



## Keanekaragaman *Mirabilis jalapa* L. Berdasarkan Pola Pita Isozim Peroksidase

### *Diversity of Mirabilis jalapa L. based on isozymic band of peroxidase*

SUHAR IRIANTO, SUTARNO\*, AHMAD DWI SETYAWAN

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126.

Diterima: 11 September 2005. Disetujui: 10 Nopember 2005.

#### ABSTRACT

*Mirabilis jalapa* L. is a gardening plant which growth easily planted because their beautiful color and flower's ornaments. The aims of the research were to find out the variation of isozyme band of peroxidase (PER) and their close relationship of *M. jalapa* cultivated based on their different flower's color. The method used in this study was polyacrilamide gel electrophoresis. The collecting data were analyzed using calculation of association coefficient (Gower's coefficient) with cluster analysis used for similarities of their arithmetic. The results showed that in *M. jalapa* were found 21 variation of isozyme bands of peroxidase (PER) from 8 Rf of 0.04; 0.08; 0.20; 0.28; 0.36; 0.48; 0.60; and 0.64. *M. jalapa* with white and red nodes flower's (BIN) and white and red line flower's (GAR) have the nearest genetic relationship with similarity index of 0.76. *M. jalapa* with white and red nodes flower's (BIN) and white and red line flower's (GAR) joined with red flower's (MER) on 0.73 of similarity index then joined with white flower's (PUT) on 0.64 of similarity index and yellow flower's (KUN) on 0.49 of similarity index. At least, *M. jalapa* with orange flower's (ORA) joined with *M. jalapa* cultivars on 0.41 of similarity index.

---

#### ♥ Alamat korespondensi:

Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126  
Tel. & Fax.: +62-271-663375.  
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

**Keywords:** *Mirabilis jalapa* L., isozym, Gower's coefficient, cluster analysis (UPGMA).

#### PENDAHULUAN

Taksonomi merupakan salah satu cabang ilmu biologi tertua yang di dalamnya mencakup identifikasi, tatanama dan klasifikasi (Bhattacharya dan Johri, 1998; Lawrence, 1951). Setiap sifat yang ada pada organisme memiliki nilai taksonomi. Sampai sekarang morfologi masih memegang peranan penting dalam mengidentifikasi organisme. Selain morfologi banyak cabang-cabang ilmu biologi lain yang dapat digunakan dalam mengidentifikasi organisme seperti anatomi, palinologi, fisiologi, embriologi, sitologi, biokimia dan genetika (Jones dan Luchsinger, 1986).

*Mirabilis jalapa* L. (bunga pukul empat) merupakan tanaman hias yang mudah tumbuh

di halaman rumah tanpa banyak perawatan. Tanaman ini mudah tumbuh di tanah yang mengandung cukup unsur hara dan terlindung dari sinar matahari. Meskipun demikian tanaman ini sering dijumpai tumbuh pada lahan kering dan terkena sinar matahari langsung. Tanaman ini dibudidayakan karena keindahan warna dan ornamentasi bunganya. Tanaman ini juga memiliki kasiat obat, meskipun masih jarang penggunaannya (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Widjajakusuma, 1990).

*M. jalapa* merupakan anggota familia Nyctaginaceae, ordo Centrospermae. Di seluruh dunia terdapat kurang lebih 60 spesies anggota genus *Mirabilis*, namun di Jawa hanya ada satu yaitu *M. jalapa* (Lawrence, 1951). *M. jalapa* membentuk kultivar-kultivar berdasarkan warna

dan ornamentasi bunganya yang bervariasi. Variasi warna bunga *M. jalapa* meliputi warna-warna tunggal seperti merah, putih, merah jambu, orange dan kuning, hingga warna-warna majemuk seperti merah bergaris-garis putih dan putih berbintik-bintik merah.

Variasi genetik dapat diketahui melalui variasi pola pita isozim. Pengetahuan ini bermanfaat untuk mengetahui kedudukan taksonomi dan hubungan kekerabatan di antara kultivar *M. jalapa*, terlebih penelitian tentang status taksonomi *M. jalapa* dengan pendekatan biokimia dan genetika belum pernah dilakukan.

## BAHAN DAN METODE

Obyek penelitian ini adalah beberapa varietas *M. jalapa* yang dibedakan berdasarkan warna dan ornamentasi bunganya. Spesimen diambil di sekitar daerah Surakarta dan sekitarnya. Varietas-varietas yang digunakan adalah *M. jalapa* yang memiliki warna tunggal, meliputi: Merah (MER), Putih (PUT), Kuning (KUN), dan Orange (ORA) serta warna majemuk yaitu: Putih berbintik-bintik merah (BIN) dan Putih bergaris merah (GAR).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: satu set alat elektroforesis Bio-Rad Mini Protean III tipe vertikal, refrigerator, sumber daya AC Bio-Rad Powerpac 300, pHmeter, autoclaf, pembuat kristal es, erlenmeyer, tabung effendorf, gelas piala, mortal, mikropipet ukuran 20  $\mu$ L, 200  $\mu$ L dan 1000  $\mu$ L, aluminium foil, plastik, gunting, penggaris, plastik pembungkus, pipet tip, vortex mixer dan spatula (Hames, 1990; Rothe, 1994; Suranto, 2002).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: aseton, O-dianisidin, buffer asetat, hidrogen peroksidase, bromphenol blue, sistein, asam askorbat, sukrosa, asam borak, borax, gliserol, Tris-base, Sodium Dodecyl Sulphate (SDS), asam klorida (HCl), N-N-N-N'-Tetra-methyl-ethylenediamine (TEMED), Ammonium Persulphate (APS), iso-butanol jenuh, akrilamid dan bisakrilamid (Hames, 1990; Rothe, 1994; Suranto, 2000; Suranto, 2002).

Penelitian ini menggunakan metode elektroforesis gel poliakrilamid natrium dodesil sulfat (SDS-PAGE). Prosedur dalam pencarian datanya meliputi koleksi dan penanaman biji varietas-varietas *M. jalapa*, ekstraksi enzim, elektroforesis dan pewarnaan. Koleksi dilakukan terhadap biji-biji yang telah cukup umur yang ditandai dengan warna biji yang hitam

pekat pada kulit biji dan hampir rontok. Biji ditanam dalam polybag berdiameter 25 cm yang telah diisi dengan campuran pupuk kompos, tanah lempung dan pasir dengan perbandingan 5:3:2. Setiap varietas diwakili 10 pot, masing-masing pot berisi 1 individu. Ekstraksi enzim dilakukan dengan cara melumatkan daun pertama varietas *M. jalapa* dalam cawan porselin yang ditambahkan buffer ekstraksi dengan perbandingan 1:3 (*w/v*). Hasil ekstraksi disentrifugasi pada 3500 rpm dengan suhu 4°C selama 15 menit. Elektroforesis dilakukan dengan metode SDS-PAGE. Sampel di running dengan tegangan 85 V selama 2 jam.

Pewarnaan dalam penelitian ini digunakan hanya satu system enzim, yaitu peroksidase (PER), yang dilakukan pada suhu kamar. Larutan pewarna dibuat dengan cara melarutkan 0,00625 g O-dianisidin dalam 1,25 mL aseton lalu ditambahkan 25 mL buffer asetat dan 2 tetes Hidrogen peroksida. Gel yang telah dielektroforesis dimasukkan dalam larutan pewarna tersebut dan diinkubasi selama 10 menit sambil digoyang secara perlahan-lahan setiap 2 menit. Setelah pita-pita muncul/terdeteksi, pewarna dibuang dan dibilas dengan akuades. Gel dapat direkam gambarnya dengan kamera (Hames, 1990; Rothe, 1994; Suranto, 2000; Suranto, 2002).

Hasil pengamatan dianalisis berdasarkan muncul tidaknya pola pita pada gel. Bila muncul diberi tanda positif (+) dan bila tidak diberi tanda negatif (-). Hubungan kekerabatan fenetik ditentukan dengan metode numerik tepatnya dengan metode pengelompokan koefisien asosiasi, dimana indeks similaritas ditentukan dengan persamaan Koefisien Jaccard ( $S_j$ ). Tingkatan persamaan harga-harga koefisien asosiasinya ditentukan dengan analisis kluster (*Unweighted Pair Group Method Analysis* (UPGMA) (Bridge, 1993).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Keragaman pola pita peroksidase*

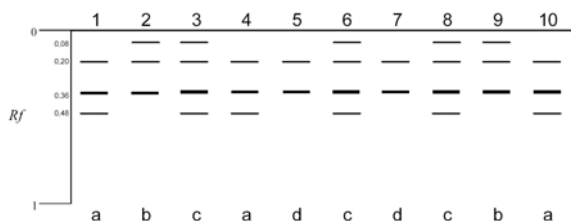
Penelitian terhadap *M. jalapa*, memperlihatkan adanya 21 kombinasi pola pita enzim (genotipe) yang berasal dari 8 pita isozim peroksidase (PER) dengan nilai  $R_f$  0,04; 0,08; 0,20; 0,28; 0,36; 0,48; 0,60 dan 0,64. Pada *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) terdapat 4 pola pita enzim (a, b, c, d) dari 4 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,08; 0,20; 0,36 dan 0,48 (Gambar 1). Pita enzim pertama ( $R_f$  0,08) tampak pada BIN 2, BIN 3, BIN 6, BIN 8

dan BIN 9. Pita enzim kedua dan ketiga ( $R_f$  0,20 dan 0,36) tampak pada semua individu *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN 1-BIN 10) sedangkan pita enzim keempat ( $R_f$  0,48) tampak pada BIN 1, BIN 3, BIN 4, BIN 6, BIN 8, BIN 9 dan BIN 10.

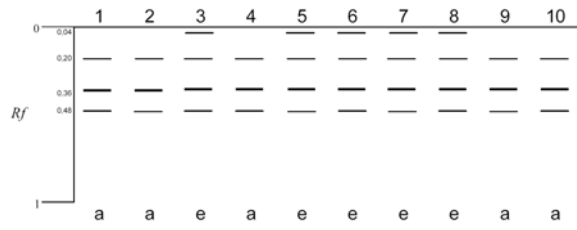
Gambar 2. memperlihatkan bahwa pada *M. jalapa* bunga warna putih bergaris merah (GAR) terdapat 2 pola pita enzim (a, e) dari 4 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,04; 0,20; 0,36 dan 0,48. Pita enzim pertama ( $R_f$  0,04) tampak pada GAR 3, GAR 5, GAR 6, GAR 7 dan GAR 8. Pita enzim kedua, ketiga dan keempat ( $R_f$  0,20; 0,36 dan 0,48) tampak pada semua individu *M. jalapa*. bunga warna putih bergaris merah (GAR 01-GAR 10).

Gambar 3. memperlihatkan bahwa pada *M. jalapa* bunga warna kuning (KUN) terdapat 6 pola pita enzim (e, f, g, h, i, j) dari 6 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,04; 0,20; 0,36; 0,48; 0,60 dan 0,64. Pita enzim pertama ( $R_f$  0,04) dan enzim keempat ( $R_f$  0,48) tampak pada semua individu *M. jalapa* bunga warna kuning (KUN 1-KUN 10). Pita enzim kedua ( $R_f$  0,20) tampak pada KUN 2, KUN 3, KUN 5, KUN 6, KUN 8 dan KUN 9. Pita enzim ketiga ( $R_f$  0,36) tampak pada KUN 1, KUN 2, KUN 3, KUN 4, KUN 6, KUN 8 dan KUN 9. Pita enzim kelima ( $R_f$  0,60) tampak pada KUN 5, KUN 6, KUN 7 dan KUN 10 sedangkan pita enzim kelima ( $R_f$  0,64) tampak pada KUN 4.

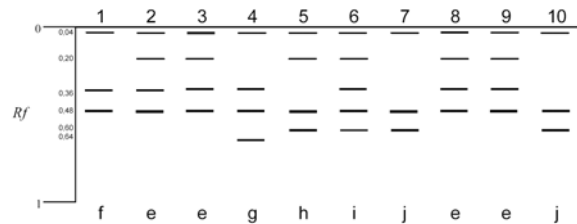
Gambar 4. memperlihatkan bahwa pada *M. jalapa* bunga warna merah (MER) terdapat 4 pola pita enzim (a, k, l, m) dari 6 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,04; 0,20; 0,28; 0,36, 0,48 dan 0,60. Pita enzim pertama ( $R_f$  0,04) tampak pada MER 4. Pita enzim kedua ( $R_f$  0,20) tampak pada MER 1, MER 2, MER 4, MER 5, MER 6 dan MER 8. Pita enzim ketiga ( $R_f$  0,28) tampak pada MER 4. Pita enzim keempat dan kelima ( $R_f$  0,36 dan 0,48) tampak pada semua individu *M. jalapa* bunga warna merah (MER 1-MER 10). Pita enzim keenam ( $R_f$  0,60) tampak pada MER 5 dan MER 8.



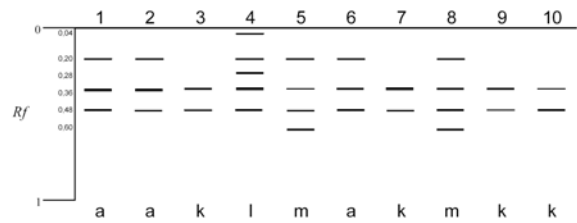
**Gambar 1.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN).



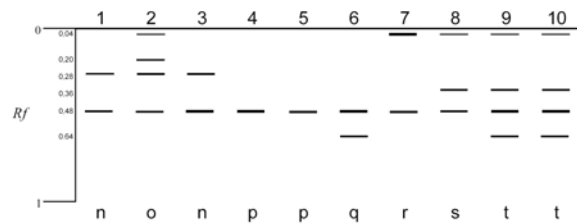
**Gambar 2.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna putih bergaris merah (GAR).



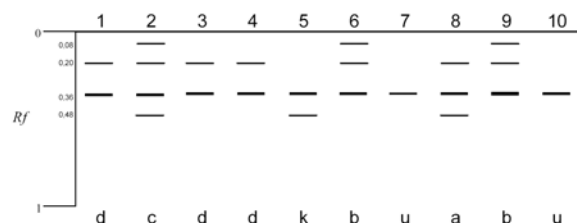
**Gambar 3.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna kuning (KUN).



**Gambar 4.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna merah (MER).



**Gambar 5.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna orange (ORA).



**Gambar 6.** Pola pita isozim peroksidase (PER) pada *M. jalapa* bunga warna putih (PUT).

Gambar 5. memperlihatkan bahwa pada *M. jalapa* bunga warna orange (ORA) terdapat 7 pola pita enzim (n, o, p, q, r, s, t) dari 6 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,04; 0,20; 0,28; 0,36; 0,48 dan 0,64. Pita enzim pertama ( $R_f$  0,04) tampak pada ORA 2, ORA 7, ORA 8, ORA 9 dan ORA 10. Pita enzim kedua ( $R_f$  0,20) tampak pada ORA 2. Pita enzim ketiga ( $R_f$  0,28) tampak pada ORA 1, ORA 2 dan ORA 3. Pita enzim keempat ( $R_f$  0,36) tampak pada ORA 8, ORA 9 dan ORA 10. Pita enzim kelima ( $R_f$  0,48) tampak pada semua individu *M. jalapa* dengan bunga warna orange (ORA 1-ORA 10). Pita enzim keenam ( $R_f$  0,64) tampak pada ORA 6, ORA 9 dan ORA 10.

Gambar 6. memperlihatkan bahwa pada *M. jalapa* bunga warna putih (PUT) terdapat 6 pola pita enzim (a, b, c, d, k, u) dari 4 pita isozim peroksidase (PER) pada nilai  $R_f$  0,08; 0,20; 0,36 dan 0,48. Pita enzim pertama ( $R_f$  0,08) tampak pada PUT 2, PUT 6 dan PUT 9. Pita enzim kedua ( $R_f$  0,20) tampak pada PUT 1, PUT 2, PUT 3, PUT 4, PUT 6, PUT 8 dan PUT 9. Pita enzim ketiga ( $R_f$  0,36) tampak pada semua individu *M. jalapa* bunga warna putih (PUT 1-PUT 10). Pita enzim keempat ( $R_f$  0,48) tampak pada PUT 2, PUT 5 dan PUT 8.

Hasil analisis isozim pada *M. jalapa* memperlihatkan adanya keanekaragaman pola pita isozim peroksidase (PER) baik di dalam maupun di luar populasi *M. jalapa* yang didasarkan pada perbedaan warna bunga. Dengan demikian isozim dapat digunakan sebagai penanda atau ciri genetik untuk mempelajari keanekaragaman individu dalam suatu populasi.

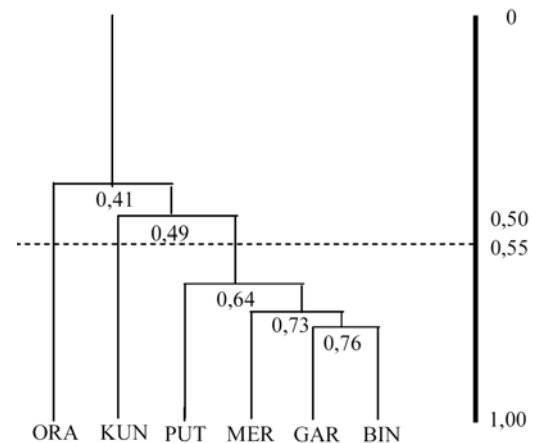
Penelitian ini juga dilakukan dengan enzim esterase tetapi memberikan hasil negatif, tidak memunculkan adanya pita-pita enzim. Hal ini kemungkinan karena pada setiap jaringan pada tumbuhan serta pada setiap umur tanaman memiliki aktivitas enzim yang berbeda.

#### Hubungan kekerabatan

Hubungan kekerabatan filogenetik *M. jalapa* ditentukan dengan koefisien Gower, sedangkan tingkatan persamaan harga koefisien asosiasinya ditentukan dengan analisis kluster (UPGMA). Dalam penelitian terhadap *M. jalapa* didapatkan 21 pola pita enzim (genotipee) dari 8 pita isozim (nilai  $R_f$ ) peroksidase (PER).

Gambar 7. memperlihatkan bahwa varietas *M. jalapa* yang memiliki hubungan kekerabatan paling dekat adalah putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) dengan indeks similaritas 0,76 (76%). Gabungan *M. jalapa*

bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) bertemu dengan bunga warna merah (MER) pada indeks similaritas 0,73 (73%), yang diikuti dengan putih (PUT) pada indeks similaritas 0,64 (64%) dan kuning (KUN) pada indeks similaritas 0,49 (49%), sedangkan yang berbunga orange (ORA) bergabung dalam rumpun *M. jalapa* pada indeks similaritas 0,41 (41%).



Gambar 7. Dendrogram filogeni varietas-varietas *M. jalapa*.

Dendrogram filogeni di atas menjelaskan bahwa ada keterkaitan antara warna bunga (fenotipe) dengan pola pita isozim (genotipe) peroksidase (PER). Pada tingkat 3 kelompok (indeks similaritas 0,55) terlihat bahwa *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN), putih bergaris merah (GAR), merah (MER) dan putih (PUT) masuk dalam satu kelompok sedangkan *M. jalapa* bunga warna orange (ORA) dan kuning (KUN) terpisah dari kelompok. *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) memiliki hubungan terdekat, kemudian bertemu dengan *M. jalapa* bunga warna merah (MER), hal ini tidaklah mengherankan jikalau dilihat dari fenotipe bunganya yang memiliki dua warna sama hanya berbeda dalam pola warna. *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) merupakan hasil persilangan antara *M. jalapa* bunga warna merah (MER) dan putih (PUT), hal ini di dukung dengan ditemukannya *M. jalapa* bunga warna putih (PUT) yang juga memiliki bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) atau putih bergaris merah (GAR) dalam satu individu, bahkan ada satu individu *M. jalapa* yang memiliki bunga warna putih, putih bergaris

merah dan putih berbintik-bintik merah. Di lingkungan juga ditemukan adanya bunga putih berbintik-bintik merah yang memiliki garis merah juga. Dari penjelasan di atas tampak bahwa genotipe yang mengekspresikan warna merah paling dominan karena variasi warna hanya dijumpai pada *M. jalapa* bunga warna putih (PUT), hal tersebut di atas menjelaskan juga mengapa secara genotipe *M. jalapa* bunga warna merah (MER) lebih dekat hubungan kekerabatannya dengan *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) daripada *M. jalapa* bunga warna putih (PUT). *M. jalapa* bunga warna orange (ORA) dan kuning (KUN) kemungkinan merupakan varietas asli dari *M. jalapa*, hal ini ditunjukkan dengan jauhnya hubungan kekerabatan keduanya dengan *M. jalapa* bunga warna putih (PUT), putih bergaris merah (GAR), merah (MER) dan putih berbintik-bintik merah (BIN).

## KESIMPULAN

Tanaman *M. jalapa* memiliki 21 pola pita enzim (genotipe) dari 8 pita isozim peroksidase (PER) dengan nilai Rf 0,04; 0,08; 0,20; 0,28; 0,36; 0,48; 0,60; 0,64. Hasil analisis isozim secara kualitatif pada *M. jalapa* memperlihatkan adanya keanekaragaman pola pita isozim peroksidase (PER) baik di dalam maupun di luar populasi *M.*

*jalapa* yang didasarkan pada perbedaan warna bunga.

*M. jalapa* bunga warna merah (MER), putih (PUT), orange (ORA) dan kuning (KUN) merupakan varietas asli dari *M. jalapa*, sedangkan *M. jalapa* bunga warna putih berbintik-bintik merah (BIN) dan putih bergaris merah (GAR) merupakan hasil persilangan antara *M. jalapa* bunga warna merah (MER) dan putih (PUT).

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharyya, B. dan B.M. Johri. 1998. *Flowering Plants Taxonomy and Phylogeny*. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Bridge P.D. 1993. *A Practical Approach: Biological Data Analysis: Classification*. New York: Oxford University Press.
- Hames, B.D. 1990. *A Practical Approach: Gel Electrophoresis of Protein*. Oxford: Oxford University Press.
- Jones, S.B. dan A.E. Luchsinger. 1986. *Plant Systematics*. 2nd edition. New York: Mc Graw-Hill Book Company Inc.
- Lawrence, G.H.M. 1951. *Taxonomy of Vascular Plant*. New York: John Wiles and Sons.
- Rothe, G.M.1994. *Laboratory Methods: Electrophoresis of Enzymes*. Berlin: Springer Verlag.
- Suranto. 2000. Electrophoresis studies of **Ranunculus triplodontus** populations. *Biodiversitas* 1 (1): 1-7.
- Suranto. 2002. Cluster analysis of **Ranunculus** species. *Biodiversitas* 3 (1): 201-206.
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan-Departemen Kesehatan RI.
- Widjajakusuma, H. 1990. *Hidup Sehat Cara Hembing*. Jakarta: Pustaka Kartini.