

ANALISIS SEKUENS Gen *matK* *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii* DAN var. *Hahnii*

Riano Rembet¹⁾, Johanis J. Pelealu¹⁾, Beivy J. Kolondam¹⁾, Trina E. Tallei^{1*)}

¹⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi

* trina_tallei@unsrat.ac.id

ABSTRACT

Sansevieria has many hybrids and horticultural varieties so that the classification of this plant in the genus is often difficult to do. In the *Sansevieria* genera, *S. trifasciata* is the most commercialized species. There are at least 20 cultivars of this species that have been sold around the world. Two varieties among *S. trifasciata* collected by ornamental plant collectors are var. *Laurentii* and var. *Hahnii*. Morphological characters of both plants are very distinct, so they may be considered as different species. Lack of information about the genetic variation in *S. trifasciata* encouraged this study. This study aimed to assess differences in *matK* gene sequences between *S. trifasciata* var. *Laurentii* and var. *Hahnii*, as well as to compare them with *matK* sequence of *S. trifasciata* obtained from GenBank. Total DNA was extracted from fresh leaves using innuPREP Plant DNA Kit (Analytik Jena) in accordance with the protocol provided. DNA obtained was used for the PCR process to obtain the *matK* gene fragment. Primer pairs used for amplification and gene sequencing were 3F-r and 1R-f. The results showed that there were no differences among *matK* sequences of *S. trifasciata* var. *Laurentii*, *S. trifasciata* var. *Hahnii*, and *S. trifasciata* obtained from GenBank. In conclusion, those plants are the same species.

Keywords: *matK* gene, hybrid, *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii*, *Sansevieria trifasciata* var. *Hahnii*, genetic variation, variety

ABSTRAK

Sansevieria memiliki banyak sekali hibrida dan varietas hortikultur sehingga klasifikasi tumbuhan ini di dalam genusnya seringkali sulit sekali dilakukan. Di dalam genus *Sansevieria*, *S. trifasciata* merupakan spesies yang paling dikomersilkan. Paling tidak terdapat 20 kultivar dari spesies ini yang telah dijual di seluruh dunia. Dua di antara varietas *S. trifasciata* yang banyak dikoleksi oleh para kolektor *Sansevieria* yaitu *S. trifasciata* var. *Laurentii* dan var. *Hahnii*. Karakter morfologi kedua tumbuhan ini sangat berbeda sehingga terdapat kemungkinan dianggap sebagai spesies yang berbeda. Kurangnya informasi mengenai variasi genetik pada *S. trifasciata* mendorong dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sekuens gen *matK* *S. trifasciata* var. *Laurentii* dan *S. trifasciata* var. *Hahnii*, serta membandingkannya dengan *S. trifasciata* yang diperoleh dari GenBank. DNA total diekstraksi dari daun segar menggunakan innuPREP Plant DNA Kit (Analytik Jena) sesuai dengan protokol yang telah disediakan. DNA yang diperoleh digunakan untuk proses PCR untuk mendapatkan fragmen gen *matK*. Pasangan primer *matK* yang digunakan untuk amplifikasi dan sekuensing yaitu 3F-r dan 1R-f. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan sekuens *matK* antara *S. trifasciata* var. *Laurentii* dan *S. trifasciata* var. *Hahnii*, maupun dengan *S. trifasciata* yang ada di GenBank. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu tumbuhan-tumbuhan ini merupakan spesies yang sama.

Kata kunci: gen *matK*, hibrida, *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii*, *Sansevieria trifasciata* var. *Hahnii*, variasi genetik, varietas

PENDAHULUAN

Sansevieria merupakan genus yang terdiri atas banyak spesies. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan asli Afrika, Madagaskar dan Asia bagian selatan (Alfani *et al.*, 1989) dan memiliki nama umum yaitu lidah mertua, lidah setan, lidah jin, dan lidah ular (Takawira dan Nordal, 2002). *Sansevieria* sering dimasukkan dalam genus *Dracaena* di dalam sistem klasifikasi APGII (*Angiosperm Phylogeny Group II*). Kedua genus ini termasuk dalam famili Asparagaceae, subfamili Nolinoideae (sebelumnya Ruscaceae), dan juga pernah ditempatkan sebelumnya dalam famili Dracaenaceae (Lu dan Clifford, 2014).

Sansevieria memiliki banyak sekali hibrida dan varietas hortikultur sehingga klasifikasi tumbuhan ini di dalam genusnya seringkali sulit sekali dilakukan (Acevedo-Rodríguez dan Strong, 2005). Di dalam genus *Sansevieria*, spesies *S. trifasciata* merupakan spesies yang paling dikomersilkan. Paling tidak terdapat 20 kultivar dari spesies ini yang telah dijual di seluruh dunia (Henley *et al.*, 1991). Kultivar merupakan sekelompok tumbuhan yang telah diseleksi berdasarkan ciri tertentu yang khas yang dapat dibedakan secara jelas dari kelompok lainnya dan tetap mempertahankan ciri khas ketika diperbanyak, baik secara seksual maupun aseksual (Novita, 2007).

Sifat genetik *S. trifasciata* yang tidak stabil mengakibatkan

adanya perubahan warna guratan, bentuk, corak, dan warna daun, yang mungkin disebabkan oleh adanya mutasi gen atau kromosom (Purwanto, 2006). Pada genus *Sansevieria* terdapat banyak tumbuhan variegata yang disebabkan oleh variegasi alamiah. Variegasi alamiah ini sangat stabil sehingga identifikasi tumbuhan berbasis warna variegata sulit dilakukan. Pada tumbuhan seperti ini, materi genetik yang pada biji akan menghasilkan keturunan yang memiliki variegasi yang sama atau serupa dengan induknya (Stein, 2011). *Sansevieria hargesiana* merupakan salah satu contoh variegata alamiah.

Adanya mutasi yang memungkinkan hadirnya varietas-varietas baru pada *S. trifasciata* dan kurangnya informasi mengenai variasi genetik pada *S. trifasciata* mendorong dilakukannya identifikasi lebih dalam dengan tujuan mengetahui adakah variasi genetik pada varietas *S. trifasciata*. Salah satu metode untuk mempelajari adanya variasi genetik yaitu dengan menggunakan DNA *barcode* (kode batang DNA). Kode batang DNA juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies berdasarkan variasi pada sekuens marka kode batang DNA (Kress *et al.*, 2005). DNA *Barcode* mampu menyediakan identifikasi yang cepat dan akurat dari organisme yang kode batangnya telah terdata di pustaka sekuens. Idealnya, DNA *barcode* yang digunakan untuk identifikasi spesies memiliki variasi sekuens yang cukup

di antara spesies dan variasi intraspesifik yang rendah (Kress dan Erickson, 2007).

Salah satu metode untuk mempelajari adanya variasi genetik yaitu dengan menggunakan *DNA barcode* (kode batang DNA). Kode batang DNA juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies berdasarkan variasi pada sekuens marka kode batang DNA (Kress et al., 2005). *DNA Barcode* mampu menyediakan identifikasi yang cepat dan akurat dari organisme yang kode batangnya telah terdata di pustaka sekuens. Idealnya, *DNA barcode* yang digunakan untuk identifikasi spesies memiliki variasi sekuens yang cukup di antara spesies dan variasi intraspesifik yang rendah (Kress dan Erickson, 2007). Salah satu marka molekuler yang digunakan dalam kode batang DNA

yaitu gen *matK*. Poliformisme pada gen *matK* telah umum digunakan dalam kajian filogenetik berbagai tumbuhan (Shaw et al., 2005).

Dua di antara varietas *S. trifasciata* yang banyak dikoleksi oleh para kolektor tanaman hias yaitu *S. trifasciata* var. *Laurentii* dan var. *Hahnii*. Karakter morfologi kedua tumbuhan ini sangat berbeda sehingga terdapat kemungkinan dianggap sebagai spesies yang berbeda. Kurangnya informasi mengenai variasi genetik pada *S. trifasciata* mendorong dilakukannya penelitian dengan tujuan mengetahui apakah terdapat variasi sekuens DNA *matK* pada *S. trifasciata* var. *Laurentii* dan var. *Hahnii* dan membandingkannya dengan sekuens DNA *matK* *S. trifasciata* pada GenBank.

Metode Penelitian

Spesimen Tumbuhan

Spesimen *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii* (Gambar 1) dan *Sansevieria trifasciata* var. *Hahnii* (Gambar 2) diperoleh dari halaman Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Sampel yang digunakan yaitu spesimen daun segar berukuran 0,5 x 0,5 cm.



Gambar 1. *S. trifasciata* var. *Laurentii* (CABI,)
 Gambar 2. *S. trifasciata* var. *Hahnii* (Nickrent, 2009)

Ekstraksi DNA

DNA total diekstraksi dari daun segar menggunakan innuPREP Plant DNA Kit (Analytik Jena) sesuai dengan protokol yang telah disediakan. DNA yang diperoleh

digunakan untuk proses PCR untuk mendapatkan fragmen gen *matK*.

Amplifikasi Gen *matK* dan Sekuensing

Amplifikasi gen *matK* dilakukan di dalam tabung reaksi 50 µl menggunakan 5XFirepol PCR Master Mix Ready-to-Load (Solis Biodyne) yang terdiri atas 1x *reaction buffer*, 1,25 unit *Taq polymerase*, 200 µM masing-masing dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 10 pmol masing-masing primer dan 1 µl sampel DNA. (Kolondam, 2015). Pasangan primer yang digunakan untuk amplifikasi dan sekuensing gen *matK* yaitu 3F-r (5' CGTACAGTACTTTTGTGTTTAC GAG 3') dan 1R-f (5' ACCCAGTCCATCTGGAAATCTT GGTTC 3') (Little and Stevenson 2007).

Amplifikasi dilakukan dengan kondisi denaturasi awal pada 95°C selama 2 menit dan dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada 50°C selama 30 detik, dan polimerisasi pada 72°C selama 50 detik. Produk hasil amplifikasi dipisahkan menggunakan elektroforesis di dalam 1% gel agarosa (Kolondam, 2015). Proses sekuensing dilakukan oleh Perusahaan First Base Malaysia dengan mengirim hasil PCR beserta primer untuk dilakukan sekuensing dua arah (*Bi-directional*).

Analisis Data

Data sekuens dirakit dan diedit menggunakan Genious v 5.6 mengikuti prosedur Tallei dan Kolondam (2015). Sekuens primer dikeluarkan dari sekuens lalu diujarkan menggunakan multalin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>) dan semua gap dianggap sebagai karakter yang hilang (Zhang et al. 2014), kemudian disesuaikan secara manual sesuai panduan Tallei dan Kolondam (2015). Sekuens *matK* digunakan untuk mencari sekuens serupa di *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Sekuens-sekuens *matK* diujarkan menggunakan Multalin V.5.4.1 yang dikembangkan oleh Corpet (1988) (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>). Kedua ujung sekuens dipotong pada saat penjajaran untuk menghindari salah pembacaan sehingga menyisakan kira-kira 913-914 nukleotida. Disebabkan pendeknya beberapa sekuens yang diperoleh dari GenBank, maka semua sekuens dipotong hingga menyisakan 648 nukleotida. Penjajaran akhir dan Matriks persentase identitas (*percent identity matrix*) dibuat menggunakan Clustal 2.1 dari Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

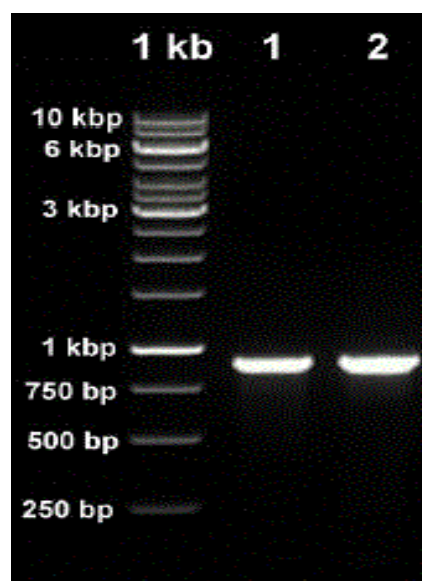
HASIL DAN PEMBAHASAN

Keanekaragaman genetik dibutuhkan agar suatu kelompok populasi dapat melanjutkan kehidupannya. Kurangnya keanekaragaman genetik bisa berpotensi membahayakan suatu populasi (Zang *et al.*, 2014). Berbagai penanda molekuler digunakan untuk menginvestigasi keanekaragaman genetik, misalnya gen *matK* yang memiliki panjang 1500 bp. *MatK* telah digunakan dalam sistematika molekuler dan evolusi dan terletak di dalam intron gen *trnK* kloroplas pada bagian kopi-tunggal yang besar yang berdekatan dengan ulangan yang terbalik (*inverted repeat*).

Gen parsial *matK* dari genom kloroplas *S. trifasciata* var. *Hanii* dan var. *Laurentii* berhasil diamplifikasi menggunakan PCR (Gambar 3). Ukuran masing-masing amplicon kira-kira 900 bp. Setelah disunting menggunakan program Geneious, sekuensnya digunakan untuk mencari sekuens yang serupa pada GenBank. Daerah gen *matK* dari *Sansevieria trifasciata* var. *Hanii* dan *Laurentii* yang diamplifikasi terletak pada nukleotida 494 - 1377 dari 1557 pada genom kloroplas *Sansevieria trifasciata* yang diperoleh dari GenBank.

Hasil penyuntingan sekuens *S. trifasciata* var. *Hanii* dan var. *Laurentii* yaitu 856 bp dengan kandungan GC 31,89%. Hasil ini mendekati hasil penelitian yang dilakukan oleh Guisinger *e.al.* (2010) yang melaporkan bahwa

genom plastid yang utuh dari *T. Latifolia* memiliki kandungan GC 33,8%. Pada pencarian menggunakan BLAST, sekuens yang memiliki identitas yang paling serupa dengan *S. trifasciata* var. *Hanii* maupun var. *Laurentii* dengan *S. trifasciata* JQ276422.1 dan *S. trifasciata* HM640584.1 dengan kemiripan 100%.

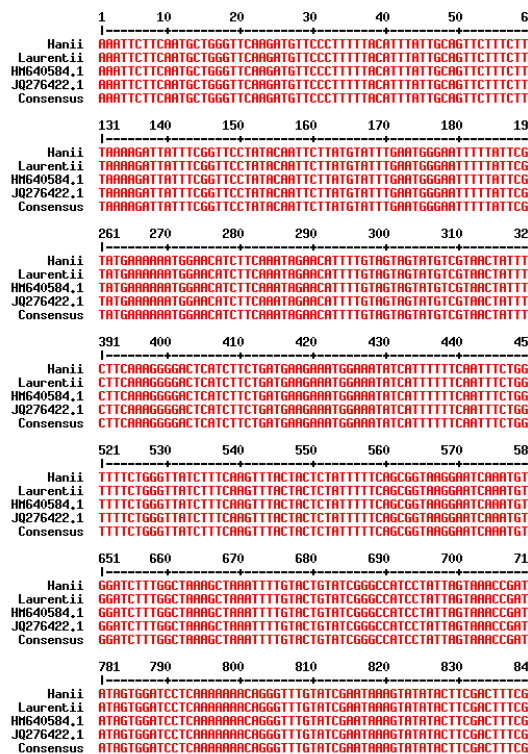


Gambar 3. Hasil amplifikasi gen *matK* parsial menggunakan sepasang primer 3F-r dan 1R-f.

Hasil penjabaran sekuens *matK* *S. trifasciata* var. *Hanii*, *S. trifasciata* var. *Laurentii*, *S. trifasciata* JQ276422.1 dan *S. trifasciata* HM640584.1 menggunakan Multalin version 5.4.1 dapat dilihat pada Gambar 4. Keempat sekuens tidak memiliki variasi sehingga persentase identitasnya 100%. Hal yang serupa ditemukan oleh Lawodi *et al.* (2013) bahwa tidak ada perbedaan sekuens *matK* pada tomat keriting dan tomat

apel, dan juga di antara tomat ceri (buah kecil), yang keempatnya merupakan spesies yang sama yaitu *Solanum lycopersicum*. Tallei dan Kolondam (2015) menemukan bahwa tidak terdapat perbedaan sekuens *matK* pada *Myristica fragrans*, *M. fatua*, *M. maingayi*, dan *M. globosa*. Hasil ini menunjukkan

bahwa gen *matK* saja tidak mampu membedakan spesies pada beberapa spesies *Myristica*, meskipun tingkat pembeda *matK* lebih tinggi dibandingkan dengan gen *rbcL*. Dengan demikian gen *matK* tidak dapat digunakan untuk membedakan sekuens intraspesies pada *Sansivieria*.



Gambar 4. Hasil penjajaran sekuens *matK* *S. trifasciata* var. *Hanii*, *S. trifasciata* var. *Laurentii*, *S. trifasciata* JQ276422.1 dan *S. trifasciata* HM640584.1 menggunakan Multalin version 5.4.1 Persentase identitas semua sekuens yaitu 100.

Jarak genetik intraspesies pada *S. trifasciata* yaitu 0.000. Sebagai perbandingan, jarak genetik *matK* kelompok tumbuhan *Astragalus*, rata-rata minimal jarak intraspesies (*intraspecific distance*)

yaitu 0.0014 ± 0.0022 (Zheng *et al.*, 2014). Uji variasi genetik berdasarkan jarak K2P untuk *matK* tumbuhan-tumbuhan medisinal di Afrika Selatan menunjukkan jarak interspesies (intermedian = 0,232) yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan jarak intraspesies (intermedian = 0,00).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa *matK* tidak dapat digunakan untuk membedakan variasi intraspesies pada *Sansevieria trifasciata* karena tidak terdapat perbedaan sekuens *matK* antara *S. trifasciata* var. *Laurentii*, *S. trifasciata* var. *Hanii* dan *S. trifasciata* yang diperoleh dari GenBank, yang ditunjukkan dengan jarak genetik 0.

DAFTAR PUSTAKA

Acevedo-Rodríguez, P., Strong, M.T. 2005. Monocots and gymnosperms of Puerto Rico and the Virgin Islands. *Contributions from the United States National Herbarium* 52:1-416.

- [http://botany.si.edu/Antilles/PR Flora/monocots/](http://botany.si.edu/Antilles/PR_Flora/monocots/)
- Alfani, A., Ligrone, R., Fioretto, A., Virzo de Santo, A. 1989. Histochemistry, ultrastructure and possible significance of dead parenchyma cells with specialized walls in the leaf and rhizome of *Sansevieria*. *Plant Cell and Environment* 12: 249–259
- Guisinger, M.M., Chumley, T.W., Kuehl, J.V., Boore, J.L. Jansen, R.K. 2010. Implications of the plastid genome sequence of *Typha* (Typhaceae, Poales) for understanding genome evolution in Poaceae. *J Mol Evol.* 70:149–166.
- Henley, R.W. 1982. *Sansevieria* in Florida - Past and Present. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 95:295-298.
- ISSG. 2012. Global Invasive Species Database (GISD). Auckland, New Zealand: University of Auckland. <http://www.issg.org/database>
- Kolondam, B.J. 2015. Applying *matK* gene for identification of Liliopsida plant species from North Sulawesi through BOLD systems. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 6(2):242-245.
- Lawodi, E.N., Tallei, T.E., Mantiri, F.R., Kolondam, B.J. Variasi genetik tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi berdasarkan gen *MatK*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 2(4): 114-121
- Lu, P-L. dan Clifford, W. 2014. Phylogenetic relationships among Dracaenoid genera (Asparagaceae: Nolinoideae) inferred from chloroplast DNA. *Systematic Botany* 39(1):90-104.
- Napoli, C., Lemiex, C. & Jorgensen R. 1990. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *The Plant Cell* 2(4): 279-289
- Nickrent, D.L. 2009. Potted Plant, Vegetative. http://www.phytoimages.siu.edu/u/imgs/paraman1/r/Ruscaceae_Sansevieria_trifasciata_17077.html
- Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K.C., Winder, C.T., Schilling, E.E., Small, R.L. 2005. The tortoise and Hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am. J. Bot.* 92:142-166.
- Stein, G. 2011. Variegation in Plants. <http://davesgarden.com/guides/articles/view/3423>. Diakses tanggal 27 April 2016.
- Takawira, R., Nordal, I. 2002. The genus *Sansevieria* (family Dracaenaceae) in Zimbabwe. *Acta Horticulturae* (572): 189-198.
- Tallei, T.E., Kolondam, B.J. 2015. DNA barcoding of Sangihe nutmeg (*Myristica fragrans*) using *matK* Gene. *HAYATI Journal of Biosciences* 22(1):41-47. DOI: 10.4308/hjb.22.1.41
- USDA. 2015. United State Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Services. <http://plants.usda.gov/>
- Zhang, X., Xuan, Gu., Guo, Z., Li, L., Song, X., Liu, S., Zang, Y.,

- Li, Y., Liu, C., Wei, S. 2014. Genetic diversity and population structure of *Rheum tanguticum* (Dahuang) in China. *Chin Med.* 2014; 9: 26. doi: 10.1186/1749-8546-9-26
- Zheng, S.H., Ren, W.G., Wang, Z.H., Huang, L.F. 2015. Use of chloroplast DNA barcodes to identify *Osmunda japonica* and its adulterants. *Plant Systematics And Evolution*, 301(7):1843–1850.