

**KEANEKARAGAMAN MORFOLOGI DAN POLA PITA ISOZIM
SPATHOGLOTTIS PLICATA DAN *S. AUREA* DI PULAU JAWA¹⁾**

(Morphological Diversity and Isozyme Banding Pattern of *Spathoglottis plicata*
and *S. aurea* in Java)

Tatik Chikmawati²⁾, Alex Hartana²⁾ Mien A. Rifai³⁾, dan Dedy Darnaedi³⁾

ABSTRACT

In Java, geographical distribution of *Spathoglottis plicata* was broader than that of *S. aurea*. This study was conducted to analyze morphological diversity and isozyme banding patterns of those two orchid species in Java, using 40 and 2 populations of *S. plicata* and *S. aurea* respectively. Morphological data were collected from fresh specimens in the field, and leaf orchid isozymes were analyzed using horizontal starch gel electrophoresis. Morphological diversity of *S. aurea* was less variable than that of *S. plicata*, as well as their isozyme banding patterns. Based on their flower morphology, *S. plicata* populations could be classified in to 10 different flower groups. Three isozymes, aspartate aminotransferase, endopeptidase, and acid phosphatase, of *S. plicata* showed banding pattern variabilities. Clustering method using morphological similarity and Euclidian distance measurement of *S. plicata* populations showed the same result with that using isozyme banding patterns. *S. plicata* populations having the same flower morphology will be clustered in one group, even though they were collected from different locations and differed in their other morphologies. In *S. plicata* orchid populations, different flower morphology could have their genotype differ.

PENDAHULUAN

Keanekaragaman pada suatu tumbuhan pada umumnya berkaitan dengan sebaran geografinya, walaupun pada tumbuhan tertentu ada yang menunjukkan kecenderungan menyimpang. Lovelles dan Hamrick (1984) melaporkan sebaran geografi yang luas berasosiasi dengan keanekaragaman yang lebih luas. Pada *Erythronium propullans* (Liliaceae), suatu jenis endemik dengan reproduksi anakan, memiliki keragaman ge-

1) Sebagian dari tesis S2 penulis pertama di Program Pascasarjana IPB Bogor.

2) Staf pengajar Jurusan Biologi, FMIPA IPB.

3) Staf Peneliti Balai Penelitian Botani, Puslitbang Biologi, Bogor.

netika yang lebih kecil dibandingkan *E. albidum* yang tersebar luas (Pleasant dan Wendel, 1989). Broyles dan Wyatt (1993) menyatakan adanya korelasi antara karakter sistem penyerbukan dan sebaran geografi dengan tingkat keragaman genetik di dalam populasi tanaman. Akan tetapi sebelumnya Karron *et al.* (1988) melaporkan adanya kecenderungan yang berbeda pada *Astragalus* (Fabaceae), yaitu hanya pada jenis-jenis endemik tertentu saja yang menunjukkan keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan jenis yang tersebar luas. Informasi keanekaragaman yang dikaitkan dengan sebaran pada marga *Spathoglottis* belum banyak diungkapkan.

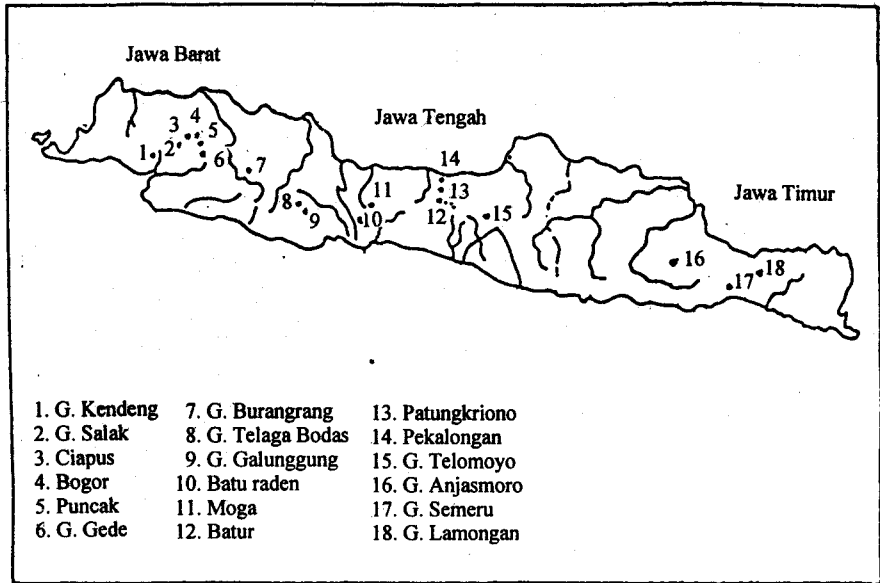
Spathoglottis adalah suatu marga anggrek yang anggotanya berupa anggrek tanah dengan ciri utama pada helai daunnya terdapat bekas lipatan. Di Pulau Jawa diketahui terdapat 4 jenis marga *Spathoglottis*, tetapi yang lebih dikenal sebagai tanaman hias hanya 2 jenis yaitu *S. aurea* dan *S. plicata*. Kedua jenis ini merupakan contoh tumbuhan yang sangat sesuai untuk dipelajari hubungan keanekaragaman dan sebaran geografinya karena memiliki sifat sebaran yang berbeda. *S. aurea* merupakan jenis gunung yang cenderung lokal. Menurut Backer dan Bakhuizen van den Brink (1968) jenis ini hanya ditemukan pada kisaran ketinggian tempat 1000 - 1500 m dpl, dan jika diusahakan di daerah dengan ketinggian tempat kurang dari 1000 m dpl maka pertumbuhannya tidak baik dan jarang berbunga. Sedangkan *S. plicata* merupakan jenis yang sebarannya luas, baik di wilayah panas maupun sejuk, juga ditemukan pada daerah-daerah yang tergolong miskin hara seperti di antara bukit kapur maupun di antara tumbuhan alang-alang. Di alam, *S. plicata* ditemukan pada habitat dengan kisaran ketinggian tempat 125 - 1650 m dpl. Penelitian tentang keanekaragaman karakter morfologi dan karakter lain, seperti isozim yang dikaitkan dengan sifat sebaran kedua jenis tersebut sangat penting untuk mengungkapkan keanekaragamannya secara rinci dan untuk melihat kaitannya dengan sifat sebaran dalam marga *Spathoglottis*.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat keanekaragaman karakter morfologi dan isozim yang dihubungkan dengan sifat sebaran geografi dari *S. aurea* dan *S. plicata* yang terdapat di Pulau Jawa.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret 1993 sampai Februari 1994. Pengambilan contoh tumbuhan dilakukan di 18 daerah yang telah diketahui sebagai tempat tumbuh *S. aurea* dan *S. plicata* di Pulau Jawa (Gambar 1). Pengamatan morfologi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Puslitbang Biologi Bogor - LIPI, sedangkan analisis isozim dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, IPB.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Contoh Tumbuhan.
 Figure 1. Plant Sample Location.

Bahan Tumbuhan

Penelitian ini menggunakan 200 individu yang berasal dari 2 populasi *S. aurea* dan 40 populasi *S. plicata* (Tabel 1). Penentuan populasi didasarkan pada morfologi bunga dan lokasi contoh tumbuhan. Individu dengan ciri morfologi bunga sama dan terletak pada lokasi yang sama, dianggap sebagai satu populasi yang sama. Contoh tumbuhan diambil dari tumbuhan yang sedang berbunga dan dikumpulkan sebagai koleksi dalam keadaan segar dan basah.

Metode

Langkah yang dilakukan meliputi pengambilan data sebaran geografi, morfologi dan isozim.

Data penyebaran geografi diambil dari spesimen herbarium dan data langsung dari lapangan. Pengambilan data morfologi berdasarkan metode yang digariskan oleh Rifai (1976). Analisis isozim dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Chase dan Olmstead (1988) dengan memodifikasi sistem penyangga Lithium Borat menjadi Sodium Borat. Sistem enzim yang diamati adalah aspartat aminotransferase (AAT), aminopeptidase (AMP), esterase (EST), endopeptidase (ENP) dan asam fosfatase (ACP). Pewarnaan isozim mengikuti metode Soltis dan Soltis (1989).

Analisis kekerabatan antar kelompok dilakukan dengan memakai metoda Systat Versi 3.0 yang menggunakan jarak ketidakmiripan Euclid.

Tabel 1. Informasi Populasi Contoh Berdasarkan Morfologi Bunga dan Lokasi Pengambilan Contoh Tumbuhan.

Table 1. Sample population Information base on flower morphologies and plant sample location

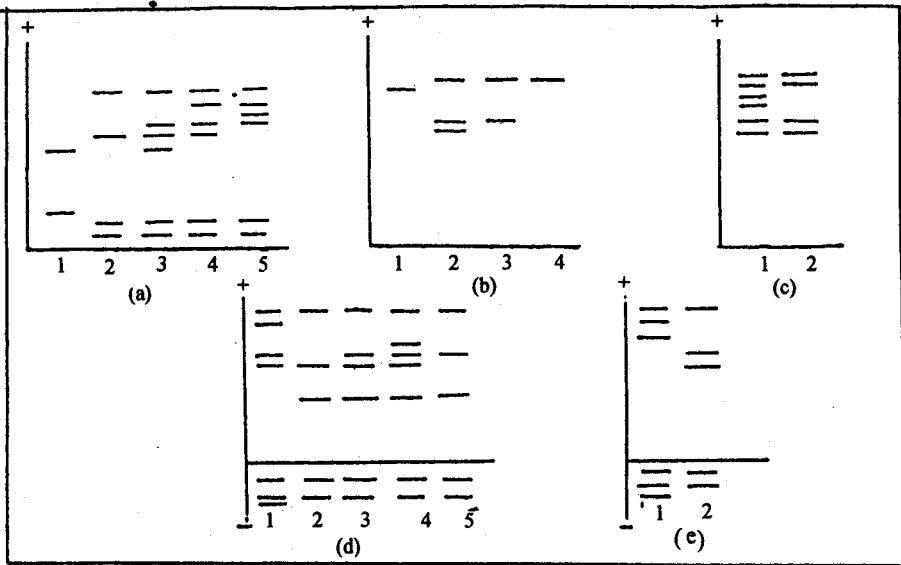
Kode populasi	Takson Morfologi	Jumlah Contoh	Lokasi Pengambilan Contoh
1	Ungu, Kecil	3	G. Gede, Jawa Barat
2	Ungu, Kecil	5	Bogor, Jawa Barat
3	Ungu, Kecil	5	G. Salak, Jawa Barat
4	Ungu, Kecil	5	G. Kendeng, Jawa Barat
5	Ungu, Kecil	5	G. Telaga Bodas, Jawa Barat
6	Ungu, Kecil	4	G. Galunggung, Jawa Barat
7	Ungu, Kecil	3	Petung Kriono, Jawa Tengah
8	Ungu, Kecil	5	Baturraden, Jawa Tengah
9	Ungu, Kecil	3	G. Anjasmoro, Jawa Timur
10	Ungu, Kecil	5	G. Semeru, Jawa Timur
11	Ungu, Kecil	5	G. Lamongan, Jawa Timur
12	Putih, Kecil	5	G. Salak, Jawa Barat
13	Putih, Kecil	5	G. Gede, Jawa Barat
14	Putih, Kecil	5	Bogor, Jawa Barat
15	Putih, Kecil	5	G. Kendeng, Jawa Barat
16	Putih, Kecil	5	G. Burangrang, Jawa Barat
17	Putih, Kecil	5	Telomoyo, Jawa Tengah
18	Putih, Kecil	5	Petungkriono, Jawa Tengah
19	Putih, Kecil	5	Baturraden, Jawa Tengah
20	Putih, Kecil	5	Batur, Jawa Tengah
21	Putih, Kecil	5	G. Semeru, Jawa Timur
22	Ungu, Besar	5	G. Salak, Jawa Barat
23	Ungu, Besar	5	Ciapus, Jawa Barat
24	Ungu, Besar	5	Puncak, Jawa Barat
25	Ungu, Besar	5	Bogor, Jawa Barat
26	Ungu, Besar	5	Baturraden, Jawa Tengah
27	Ungu, Besar	5	G. Anjasmoro, Jawa Timur
28	Merah Jambu	5	G. Salak, Jawa Barat
29	Merah Jambu	5	Moga, Jawa Tengah
30	Merah Jambu	5	Puncak, Jawa Barat
31	Merah Jambu	5	G. Galunggung, Jawa Barat
32	Merah Jambu	5	Pekalongan, Jawa Tengah
33	Merah Jambu	5	G. Salak, Jawa Barat
34	Merah Jambu	5	Bogor, Jawa Barat
35	Merah Jambu	5	G. Gede, Jawa Barat
36	Merah Jambu	5	G. Burangrang, Jawa Barat
37	Merah Jambu Pucat	5	G. Gede, Jawa Barat
38	Merah Jambu Pucat	5	G. Gede, Jawa Barat
39	Merah Jambu Pucat	5	G. Anjasmoro, Jawa Timur
40	Putih, Besar	5	G. Anjasmoro, Jawa Timur
41	Kuning	2	Petungkriono, Jawa Tengah
42	Kuning	5	Batur, Jawa Tengah

Hasil Dan Pembahasan

Keanekaragaman di dalam Jenis

Spathoglottis aurea

Spathoglottis aurea yang ditemukan pada ketinggian tempat terbatas yaitu sekitar 1400 m dan hanya ditemukan pada 2 lokasi, memiliki karakter morfologi yang cenderung sama, terutama pada karakter warna dasar, warna rinci bunga, maupun pada ukuran dan sifat bunga (Kode populasi 41 dan 42 Tabel lampiran 1). Demikian juga pada karakter isozimnya, hanya ditemukan satu pola pita pada lima sistem enzim yang diamati (Gambar 2). Hasil yang serupa pernah dilaporkan oleh Chung et al. (1991) pada *Hosta* (Liliaceae), yang menunjukkan populasi dengan selang geografi rendah secara genetika lebih seragam dibandingkan populasi yang tersebar luas. Menurut Sherman-Broyles et al. (1992) keragaman genetika yang rendah dari suatu jenis dengan sebaran geografi terbatas, mungkin disebabkan sejarah evolusi dari jenis ini berkaitan dengan kejadian-kejadian sebaran dan struktur populasi.



Gambar 2. Pola Pita Isoenzim pada *S. aurea* (Pola 1) dan *S. plicata* (Pola 2-5). a) AAT, b) AMP, c) ACP, d) EST, e) ENP.

Figure 2. Isoenzyme banding pattern of *S. aurea* (Type-1) and *S. plicata* (Type 2-5), a) AAT, b) AMP, c) ACP, d) EST, e) ENP.

Spathoglottis plicata

Berbeda dengan jenis terdahulu, *S. plicata* yang ditemukan pada daerah luas, memiliki variasi karakter morfologi yang tinggi, baik pada karakter vegetatif maupun generatif.

Warna pelepah jenis ini merupakan karakter vegetatif yang mantap. Warna pelepah ungu akan selalu mencirikan tumbuhan berbunga ungu, sedang warna pelepah hijau menghasilkan bunga putih atau bunga antara ungu dan putih.

Ukuran bunga bervariasi dari kecil dengan penampilan bunga kaku sampai besar dengan penampilan bunga semampai. Bunga putih dan ungu memiliki ukuran bunga kecil dan besar, sedang bunga merah jambu berukuran sedang sampai besar. Warna dasar bunga bervariasi ungu, putih dan antara kedua warna tersebut yaitu merah jambu dan merah jambu pucat. Demikian juga warna kalus bervariasi dari kuning gelap sampai putih kekuningan. Warna bunga putih selalu memiliki kalus berwarna kuning pucat, demikian juga dengan bunga ungu besar selalu memiliki kalus kuning cerah, dan bunga ungu kecil selalu memiliki kalus putih kekuningan, sedangkan bunga merah jambu dan merah jambu pucat memiliki kalus bervariasi dari kuning gelap sampai kuning cerah. Jadi Keaneragaman warna pada bunga ini menunjukkan adanya gradasi pemudaran warna. Bibir bunga selain bervariasi pada warna juga bervariasi pada ukuran dan keberadaan lutut di tengah cuping tengah bibir bunga.

Berdasarkan variasi warna dasar, warna bibir, warna kalus dan ukuran bunga, maka dari 40 populasi, *S. plicata* dapat dikelompokkan dalam 10 kelompok bunga. Perbedaan masing-masing kelompok bunga disajikan dalam Tabel 2.

Analisis isozim pada jenis ini menunjukkan adanya keanekaragaman pola pita pada 3 sistem enzim yaitu AAT, AMP dan EST dari 5 sistem enzim yang diamati. Meskipun pada ketiga sistem enzim dijumpai variasi tetapi pada pola pita masing-masing sistem enzim selalu memiliki pita umum yang menunjukkan semua variasi tersebut masih kerabat yang berdekatan.

Tabel 2. Batasan Sepuluh Kelompok Bunga *S. plicata*
Table 2. Ten Group characteristics of *S. plicata* flower

Kelompok Bunga	Warna dasar	Warna Bibir	Warna Kalus	Ukuran Bunga	Sifat Bunga	Lutut	Hiasan Bercak Bibir
1.	Ungu	Ungu tua	pk	kecil	kaku	ada	ada
2.	Ungu	Ungu tua	kc	besar	semampai	tidak	ada
3.	Putih	Putih	kc	kecil	kaku	ada	tidak
4.	Putih	Putih	kc	besar	semampai	tidak	tidak
5.	mj	Ungu	kp	sedang	semampai	tidak	ada
6.	mj	Ungu	kg	sedang	semampai	ada	ada
7.	mj	Ungu	kc	sedang	semampai	tidak	ada
8.	mjp	Ungu	kp	besar	semampai	tidak	ada
9.	mjp	mj*	kc	besar	semampai	tidak	ada
10.	mjp	mjp	kg	besar	semampai	tidak	ada

Keterangan:

* = keujung memudar, mj = merah jambu, mjp = merah jambu pucat,

pk = putih kekuningan, kp = kuning pucat, kc = kuning cerah,

kg = kuning gelap

Pada sistem enzim AAT ditemukan 4 pola pita (Gambar 2a). Keempat pola pita bersifat khas untuk masing-masing kelompok bunga. Kelompok bunga ungu kecil, putih kecil, putih besar, merah jambu dengan kalus kuning gelap dan merah jambu pucat

dengan kalus kuning cerah dan kuning gelap memiliki pola pita sama yaitu pola 2. Akan tetapi kelompok ungu besar yang berbeda dalam bentuk bunga dengan kelompok ungu kecil, memiliki pola pita berbeda yaitu pola 4 dan hanya populasi 25 yang memiliki pola 5. Kelompok bunga merah jambu dengan kalus kuning pucat dan merah jambu pucat dengan kalus kuning pucat juga memiliki pola 4. Tipe merah jambu dengan kalus cerah memiliki pola pita bervariasi yaitu pola 2, 3 dan 4.

Pada sistem enzim AMP ditemukan 3 pola pita (Gambar 2 b). Pola 2 hanya dimiliki oleh 2 populasi, yaitu populasi dengan bunga ungu besar dan merah jambu (Populasi 25 dan 35). Pola 3 dimiliki oleh banyak kelompok bunga. Pola 4 dimiliki oleh sebagian besar kelompok ungu kecil.

Pada sistem enzim EST ditemukan 4 pola pita (Gambar 2d). Pola 2 hanya dimiliki oleh 3 populasi yaitu kelompok ungu besar dan merah jambu dari G. Salak (Populasi 22 dan 28) serta putih besar dari G. Anjasmoro (Populasi 40). Pola 3 dimiliki oleh semua kelompok bunga. Pola 4 hanya dimiliki oleh kelompok putih kecil dan pola 5 dimiliki oleh kelompok ungu kecil.

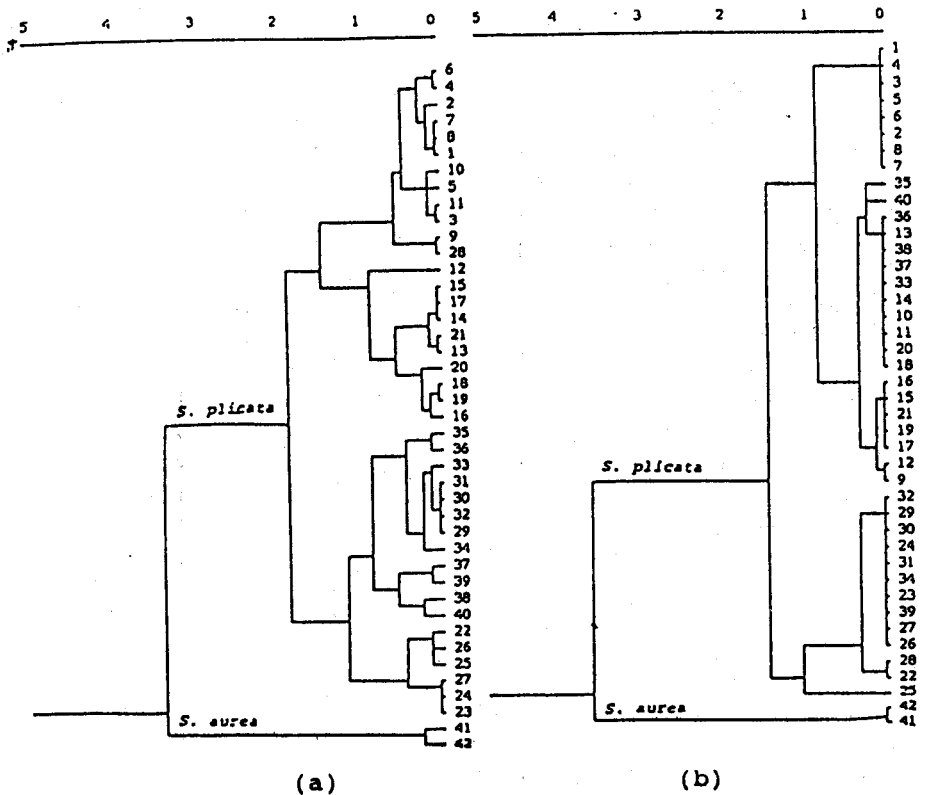
Sebagian kelompok bunga dari *S. plicata* memiliki pola pita yang khas pada ketiga sistem enzim, yang dapat digunakan sebagai penciri dari kelompok-kelompok tersebut (Tabel Lampiran 1). Kelompok ungu kecil memiliki pola 2 AAT, pola 4 AMP dan pola 5 EST. Kelompok putih kecil memiliki pola 2 AAT, pola 3 AMP, pola 3 dan 4 EST. Kelompok merah jambu dengan kalus kuning gelap dan kelompok merah jambu pucat dengan kalus kuning cerah dan kuning gelap memiliki pola pita sama dengan kelompok putih kecil. Kelompok putih besar memiliki pola 2 AAT, pola 3 AMP dan pola 2 EST. Kelompok ungu besar, kelompok merah jambu dan kelompok merah jambu pucat dengan kalus kuning pucat memiliki pola pita sama yaitu pola 4 AAT, pola 3 AMP dan pola 3 EST.

Informasi di atas menggambarkan keanekaragaman karakter *S. plicata* tidak hanya pada karakter morfologi tetapi juga pada karakter isozim.

Analisis Kekerabatan Kelompok

Gambar 3 menunjukkan bahwa karakter morfologi dan isozim dengan jelas menempatkan *S. aurea* dan *S. plicata* kedalam dua kelompok yang terpisah. Kedua dendrogram juga menunjukkan pengelompokan yang relatif sama dari beberapa kelompok bunga pada *S. plicata*.

Pada *S. plicata* kelompok bunga yang sama mengelompokkan bersama dan terpisah dengan kelompok lainnya, contoh populasi dengan bunga putih kecil (Populasi 12-21) mengelompok bersama dan terpisah dengan populasi dengan bunga ungu besar (Populasi 22- 27). Hal ini berarti tumbuhan dengan bunga sama lebih mirip satu sama lain, baik secara morfologi maupun genetika meskipun berasal dari berbagai lokasi yang berbeda dan jauh kemiripannya dengan tumbuhan yang memiliki bunga berbeda meskipun berasal dari lokasi yang sama. Hasil yang sama dilaporkan oleh Case (1993) yang menyimpulkan adanya keragaman genetika yang rendah di dalam varietas yang sama dan keragaman yang tinggi antar varietas berbeda pada anggrek *Cypripedium calceolus*.



Gambar 3. Dendrogram dengan jarak ketidakmiripan Euclid pada 2 populasi *S. aurea* dan 40 populasi *S. plicataaurea*, a) berdasarkan karakter morfologi, b) berdasarkan karakter isoenzim, 1-42 adalah kode populasi.

Figure 3. Euclidian distance dendrograme of two *S. aurea* and forty *S. plicataaurea* population base on; a) morphological characters, b) isozyme, 1-42 are population codes.

Kelompok bunga ungu kecil (Populasi 1-11) selalu bersatu dengan kelompok bunga putih kecil (Populasi 12-21), dan selalu terpisah dari kelompok bunga ungu besar (Populasi 22-27). Dengan demikian, secara morfologi dan genetika kelompok ungu kecil lebih mirip dengan putih kecil yang memiliki ukuran dan sifat bunga sama dan berbeda jauh dengan kelompok ungu besar yang memiliki struktur warna sama tetapi berbeda pada kedua karakter tersebut.

Dendrogram morfologi (Gambar 3a) menempatkan kelompok merah jambu dan kelompok merah jambu pucat mengelompok tersendiri dan terletak di antara tipe bunga putih kecil dan ungu besar, tetapi dendrogram isozim (Gambar 3b) menempatkan kelompok merah jambu dan kelompok merah jambu pucat tersebar dan bersatu dengan kelompok putih kecil atau ungu besar. Perbedaan pengelompokan juga terjadi pada tipe bunga putih besar. Secara morfologi tipe ini mengelompok dengan tipe ungu besar, tetapi secara genetika lebih mirip dengan tipe putih kecil.

Jadi pada dasarnya hasil pengelompokan berdasarkan informasi morfologi dan isozim menunjukkan kecenderungan yang sama.

Kesimpulan

Keanekaragaman morfologi dan pola isozim dari *Spathoglottis plicata* yang memiliki daerah sebaran luas lebih tinggi dibandingkan dengan yang terjadi pada *S. aurea* yang memiliki daerah sebaran terbatas. Keanekaragaman morfologi dan pola isozim *S. plicata* tersebar merata di 18 lokasi pengamatan.

Berdasarkan keanekaragaman ukuran bunga, sifat bunga, warna dasar bunga, warna bibir dan warna kalus, *S. plicata* yang terdapat di P. Jawa dikelompokkan ke dalam 10 kelompok bunga. Keanekaragaman pola pita isozim jenis ini terletak pada sistem enzim AAT, AMP dan EST.

Pengelompokan berdasarkan karakter morfologi diperkuat oleh pengelompokan berdasar karakter pola pita isozim. Pada *S. plicata* antar tumbuhan yang memiliki morfologi bunga sama lebih mirip secara morfologi dan genetika dibandingkan dengan tumbuhan dengan morfologi bunga berbeda.

Hasil analisis kelompok menunjukkan kelompok-kelompok merah jambu dan merah jambu pucat berada di antara kelompok putih kecil dan ungu besar sehingga diduga merupakan hasil silangan alami dari kedua kelompok tersebut. Untuk mengetahui hubungan kekerabatannya perlu dilakukan verifikasi terhadap kelompok-kelompok tersebut. Langkah yang dapat ditempuh antara lain:

1. Analisis karakter morfologi dan isozim hasil silangan buatan antara kelompok putih kecil dan ungu besar, kemudian dibandingkan dengan kelompok-kelompok merah jambu dan merah jambu pucat.
2. Mencari sistem enzim yang dapat membedakan kelompok-kelompok merah jambu dan merah jambu pucat dengan kelompok lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen Van Den Brink. 1968. Flora of Java. W.V.P. Noordhoff. Nederlands. 660p.
- Broyles, S.B. and R. Wyatt. 1993. Allozyme diversity and genetic structure in Southern Appalachian population of Poke Milkwee. *Aselpian exaltata*. Syst. Bot. 18(1): 18-30.
- Case, M.A. 1993. High levels of allozyme variation within *Cypripedium calceolus* (orchidaceae) and low levels of divergence among its varieties. Syst. Bot. 18 (4): 663-677.
- Chase, M.W. and R.G. Olmstead. 1988. Isozyme number in subtribe orchidiinae (Orchidaceae) an evaluation of polyploidy. Amer. J. Bot. 75(7): 1080-1085.
- Chung, M.G., J.L. Hemrick, S.B. Jones, Jr and G.S. Derda. 1991. Isozyme variation within and among population of *Hosta* (Liliaceae) in Korea. Syst. Bot. 16(4): 667-684.
- Karron, J.D., Y.B. Linhart, C.A. Chaulk., and C.A. Robertson. 1988. The genetic structure of populations of geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). Amer. J. Biot. 75: 1114-1119.
- Lovelles, M.D. and J.L. Hamrick. 1984. Ecological determination of genetic structure in plant population. Annual Rev. Ecol. Syst. 15: 65-95.
- Pleasants, J.M. and J.F. Wendel. 1989. Genetic diversity in a clonal narrow endemic *Erythronium propullans* and its widespread progenitor. *Erythronium albidum*. Amer. J. Bot. 76: 1136-1151.
- Rifai, M.A. 1976. Sendi-sendi Botani Sistematis. Herbarium Bogoriense. 75 hal. (Tidak dipublikasi)
- Sherman-Broyles, S.L., J.P. Gibson, J.L. Hamrick, M.A. Bucher and M.J. Gibson. 1992. Comparisons of allozyme diversity among rare and widespread Rhus species. Syst. Bot. 17 (4): 551-559.
- Soltis, D.E. and P.S. Soltis. 1989. Isozymes in Plant Biology. Dioscorides Press. Oregon.