

Karakterisasi talas (*Colocasia esculenta*) berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim

TRIMANTO^{1,♥}, SAJIDAN², SUGIYARTO²

Trimanto, Sajidan, Sugiyarto. 2011. Characterization of taro (Colocasia esculenta) based on morphological and isozymic patterns markers.

The aims of this research were to find out: (i) the variety of *Colocasia esculenta* based on the morphological characteristics; (ii) the variety of *C. esculenta* based on the isozymic banding pattern; and (iii) the correlation of genetic distance based on the morphological characteristics and isozymic banding pattern. Survey research conducted in the Karanganyar district, which include high, medium and low altitude. The sample was taken using random purposive sampling technique, including 9 sampling points. The morphological data was elaborated descriptively and then made dendogram. The data on isozymic banding pattern was analyzed quantitatively based on the presence or absence of bands appeared on the gel, and then made dendogram. The correlation based on the morphological characteristics and isozymic banding pattern were analyzed based on the product-moment correlation coefficient with goodness of fit criterion. The result showed : (i) in Karanganyar was founded 10 variety of *C. esculenta*; (ii) morphological characteristics are not affected by altitude; (iii) isozymic banding pattern of peroxidase forms 14 banding patterns, esterase forms 11 banding patterns and shikimic dehydrogenase forms 15 banding patterns; (iv) the correlation of morphological data and the isozymic banding pattern of peroxidase has good correlation (0.893542288) while esterase and shikimic dehydrogenase isozymes have very good correlation (0.917557716 and 0.9121985446); (v) isozymic banding pattern of data supports the morphological character data.

♥ Alamat korespondensi:

¹ SMP Negeri 2 Gemolong, Sragen, Jl. Citro Sancakan No. 249, Sragen 57274, Jawa Tengah, Indonesia; Tel.: +92-0818754378

² Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 25 Oktober 2009.

Revisi disetujui: 15 Februari 2009.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari: Trimanto, Sajidan, Sugiyarto. 2011. Characterization of taro (*Colocasia esculenta*) based on morphological and isozymic patterns markers. Nusantra Bioscience 3: 7-14

Key words: taro, *Colocasia esculenta*, morphology, isozyme

Trimanto, Sajidan, Sugiyarto. 2011. Karakterisasi talas (Colocasia esculenta) berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui: (i) keragaman *Colocasia esculenta* berdasarkan karakter morfologi; (ii) keragaman *C. esculenta* berdasarkan pola pita isozim, dan (iii) hubungan jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan pola pita isozim. Survei penelitian dilakukan di Kabupaten Karanganyar, di ketinggian tinggi, sedang dan rendah. Sampel diambil menggunakan teknik random sampling purposif, mencakup 9 titik cuplikan. Data morfologi diuraikan secara deskriptif dan kemudian dibuat dendogram kekerabatan. Data pola pita isozim dianalisis secara kuantitatif berdasarkan ada atau tidaknya pita di gel, kemudian dibuat dendogramnya. Korelasi berdasarkan karakter morfologi dan pola pita isozim dianalisis berdasarkan korelasi koefisien momen-produk kriteria *goodness of fit*. Hasil penelitian menunjukkan: (i) di Karanganyar terdapat 10 varietas *C. esculenta*; (ii) karakter morfologi tidak terpengaruh oleh ketinggian; (iii) peroksidase membentuk 14 pola pita isozim, esterase membentuk 11 pola pita dan shikimate dehidrogenase membentuk 15 pola pita; (iv) data morfologi dengan isozim peroksidase memiliki korelasi yang baik (0,893542288), sementara data morfologi dengan isozim esterase dan shikimate dehidrogenase memiliki korelasi yang sangat baik (0,917557716 dan 0,9121985446); (v) data pola pita isozim mendukung data karakter morfologi.

Kata kunci: talas, *Colocasia esculenta*, morfologi, isozim

PENDAHULUAN

Keragaman tanaman pangan di Indonesia dapat dikembangkan untuk mengatasi masalah pangan. Jenis umbi-umbian yang dapat dimanfaatkan secara lebih optimal sebagai bahan

pangan utama pengganti beras di antaranya adalah ubi kayu, ubi jalar, talas, kimpul, garut dan ganyong. Umbi-umbian ini mempunyai banyak keunggulan, di antaranya mempunyai kandungan karbohidrat yang tinggi sebagai sumber tenaga (Liu *et al.* 2006), tidak mengancam

dung gluten (Rekha and Padmaja 2002), mengandung angiotensin (Lee *et al.* 2003), antioksidatif (Nagai *et al.* 2006), dapat diaplikasikan pada berbagai keperluan (Aprianita 2009), dan menghasilkan energi yang lebih banyak per hektar dibandingkan beras dan gandum. Umbi-umbian dapat tumbuh pada daerah marginal (Louwagie *et al.* 2006), dimana tanaman lain tidak dapat tumbuh serta dapat di simpan dalam bentuk tepung dan pati (Aboubakar *et al.* 2008).

Talas mempunyai variasi yang besar baik karakter morfologi seperti umbi, daun dan pembungaan serta kimia seperti rasa, aroma dan lain-lain (Xu *et al.* 2001). Karakterisasi tanaman talas sekarang ini mulai dikembangkan melalui dua pendekatan. Keragaman antar varietas dapat dibedakan berdasarkan penanda morfologi dan molekuler. Keragaman berdasarkan penanda morfologi memiliki kelemahan, karena karakter morfologi belum tentu menunjukkan keragaman genetik. Keragaman morfologi dipengaruhi oleh lingkungan, karena setiap lingkungan memiliki kondisi yang berbeda-beda, sehingga tanaman melakukan adaptasi terhadap tempat hidupnya.

Penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik suatu varietas tanaman. Penanda molekuler telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Penanda molekuler yang sering digunakan untuk membedakan keragaman tanaman adalah penanda isozim dan DNA (Asains *et al.* 1995; Setyo 2001). Isozim merupakan produk langsung dari gen dan relatif bebas dari faktor lingkungan. Isozim dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari dan mengidentifikasi keragaman individu atau suatu kultivar. Isozim adalah enzim-enzim yang memiliki molekul aktif dan struktur kimia yang berbeda, tetapi mengkatalis reaksi kimia yang sama. Perbedaan bentuk molekul dari suatu enzim dapat dijadikan landasan pemisahan secara kimia, melalui metode elektroforesis akan dihasilkan pola pita dengan jarak yang berbeda (Purwanto *et al.* 2002).

Informasi tentang keragaman genetik talas (*Colocasia esculenta* L.) sangat dibutuhkan untuk pemuliaan tanaman dan perbaikan sifat keturunannya untuk memperoleh varietas yang lebih unggul. Berdasarkan latar belakang, penelitian ini dilakukan pada tanaman talas di wilayah yang berbeda pada daerah yang memiliki dataran tinggi, sedang dan rendah yang meliputi karakter morfologi dan polapita isozim pada berbagai varietas tanaman talas di Karanganyar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2009 sampai dengan Agustus 2009. Tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) dikoleksi dari Kabupaten Karanganyar yang dibedakan berdasarkan perbedaan ketinggian tempat, yaitu: (i) dataran tinggi (>1000 m dpl), (ii) dataran sedang (500-1000 m dpl), dan (iii) dataran rendah (<500 m dpl). Lokasi penelitian meliputi sembilan kecamatan di kabupaten Karanganyar (Tabel 1). Karakterisasi isozim talas dilakukan di Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, menggunakan tiga sistem enzim yaitu esterase (EST), peroksidase (POD) dan shikimate dehidrogenase (ShDH).

Karakterisasi morfologi

Karakterisasi morfologi meliputi: rentang tanaman, tinggi tanaman, jumlah stolon, panjang stolon, bentuk daun bagian basal, posisi dominan daun, tepi daun, warna helai daun, warna tepi helai daun, pola persimpangan petiole, warna persimpangan, warna cairan pada ujung helai daun, warna utama tulang daun, pola tulang daun, rasio panjang petiole/panjang helai daun, warna petiole sepertiga atas, warna petiole sepertiga tengah, warna petiole sepertiga bawah, warna garis-garis petiole, warna cincin petiole bagian bawah, irisan melintang bagian bawah petiole, rasio panjang pelepah/panjang petiole total, warna pelepah daun, lapisan lilin pada daun. Manifestasi cormus, panjang cormus, cabang cormus, bentuk cormus, berat cormus, warna korteks cormus, warna daging cormus bagian tengah, warna serat daging, permukaan kulit cormus, ketebalan kulit cormus, tingkat serabut cormus, dan warna tunas.

Analisis isozim

Daun ketiga dari pucuk di ekstrak dengan mortal, dengan menambahkan larutan *extract buffer* \pm 1 mL. Setelah hancur dan homogen, sampel dimasukkan ke dalam *eppendorf*, kemudian diputar dengan kecepatan 15.000 rpm selama 20 menit. Pembuatan gel: *Gel polyacrilamide* terdiri dari dua bagian yaitu *running gel* yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 7.5% dan *spacer gel* yang terletak di bagian atas *running gel* dengan kepekatan 3.75%. Elektroforesis: bak elektroforesis diisi larutan *elektroda buffer tank* setinggi \pm 2 cm. Gel dipasang pada elektroforesis, larutan supernatan diisikan ke dalam lubang sampel 5 μ L dengan menggunakan alat injeksi (*stepper*). Proses elektroforesis dilaksanakan

dengan arus listrik ± 100 mA selama 180-200 menit. Pewarnaan dilakukan setelah elektroforesis yaitu dengan meletakkan gel yang telah dikeluarkan dari glass elektroforesis ke dalam nampan plastik, kemudian direndam dengan larutan pewarna berupa pewarna esterase (EST), peroksidase (POD) dan shikimate dehidrogenase (ShDH). Pengamatan gel dilakukan setelah fiksasi dengan melihat pola pita yang muncul, dan menyalinnya dalam bentuk zimogram.

Analisis data

Data morfologi tanaman talas diuraikan secara deskriptif meliputi seluruh variabel pengamatan sesuai dengan Kusumo *et al.* (2002). Pada data isozim, pita yang muncul diberi nilai 1 sedangkan yang tidak muncul diberi nilai 0. Analisis dendrogram dilakukan dengan metode pengelompokan *Cluster Metode Average Linkage* dengan koefisien DICE (Rohlf 2005). Pengelompokan dilakukan dengan UPGMA (*Unweighted Pair Group with Arithmetic Mean*) yang dihitung melalui SHAN pada program NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*) versi 2.02, sedangkan analisis dendrogram menggunakan program statistic Minitab 14 metode *Average Linkage* dengan pengukuran jarak Euclidean. Hasilnya dibuat dendrogram hubungan kekerabatan berdasarkan isozimnya. Hasil dendrogram kekerabatan dianalisis dengan jarak kemiripan lebih dari 60% (Cahyarini 2004). Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim dianalisis berdasarkan koefisien korelasi *product-moment* dengan kriteria *goodness of fit* berdasarkan korelasi menurut Rohlf (2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi morfologi *C. esculenta*

Hasil karakterisasi tanaman talas yang dilakukan pada tiga dataran yang berbeda ketinggiannya di Kabupaten Karanganyar menunjukkan bahwa didapatkan 11 varian tanaman *C. esculenta* yang tersebar pada berbagai kecamatan, yaitu: Benthul, Lompongan, Laos, Mberek, Kladi, Plompong, Sarangan, Kladitem, Jabon, Jepang, dan Linjik. Dalam penelitian ini diambil 18 sampel talas dengan lokasi penelitian dengan faktor lingkungan sebagaimana tertera pada Tabel 1. Keragaman tampak pada tipe tanaman, daun dan cormus (umbi). Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan antara 11 varian talas. Deskripsi morfologi mengenai daun, pelepah, dan cormus (umbi) pada masing-masing varietas talas adalah sebagaimana Table 2.

Pada dendrogram digunakan koefisien kemiripan 60% untuk menganalisis hubungan kekerabatan dari 18 sampel yang ditemukan di lokasi yang berbeda dengan 11 varietas yang berbeda. Menurut Cahyarini (2004) jarak kemiripan dikatakan jauh apabila kurang dari 0.60 atau 60%, sehingga kelompok-kelompok yang terpisah pada jarak kurang dari 0.60 masih mempunyai kemiripan yang dekat. Pada analisis dendrogram ini, angka 1 atau 100% menunjukkan bahwa anggota kelompok memiliki kemiripan sempurna, sedangkan semakin mendekati angka 0 berarti jarak kemiripannya semakin jauh.

Benthul

Hasil analisis dendrogram menunjukkan bahwa Talas Benthul dari ketinggian berbeda memiliki karakter morfologi yang sama dan memiliki kekerabatan yang tinggi. Ini terbukti pada koefisien 0,60 masih berada dalam satu kelompok. Namun ada kecenderungan Benthul dari ketinggian berbeda menunjukkan ukuran tanaman yang berbeda, mulai dari ukuran daun, tinggi tanaman, pelepah dan umbi. Benthul umumnya ditanam penduduk sebagai tanaman sela di persawahan dan kebun, serta dibiarkan tumbuh tanpa perlakuan khusus. Faktor lingkungan pada setiap ketinggian seperti suhu, tanah dan ketersediaan cahaya dan air yang berbeda, diduga menyebabkan ukuran tanaman mengalami perbedaan. Menurut Park *et al.* (1997) dan Djukri (2006) setiap menghadapi cekaman lingkungan tanaman senantiasa melakukan adaptasi, termasuk perubahan karakter-karakter morfologi dan fisiologi.

Benthul yang tumbuh di dataran tinggi terlihat lebih tinggi dengan habitus lebar, daun tipis dan pelepah dan tangkai besar. Hal ini teramati pada talas yang tumbuh pada ketinggiannya lebih dari 1500 m dengan kelembaban yang tinggi, suhu rendah $\pm 22^{\circ}\text{C}$, dan curah hujan tinggi mencapai 2299 mm/ tahun. Menurut Basri (2002) pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Ketinggian di atas 1500 m menyebabkan kandungan gas dan uap air (kelembaban) serta banyaknya awan menghalangi sinar matahari ke tanaman, sehingga tanaman berusaha menangkap cahaya dengan menaikkan kadar klorofil dan luas permukaan. Tanaman talas cenderung memiliki daun yang lebar karena ketersediaan air yang cukup besar akibat curah

Tabel 1. Kondisi lingkungan tempat pertumbuhan talas di Karanganyar.

Lokasi/ Kecamatan	Jenis talas	Faktor lingkungan					
		Altitude (meter)	Suhu (°C)	Jenis tanah	Naung- an	Hujan (mm/th)	Budi- daya
Dataran rendah							
Gondangrejo	Benthul	150	29	Grumosol	-	1537	√
	Mberek	150	29	Grumosol	-	1537	-
Jaten	Kladi	98	29	Aluvial	-	1680	√
	Linjik	98	29	Aluvial	√	1680	√
Karanganyar	Lompongan	320	30	Mediteran	-	2012	-
Kebakkramat	Plompong	95	29	Mediteran	-	2012	√
Dataran sedang							
Karangpandan	Benthul	650	28	Mediteran	-	2818	√
	Lompongan	600	28	Mediteran	√	2818	-
	Sarangan	650	28	Mediteran	-	2818	√
Matesih	Jabon	700	28	Litosol	-	2480	√
	Laos	750	27	Litosol	-	2480	√
	Linjik	700	28	Litosol	√	2480	-
Dataran tinggi							
Tawangmangu	Kladitem	1500	23	Andosol	√	3299	√
	Benthul	1700	22	Andosol	-	3299	√
	Lompongan	1500	23	Andosol	√	3299	-
Ngargoyoso	Laos	1000	26	Andosol	√	3182	√
Jatiyoso	Sarangan	1300	26	Andosol	-	3098	√
	Jepang	1200	26	Andosol	-	3098	√

hujan yang tinggi pada daerah tersebut. Suhu yang rendah $\pm 22^{\circ}\text{C}$ masih mendukung keoptimalan dalam fotosintesis.

Benthul yang tumbuh di dataran rendah cenderung memiliki daun lebih sempit dan umbi lebih kecil dan ringan. Menurut Menzel (1980) suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan menghambat perkembangan daun sehingga luas daun sempit dan laju fotosintesis tinggi akibatnya menurunkan bobot umbi. Tetapi apabila suhu terlalu rendah mencapai kurang dari 10°C maka jaringan tanaman dapat rusak dan terjadi gangguan pertumbuhan sehingga tanaman cenderung kerdil.

Lompongan

Dendrogram kekerabatan Lompongan yang ditemukan di tiga ketinggian berbeda hanya menunjukkan perbedaan ukuran. Secara garis besar talas dari dataran tinggi, sedang dan rendah masih memiliki karakter morfologi yang sama. Lompongan hidup liar di sekitar persawahan dan pinggir saluran air. Lompongan dari dataran tinggi memiliki perbedaan dengan dataran rendah, antara lain: warna daun lebih hijau pekat, warna pelepah lebih coklat, dan ukurannya lebih besar. Berbeda dengan

Lompongan di dataran tinggi banyak dijumpai di pinggir sungai dengan naungan pohon-pohon di sekitarnya, sedang pada dataran rendah dijumpai pada sekitar pinggir sawah yang penuh air. Faktor lingkungan berupa cahaya, suhu dan kelembapan yang berbeda menyebabkan tumbuhan mengalami adaptasi. Menurut Taiz dan Zeiger (1991), daun mengalami peningkatan luas permukaan karena adanya naungan, dan mengalami perubahan warna karena adanya peningkatan kadar klorofil a dan b.

Pada keadaan ternaungi spektrum cahaya yang aktif dalam proses fotosintesis (panjang gelombang 400-700 nm) menurun. Tanaman akan melakukan penyesuaian untuk mengefisienkan penangkapan energi cahaya yaitu dengan meningkatkan luas daun, tinggi tanaman dan kadar klorofil a

dan b (Lambers *et al.* 1998).

Ketinggian tempat menyebabkan kelembapan, cahaya, suhu, dan kadar air berbeda-beda. Menurut Fitter dan Hay (1998) faktor lingkungan saling berkaitan sehingga tanaman mengadakan respon terhadap lingkungan. Kadar air yang tinggi pada tanah menyebabkan turgor sel daun meningkat menyebabkan perluasan daun. Berkurangnya cahaya menyebabkan daun menambah proporsi jumlah jaringan mesofil. Suhu yang terlalu tinggi ($>40^{\circ}\text{C}$) menyebabkan enzim rusak dan respirasi berlangsung cepat sehingga tanaman mengalami gangguan pertumbuhan. Suhu terlalu rendah ($<1^{\circ}\text{C}$) menyebabkan aktifitas enzim menurun menyebabkan jaringan tanaman rusak dan mati. Suhu yang optimum untuk fotosintesis adalah $20-30^{\circ}\text{C}$.

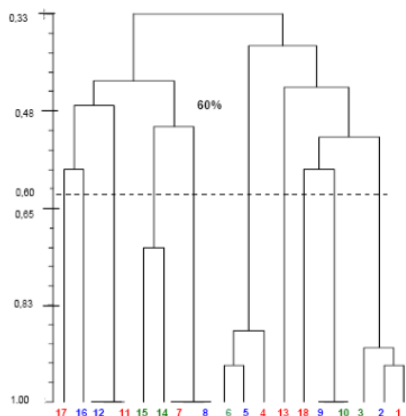
Karakterisasi isozim talas

Peroksidase

Hasil analisis isozim dengan pewarna peroksidase, shikimate dehidrogenase dan esterase dapat dilihat pada gambar 2. Peroksidase pada 18 sampel *C. esculenta* yang diuji membentuk 14 pola pita yang berbeda. Pola pita I dengan jarak migrasi (*Rf*) 0.586, 0.630, 0.717, 0.761 dan 0.804

4. Ungu	- - - - -	√	- - - - -
9. Warna garis petiole			
1. Hijau	- - - - -	√	√ - - √ √ - √ -
2. Ungu	√ √ √ √ √ √ - -	√	√ - - √ - - √ -
10. Irisan melintang bawah			
1. Terbuka	√ √ √ √ √ √ - -	√	√ √ √ √ √ √ √ -
2. Tertutup	- - - - -	√	√ - - - - - √ -
11. Warna cincin petiole			
1. Putih	- - - √ √ √ - - - -	√	√ - - - - -
2. Kuning	- - - - -		√ √ √ √ -
3. Merah muda	√ √ √ - - - √ √ √ -		- - - - - √
4. Ungu	- - - - -		√ - - - - -
12. Warna pelepah daun			
1. Keputihan	- - - - -	√	√ - - - - -
2. Hijau muda	- - - - -	√	√ - √ √ √ √
3. Merah	√ √ √ √ √ √ - -	√	√ - - - - - √
Keunguan			
13. Lapisan lilin			
1. Tidak ada	- - - - -	√	√ - - - - -
2. Rendah	√ √ √ - - - √ √ -	√	√ - - - - - √ -
3. Sedang	- - - √ √ √ - - - -		√ √ - - - -
4. Tinggi	- - - - -		√ - - - - √

Keterangan: 1. Benthul (dataran tinggi), 2. Benthul (dataran sedang), 3. Benthul (dataran rendah), 4. Lompongan (dataran tinggi), 5. Lompongan (dataran sedang), 6. Lompongan (dataran rendah), 7. Laos (dataran tinggi), 8. Laos (dataran sedang), 9. Linjik (dataran sedang), 10. Linjik (dataran rendah), 11. Sarangan (dataran tinggi), 12. Sarangan (dataran sedang), 13. Kladitem (dataran tinggi), 14. Plompong (dataran rendah), 15. Kladi (dataran rendah), 16. Jabon (dataran sedang), 17. Mberek (dataran rendah), 18. Jepang (dataran tinggi).



Gambar 1. Dendrogram kekerabatan 18 sampel *C. esculenta* dari tiga ketinggian berbeda berdasarkan karakter morfologi. Keterangan: No. 1-18 sama dengan Tabel 2.

dimiliki oleh sampel 1. Pola pita II dengan R_f 0.586, 0.717, 0.761 dan 0.804 dimiliki oleh sampel 2 dan 3. Pola pita III dimiliki oleh sampel 5 dengan R_f 0.630, 0.739, 0.782 dan 0.826. Pola pita IV dengan R_f 0.630, 0.739, 0.782 dimiliki oleh sampel 4 dan 6. Pola pita V dengan R_f 0.652, 0.739, 0.782 dan 0.874 dimiliki oleh sampel 7 dan 8. Pola pita VI R_f 0.652, 0.739, 0.782 dan 0.869 dimiliki oleh sampel 9 dan 10. Pola pita VII dengan R_f 0.565, 0.717, 0.739 dan 0.847 dimiliki oleh sampel 11. Pola pita VIII dengan R_f 0.565, 0.717, 0.739 dimiliki oleh sampel 12. Pola pita IX dengan jarak 0.630 dan 0.739 dimiliki oleh sampel 13. Pola pita X dengan R_f 0.630 dan 0.739 dimiliki oleh sampel 14. Pola pita XI dengan jarak 0.630, 0.739, dan 0.804 dimiliki oleh sampel 15. Pola pita XII dengan jarak 0.630, 0.739, dan 0.826 dimiliki oleh sampel 16. Pola pita XIII dengan jarak 0.630, 0.717 dan 0.761 dimiliki oleh sampel 17. Pola pita XIV dengan R_f 0.607, 0.652 dan 0,761 dimiliki oleh sampel 18.

Shikimate dehidrogenase

Hasil analisis isozim dengan pewarna shikimate dehidrogenase (ShDH) pada 18 sampel *C. esculenta* yang diuji membentuk 15 pola pita yang berbeda. Pola pita I dengan R_f 0.523, 0.568, dan 0.863 dimiliki oleh sampel 1. Pola pita II dengan R_f 0.523, 0.568, 0.614 dan 0.863 dimiliki oleh sampel 2 dan 3. Pola pita III dengan R_f 0.523, 0.568, 0.614 dan 0.840 dimiliki oleh sampel 4. Pola pita IV dengan R_f 0.500, 0.523, 0.568, 0.614 dan 0.840 dimiliki oleh sampel 5 dan 6. Pola pita V dengan R_f 0.568 dan 0.840 dimiliki oleh sampel 7 dan 8. Pola pita VI dengan R_f 0.523 dan 0.840 dimiliki oleh sampel 9. Pola pita VII dengan R_f 0.500, 0.523 dan 0.840 dimiliki oleh sampel 10. Pola pita VIII dengan R_f 0.523 dan 0.818 dimiliki oleh sampel 11. Pola pita IX dengan R_f 0.500, 0.523 dan 0.818 dimiliki oleh sampel 12. Pola pita X dengan R_f 0.416, 0.432, 0.523, 0.795 dimiliki oleh sampel 13. Pola pita XI dengan R_f 0.500, 0.523, 0.727 dan 0.750 dimiliki oleh sampel 14. Pola pita XII dengan R_f 0.523, 0.546, 0.581 dan 0.818 dimiliki oleh sampel 15. Pola pita XIII dengan R_f 0.523, 0.546, 0.568 dan 0.795 dimiliki oleh sampel 16. Pola pita XIV dengan R_f 0.500, 0.546, dan 0.795 dimiliki oleh sampel 17. Pola pita XV dengan R_f 0.546, 0.568 dan 0.795 dimiliki oleh sampel 18.

Esterase

Hasil analisis isozim dengan pewarna esterase pada 18 sampel *C. esculenta* yang diuji membentuk 11 pola pita yang berbeda. Pola pita

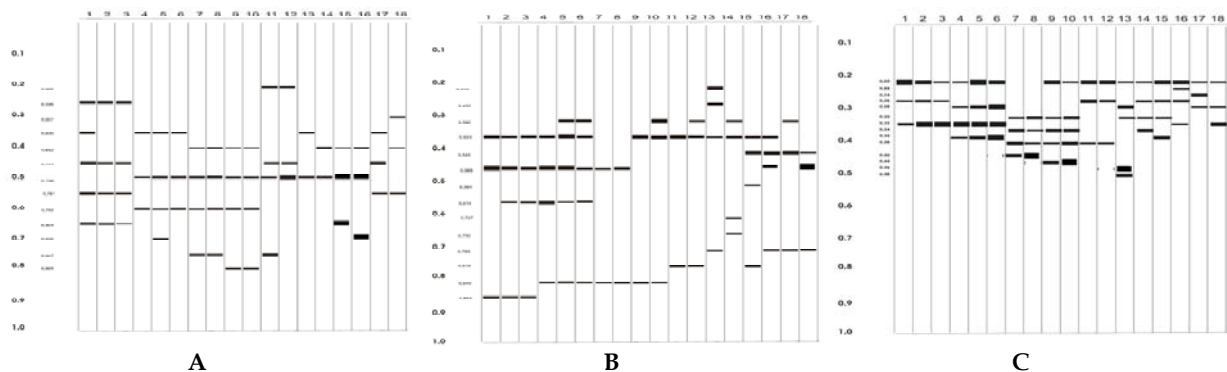
I dengan R_f yang sama tetapi memiliki bentuk yang berbeda, pada R_f 0,22, 0,26 dan 0,32 dimiliki oleh sampel 1, 2 dan 3 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita II dengan R_f 0,20, 0,28, 0,32 dan 0,36 dimiliki oleh sampel 4, 5 dan 6 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita III dengan R_f 0,30, 0,34, 0,38, 0,40 dimiliki oleh sampel 7 dan 8 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita IV dengan R_f 0,20, 0,30, 0,34, 0,38 dan 0,44 dimiliki oleh sampel 9 dan 10. pola pita V dengan R_f 0,20, 0,26 dan 0,38 dimiliki oleh sampel 11 dan 12 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita VI dimiliki oleh sampel 13 dengan R_f 0,20, 0,28, 0,30, 0,46, 0,48. Pola pita VII dimiliki oleh sampel 14 dengan R_f 0,20, 0,26, 0,30, 0,34. pola pita VIII dimiliki oleh sampel 15 dengan R_f 0,20, 0,26, 0,30, 0,36. pola pita IX dimiliki oleh sampel 16 dengan R_f 0,20, 0,22, 0,26, 0,32. pola pita X dimiliki oleh sampel 17 dengan R_f 0,20, 0,24, 0,32 dan pola pita XI dengan R_f 0,20, 0,28 dan 0,32 dimiliki oleh sampel 18.

Kemiripan genetik talas berdasarkan marka isozim

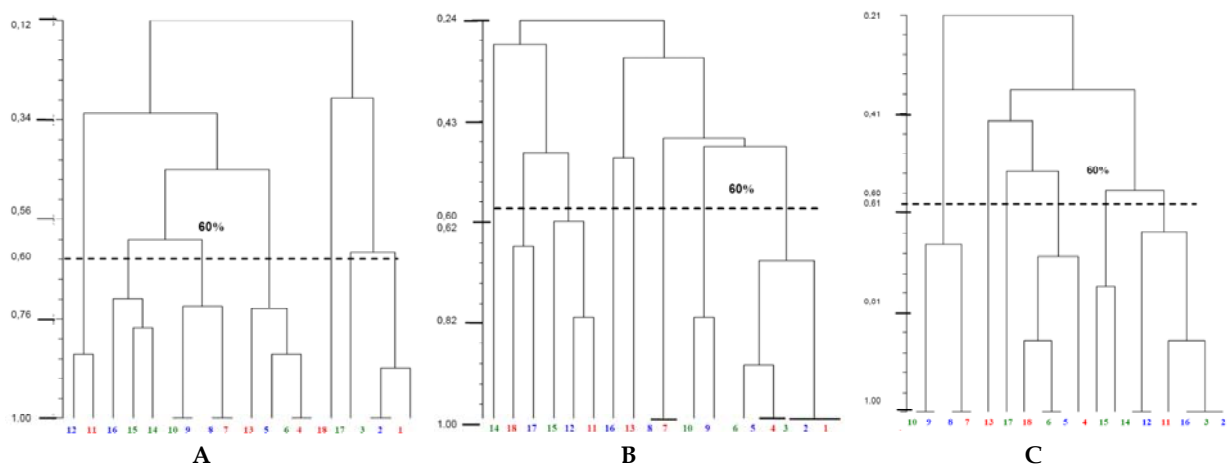
Kemiripan genetik antar sampel dapat diuji dengan menggunakan analisis kluster (analisis

rataan kelompok) yang hasilnya berupa dendogram atau diagram pohon. Sebagai hasil akhir adalah dendogram kekerabatan yang diuji melalui tiga enzim (peroksidase, shikimat dehydroginase, dan esterase) (Gambar 3).

Pemilihan enzim peroksidase memiliki keunggulan di antaranya: memiliki spektrum yang luas dan memiliki peran yang sangat penting dalam proses fisiologi tanaman. Enzim ini dapat diisolasi dan tersebar pada sel atau jaringan tanaman terutama pada jaringan tanaman yang mengalami perkembangan (Butt 1980; Hartati 2001). Shikimate dehidrogenase (ShDH) merupakan enzim yang tersebar pada sebagian besar makhluk hidup. Shikimate dehidrogenase berperan dalam oksidoreduktase yang mengkatalis shikimate + NADP menjadi 3 produk utama yaitu dehydroshikimate +NADPH+H⁺. Pada tanaman esterase merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul rendah dan mudah larut.



Gambar 2. Variasi pola pita isoizim 18 sampel *C. esculenta* dari tiga ketinggian berbeda. Keterangan: a. Pola pita peroksidase, b. Pola pita shikimate dehidrogenase, c. Pola pita esterase. No. 1-18 sama dengan Tabel 2.



Gambar 3. Dendogram hubungan kekerabatan 18 sampel *C. esculenta* dari tiga ketinggian berbeda berdasarkan pola pita isoizim. A. peroksidase, B. shikimate dehidrogenase, c. Esterase. No. 1-18 sama dengan Tabel 2.

Hasil dendrogram kekerabatan antara penggunaan enzim peroksidase, shikimate dehidrogenase dan esterase menunjukkan pada umumnya talas dari varietas yang sama memiliki pola pita yang sama walaupun dari lokasi yang berbeda ketinggiannya, sehingga secara enzimatik masih memiliki kekerabatan yang tinggi, karena diperkirakan tetuanya sama. Pada talas dengan varietas yang berbeda cenderung memiliki pola pita yang berbeda. Pembentukan kelompok antara penggunaan enzim esterase, peroksidase dan shikimate dehidrogenase memberikan hubungan kekerabatan yang berbeda, tetapi dalam satu varietas umumnya bergabung dalam satu kelompok pada jarak kemiripan lebih dari 60%, walaupun berasal dari lokasi yang berbeda ketinggiannya.

Esterase membentuk 7 kelompok talas pada jarak kemiripan lebih dari 60%, dimana ada talas yang bergabung dengan kelompok talas lain. Jabon membentuk satu kelompok dengan Plompong pada jarak kemiripan 0.80. Kladi membentuk satu kelompok dengan Plompong pada jarak kemiripan 0.75. Lompongan bergabung dengan Jepang pada jarak kemiripan 0.70. Laos dan Linjik membentuk satu kelompok pada jarak kemiripan 0.67. Talas yang berbeda varietasnya tetapi membentuk satu kelompok dimungkinkan masih memiliki kekerabatan genetik yang tinggi.

Peroksidase juga membentuk tujuh kelompok. Pada umumnya dalam satu varietas talas masih terdapat pada satu kelompok walaupun ditanam pada lokasi yang berbeda ketinggian tempatnya. Peroksidase membentuk variasi kelompok talas yang berbeda dengan esterase. Pada peroksidase, Laos dan Linjik dalam satu kelompok dengan pada jarak kemiripan 0.75. Plompong dan Kladi membentuk satu kelompok, tetapi Jabon ikut bergabung pada jarak kemiripan 0.70. Lompongan dan Kladitem membentuk satu kelompok pada jarak kemiripan 0.75. Peroksidase menambah informasi terdapatnya kelompok baru yang tidak terbentuk pada penggunaan esterase.

Shikimate dehidrogenase memberikan pembentukan kelompok talas yang berbeda dengan esterase dan peroksidase. Pada shikimate dehidrogenase, terbentuk tiga kelompok yang berasal dari varietas berbeda tetapi membentuk satu kelompok pada jarak kemiripan lebih dari 60%. Lompongan dan Benthul bergabung pada jarak kemiripan 0,65. Kladi bergabung dengan Sarangan pada jarak kemiripan 0,62. Mberek dan

Jepang membentuk satu kelompok pada jarak kemiripan 0.67.

Penggunaan enzim yang berbeda memberikan hasil kelompok yang berbeda, walaupun ada pembentukan kelompok yang sama dengan penggunaan enzim yang berbeda. Penggunaan enzim yang berbeda akan saling melengkapi terbentuknya kelompok-kelompok talas yang berbeda varietasnya. Secara genetis pola pita yang terbentuk pada penggunaan enzim merupakan ekspresi dari varietas talas yang bersangkutan. Dengan suatu enzim tertentu sebagian talas yang tidak mampu mengespresikan pola pitanya, tetapi dengan enzim lain dapat mengekspresikan pola pitanya. Sehingga semakin banyak jenis enzim yang digunakan maka akan melengkapi terbentuknya kelompok-kelompok pada varietas talas.

Hasil dendrogram melalui penanda morfologi dan pola pita isozim menunjukkan perbedaan. Dari penanda morfologi dari 11 varietas, didapatkan talas membentuk 10 kelompok pada jarak kemiripan 0.60. Talas yang berbeda varietasnya, kebanyakan akan membentuk kelompok tersendiri artinya secara morfologi talas yang berbeda varietas memiliki perbedaan karakter morfologi. Talas yang membentuk satu kelompok pada analisis kekerabatan adalah Kladi dan Plompong.

Pada penggunaan isozim kelompok yang terbentuk lebih sedikit, hal ini berarti antara talas yang berbeda varietasnya masih memiliki hubungan kekerabatan yang tinggi. Apabila talas yang berbeda varietas bergabung dalam satu kelompok dengan jarak kemiripan yang mendekati 1 dimungkinkan talas berasal dari tetua yang berkerabat dekat. Faktor lingkungan berpengaruh terhadap morfologi tanaman, apabila faktor lingkungan lebih dominan dibanding faktor genetik maka tanaman akan mengalami perubahan morfologi (Suranto 1999, 2001). Dalam jangka panjang dimungkinkan tanaman mengalami perubahan sifat genetik dalam tubuhnya. Tanaman yang mengalami stres lingkungan dimungkinkan akan mengalami mutasi, sehingga dalam jangka panjang dapat terjadi spesiasi.

Jenis-jenis baru juga dimungkinkan sebagai hasil hibridisasi, sehingga memiliki hubungan yang dekat dengan kedua jenis induknya. Sifat-sifat dari talas yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat inilah yang dapat digunakan untuk mencari talas yang unggul melalui perkawinan silang. Sebagian talas yang

ditemukan di Karanganyar merupakan talas liar. Talas yang hidup liar dan tidak bermanfaat kemungkinan memiliki sifat-sifat genetik yang unggul, sehingga proses hibridisasi untuk memperoleh varietas unggul dapat diterapkan.

Perkembangbiakan generatif talas secara alami sulit terjadi karena bunga jantan dan betina matang dalam waktu yang berbeda dan pembungaan baru terjadi pada usia lebih dari 6 bulan. Banyak tanaman yang dianggap tidak berbunga karena pembungaannya sangat lama. Banyak tanaman budidaya yang dipanen sebelum usia dewasa sehingga banyak tanaman yang sulit melakukan perkembangbiakan secara generatif.

Karakterisasi tanaman talas melalui penanda morfologi lebih mudah dilakukan, dengan mengamati sifat luar talas dapat diasumsikan talas tersebut memiliki sifat yang unggul. Tetapi penanda genetik juga berperan penting karena sifatnya yang lebih mendasar dan tidak dipengaruhi lingkungan. Data morfologi dan pola pita isozim pada tanaman talas di Karanganyar dapat digunakan sebagai tambahan untuk identifikasi dalam upaya pemuliaan tanaman pangan tersebut.

Hubungan karakterisasi morfologi dan isozim

Korelasi antara jarak genetik berdasarkan penanda morfologi dan kemiripan berdasarkan pola pita isozim dianalisis berdasarkan koefisien korelasi *product-moment* dengan kriteria *goodness of fit* menurut Rohlf (1993). Hasil perhitungan Korelasi antara jarak genetik berdasarkan penanda morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim menunjukkan bahwa antara morfologi dan isozim memiliki korelasi yang baik dan sangat baik (Tabel 4). Korelasi antara data morfologi dan pola pita isozim peroksidase, esterase, dan shikimate dehidrogenase, berturut, turut berada pada nilai 0,893542288, 0,917557716, 0,9121985446. Hal ini menunjukkan karakterisasi talas berdasarkan penanda morfologi konsisten dengan pola pita isozim, sehingga data isozim mendukung data morfologi.

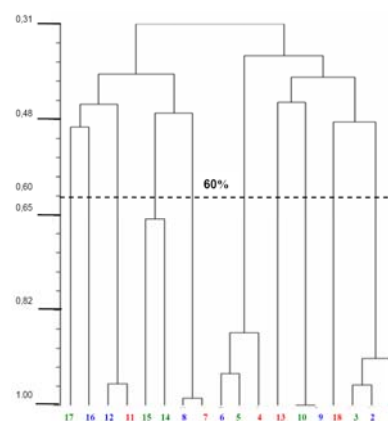
Keragaman yang sulit diamati dengan penanda morfologi akan lebih akurat jika dilengkapi dengan penanda genetik seperti isozim. Karakter morfologi yang dilengkapi dengan karakter pola pita isozim menambah keakuratan data untuk mengidentifikasi keanekaragaman tumbuhan. Isozim memiliki kelebihan karena hanya membutuhkan sedikit sampel tanaman, tidak terhambat masa dormansi

tanaman, dapat digunakan untuk melakukan karakterisasi tanaman dalam jumlah yang sangat banyak.

Tabel 4. Hubungan karakterisasi morfologi dan hasil karakterisasi berdasarkan pola pita isozim

Karakter dikorelasikan	yang Level	Kriteria
Morfologi dan Isozim POD	0,893542288	baik
Morfologi dan Isozim EST	0,917557716	sangat baik
Morfologi dan Isozim ShDH	0,9121985446	sangat baik

Kekerabatan tanaman talas yang didapatkan dari ketinggian tempat yang berbeda dapat dibuat dendogram antara penanda morfologi dan pola pita isozimnya. Dendogram berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim peroksidase, shikimate dehidrogenase, dan esterase menunjukkan bahwa talas dengan jenis yang sama dari ketinggian tempat yang berbeda tidak menunjukkan adanya perbedaan pada jarak kemiripan 60%. Dari delapan belas sampel terbagi menjadi 10 kelompok. Masing masing talas dengan jenis yang sama walaupun berada pada tempat yang berbeda ketinggian masih mencerminkan kekerabatan yang tinggi. Ini terbukti talas dengan jenis yang sama terdapat dalam satu kelompok.



Gambar 4. Dendogram kekerabatan 18 sampel *C. esculenta* dari tiga ketinggian berbeda berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim peroksidase, esterase, dan shikimate dehidrogenase. Keterangan: No. 1-18 sama dengan Tabel 2.

Talas yang dalam satu varietas bergabung menjadi satu kelompok berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim, dimana pola pita

isozim mendukung data morfologi. Hal ini dibuktikan sampel 1, 2, 3 yaitu Bentul dari tiga lokasi ketinggian berbeda bergabung dalam satu kelompok. Bukti lain adalah sampel 4, 5 dan 6 yang merupakan Lompongan dari tiga lokasi ketinggian berbeda juga membentuk satu kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa data isozim mendukung data morfologi, sehingga untuk mengidentifikasi tanaman selain dibutuhkan data morfologi diperlukan juga data isozim untuk menambah keakuratan data. Terdapat varietas talas yang memiliki kekerabatan dekat yaitu Kladi dan Plompong memiliki kekerabatan tinggi bila dilihat dari penggabungan sifat morfologi dengan isozimnya, keduanya bergabung pada jarak koefisien 0,68. Diduga kedua talas ini memiliki tetua yang kekerabatannya tinggi, karena karakter morfologinya dan isozimnya hampir sama. Dari hasil karakterisasi didapatkan bahwa Kladi dan Plompong memiliki kekerabatan paling tinggi dibanding dengan varietas talas lainnya. Talas dengan varietas yang berbeda membentuk kelompok sendiri pada jarak kemiripan 60%. Ini berarti pada jarak 60% setiap varietas talas memiliki karakter yang sifatnya berbeda.

KESIMPULAN

Terdapat keragaman karakter morfologi pada 18 sampel talas (*Colocasia esculenta* L.) yang tumbuh di Karanganyar. Talas yang masih dalam satu varietas yang berada pada ketinggian berbeda keragamannya hanya tampak pada ukuran vegetatif tanaman. Hasil pola pita isozim menunjukkan adanya keragaman pola pita isozim peroksidase, esterase dan shikimate dehidrogenase pada varietas-varietas talas yang ditemukan pada lokasi yang berbeda. Karakterisasi talas berdasarkan penanda morfologi konsisten dengan karakterisasi berdasarkan isozim. Data isozim mendukung data karakter morfologi.

DAFTAR PUSTAKA

Aboubakar YN, Njintang, Scher J, Mbofung CMF. 2008. Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) flours and starches. *J Food Engineer* 86 (2): 294-305.

Apranita A, Purwandari U, Watson B, Vasiljevic T. 2009. Physico-chemical properties of flours and starches from

selected commercial tubers available in Australia. *Intl Food Res* 16: 507-520.

Basri, H. 2002. Agroekologi (Suatu Pendekatan Fisiologi). Divisi Buku Perguruan Tinggi. Raja Grafindo Persada: Jakarta

Butt VS. 1980. Direct oxidases and related enzymes. In: Stumpf PK, Cohn EE (eds). *The biochemistry of plants*. Vol. 2. Academic Press. New York.

Cahyarini RD, Yunus A, Purwanto E. 2004. Identifikasi Keragaman genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Djukri. 2006. The plant characters and corm production of taro as catch crop under the young rubber stands. *Biodiversitas* 7 (3): 256-259.

Fitter AH, Hay RKM. 1998. *Environmental physiology of plants*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta

Hartati S, Prana T. 2001. Analisis kadar Pati dan Serat Kasar Tepung beberapa Kultivar Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott). *J Natur Indonesia* 6 (1): 29-33.

Kusumo S, Hasanah M, Moeljopawiro S, Thohari M, Subandriyo, Hardjamulia A, Nurhadi A, Kasim H. 2002. Panduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Talas. Komisi Nasional Plasma Nutfah, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. Jakarta.

Lee MH, Lin YS, Lin YH, Hsu FL and Hou WC. 2003. The mucilage of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activities. *Bot Bull Acad Sinica* 44: 267-273.

Liu Q, Donner E, Yin Y, Huang RL and Fan MZ. 2006. The physicochemical properties and in vitro digestibility of selected cereals, tubers, and legumes grown in China. *Food Chem* 99: 470-477.

Louwagie G, Stevenson CM, Langohr R. 2006. The impact of moderate to marginal land suitability on prehistoric agricultural production and models of adaptive strategies for Easter Island (Rapa Nui, Chile). *J Anthropol Archaeol* 25 (3): 290-317.

Menzel CM. 1980. Tuberization in potato *Solanum tuberosum* cultivar Sebago at high temperatures: responses to gibberellins and growth inhibitors. *Ann Bot* 46: 259-266

Nagai T, Suzuki N and Nagashima T. 2006. Antioxidative activity of water extracts from the yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) tuber mucilage *tororo*. *Eur J Lipid Sci Tech* 108: 526-531.

Purwanto E, Sukaya, Merdekawati P. 2002. Studi Keragaman Plasma Nutfah Jeruk Besar di Magetan Jawa Timur Berdasarkan Penanda Isozim. *Agrosains* 4 (2): 50-55.

Rekha MR, Padmaja G. 2002. Alpha-amylase inhibitor changes during processing of sweet potato and taro tubers. *Plant Food Human Nutr* 52: 285-294.

Rohlf FJ. 2005. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.2. Exeter Software: Setauket, NY

Suranto. 1991. Studies of population variation in species of *Ranunculus*. [Thesis]. Departement of Plant Science, University of Tasmania. Hobart, Australia.

Suranto. 2001. Study on *Ranunculus* population: isozymic pattern. *Biodiversitas* 2 (1): 85-91.

Taiz L, Zeiger E. 1991. *Plant physiology*. Benyamini/Cumming. Tokyo.

Xu J, Yang Y, Pu Y, Ayad WG, Eyzaguirre PB. 2001. Genetic diversity in Taro (*Colocasia esculenta* Schott, Araceae) in China: an ethnobotanical and genetic approach. *Econ Bot* 55 (1): 14-31.