang lintang

Pada pengamatan anatomi mikroskopis akar yang dipotong secara melintang dan membujur, bentuk sel-sel akar pada setiap varietas pada umumnya bentuknya sama. Akan tetapi apabila kita melihat dari penampang membujur varietas "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream", keduanya memiliki bentuk sel yang serupa dan berbeda dari varietas-varietas lain, yaitu bentuknya lebih pipih dan memanjang (Gambar 3). Kesamaan kedua varietas ini juga tampak pada sifat morfologi yang memiliki ukuran daun yang sama.



Gambar 5. Zimogram hasil elektroforesis isozim akar dari lima varietas *S. trifasciata* dengan pewarnaan esterase

Keterangan : A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

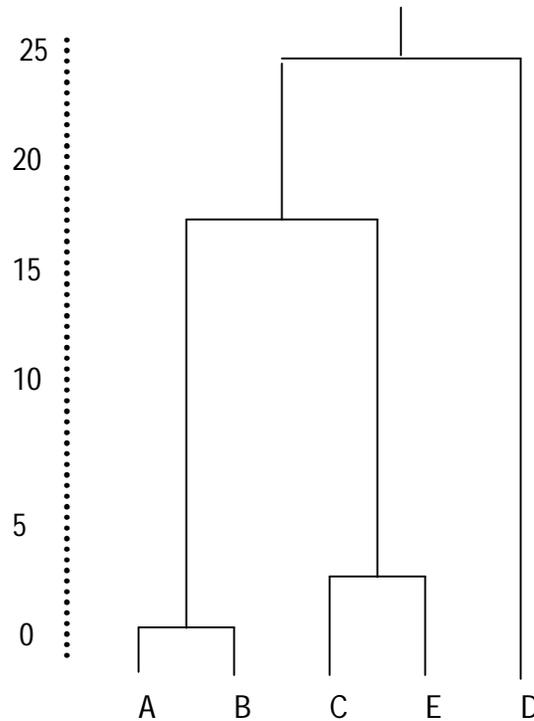
Nomor 1 s.d 13 menunjukkan posisi pita-pita pada tiap varietas tanaman yang diuji

Berdasarkan zimogram hasil elektroforesis isozim peroksidase organ akar, dapat diketahui bahwa isozim peroksidase menghasilkan 23 pita berdasarkan pergerakan relatif enzim (Rf) (Gambar 5).

Kemudian dari data tersebut, dibuat data biner yakni nilai 1 untuk munculnya pita dan nilai 0 diberikan untuk ada tidaknya pita. Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan *Hierarchical Cluster Analysis* metode *Average linkage (Between group)* program SPSS 14.

Pada Gambar 6 menunjukkan hubungan kekerabatan dari masing-masing individu berupa dendrogram hasil analisis isozim. Dari dendrogram tersebut terdapat dua kelompok di mana varietas *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"(D) membentuk karakter sendiri dengan varietas "Green tiger"(A), "Hahnii medio picta" (B), "Green arrow" (C), "Hahnii cream"(E). Pada skala 15 terdapat dua kelompok lagi yaitu varietas "Green tiger"(A) &"Hahnii medio picta" (B), dengan varietas "Green arrow" (C) & "Hahnii cream"(E). Varietas "Green tiger" (A) dan "Hahnii medio picta" (B) memiliki

hubungan kekerabatan yang paling dekat karena memiliki skala yang lebih rendah dibandingkan hubungan kekerabatan antara varietas "Green arrow" (C) & "Hahnii cream"(E).



Gambar 6. Dendrogram Pola Pita Isozim Akar *S. trifasciata* dengan Pewarnaan Peroksidase dan Esterase

Keterangan : A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

Berbagai jaringan yang berbeda dapat mengandung isozim yang berbeda dan semua isozim tersebut mempunyai afinitas terhadap substrat yang berbeda pula. Enzim peroksidase di dalam tubuh tumbuhan *S. trifasciata* memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan enzim esterase sehingga peroksidase sedikit terekspresikan pada gel.

Berdasarkan hasil elektroforesis, baik dengan pewarnaan peroksidase maupun esterase, keragaman pola pita isozim lebih cenderung tergolong ke dalam keragaman kuantitatif, yaitu ada atau tidaknya pita pada gel. Sedangkan perbedaan ketebalan pita merupakan sifat kuantitatif. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi, pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita. Molekul yang mempunyai kekuatan ionik besar akan termigrasi lebih jauh daripada yang berkekuatan ionik rendah (Cahyarini, 2004).

Dari hasil zimogram dan dendrogram dapat dijelaskan bahwa isozim dalam penelitian ini berperan sebagai penanda genetik untuk mempelajari keanekaragaman antar individu serta

mengidentifikasi varietas *S. trifasciata*. Isozim merupakan produk langsung dari gen sehingga dapat digunakan dalam mengidentifikasi varietas dan studi populasi.

Jenis dan jumlah enzim pada masing - masing organisme berbeda-beda. Jaringan yang berbeda juga dapat mengandung isozim yang berbeda, dan semua isozim ini mempunyai afinitas yang berbeda-beda terhadap substrat. Goodwin dan Mereer (1983) menjelaskan bahwa fungsi utama isozim adalah sebagai kontrol terhadap aktivitas metabolisme di dalam sel. Frekuensi perbedaan isozim pada organela yang berbeda pada sel tumbuhan.

Isozim merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengklasifikasi koleksi plasma nutfah, karena isozim relatif stabil terhadap lingkungan dan umumnya polimorfik (Hadiati dan Sukmadjaja, 2002). Berdasarkan karakter tersebut maka isozim telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi beberapa spesies tanaman, seperti identifikasi triploid pada jeruk dengan empat sistem enzim (MDH, 6-PGD, SKDH, dan PGI) (King *et al.*, 1996), identifikasi kultivar nenas dengan enzim phosphoglucomutase (PGM) dan peroksidase (PER) (De Wald *et al.*, 1988), studi variasi pola pita protein pada varietas *Adenium obesum* (kamboja jepang) (Hastuti, 2008), studi pola pita isozim padi (*Oryza sativa*) varietas Rojolele (Widiyanti, 2007), karekterisasi beberapa varietas mangga (*Mangifera indica* L.) berdasarkan pola pita protein (Wahyuningsih, 2008) serta karakterisasi, klasifikasi, dan hubungan kekerabatan plasma nutfah nenas di Hawaii (ADH, GPI, PGM, SKDH, TPI, UGPP) (Hadiati dan Sukmadjaja, 2002).

KESIMPULAN

Berdasarkan variasi morfologi, varietas yang memiliki jumlah helaian daun yang banyak terdapat pada "Green tiger" dan "Golden hahnii", serta yang memiliki helaian daun paling luas adalah "Hahnii medio picta". Helaian daun yang paling panjang dan sempit adalah "Green arrow". Warna akar "Green tiger", "Hahnii medio picta", dan "Green arrow" berwarna coklat, sedangkan "Golden hahnii" berwarna oranye dan "Hahnii cream" berwarna putih kekuningan. Berdasarkan anatomi mikroskopis daun, sel-sel varietas "Green tiger", "Green arrow", "Golden hahnii", dan "Hahnii cream" bentuk selnya hexagonal memanjang, sedangkan "Hahnii medio picta" berbentuk hexagonal yang besar dan lebar. Pada anatomi mikroskopis batang, hanya "Green arrow" berbentuk memanjang. Pada anatomi mikroskopis akar bentuk sel-sel penampang membujur "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream", memiliki bentuk sel yang serupa yaitu bentuknya lebih pipih dan memanjang.

Berdasarkan pola pita isozim akar, pada pewarnaan peroksidase *S. trifasciata* terbagi menjadi dua kelompok dimana varietas "Hahnii medio picta" membentuk karakter sendiri yang terpisah dengan varietas yang lainnya. Pada pewarnaan Esterase terdapat dua kelompok di mana varietas *S. trifasciata* "Golden hahnii"(D) membentuk karakter sendiri dengan varietas lainnya

REFERENSI

- Cahyarini, R. D. (2004). *Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas kedelai jawa berdasarkan analisis isozim*. Thesis Master yang tidak dipublikasikan, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- De Wald M., Moore G. A., & Shermaan W. B. (1988). Identification of pineapple cultivar by isozyme genotype. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 133 (6), 935 – 938.
- Goodwin & Mereer. (1983). *Introduction to plant biochemistry (2nd ed)*. London: Pergamon Press.
- Hadiati, S, & Sukmadjaja, D. (2002). Keragaman pola pita beberapa aksesori nenas berdasarkan analisis isozim. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 7 (2) 62 – 70.

- Julisaniah, N. (2002). *Studi tentang pola pita protein dan isozim dari varietas kacang tanah (arachis hypogea) terhadap infeksi peanut stripe virus (PStV) dengan metode elektroforesis*. Thesis yang tidak dipublikasikan, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Karp, A., Seberg, O. & Buiatti, M. (1996). Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. *Annals of Botany*, 78, 146-149.
- King, B. J., Lee, L. S. & Scott, P. T. (1996). Identification of triploid citrus by isozyme analysis. *Euphytica*, 99, 223-231.
- Lehninger, A. L. (1990). *Dasar-dasar biokimia* (diterjemahkan oleh Maggy Thenawijaya). Jilid I. Jakarta: Erlangga.
- Lestari, A. (2005). *Kajian morfologi tribus alpineae berdasarkan sifat morfologi serbuk sari dan pola pita isozim*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. & Rodwell, V. W. (1999). *Biokimia harper* (diterjemahkan oleh Andry Hartono). Jakarta : EGC.
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1992). *Fisiologi tumbuhan* (diterjemahkan oleh Diah R. Lukman dan Sumaryono). Jilid 2. ITB. Bandung.
- Santoso, S. (2004). *Pengolahan data statistik dengan SPSS 14*. Jakarta.
- Suranto. (2007). *Prospek pemanfaatan sumber-sumber bukti baru dalam pemecahan permasalahan taksonomi tumbuhan*. Surakarta: Program Studi Biosains.
- Widyanti. (2007). *Studi variasi morfologi biji, serbuk sari, dan pola pita isozim padi (oryza sativa) varietas rojolele* Tesis Master yang tidak dipublikasikan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.