

## Variasi morfologi, karyotipe dan pola pita protein pada berbagai varietas kamboja jepang (*Adenium obesum*)

DWI HASTUTI<sup>1,♥</sup>, SURANTO<sup>2</sup>, PRABANG SETYONO<sup>2</sup>

*Hastuti D, Suranto, Setyono P. 2009. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of adenium (Adenium obesum) varieties.*

The aim of this research to find out the *Adenium obesum* variation from six varieties, namely: *obesum*, *cery*, *red lucas*, *red fanta*, *white bigben* and *harry potter* based on morphology, karyotype, as well as protein banding pattern. The chromosome preparation was made using semi-permanent squash method from the tip of root plant; while protein banding pattern was made using SDS-PAGE method. Qualitative data included shape and color of the leave and flower described from each variety. Data were presented in morphometry and analyzed using ANOVA and then followed by DMRT with 5% of confidence levels, indicated significance difference. Protein banding pattern, the root, stem, leave and all organs were analyzed using Hierarchical Cluster Analysis method with Average Linkage (between Groups) using SPSS 10.0. The result of research shows that the six *A. obesum* varieties have morphological character with no variation of light green to dark green leave, not hairy, smooth leave bone, meanwhile for light red to dark red flower crown color although some of them are white and the same funnel color, yellow. All varieties of *A. obesum* have same number of chromosome,  $2n = 22$  and shows the difference ranging from 2.56 to 5.13  $\mu\text{m}$ . In the banding pattern formed qualitatively, there is variation among the six varieties.

**Key words:** *Adenium*, morphology, karyotype, electrophoresis

*Hastuti D, Suranto, Setyono P. 2009. Variasi morfologi, karyotipe dan pola pita protein pada berbagai varietas kamboja jepang (Adenium obesum).*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi *Adenium obesum* dari enam varietas yaitu *obesum*, *cery*, *red lucas*, *red fanta*, *white bigben*, dan *harry potter* berdasarkan sifat morfologi, karyotipe, serta pola pita protein. Preparat kromosom dibuat dengan metode squash semi permanen dengan bahan ujung akar tanaman dan pola pita protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE. Data kualitatif meliputi bentuk dan warna daun dan bunga dari masing-masing varietas. Data morfometri antara varietas dianalisis dengan analisis sidai ragam (ANAVA), dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT), pada taraf 5% terbukti terdapat beda nyata antar varietas. Pola pita protein akar, batang, daun serta semua organ dianalisis secara kualitatif menggunakan analisis kelompok hierarkhis *Average Linkage (between Groups)* dalam program SPSS 10.0. Hasilnya menunjukkan bahwa keenam varietas memiliki karakter morfologi yang bervariasi, yaitu warna daun hijau muda sampai hijau tua, tidak berbulu, tulang daun polos, sedangkan warna mahkota merah muda sampai merah tua, walaupun ada yang putih dan kuning. Jumlah kromosom semua sama yaitu  $n = 22$ , dimana panjang absolut kromosom berkisar antara 2,56-5,13  $\mu\text{m}$ . Pola pita protein yang terbentuk secara kualitatif terdapat variasi ketebalan di antara keenam varietas, yang menunjukkan adanya perbedaan kandungan proteinnnya.

**Kata kunci:** *Adenium*, morfologi, karyotipe, elektroforesis

### ♥ Alamat korespondensi:

- <sup>1</sup> <sup>1</sup> SMA Negeri 1 Surakarta, Jl. Monginsidi No.40, Surakarta 57137, Jawa Tengah, Indonesia; Tel./Fax.: +62-271-635227.  
<sup>2</sup> Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 22 Januari 2009.  
 Revisi disetujui: 19 Maret 2009.



Edisi bahasa Indonesia dari:  
**Hastuti D, Suranto, Setyono P. 2009.**  
**Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of adenium (*Adenium obesum*) varieties.**  
 Nusantara Bioscience 1: 78-83.

## PENDAHULUAN

Kamboja jepang atau adenium (*Adenium obesum* (Forsk) Roem et Schult) merupakan tanaman tropis yang mampu tumbuh dan berkembang di gurun yang tandus, sehingga mendapat julukan mawar gurun atau mawar padang pasir (*desert rose*). Tanaman ini berasal

dari gurun Afrika, tersebar mulai dari Senegal hingga Ethiopia dan dari Somalia hingga Tanzania. Juga tumbuh liar di Saudi Arabia, Oman dan Yaman (Oyen 2008). Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias, karena selain mudah dirawat, tahan terhadap kekeringan, bunga tanaman ini sangat bervariasi baik bentuk maupun warnanya. Getahnya berkasiat sebagai obat karena mengandung

racun *crystalline glycoside* dan tanaman ini bermanfaat sebagai sarana relaksasi (Chuhairy dan Sitanggung 2004).

Mudahnya tanaman ini diperbanyak secara vegetatif menggunakan batang dan preferensi konsumen yang relatif cepat berubah sangat berperan dalam mempersempit keanekaragaman genetik dan berpengaruh tinggi terhadap penurunan nilai ekonomi tanaman, sehingga diperlukan upaya-upaya untuk mengembangkan variasi-variasi baru dari *A. obesum* ini. Variasi-variasi baru tersebut dapat diperoleh dengan cara eksplorasi varietas-varietas baru, persilangan, maupun dengan cara yang lebih modern, seperti fusi protoplas dan mutasi (Soetarso *et al.* 1985).

Variasi yang cukup tinggi pada bentuk, ukuran dan warna bunga *A. obesum*, menunjukkan adanya keragaman genetik yang cukup luas. Hal ini merupakan faktor penting dalam program pemuliaan tanaman, baik untuk materi persilangan maupun memperbesar keragaman genetik plasma nutfah itu sendiri (Soetarso *et al.* 1985). Persilangan-persilangan antar jenis (intraspesifik) maupun antar sifat-sifat baru (intraspesifik) dan unik yang berbeda dari kedua tetuanya akan lebih memperkaya keragaman genetik tanaman tersebut.

Variasi morfologi terjadi karena pengaruh genetika. Genom sebagai kumpulan informasi biologis yang mengatur berbagai karakter dalam suatu individu tersimpan dalam satu set kromosom (Menadue dan Crowden 1990; Wulandari *et al.* 2006). Jumlah dan bentuk kromosom pada setiap sel spesies tumbuhan adalah tetap. Setiap spesies mempunyai jumlah kromosom yang khas dan setiap kromosom dalam suatu spesies mempunyai struktur yang khas pula (Snustad 1997; Wulandari *et al.* 2006). Konsistensi kromosom banyak dimanfaatkan untuk tujuan taksonomi, mengetahui keanekaragaman hubungan kekerabatan dan evolusi, meskipun dalam keadaan tertentu dapat terjadi variasi. Perbedaan-perbedaan pada kromosom dapat menggambarkan keragaman variasi genetik, sedangkan perbedaan-perbedaan morfologis tanaman, proses-proses fisiologis, dan biokimia menggambarkan keragaman produk dari gen yang dipengaruhi oleh lingkungan (Stebbins 1951; Yuliasri *et al.* 2005). Analisis molekuler merupakan pemaparan bahan genetik menggunakan alat elektroforesis. Prinsip dasar elektroforesis yaitu bahwa setiap genom tumbuhan (enzim/protein dan DNA) mempunyai berat yang berbeda-beda sehingga kecepatan Bergeraknya pada media gel juga

berbeda-beda dan hal ini dapat dilihat melalui pewarnaan (Sudarmono 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi morfologi daun dan bunga, karyotipe, dan variasi pola pita protein dari enam varietas *A. obesum*.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan tanaman

Tanaman kamboja jepang (*A. obesum*) dari enam varietas yaitu *obesum* (Var 1), *cery* (Var 2), *red lucas* (Var 3), *red fanta* (Var 4), *white bigben* (Var 5), dan *harry potter* (Var 6). Elektroforesis menggunakan metode SDS-PAGE dengan pewarna protein Comassie blue, dengan marka protein M 4038 (Sigma, Jerman).

### Cara kerja

**Pengamatan morfologi** daun *A. obesum* dilakukan dengan mengukur panjang, lebar, bentuk, keadaan bulu, dan tulang daun. Pengambilan sampel daun mulai urutan kelima dari ujung tanaman yang pertumbuhannya optimum dengan penampilan, umur dan ukuran relatif seragam dan pernah berbunga. Sedangkan pengamatan morfologi bunga meliputi warna, diameter, dan tepi bunga, serta mengambil foto dari daun dan bunga tersebut (Setyawan *et al.* 2002).

**Pengamatan karyotipe** dilakukan dengan penanaman biji *A. obesum* seminggu sebelum praktikum dan sebelumnya biji direndam dalam hormon tumbuh (vitamin B1). Studi pendahuluan *A. obesum* dilakukan setiap 30 menit dan dibuat preparat semi permanen. Diperoleh waktu pembelahan optimum jam 08.30-09.00 wib. Preparat dibuat dengan metode squash semi permanen (Okada 1981; Darnaedi 1991 dengan modifikasi dari Setyawan dan Sutikno 2000). Ujung akar dipotong sepanjang 2-3 mm dari ujung dan dimasukkan ke dalam botol flakon berisi akuades dan disimpan dalam suhu 5°C selama 24 jam. Setelah direndam akuades, sampel direndam dalam 2-3 mL kolkisin 0,2% dan disimpan pada suhu 5°C selama 2-4 jam. Kolkisin 0,2% dibuang dan dicuci dengan akuades 3 kali atau sampai bersih sehingga tidak menutupi kromosom. Setelah kolkisin dibersihkan, diganti dengan asam asetat 45% dan disimpan dalam suhu 5°C selama 15 menit. Asam asetat 45% dibuang kemudian dicuci dengan akuades 3 kali. Akuades dibuang diganti dengan HCl 1N dan dimasukkan dalam oven

bersuhu 60°C selama  $\pm$  2 menit. HCl 1N dibuang kemudian dicuci dengan akuades 3 kali. Setelah akuades dibuang diganti dengan acetoorcein 2% selama 48 jam pada suhu kamar. Akar diambil dengan kuas/tusuk gigi, diletakkan di atas gelas benda, lalu ditetesi gliserin dan ditutup dengan gelas penutup dan diketuk-ketuk dengan ujung pensil berkaret penghapus hingga hancur merata. Kelebihan gliserin dibuang dengan kertas tisu dan gelas penutup disegel dengan cat kuku bening. Pengamatan, dilakukan dengan mikroskop cahaya untuk memperbaiki resolusi digunakan minyak emersi dan preparat yang baik diambil gambarnya, hasil pemotretan diperbesar sehingga mudah diamati.

**Analisis pola pita protein** dilakukan dengan metode SDS-PAGE (Laemmli 1970). Pembuatan buffer ekstrak: 100 mM Tris HCl pH 8,5; 4% Mercaptoethanol; 20% gliserol. Stok poliakrilamid 30%: 29 g akrilamid; 1 g bisakrilamid; ditambah akuabides hingga volume 100 mL. SDS PAGE 12%: 4,8 mL stok poliakrilamid; 3 mL 1,5 M Tris pH 8,8; 0,12 10% SDS; ditambah akuabides hingga volume 12 mL. Stacking gel 3%: 2 mL stok poliakrilamid; 2,52 mL 1,5 M Tris pH 6,8; 0,3 mL SDS 10%; ditambah akuabides hingga volume 20 mL. Buffer elektroda: 3 g Tris; 14,4 g glisin; 10 mL SDS 10%. SDS sampel buffer: 2,5 mL 1,5 M Tris pH 6,8; 2 g SDS; 0,5 g DTT; 10 mg Bromphenol blue; 10 mL gliserin; ditambah akuabides hingga volume 20 mL. Pewarna comassie blue: 0,1% Comassie blue dalam 100 mL destaining. Destaining: 50% methanol; 10% asam asetat glasial; 40% akuabides

Setelah semua larutan dibuat, kemudian akar, batang, daun, dan semua organ dari masing-masing varietas dicuci dengan akuabides hingga bersih kemudian dipotong kecil-kecil, ditimbang dengan berat masing-masing 0,5 g, dihancurkan dengan mortar dan pestle dicampur dengan extract buffer 1000  $\mu$ L. Setelah hancur dan homogen dimasukkan dalam tabung eppendorf. Sentrifuga disiapkan dan apabila telah dingin (suhu  $\pm$ 0°C), maka tabung eppendorf dimasukkan untuk disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Supernatan direbus selama dua menit, agar protein membuka.

Gel poliakrilamid yang terdiri dari 2 bagian, yaitu separating gel yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 12% dan stacking gel yang terletak di bagian atas dengan kepekatan 3%. Separating gel dibuat dengan mencampur 10 mL stok SDS PAGE 12%, ditambah 7  $\mu$ L Temed, dan 80  $\mu$ L APS 10%. Sedangkan stacking gel 3% dibuat dengan cara mencampur 5 mL stok 3%

stacking gel, ditambah 3,5  $\mu$ L Temed, dan 50  $\mu$ L APS 10%. Larutan gel poliakrilamid dicampur, setelah homogen separating gel dimasukkan dalam gelas elektroforesis, setelah agak mengental ditambahkan isobutanol jenuh. Setelah itu isobutanol dibuang dan stacking gel dimasukkan dalam gelas elektroforesis tepat di atas running gel. Sample comb dipasang pada stacking gel dan dilepas setelah memadat. Supernatan diisikan ke dalam lubang sampel sebanyak 10  $\mu$ L menggunakan alat injeksi (stepper), diisikan pula ladder (M 4038, Sigma, Jerman). Sebelum pemasangan pelat kaca pada bak elektroforesis dipastikan bahwa sirkulator menunjukkan suhu tidak lebih dari 4°C. Selanjutnya klip penjepit dan shield tube dari pelat kaca dilepas dan pelat kaca dipasang pada bak elektroforesis secara berhadap-hadapan, dengan pelat kaca yang bertakik berada di sebelah dalam. Selanjutnya buffer elektroda diisikan lagi hingga penuh dan bak penutup dipasang kembali. Elektroforesis dilakukan pada 125 volt selama 90 menit atau supernatant sampai batas bawah.

Setelah elektroforesis selesai, gel diambil dan diwarnai. Pewarnaan dilakukan dengan meletakkan gel yang telah dikeluarkan dari gelas elektroforesis ke dalam baki plastik, kemudian dituangi larutan Comassie blue dan digojok selama semalam. Setelah itu, gel dibilas dengan destaining sampai jernih. Bila sudah jernih, maka pencucian dihentikan dengan cara mengganti destaining dengan larutan asam asetat glasial 10%.

#### **Analisis data**

Pengamatan morfologi meliputi panjang dan lebar daun serta diameter bunga. Warna, bentuk, keadaan tulang daun, dan ada tidaknya bulu (hairness) pada permukaan daun diuraikan secara deskriptif. Hasil pengamatan morfologi, disajikan dalam bentuk morfometri. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan morfologi panjang dan lebar daun serta diameter bunga dilakukan uji ANAVA. Hasil pengamatan karyotipe secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x, dilakukan dengan metode squash semi permanen yang meliputi jumlah dan panjang absolut kromosom dari *A. obesum* var. *obesum*. Hasil pengamatan didokumentasikan dalam bentuk foto. Analisis data pola pita protein dilakukan menggunakan analisis kuantitatif yaitu berdasarkan muncul tidaknya pola pita protein dengan menghitung berat molekul dan *Rf* berdasarkan marker; dan metode kualitatif

berdasarkan tebal tipisnya pita yang terbentuk. Pita yang terbentuk diestimasi ke dalam tabel dan dibuat zimogram. Untuk mengetahui adanya kedekatan hubungan antar varietas, pita-pita yang muncul tersebut diinterpretasikan dengan suatu analisis dendrogram.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

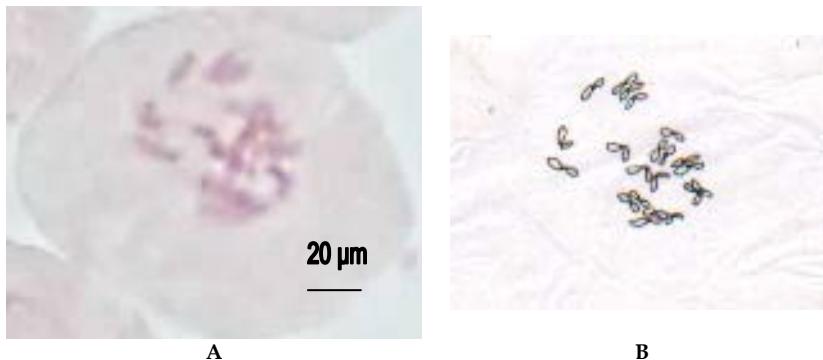
### Morfologi *Adenium obesum*

Hasil penelitian terhadap morfologi daun dan bunga dari enam varietas *A. obesum* terdapat adanya keragaman sifat-sifat morfologi. Adapun keragaman tersebut meliputi panjang dan lebar daun, diameter serta warna bunga dari keenam varietas *A. obesum* seperti pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Hasil pengamatan morfologi dari keenam varietas *A. obesum* mengenai panjang dan lebar daun serta diameter bunga terdapat perbedaan signifikan. Dari hasil uji Anova terlihat bahwa tingkat signifikan panjang daun adalah 0,000 pada taraf kepercayaan 95%. Hal ini berarti bahwa panjang daun tampak perbedaan yang nyata. Uji Anova terhadap lebar daun juga menunjukkan ada perbedaan yang nyata, yaitu tingkat signifikan 0,000 pada taraf kepercayaan 95%, hal ini berarti diameter bunga juga menunjukkan perbedaan yang nyata. Secara morfologi dapat disimpulkan bahwa antara panjang dan lebar daun serta diameter bunga terdapat perbedaan yang nyata.



Gambar 1. Morfologi tanaman dari enam varietas *A. obesum*. Keterangan: 1. *obesum*, 2. *cery*, 3. *red lucas*, 4. *red fanta*, 5. *white bigben*, 6. *harry potter*.



Gambar 2. Kromosom *A. obesum* var. *obesum*. Keterangan: A. Foto asli, B. Gambar ulang.

Tabel 1. Rata-rata hasil pengukuran morfologi daun dan bunga dari enam varietas *A. obesum*.

Varietas	Pajang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Diameter bunga (cm)
1	8.15 <sup>b</sup>	2.91 <sup>bc</sup>	7.51 <sup>c</sup>
2	6.96 <sup>a</sup>	1.63 <sup>a</sup>	7.25 <sup>de</sup>
3	6.61 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>	5.02 <sup>a</sup>
4	8.75 <sup>b</sup>	2.80 <sup>bc</sup>	6.02 <sup>b</sup>
5	6.44 <sup>a</sup>	2.61 <sup>b</sup>	7.02 <sup>cd</sup>
6	8.41 <sup>b</sup>	2.99 <sup>c</sup>	6.81 <sup>c</sup>

Keterangan: 1. var. *obesum* 2. var. *cery*, 3. var. *red lucas*, 4. var. *red fanta*, 5. var. *white bigben*, 6. var. *harry potter*. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris menunjukkan tidak berbeda nyata berdasar uji DMRT taraf 5%.

Setelah diadakan uji lanjut terhadap panjang dan lebar daun serta diameter bunga dengan DMRT taraf 5% panjang daun terdapat dua variasi, lebar daun terdapat tiga variasi, dan diameter bunga terdapat lima variasi. Jadi, diameter bunga menunjukkan lebih bervariasi dibandingkan dengan daun.

### Karyotipe

Pembelahan mitosis terdiri dari profase, metafase, anafase, dan telofase. Tahap-tahap ini dalam kondisi alami hanya berlangsung beberapa menit. Para pakar memberi istilah prometafase untuk tahap antara profase dan metafase. Tahap ini merupakan kondisi terpenting untuk studi sitologi, karena saat prometafase bentuk, jumlah dan ukuran kromosom sangat memungkinkan untuk diteliti (Sabelli dan Larkins 2007; Sadava et al. 2009).

Hasil pengamatan kromosom salah satu dari enam varietas, yaitu *A. obesum* var. *obesum* ditunjukkan pada Gambar 2. Dalam penelitian ini didapatkan jumlah kromosom *A. obesum* var. *obesum* yaitu  $2n = 22$ , dan panjang absolut kromosom berkisar 2,56-5,13  $\mu\text{m}$ . Hasil ini sejalan dengan para peneliti lain yang umumnya menyatakan bahwa jumlah kromosom *A. obesum* adalah  $2n = 22$  (Van der Laan dan Arends 1985; Oyen 2008). Posisi kromosom yang diamati menyebar tidak begitu merata, ada yang tumpang tindih. Posisi yang demikian tetap terjadi meskipun pada saat pembelahan mitosis dinding inti hilang dan ruang sebar kromosom dalam sel meluas. Penumpukan ini mempersulit pengamatan bentuk, ukuran dan jumlah kromosom. Secara garis besar bentuk, ukuran dan jumlah kromosom dihitung didasarkan pada kromosom dengan frekuensi paling tinggi,

sedangkan jumlah kromosom dihitung sebagai pendekatan terhadap jumlah dasarnya ( $x$ ).

Ukuran kromosom dapat digambarkan dengan panjang absolut kromosom. Hal ini sesuai dengan pernyataan Buitendijk *et al.* (1997) yang melakukan penelitian pada 12 spesies *Alstromeria*, dan menyimpulkan bahwa kandungan DNA berkorelasi positif dengan panjang total kromosom. Sejalan dengan Bennet (1987) bahwa jumlah DNA yang terdapat pada inti sel berkorelasi positif dengan beberapa parameter sel seperti panjang total, dan/atau volume kromosom-kromosom metafase pada saat mitosis atau meiosis.

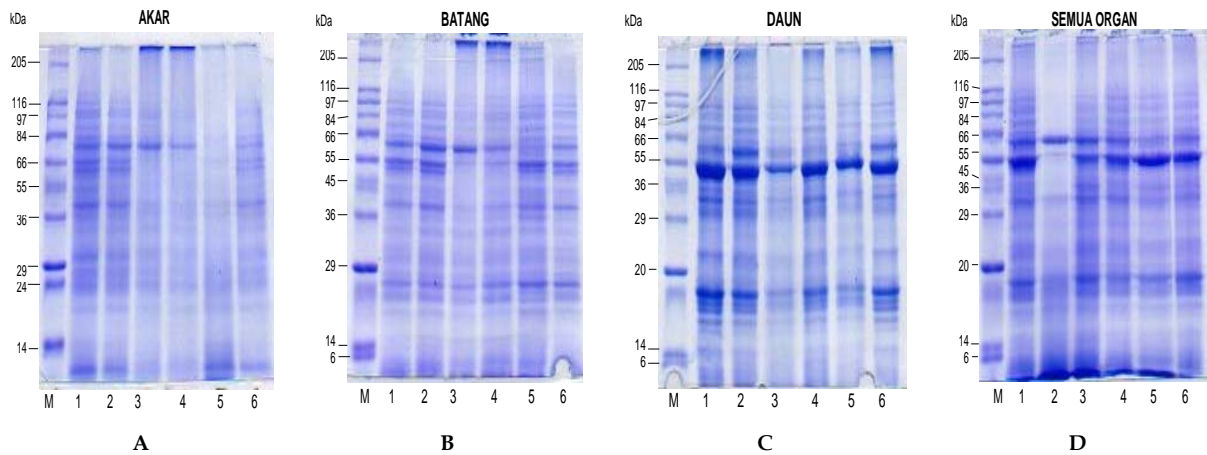
### Pola pita protein *A. obesum*

#### Akar

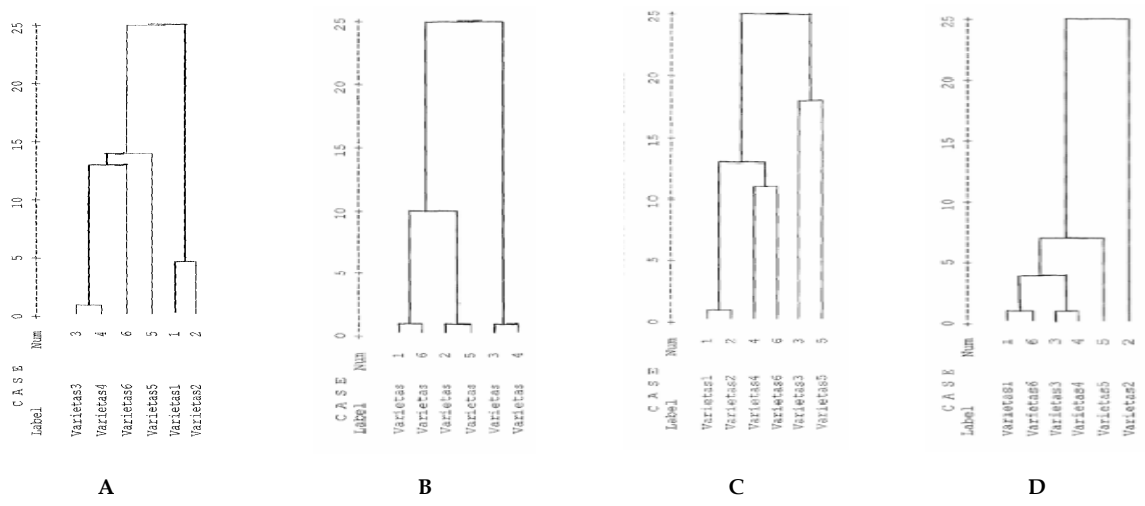
Hasil elektroforesis pola pita protein akar dari keenam varietas *A. obesum* ditunjukkan pada Gambar 3. Secara umum, pola pita protein dari keenam varietas *A. obesum* tampak adanya perbedaan, yang berarti tidak terdapat perbedaan kandungan proteinnya. Pola pita protein var. *obesum* (1) dan var. *cery* (2) secara umum tampak lebih tebal dibanding dengan varietas yang lain, hal tersebut menunjukkan kandungan proteinnya lebih tinggi daripada varietas yang lain. Sedangkan var. *white bigben* (5) pola pita yang terbentuk ampak paling tipis dan paling sedikit, ini berarti kandungan protein pada varietas tersebut lebih rendah.

Pita protein dengan berat molekul 6 kDa dengan jenis protein myosin (M 4038, Sigma) dari dua varietas yaitu *red lucas* (3) dan *red fanta* (4) mengekspresikan pita paling tipis dibandingkan dengan keempat varietas lainnya. Demikian juga pita protein dengan berat molekul 69,96, dan 145 kDa pada varietas *white bigben* (5) tampak paling tipis. Ekspresi pola pita yang tipis tidak berarti bahwa varietas tersebut tidak memiliki jenis protein tertentu, tetapi mungkin hanya memiliki satu protein saja.

Hasil di atas dibuat dendrogram sebagaimana Gambar 4. Hasil analisis menunjukkan bahwa profil protein pada dendrogram tersebut mengelompokkan *A. obesum* ke dalam 4 kelompok. Varietas *red lucas* (3) dan *red fanta* (4) bergabung ke dalam satu kelompok, demikian juga *obesum* (1) dan *cery* (2) juga bergabung menjadi satu kelompok, sedangkan *harry potter* (6) dan *white bigben* (5) masing-masing membentuk kelompok tersendiri.



Gambar 3. Pola pita protein akar *A. obesum*. A. Akar, B. Batang, C. Daun, D. Semua organ. Keterangan: M= Marker, 1. *obesum*, 2. *cery*, 3. *red lucas*, 4. *red fanta*, 5. *white bigben*, 6. *harry potter*



Gambar 4. Dendrogram pola pita protein akar *A. obesum*. A. Akar, B. Batang, C. Daun, D. Semua organ. Keterangan: M= Marker, 1. *obesum*, 2. *cery*, 3. *red lucas*, 4. *red fanta*, 5. *white bigben*, 6. *harry potter*

**Batang**

Hasil elektroforesis pola pita protein batang dari keenam varietas *A. obesum* ditunjukkan pada Gambar 3. Secara umum, pola pita protein batang keenam varietas *A. obesum* tampak adanya perbedaan, yang berarti terdapat perbedaan kandungan proteinnya. Pola pita protein batang yang terbentuk dari keenam varietas juga menunjukkan adanya perbedaan, kecuali pada *red lucas* (3) yang tampak paling tipis bila dibandingkan dengan yang lain. Apabila dilihat dari kandungan proteinnya juga tidak menunjukkan perbedaan pita yang jelas. Pita protein dengan ukuran 92, 109 dan 119 kDa tidak tampak jelas pada *red lucas* (3) dan *red fanta* (4), sedangkan yang lain tampak lebih tebal. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan protein pada varietas tersebut lebih tinggi daripada yang

lain. Berdasar marka protein dengan M 4038 (Sigma), pita protein dengan berat molekul 6 kDa (myosin), dan 66 kDa (karbonik anhidrase) dimiliki oleh semua varietas, sedangkan protein dengan berat molekul 20 kDa (fosforilase b) hanya dimiliki *cery* (2) dan *white bigben* (5). Dendrogram hasil di atas terdapat pada Gambar 4, dimana profil protein pada dendrogram pola pita batang, mengelompokkan *A. obesum* ke dalam 3 kelompok. Varietas *obesum* (1) dan *harry potter* (6) bergabung ke dalam satu kelompok, *cery* (2) dan *white bigben* (5) bergabung dalam satu kelompok, demikian juga *red lucas* (3) dan *red fanta* (4). Varietas yang masuk dalam kelompok yang sama berarti memiliki banyak persamaan dibandingkan dengan perbedaan. Sedangkan pengelompokan yang lebih jauh (jarak euclid) terdapat sedikit persamaan.

### Daun

Pola pita protein daun keenam varietas *A. obesum* yang terbentuk pada elektroforesis dengan marka M 4038 (Sigma) ditunjukkan pada Gambar 3. Pola pita protein daun dari keenam varietas *A. obesum* secara umum tampak adanya perbedaan, ini berarti terdapat perbedaan kandungan proteinnya. Hal ini menunjukkan bahwa antara varietas satu dengan yang lain juga terdapat perbedaan kandungan protein. Varietas *obesum* (1) dan *cery* (2) tampak lebih tebal dibandingkan varietas yang lain, hal ini berarti varietas tersebut kandungan proteinnya lebih tinggi. Tetapi *red lucas* (3) dan *white bigben* (5) mengekspresikan pola pita yang lebih tipis dibandingkan varietas lain, berarti varietas tersebut kandungan proteinnya lebih rendah.

Pita protein dengan ukuran 155 kDa dimiliki oleh semua varietas, kecuali *cery* (3), sedangkan pita protein dengan ukuran 122 kDa hanya tidak dimiliki oleh *white bigben* (5). Berdasar marka protein M 4038 (Sigma), pita protein dengan berat molekul 116 kDa ( $\alpha$ -laktalbumin) dimiliki oleh keenam varietas *A. obesum*. Hasil di atas dibuat dendrogram sebagaimana Gambar 4, dimana profil protein pada dendrogram tersebut mengelompokkan *A. obesum* kedalam 5 kelompok. Varietas *obesum* (1) dan *cery* (2) bergabung dalam satu kelompok, sedangkan varietas yang lain yaitu *red lucas* (3), *red fanta* (4), *white bigben* (5), dan *harry potter* (6) membentuk kelompok tersendiri.

### Pola pita protein semua organ *A. obesum*

Pola pita protein semua organ hasil elektroforesis dengan marka M 4038 (Sigma) ditunjukkan pada Gambar 3. Pola pita protein semua organ dari keenam varietas *A. obesum* secara umum menunjukkan adanya perbedaan. Hal ini berarti terdapat perbedaan kandungan proteinnya. Varietas *obesum* (1) dan *red lucas* (3) menunjukkan pola pita yang lebih tebal dibanding dengan yang lain. Varietas *cery* (2) mengekspresikan pola pita relatif tipis dibanding dengan yang lain. Pola pita yang terbentuk pada *cery* (2) menunjukkan paling sedikit, yaitu tujuh pola pita tidak dimiliki *cery* (2) sedangkan yang lain memiliki semuanya. Ekspresi pola pita yang tidak tampak dengan jelas, bukan berarti tidak memiliki pola pita protein dengan berat molekul tertentu. Hal ini karena dengan pengamatan secara visual dimungkinkan bisa terjadi.

Berdasar marka protein M 4038 (Sigma) pita protein dengan berat molekul 6 kDa (myosin), 20 kDa (fosforilase b), dan 66 kDa (karbonik

anhidrase) dimiliki oleh semua varietas, kecuali *cery* (2) yang tidak memiliki jenis protein terakhir ini (66 kDa). Hasil di atas dibuat dendrogram sebagaimana Gambar 4, dimana profil protein pada dendrogram tersebut mengelompokkan *A. obesum* ke dalam 4 kelompok. Varietas *obesum* (1) dan *harry potter* (6) bergabung dalam satu kelompok, *red lucas* (3) dan *red fanta* (4) juga bergabung menjadi satu kelompok. Sedangkan *white bigben* (5) dan *cery* (2) masing-masing membentuk kelompok sendiri.

Bila dibandingkan dengan pola pita protein pada akar, batang, dan daun terutama varietas *cery* (2) pada semua organ tampak paling tipis. Hal ini dapat terjadi karena pengambilan sampel pada semua organ dilakukan saat tanaman berumur dua minggu, sedangkan pengambilan sampel untuk pola pita akar, batang, dan daun dilakukan pada tanaman berumur satu tahun. Pada usia tanaman masih muda tanaman belum membentuk protein dengan lengkap atau sempurna, sehingga pola pita protein belum terekspresi secara maksimal.

Keanekaragaman pola pita protein antara varietas dalam satu spesies umumnya rendah, sebagaimana halnya keanekaragaman pola pita protein satu populasi dalam satu jenis (Comas et al. 1979; Sammour dan Sharaf-el-din 1989; Vas et al. 2004). Variasi umumnya hanya muncul sebagai tebal tipisnya pita yang menunjukkan perbedaan kebutuhan akan protein tertentu pada masing-masing individu. Sedangkan antar spesies selalu lebih beragam (Sathaiah dan Reddy 1985; González-Aguilera et al. 1986). Hal ini disebabkan tingginya tingkat pertukaran material genetik antar individu-individu di dalamnya. Bahkan, walaupun tumbuhan tersebut bersifat klonal dan dapat diperbanyak secara vegetatif dimana pertukaran material genetik hampir tidak ada, maka keanekaragaman protein di dalamnya tetap rendah, mengingat kesamaan lingkungan menyebabkan kecenderungan adanya kesamaan arah mutasi.

### KESIMPULAN

Daun yang terpanjang adalah *red fanta* (8,75) cm dan terpendek *white bigben* (6,44) cm, daun terlebar adalah *harry potter* (2,99) dan tersempit *cery* (1,63) cm. Diameter bunga terbesar adalah *obesum* (7,51) cm dan terkecil *red lucas* (5,02) cm. Warna daun hijau muda sampai tua, tidak berbulu, tulang daun polos. Sedangkan bunga, memiliki warna dasar sama yaitu merah muda

sampai merah tua, walaupun ada yang berwarna putih. Warna corong pada bunga, memiliki persamaan yaitu kuning. Di dalam buah terdapat biji sebesar lidi dengan panjang  $\pm 1$  cm berjumlah 60 sampai 80 buah, di kedua ujungnya terdapat bulu-bulu yang berfungsi sebagai alat bantu reproduksi (dispersal) dengan angin. Berdasarkan karyotipe kromosom, jumlah kromosom *Adenium obesum* var. *obesum* adalah 22 buah, panjang absolut kromosom yaitu antara (2,56  $\mu\text{m}$ ) sampai dengan (5,13  $\mu\text{m}$ ). Berdasar analisis pola pita protein pada akar, batang, daun dan semua organ terlihat bahwa semuanya memiliki perbedaan kandungan protein yang ditunjukkan dengan perbedaan ekspresi tebal tipisnya pola pita protein.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bennett MD. 1987. *Variation in genomic form in plants and its ecological implications*. New Phytol 106 (suppl): 177-200.
- Buitendijk JH, Boon EJ, Ramanna MS. 1997. Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. Ann Bot 79: 343-353.
- Comas CI, Hunziker JH, Crisci JV. 1979. Species relationships in *Bulnesia* as shown by seed protein electrophoresis. Biochem Syst Ecol 7 (4): 303-308
- Darnaedi D. 1991. Kromosom dalam taksonomi. Herbarium Bogoriense, Puslitbang Biologi - LIPI. Bogor
- González-Aguilera JJ., Arriaga Martitegui P., Fernández-Peralta A.M.. 1986. Differentiation in the seed protein profiles of two closely related species of *Narcissus*. Biochem Syst Ecol 14 (6): 657-659.
- Laemmli VK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the heat of bacteriophage T4. Nature 227: 680.
- Menadue Y, Crowden RK. 1990. Leaf polymorphism in *Ranunculus nanus* Hook. (Ranunculaceae). New Phytol 114: 265-274.
- Okada H. 1981. Report on trainings and investigations in LBN-LIPI. Department of Biology Osaka University. Osaka.
- Oyen LPA. 2008. *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult. In: Schmelzer GH, Gurib-Fakim A. (eds). Plant resources of tropical Africa 11 (1): medicinal plants 1. Backhuys. Wageningen, Netherlands.
- Rothe GM. 1995. Electrophoresis of enzymes. Springer. New York.
- Sabelli PA, Larkins BA. 2007. The endoreduplication cell cycle: regulation and function. In: Verma DPS, Hong Z (eds) Plant Cell Monogr (9). Springer. Berlin.
- Sadava D, Heller HC, Hillis DM, Berenbaum M. 2009. Life: the science of biology. W. H. Freeman. New York.
- Sammour RH, Sharaf-el-din A. 1989. Qualitative study on seed proteins of *Thymelaea hirsute* populations. Phytol (Austria) 29 (1): 83-92
- Sathaiah V, Reddy TP (1985) Seed protein profiles of castor (*Ricinus communis* L.) and some *Jatropha* species. Genet Agr 39:35-43.
- Setyawan AD, Susilowati A, Sutarno. 2002. Biodiversitas genetik, spesies, dan ekosistem mangrove di Jawa. Kelompok Kerja Biodiversitas, Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNS. Surakarta.
- Setyawan AD, Sutikno. 2000. Karyotipe pada *Allium sativum* L. (bawang putih) dan *Pisum sativum* L. (kacang kapri). Biosmart 2 (1): 20-27.
- Snustad DP, Simmons MJ, Jenkins JB. 1997. Principles of genetics. John Wiley and Sons. New York.
- Soetarso, Nandariyah, Hariati S. 1985. Metode pemuliaan tanaman. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Stebbins GL. 1951. Variation and evolution in plants. Columbia University Press. New York.
- Sudarmono. 2006. Pendekatan konservasi tumbuhan dengan teknik elektroforesis. Inovasi Online Vol. 7/18/Mei 2007.
- Suranto. 2002. Pengaruh lingkungan terhadap bentuk morfologi tumbuhan. Enviro 1 (2): 37-40.
- Van der Laan FM, Arends JC. 1985. Cytotaxonomy of the Apocynaceae. Genetica 68 (1): 3-35.
- Vaz AC, Pinheiro C, Martins JMN, Ricardo CPP. 2004. Cultivar discrimination of Portuguese *Lupinus albus* by seed protein electrophoresis: the importance of considering "glutelins" and glycoproteins. Field Crops Res 87 (1): 23-34
- Wulandari P, Marsusi, Setyawan AD. 2006. Karyotipe anggota genus *Hippeastrum*, Famili Amaryllidaceae. Biosmart 8 (1): 1-7.
- Yuliasri YE, Purwantoro A, Sulistyanyingsih E. 2005. Analisis kariotip beberapa jenis *Dieffenbachia* spp. Agrosains 18 (4): 421-434.