

# Plastisitas sistem fotosintesis pada tanaman CAM

## Plasticity of photosynthetic system on CAM plants

**BERNADETTA RINA HASTILESTARI**

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center, Jl. Raya Bogor Km 46 Cibinong-Bogor 16911, Jawa Barat, Tel. +62-21-8754587, Fax. +62-21-8754588, ✉email: bernadetta.hastilestari@googlegmail.com

Manuskrip diterima: 20 Februari 2015. Revisi disetujui: 28 April 2015.

**Abstrak.** Hastilestari BR. 2015. *Plastisitas sistem fotosintesis pada tanaman CAM. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 864-867.* Perubahan iklim global telah membawa banyak permasalahan, di antaranya adalah kekeringan dan tingginya curah hujan. Tanaman harus dapat beradaptasi pada perubahan-perubahan tersebut agar dapat bertahan hidup. Perubahan fisiologi yang diinduksi oleh cekaman abiotik pada beberapa tanaman menunjukkan adanya perubahan fotosintesis. Beberapa genotipe, misalnya *Peperomia*, *Clusia*, *Tillandsia usneoides*, *Mesembryanthemum crystallinum*, dan *Euphorbia tirucalli* L. dapat mengubah sistem fotosintesis dari C3 ke CAM ketika terdapat cekaman. Pengukuran konsentrasi asam malat dapat menunjukkan jalur fotosintesis CAM cekaman karena asam malat merupakan hasil penambatan CO<sub>2</sub> di malam hari. Penambatan ini merupakan ciri yang didapat pada tanaman CAM. Penelitian ini akan mengulas kemungkinan perubahan sistem fotosintesis dari C3 ke CAM yang terjadi pada saat terdapat cekaman dengan menggunakan tanaman model *E. tirucalli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem fotosintesis pada tumbuhan dapat berubah karena faktor lingkungan, tetapi *E. tirucalli* mempunyai dua sistem fotosintesis yang tidak terpengaruh oleh cekaman suhu.

**Kata kunci:** CAM, fotosintesis, plastisitas

**Abstract.** Hastilestari BR. 2015. *Plasticity of photosynthetic system on CAM plants. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 864-867.* Climate change has brought many problems, such as drought and high rainfall. The plant must adapt to these changes in order to survive. An adaptation to this changing climate is changing of its photosynthesis pathway induced by abiotic stress. Some genotypes can change the photosynthetic system of C3 to CAM whenever there is stress exposure, for example, *Peperomia*, *Clusia*, *Tillandsia usneoides*, *Mesembryanthemum crystallinum* and *Euphorbia tirucalli*. Malate concentration measurements indicate CAM photosynthetic pathway as malic acid is the result of CO<sub>2</sub> collection at night. This study examined the possibility of changes in the C3 photosynthetic system to CAM due to stress using plant model *E. tirucalli*. The results showed that the photosynthesis system might change due to environmental factors, but *E. tirucalli* had two photosynthetic systems that were not affected by temperature stress.

**Keywords:** CAM, photosynthesis, plasticity

### PENDAHULUAN

Jalur fotosintesis C4 dan CAM merupakan evolusi dari jalur fotosintesis C3. Modifikasi morfologi dan biokimia dari jalur fotosintesis C3 muncul pada tanaman yang lebih tinggi taksanya. Jalur fotosintesis C4 berevolusi sebagai tanggapan terhadap konsentrasi CO<sub>2</sub> di atmosfer yang rendah. Konsentrasi CO<sub>2</sub> yang rendah mengakibatkan peningkatan yang signifikan dalam fotorespirasi. Tanaman CAM mengurangi penguapan air akibat respirasi dengan cara melakukan respirasi di malam hari dimana suhu lingkungan lebih rendah daripada ketika siang hari, menyimpan CO<sub>2</sub> tersebut dalam vakuola dalam bentuk asam malat. Asam malat tersebut akan mengalami dekarboksilasi dan menjadi sumber CO<sub>2</sub> untuk fotosintesis di siang hari (Ramirez et al. 2012). Sebagian besar spesies *Clusia* memiliki jalur fotosintesis CAM atau jalur fotosintesis C3/CAM. Kemampuan beralih dari jalur fotosintesis C3 ke CAM merupakan cara untuk beradaptasi ketika terjadi kekeringan dan kembali ke jalur fotosintesis

C3 ketika ketersediaan air meningkat (Vaasen et al. 2006; Ceusters et al. 2009; Silvera et al. 2010; Ramirez et al. 2012).

Tanaman seperti *Mesembryanthemum crystallinum* (Kore-eda et al. 2004), genus *Sedum* (Zhou dan Qui 2005) mempunyai dua jenis sistem fotosintesis yaitu C3 dan CAM. Apabila berapapun yang sesuai, tanaman tersebut menjalankan fotosintesis C3, tetapi akan menjalankan fotosintesis CAM pada saat tanaman tersebut dalam keadaan tercekam (Lüttge 2004). *Euphorbia tirucalli* telah dilaporkan bahwa tanaman tersebut memiliki dua jalur fotosintesis (Van Damme 2001). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa batang sukulen mengikuti jalur CAM, sedangkan daun nonsukulen berumur pendek adalah jalur C3. Produk akhir dari fiksasi CO<sub>2</sub> di pabrik CAM adalah malat. Malat adalah produk yang stabil pertama dan utama fiksasi CO<sub>2</sub> di CAM (Winter et al. 2008). Fotosintesis pada *E. tirucalli* belum diketahui secara pasti seperti pada tanaman CAM lainnya termasuk apakah tanaman ini termasuk dalam golongan tanaman yang dapat mengubah

sistem fotosintesis apabila dalam keadaan tercekam. Dengan demikian, perlu dilakukan kajian apakah terdapat plastisitas fotosintesis saat terjadi cekaman.

*Euphorbia tirucalli* tumbuh terutama di daerah kering sehingga tanaman ini terpapar cekaman kekeringan yang memengaruhi asimilasi karbon akibat meningkatnya defisit air (Loke et al. 2011). Dalam artikel ini, kami menguji konsentrasi malat untuk mengkonfirmasi jalur fotosintesis yang berbeda (C3/CAM) dalam bagian yang berbeda, batang dan daun, dan apakah terdapat perbedaan jalur fotosintesis jalur yang berbeda pada *E. tirucalli*. Respons kekeringan diuji dengan menggunakan parameter fotosintesis utama dalam keterbatasan air yang berbeda dengan metode noninvasif.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Tanaman *E. tirucalli* varietas Morocco dan Senegal diperbanyak dengan media tanam tanah:pasir (2:1). Tanaman tersebut ditempatkan di rumah kaca selama 3 minggu dengan suhu 22-24°C, pencahayaan 14 jam, dan disiram dua hari sekali. Pupuk (Wuxal Top N, Jerman) terdiri atas 0,6% NPK dan 99,4% air.

### Cara kerja

Penelitian ini dilakukan di ruang iklim selama 8 minggu dengan kondisi suhu siang 24°C (14 jam)/malam 20°C (10 jam). Semua tanaman memiliki tunas 26-29 cm sebelum perlakuan cekaman kekeringan. Perlakuan diaplikasikan dengan menggunakan empat jenis kadar air volumetrik (VWC 5, 10, 15, 25%). Perlakuan kontrol adalah VWC 25%, sedangkan perlakuan kekeringan dilakukan dengan menggunakan kadar air volumetrik 5, 10, dan 15% dengan menggunakan FieldScout® TDR 100/200, Spectrum Technologies Inc, Plainfield, IL, AS.

Untuk mengamati aktivitas jalur fotosintesis CAM, malat diukur dari batang dan daun. Batang dan daun yang dipanen dari rumah kaca di akhir periode gelap (pukul 5 pagi) dan akhir periode cahaya (pukul 7 malam). Akhir periode gelap adalah fase dimana akumulasi malat adalah yang tertinggi dan akhir periode cahaya adalah fase dimana akumulasi malat adalah yang terendah (Giordano et al. 2005). Materi yang dipanen dimasukkan dalam nitrogen cair dan disimpan dalam freezer -80°C sebelum diekstraksi.

Konsentrasi malat diukur dengan menggunakan elektroforesis kapilar. Kondisi elektroforesis kapilar adalah 10 KV dan 3,5 s. Konsentrasi sampel diperoleh dalam bentuk elektrogram. Untuk standar, asam malat digunakan dengan konsentrasi 10 mM dan kemudian diencerkan dengan konsentrasi 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM. Dengan mengintegrasikan puncak tersebut dan perbandingan standar asam malat, konsentrasi malat dalam sampel tanaman dapat diukur.

Malat diekstraksi dari 60 mg daun dan batang dalam 1,4 ml H<sub>2</sub>O dan di-vortex selama 1 menit, disimpan pada suhu ruang selama 10 menit, dan dicampur lagi selama 1 menit. Kemudian hasil ekstraksi disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan

dipindahkan ke dalam tabung yang baru dan siap untuk diukur kadar malatnya menggunakan elektroforesis kapiler.

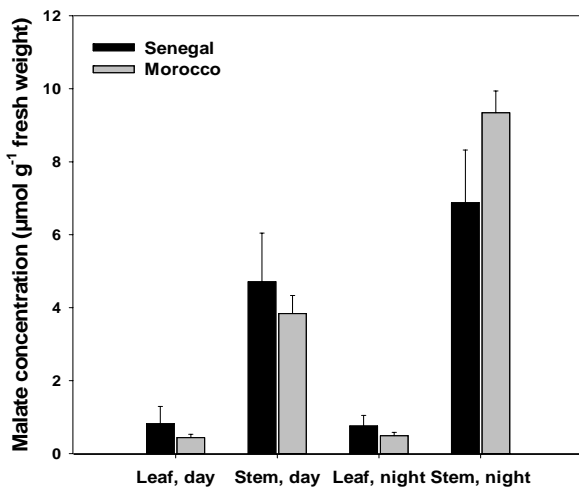
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi malat yang signifikan antara bagian-bagian dari tanaman *E. tirucalli* ketika tanaman tidak dalam keadaan tercekam (Gambar 1). Konsentrasi malat berkurang pada siang hari sebesar 58,9% pada genotipe Maroko. Sementara itu, pada genotipe Senegal, penurunannya sebesar 17,4%. Perbedaan konsentrasi malat dipengaruhi oleh perbedaan bagian tanaman (daun dan batang) serta waktu (siang dan malam) ( $p=0,0040$ , mengikuti prosedur Tukey ( $P\leq 0,05$ )). Adapun varietas Morocco dan Senegal tidak memengaruhi konsentrasi malat ( $p=0,6878$ ), mengikuti prosedur Tukey, ( $P\leq 0,05$ ).

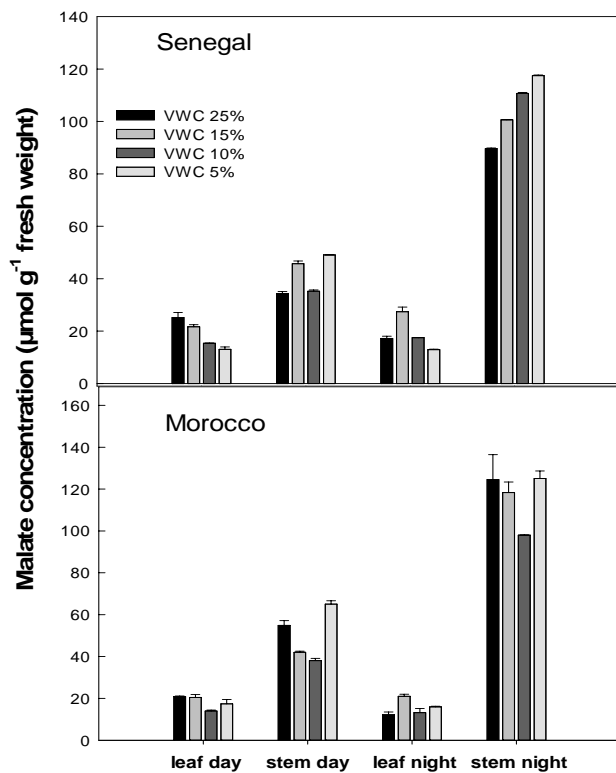
Perbedaan jalur fotosintesis, C3 pada daun dan CAM pada batang, perlu dikaji lebih dalam apakah jalur fotosintesis ini dipengaruhi oleh cekaman lingkungan seperti kekeringan. Cekaman kekeringan yang dirancang dari penelitian ini menggunakan kadar air volumetrik 25%, 15%, 10%, dan 5%. Daun dan batang dipanen pada pagi dan sore hari. Ada perbedaan yang signifikan antara konsentrasi malat di bagian yang berbeda dari tanaman (batang dan daun) ( $p=0,00$ , mengikuti prosedur Tukey ( $P\leq 0,05$ )), konsentrasi malat dari waktu yang berbeda (siang dan malam) berbeda nyata ( $p=0,00$ , mengikuti prosedur Tukey ( $P\leq 0,05$ )). Antara genotipe, tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p=0,2926$ , mengikuti prosedur Tukey ( $P\leq 0,05$ )). Tidak ada perbedaan dalam batang dan daun pada siang dan malam hari dalam menanggapi isi air pembatasan ( $p=0,7538$ , mengikuti prosedur Tukey ( $P\leq 0,05$ )). Konsentrasi tertinggi malat kedua genotipe dalam batang pada malam hari (Gambar 2).

Hasil penelitian (Gambar 2) ini menunjukkan bahwa konsentrasi malat di bagian batang tanaman pada waktu siang dan malam berbeda secara signifikan, sedangkan konsentrasi malat di daun tidak berbeda signifikan. Malat yang disintesis disimpan sebagai asam malat dan disimpan dalam vakuola. Hasil dekarboksilasi digunakan pada siang hari sebagai persediaan CO<sub>2</sub> untuk fotosintesis yang terjadi pada saat stomata tertutup. Persentase dekarboksilasi malat pada siang hari untuk varietas Morocco pada konsentrasi VWC (%) 25, 15, 10, dan 5 adalah 55,95%, 68,75%, 65,91%, dan 42,24%. Adapun untuk varietas Senegal pada konsentrasi VWC (%) 25, 15, 10, dan 5 adalah 56,86%, 58,35%, 69,55%, dan 57,25% (Tabel 1). Tingkat dekarboksilasi varietas Maroko adalah 41,5%, lebih tinggi dari varietas Senegal. Oleh karena itu, varietas Morocco memiliki cadangan CO<sub>2</sub> yang lebih tinggi untuk fotosintesis di siang hari dan lebih tahan terhadap cekaman akibat spesies oksigen reaktif.

Pada kadar air yang berbeda, *E. tirucalli* melakukan jalur fotosintesis yang sama, C3 pada daun dan CAM pada batang. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *E. tirucalli* terus melakukan fotosintesis C3 pada daun dan fotosintesis CAM pada batang. Perbedaan ini tidak dipengaruhi oleh cekaman lingkungan.



**Gambar 1.** Konsentrasi malat ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  berat basah) dari varietas Senegal dan Morocco pada keadaan tidak tercekam ( $n=5$ ). Garis vertikal menandakan *standard error of mean*.



**Gambar 2.** Konsentrasi malat ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  berat basah) dari varietas Senegal dan Morocco pada keadaan tercekam kekeringan ( $n=5$ ). Garis vertikal menandakan *standard error of mean*.

**Tabel 1.** Persentase dekarboksilasi malat dari varietas Morocco dan Senegal

Varietas	vwc 25%	vwc 15%	vwc 10%	vwc 5%
Morocco	55,95	68,75	65,91	42,24
Senegal	56,86	58,53	69,55	57,25

Adanya dua sistem fotosintesis, memungkinkan tanaman tersebut untuk tumbuh di daerah kering. Daun *E. tirucalli* dengan sistem fotosintesis C3 mempunyai morfologi daun yang kecil (0,8-2,5 cm) dan tebal 2 mm. Dalam kondisi tercekam, daun-daun tersebut gugur sehingga mengandalkan batang sebagai tempat fotosintesis. Di bawah kondisi yang menguntungkan, fotosintesis C3 daun mendukung pertumbuhan tanaman dan tanaman dapat tumbuh lebih cepat. Fotosintesis di batang dengan sistem CAM dapat dilanjutkan dengan stomata tertutup (Herrera 2009).

Tanaman CAM melakukan fiksasi CO<sub>2</sub> pada malam hari dan asimilasi pada siang hari sehingga kebutuhan air tanaman ini 5% sampai 10% dibandingkan tanaman C3, akan tetapi, laju pertumbuhan tanaman dengan sistem fotosintesis CAM lebih rendah daripada tanaman C3 karena terbatasnya penyimpanan malat sebagai sumber CO<sub>2</sub> (Heldt dan Piechulla 2011). Per hari, tanaman CAM memiliki tingkat pertumbuhan maksimum 20-30 g/m<sup>2</sup>, sedangkan tanaman C3 memiliki 20-40 g/m<sup>2</sup>. Meskipun pertumbuhan tanaman CAM di bawah tanaman C3, sistem fotosintesis ini bermanfaat bagi lahan marginal.

Hasil penelitian ini mendukung pernyataan bahwa fotosintesis *E. tirucalli* memiliki dua jenis fotosintesis pada batang dan daun dengan mengukur pertukaran gas (Van Damme 2001). Analisis konsentrasi asam malat pada *E. tirucalli* menunjukkan adanya perbedaan jumlah asam malat pada daun dan batang. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jalur fotosintesis antara kedua bagian tanaman ini. Jumlah asam malat yang tinggi pada batang menunjukkan aktivitas pengambilan CO<sub>2</sub> di malam hari (Tabel 1). Jumlah asam malat ketika tanaman tercekam kekeringan menunjukkan peningkatan, baik di daun maupun batang. Hal ini menunjukkan adanya kemungkinan plastisitas jalur fotosintesis C3 ke CAM di daun. Akan tetapi secara anatomi, daun *E. tirucalli* tidak sukulen sehingga asam malat yang disimpan terbatas jumlahnya. Meskipun jelas bahwa *E. tirucalli* memiliki dua jenis fotosintesis, belum diketahui bagaimana tanaman dapat melakukan fotosintesis CAM dan C3 pada bagian yang berbeda. Memahami kekhawatiran ini dapat berkontribusi pada penilaian potensi tanaman ini dalam studi stres oksidatif.

Kondisi lingkungan dapat memengaruhi plastisitas jalur fotosintesis. Stres yang kuat mengarah ke konversi jalur fotosintesis C3 ke CAM. Perubahan C3 ke CAM telah didokumentasikan dalam spesies sukulen lainnya, seperti *M. crystallinum* (Kore-eda et al. 2004) dan beberapa spesies *Peperomia*, *Clusia* (Feng et al. 2008; Vaasen et al. 2006), dan *E. tirucalli*. Induksi CAM selama stres positif memengaruhi aktivitas enzim yang terlibat dalam metabolisme malat dan glukogenesis (Brendan et al. 2011). Kinerja enzim nicotinamine adenin dinukleotida sangat tergantung enzim malat (NAD-ME) (Herrera 2009). Pendapat lain menyatakan bahwa kinerja enzim nicotinamide adenin dinukleotida fosfat tergantung enzim malat (NADP-ME) dan karboksilase PEP (Borland et al. 2014). Beberapa tanaman CAM akan mengalami peningkatan aktivitas enzim yang berfungsi dalam metabolisme malat dan glukogenesis ketika mengalami

cekaman kekeringan (Lüttge 2004). Aktivitas NADP-ME dan NAD-ME meningkat 4 sampai 10 kali lipat ketika tercekam (Borland et al. 2009). PEPC terlibat dalam berbagai proses metabolisme pada tanaman terlepas dari jenis fotosintesisnya. Proses non-fotosintesis yang terkait dengan isoform PEPC penting untuk fungsi dasar seperti asimilasi anaplerosis/nitrogen atau gerakan stomata (Borland et al. 2011; Edwards dan Ogburn 2012). Berbagai PEPC isoform pada tanaman C<sub>4</sub>, CAM, dan C<sub>3</sub> diatur oleh *family gene* yang kecil (Dodd et al. 2002; Borland et al. 2011).

Dengan hadirnya dua jalur fotosintesis pada daun dan batang, tingkat plastisitas tertentu beralih antara metabolisme C<sub>3</sub>/CAM pada *E. tirucalli*, tidak mengherankan bahwa tanaman ini direkomendasikan sebagai sumber biomassa untuk produksi *biofuel* yang dapat tumbuh dalam kondisi marjinal. Loke et al. (2011) menyebutkan prospek penanaman *E. Tirucalli*, mereka sudah memantau perkebunan di Kolombia dan berencana untuk memiliki lebih banyak di Somalia dan negara-negara Afrika kering lainnya. Suatu spesies dapat menghasilkan biomassa berat kering 22-25 ton per hektar per tahun dalam kondisi optimal dimana jarak tanam yang optimal diperkirakan 14.000 tanaman per hektar.

Sistem fotosintesis pada tanaman dapat berubah karena faktor lingkungan. Akan tetapi, tanaman *E. tirucalli* mempunyai dua sistem fotosintesis yang tidak terpengaruh oleh cekaman lingkungan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Brendan O, Joonho P, William CP. 2011. The remarkable diversity of plant PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase): recent insights into the physiological functions and post-translational controls of non-photosynthetic PEPCs. *Biochem J* 436 (1): 15-34.
- Borland AM, Griffiths H, Hartwell J et al. 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *J Exp Bot* 60: 2879-2896.
- Borland AM, Barrera ZVA, Ceusters J, Shorrocks K. 2011. The photosynthetic plasticity of crassulacean acid metabolism: an evolutionary innovation for sustainable productivity in a changing world. *New Phytol* 191: 619-633.
- Borland AM, Hartwell J, Weston DJ et al. 2014. Engineering crassulacean acid metabolism to improve water-use efficiency. *Trends Pl Sci* 19(5): 327-338.
- Ceusters J, Borland AM, Londers E et al. 2009. Differential usage of storage carbohydrates in the CAM bromeliad *Aechmea* 'Maya' during acclimation to drought and recovery from dehydration. *Physiologia Plantarum* 135 (2): 174-184.
- Dodd AN, Borland AM, Haslam RP et al. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *J Exp Bot* 53 (369): 569-580.
- Edwards EJ, Ogburn RM. 2012. Angiosperm responses to a low-CO<sub>2</sub> world: CAM and C<sub>4</sub> photosynthesis as parallel evolutionary trajectories. *Intl J Plant Sci* 173 (6): 724-733.
- Feng Y, Fu G, Zheng Y. 2008. Specific leaf area relates to the differences in leaf construction cost, photosynthesis, nitrogen allocation, and use efficiencies between invasive and noninvasive alien congeners. *Planta* 228 (3): 383-390.
- Giordano M, Beardall J, Raven JA. 2005. CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Ann Rev Plant Biol* 56: 99-131.
- Heldt H, Piechulla B. 2011. *Plant Biochemistry*. 4th ed. Elsevier, London.
- Herrera A. 2009. Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for? *Ann Bot* 103: 645-653.
- Kore-eda S, Cushman MA, Akseelrod I et al. 2004. Transcript profiling of salinity stress responses by large-scale expressed sequence tag analysis in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Gene* 341: 83-92.
- Loke J, Mesa LA, Franken JY. 2011. *Euphorbia tirucalli* Biology Manual: Feedstock Production, Bioenergy Conversion, Application, Economics. Version 2. FACT, Foundation Fuels from Agriculture in Communal Technology. The Nederland.
- Lüttge U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Ann Bot* 93: 629-652.
- Ramirez I, Estay D, Stange C, Cardemil L. 2012. Superoxide dismutase is a critical enzyme to alleviate oxidative stress in *Aloe vera* (L.) Burm. plants subjected to water deficit. *Pl Ecol Divers* 5 (2): 183-195.
- Silvera K, Neubig KM, Whitten WM et al. 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. *Funct Pl Biol* 37 (11): 995-1010.
- Vaasen A, Begerow D, HAMPP R. 2006. Phosphoenol pyruvate carboxylase genes in C<sub>3</sub>, crassulacean acid metabolism (CAM) and C<sub>3</sub>/CAM intermediate species of the genus *Clusia*: rapid reversible C<sub>3</sub>/CAM switches are based on the C<sub>3</sub> housekeeping gene. *Pl Cell Environ* 29: 2113-2123.
- Van Damme PLJ. 2001. *Euphorbia tirucalli* for high biomass production. In: Schlissel A, Pasternak D (eds). *Combating Desertification with Plants*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Winter K, Garcia M, Holtum JA. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoe* and *Opuntia*. *J Exp Bot* 59:1829-1840.
- Zhou W, Qiu B. 2005. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae). *Plant Sci* 169: 737-745.