

UJI ANATOMI, METABOLIT SEKUNDER, DAN MOLEKULER *Sansevieria trifasciata*

Tesis

Disusun Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Magister
Program Studi Biosains



Oleh :

Whika Febria Dewatisari

S 900907011

PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009

UJI ANATOMI, METABOLIT SEKUNDER, DAN MOLEKULER *Sansevieria trifasciata*

Tesis

Disusun Oleh
Whika Febria Dewatisari
S 900907011

**Telah disetujui untuk dilaksanakan
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
pada tanggal.....2009**

| | Nama | Tanda Tangan | Tanggal |
|---------------|---|--------------|------------|
| Pembimbing I | Prof. Drs. Suranto, MSc., Ph. D NIP. 131 472 192 | _____ | _____ 2009 |
| Pembimbing II | Dr. Prabang Setyono, M. Si NIP. 132 240 171 | _____ | _____ 2009 |
| Penguji I | Dr. Sugiyarto, M. Si NIP. 132 007 622 | _____ | _____ 2009 |
| Penguji II | Dr. Okid Parama Astirin, M. S NIP. 131 564 270 | _____ | _____ 2009 |

Mengetahui

| | | | |
|----------------------------------|---|-------|------------|
| Ketua Program Studi Biosains | Dr. Sugiyarto, M. Si NIP. 132 007 622 | _____ | _____ 2009 |
| Direktur Program Pascasarjana | Prof. Drs. Suranto, MSc., Ph. D NIP. 131 472 192 | _____ | _____ 2009 |

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis yang berjudul UJI ANATOMI, METABOLIT SEKUNDER, DAN MOLEKULER *Sansevieria trifasciata* adalah betul-betul karya saya sendiri. Hal-hal yang bukan merupakan karya saya dalam tesis tersebut diberi tanda citasi dan ditunjukkan dalam daftar pustaka

Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia tesis (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 pasal 70).

Surakarta, 2009

Yang membuat pernyataan,

Whika Febria Dewatisari
S. 900907011

ABSTRAK

Whika Febria Dewatisari. 2009. UJI ANATOMI, METABOLIT SEKUNDER, MOLEKULER, DAN TANAMAN *Sansevieria trifasciata*. Komisi Pembimbing. 1. Prof Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. 2. Dr. Prabang Setyono, M. Si. Program Studi Biosains Pascasarjana. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Sansevieria adalah tanaman hias yang memiliki keanekaragaman warna, bentuk daun, dan memiliki sifat genetik yang tidak stabil. Peristiwa ini terutama terjadi pada spesies *Sansevieria trifasciata*. Tanaman yang mengalami mutasi akan berubah warna dan bentuk daunnya. Rimpang dan daunnya banyak mengandung zat metabolit sekunder seperti saponin. Oleh karena itu dengan keanekaragaman yang terdapat pada *S. trifasciata* juga menyebabkan perbedaan saponin. Dengan adanya variasi di antara spesies *S. trifasciata*, maka akan diketahui pula variasi kandungan isozim serta saponinnya. Tujuan penelitian ini adalah membedakan struktur anatomi dan mikroskopis, menguji kandungan saponin sebagai metabolit sekunder, dan membuktikan terjadinya variasi pola pita isozim sebagai penanda molekuler dari varietas *S. trifasciata* "Green tiger", "Hahnii medio picta", "Green arrow", "Golden hahnii", serta "Hahnii cream"

Pendekatan yang digunakan adalah pengamatan morfologi dan mikroskopis yang meliputi organ daun, batang, dan akar; kandungan saponin; serta pola pita isozim dengan elektroforesis. Penghitungan kadar saponin diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer yang kemudian dikonversikan ke dalam bentuk mg/g. Variasi genetik dapat diketahui dari hasil analisis pola pita isozim berdasarkan matrik jarak genetik yang ditampilkan dalam bentuk dendogram dengan menggunakan metode Hierarchical Cluster Analysis metode average linkage (between groups) program SPSS 14.

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi genetik pada varietas "Hahnii cream", "Green arrow", "Hahnii medio picta", "Golden hahnii", dan "Green tiger". Dari hasil pengamatan morfologi karakter yang berbeda adalah varietas "Hahnii medio picta". Hasil pengamatan mikroskopis dari daun semua varietas memiliki bentuk sel yang sama, "Green arrow" memiliki sel-sel batang yang berbeda dari varietas lainnya. Pada sel-sel akar "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream" memiliki bentuk sel yang serupa. Dari hasil penghitungan kadar saponin, "Golden hahnii" memiliki kandungan saponin daun dan akarnya tertinggi dari varietas yang lain yaitu 1,7783 mg/g dan 1,5810 mg/g. Hasil dendogram dari pewarnaan peroksidase diketahui *S. trifasciata* terbagi menjadi dua kelompok dimana varietas *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" membentuk karakter sendiri yang terpisah. Hasil dendogram pewarnaan esterase terdapat dua kelompok di mana varietas *S. trifasciata* "Golden hahnii" membentuk karakter sendiri.

Kata kunci : *Sansevieria trifasciata*, morfologi, saponin, isozim,

ABSTRACT

Whika Febria Dewatisari. 2009. EXPERIMENTATION OF ANATOMY SECONDARY METABOLISM, AND MOLECULAR *Sansevieria trifasciata*. 1. Prof Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. 2. Dr. Prabang Setyono, M. Si. Postgraduate Studies in Bioscience. Program of Degree Master of Sebelas Maret University, Surakarta.

Sansevieria is an ornamental plant which has variation leaves on colour and form. It has unstabilization characteristic of genetic. This condition especially happens on species *Sansevieria trifasciata*. *Sansevieria trifasciata* which has been expressed to the colour and form of leaves. On the other hand *S. trifasciata* has an effect as medical plant. Its roots and leaves has many beneficial of secondary metabolism such as saponins. Therefore diversity on *S. trifasciata* causing diversity on secondary metabolism like saponins. With knowing morphology variation in species *S. trifasciata*, we will know variation in content of saponin and isozyme banding pattern. The aim of this research was to look at different anatomical structure for organs, the second was the experiment content of saponin as secondary metabolism, and third was to investigate any variation in their isozyme banding pattern of *S. trifasciata* "Green tiger", "Hahnii medio picta", "Green arrow", "Golden hahnii", serta "Hahnii cream".

The approach used were morphology and microscopic observation covering leaf, stalk, and root organs; isozyme banding pattern used electrophoresis method; and content of their saponin. Calculation the content of saponin, absorbantion was measured with Spectrophotometer, and then was conversed in mg/g. The genetic diversity was knowable from the analyze result of isozyme based on the matrix of genetic distance which applied on the shape of dendogram with Hierarchical Cluster Analysis metode average linkage (between groups) program SPSS 14.

The results showed that genetic diversity of *S. trifasciata* "Hahnii cream", "Green arrow", "Hahnii medio picta", "Golden hahnii", and "Green tiger" have been found. Morphology observations, there was a unique character on *S. trifasciata* "Hahnii medio picta". while the microscopic observation on leaves organ, all variety have the same form, "Green arrow" has different on stalk cells compared with the others variety. On root cells of "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream" they have same cell. From content of saponin, *S. trifasciata* "Golden hahnii" had the highest content among all, they were 1,7783 mg/g and 1,5810 mg/g. The dendogram resulting from peroxydase data *S. trifasciata* was clustered in two groups while *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" has own character in group. Accordingly the esterase data also showing into two group, where *S. trifasciata* "Golden hahnii" has own character.

Keywords : *Sansevieria trifasciata*, morphology, saponin, isozyme.

MOTTO

*Tuhan itu dekat kepada orang - orang yang patah hati, dan Ia menyelamatkan orang-orang yang remuk
jiwanya*

(Mazmur 34: 19)

*Kasih dan Kebaikan tak pernah sia - sia, keduanya selalu membuat perbedaan, keduanya memelihara yang
menyerima dan memberkatimu, sang pemberi*

(Barbara De Angelis)

Get up and come on Don't be scared You'll never change what's been and gone

May your smile Shine on Your destiny may keep you warm

'cause all of the stars are fading away

Just try not to worry you'll see them some day

Take what you need and be on your way

And stop crying your heart out

(Gallagher)

PERSEMBAHAN

I dedicate this simple masterpiece to:

FATHER, JESUS CHRIST, AND HOLY SPIRIT...Who always stand by me

all the time... always hear my prayer... ..

My Parents...for all their affections, cares, and support

My lovely brother Duta...for all his interest, share, and being my friend

My teachers...for their guidance

My close friends who always laugh and cry with me

The man who makes me to be a special person

All the people... for all their loves and supports

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Tuhan YME atas segala berkat dan karuniaNya sehingga penulisan thesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Tesis yang berjudul Uji Anatomi, Metabolit Sekunder, dan Molekuler *Sansevieria trifasciata* merupakan salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Magister Sains pada jurusan Biosains, Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Sansevieria trifasciata "Green tiger", "Hahnii medio picta", "Green arrow", "Golden hahnii", serta "Hahnii cream" merupakan tanaman hias yang memiliki keanekaragaman warna dan bentuk daun. Rimpang dan daunnya banyak mengandung saponin. Adanya variasi-variasi di antara spesies *S. trifasciata*, dapat diketahui pula variasi kandungan isozim serta saponinnya.

Dengan permasalahan di atas dapat dilakukan pengujian terhadap varietas "Green tiger", "Hahnii medio picta", "Green arrow", "Golden hahnii", serta "Hahnii cream" dengan memanfaatkan data morfologi daun, batang, dan akar; kandungan saponin; serta pola pita isozim dengan elektroforesis. Penghitungan kadar saponin diukur dengan Spektrofotometer dan variasi genetik dapat diketahui dari hasil analisis pola pita isozim dengan menggunakan metode Hierarchical Cluster Analysis metode average linkage (between groups) program SPSS 14.

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi genetik pada lima varietas *Sansevieria trifasciata* berdasarkan morfologi daun, batang, dan akar; kandungan saponin; serta pola pita isozim.

Surakarta,

2009

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kehadirat Tuhan YME atas segala berkat dan karuniaNya, sehingga penulisan naskah tesis yang berjudul “Uji Anatomi, Metabolit Sekunder, dan Molekuler *Sansevieria trifasciata*” dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Direktur Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta Bapak Prof Suranto, M.Sc., Ph.D., yang sekaligus menjadi dosen pembimbing I yang telah memberikan semua fasilitas, dorongan moril, dan bimbingan selama penulis mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ketua Program Studi Biosains Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta Bapak Dr. Sugiyarto, M. Si. Sekaligus Penguji I yang telah berkenan memberikan saran, nasehat dan masukan dalam penyusunan naskah tesis.
3. Dr. Prabang Setyono, M. Si. selaku Pembimbing II yang berkenan membimbing sekaligus mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan tesis
4. Dr. Okid Parama Astirin, M.Si selaku Penguji II yang berkenan memberikan saran, nasehat dan masukan dalam penyusunan naskah tesis.
5. Segenap dosen dan staf di Program Studi Biosains Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan bimbingan selama masa studi.

6. Ketua Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta beserta jajarannya, terima kasih atas dukungan dan kerjasamanya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dengan lancar
7. Orang tuaku tercinta beserta adikku terkasih Duta Yanu Aditya atas doa dan dukungan serta pengertiannya
8. Teman-teman seperjuangan di Biosains angkatan 2007(Ibu Sri Supadmi, Bapak Budi, Akhmad Mustofa, Sunaryo, Dardiani, Wawan Buntaran, Urip Santoso, Saudari Einstivina dan Hesti Retno) yang telah banyak memberikan masukan dan membantu penulis.
9. Saudari Nina dan Sri Wardani yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian penulis di Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas maret
10. Teman-teman dan saudara – saudaraku yang selalu mendukungku : Dina Angelia, Dani Kristina, Astrid Pratiwi, Lisa Aulia, Paramitha, Daru, dan Retha
11. Keluarga besarku di Solo – Sragen atas segala dukungan dan doanya

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis ini, penulis menyampaikan penghargaan yang sebesar-besarnya dan semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surakarta, 2009

Whika Febria Dewatisari

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| PERNYATAAN ORISINALITAS | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT | v |
| MOTTO | vi |
| PERSEMBAHAN | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| UCAPAN TERIMA KASIH | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Perumusan Masalah..... | 3 |
| C. Tujuan..... | 3 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 4 |
| BAB II. LANDASAN TEORI | |
| A. Tinjauan Pustaka..... | 5 |
| B. Keanekaragaman Hayati..... | 5 |
| 1. Biologi <i>Sansevieria trifasciata</i> | 7 |
| 2. Metabolit Sekunder..... | 16 |
| 3. Isozim..... | 20 |
| 4. Elektroforesis Gel Poliakrilamid..... | 24 |

| | Halaman |
|--|---------|
| C. Kerangka Berfikir..... | 26 |
| D. Hipotesis..... | 28 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian..... | 29 |
| B. Alat dan Bahan..... | 29 |
| C. Cara Kerja..... | 33 |
| D. Analisis Data..... | 38 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A. Sifat Morfologi daun, batang dan akar | 40 |
| B. Kadar Saponin Daun | 50 |
| C. Pola Pita Isozim | 54 |
| BAB V. PENUTUP | |
| A. Kesimpulan | 66 |
| B. Saran | 68 |
| DAFTAR PUSTAKA | 69 |
| LAMPIRAN | 75 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> | 40 |
| Tabel 2. Hasil Ekstrak Kadar saponin akar (dalam mg/g) dari Lima varietas <i>S. trifasciata</i> | 51 |
| Tabel 3. Hasil Uji Kadar Saponin Daun <i>S. trifasciata</i> dengan Berbagai Macam Tanaman Obat..... | 51 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. <i>Sansevieria trifasciata</i> | 8 |
| Gambar 2. Struktur saponin triterpenoid.... | 17 |
| Gambar 3. Bagan Pengelompokan saponin..... | 18 |
| Gambar 4. Bagan Kerangka Berfikir..... | 28 |
| Gambar 5. Morfologi Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> | 44 |
| Gambar 6. Penampang Melintang dan Membujur Organ Daun Lima Varietas <i>S.trifasciata</i> dengan Perbesaran 100X..... | 45 |
| Gambar 7. Penampang Melintang dan Membujur Organ Batang Lima Varietas <i>S.trifasciata</i> dengan perbesaran 100x..... | 47 |
| Gambar 8. Penampang Melintang dan Membujur Organ Akar Lima Varietas <i>S.trifasciatai</i> dengan perbesaran 100X..... | 49 |
| Gambar 9. Zimogram Hasil Elektroforesis Isozim Akar dari Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Peroksidase..... | 57 |
| Gambar 10. Dendogram Pola Pita Isozim Akar dari Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Peroksidase..... | 62 |
| Gambar 11. Zimogram Hasil Elektroforesis Isozim Akar dari Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Esterase..... | 64 |
| Gambar 12. Dendogram Pola Pita Isozim Akar Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Esterase..... | 66 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Gambar Pola Pita Isozim dengan Pewarnaan Peroksidase dan Esterase Akar <i>Sansevieria trifasciata</i> | 79 |
| Lampiran 2. Tabel Data biner Pola Pita Isozim Akar <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Peroksidase..... | 80 |
| Lampiran 3. Tabel Data biner Pola Pita Isozim Akar <i>S. trifasciata</i> dengan Pewarnaan Esterase..... | 81 |
| Lampiran 4. Gambar Grafik Kadar Saponin Daun Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> | 82 |
| Lampiran 5. Grafik Kadar Saponin Akar Lima Varietas <i>S. trifasciata</i> | 84 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara yang menjadi pusat plasma nutfah tanaman. Berbagai jenis tanaman memiliki beragam bentuk dan warna yang indah dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Keanekaragaman sifat suatu spesies tanaman dapat digunakan dalam mengidentifikasi organisme dan pemuliaan tanaman (Jones dan Luchsinger, 1986; Komisi Nasional Plasma Nutfah, 1997; Suryowinoto, 1997)

Sansevieria merupakan tanaman hias yang mempunyai keanekaragaman warna dan bentuk daun, serta mudah tumbuh di halaman rumah tanpa banyak perawatan. Tanaman ini dibudidayakan karena keindahan struktur dan warna daunnya. Dengan bentuk, warna, ukuran, dan corak daun yang bervariasi menyebabkan tanaman ini bernilai ekonomi tinggi.

Sansevieria memiliki sifat genetik yang tidak stabil. Peristiwa ini terutama terjadi pada spesies *Sansevieria trifasciata*. *Sansevieria trifasciata* yang mengalami mutasi akan berubah warna guratan, dan bentuk daunnya. Umumnya tanaman memiliki corak dan warna daun menjadi tidak merata. Mutasi ini dapat disebabkan oleh mutasi gen dan kromosom (Purwanto, 2006).

Untuk mempelajari keanekaragaman antar individu serta mengidentifikasi varietas dan hibrida dapat digunakan isozim (Hunter, 1981). Isozim atau isoenzim

adalah enzim yang terdapat dalam suatu organisme yang mengkatalis reaksi yang sama tetapi berbeda dalam sifat fisika dan kimianya. Perbedaan antara isozim disebabkan adanya lebih dari satu gen dalam suatu organisme yang mengkode setiap isozim. Pentingnya suatu organisme mempunyai isozim berbeda yang mampu mengkatalis reaksi yang sama, adalah perbedaan respon isozim terhadap faktor lingkungan sehingga apabila faktor lingkungan berubah, isozim yang paling aktif dalam lingkungan tersebut melaksanakan fungsinya dan membantu organisme bertahan hidup (Salisbury dan Ross, 1992). Analisis isozim dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik. Pengetahuan ini bermanfaat dalam mengetahui keanekaragaman di antara kultivar *S. trifasciata*.

Selain sebagai tanaman hias, *S. trifasciata* memiliki khasiat tanaman obat, namun penggunaannya masih jarang. Rimpang dan daun *S. trifasciata* banyak mengandung zat metabolit sekunder seperti saponin yang berkhasiat sebagai obat batuk dan obat luka akibat digigit ular selain kardenolin dan polifenol. Oleh karena itu dengan keanekaragaman yang terdapat pada *S. trifasciata* juga menyebabkan perbedaan kandungan zat metabolit sekunder seperti saponin. Dengan adanya variasi-variasi di antara spesies *S. trifasciata*, maka akan diketahui pula variasi kandungan isozim serta saponinnya (Stover, 1983).

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang dikaji dalam penelitian meliputi

1. Bagaimana struktur mikroskopis dari anatomi daun, batang, dan akar dari varietas-varietas *S. trifasciata*?
2. Bagaimana kandungan saponin sebagai metabolit sekunder dari beberapa varietas *S. trifasciata* ?
3. Bagaimana variasi pola pita isozim sebagai penanda molekuler dari beberapa varietas *S. trifasciata*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan dilakukan untuk :

1. Membedakan struktur anatomi dan mikroskopis dari beberapa organ dari varietas-varietas *S. trifasciata*
2. Menguji kandungan saponin sebagai metabolit sekunder dari beberapa varietas *S. trifasciata*
3. Membuktikan terjadinya variasi pola pita isozim sebagai penanda molekuler dari beberapa varietas *S. trifasciata*

D. Manfaat Penelitian

Produktivitas tanaman dapat ditingkatkan seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi. Peningkatan mutu ini dimungkinkan karena tersedianya keanekaragaman sifat di dalam jenis tanaman, yang dikenal sebagai plasma nutfah. Dari berbagai sifat tanaman yang dipilih, kemudian dirakit menjadi bibit-bibit unggul.

Penelitian ini diharapkan menambah informasi tentang variasi morfologi dan pola isozim pada varietas-varietas *S. trifasciata* yang memiliki sifat genetik yang tidak stabil serta kandungan saponin yang ada di dalamnya.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Keanekaragaman Hayati

Keanekaragaman hayati atau biodiversitas (*biological diversity*) merupakan suatu variasi berbagai organisme yang ada di alam dan biasa digunakan untuk mendeskripsikan jumlah, varietas, dan variabilitas organisme hidup. Pada saat ini kecenderungan untuk memperluas konsep ini dengan memasukkan keanekaragaman genetik dan ekosistem serta membahasnya pada tingkat gen, spesies dan ekosistem. Beberapa bukti menunjukkan bahwa pendekatan teknik eksperimen modern, dengan memanfaatkan data-data tambahan seperti flavonoid, pollen, enzim, dan DNA, maka permasalahan yang muncul akibat kompleksitas morfologi tumbuhan dapat diatasi secara memuaskan (Groombridge, 1992 ; Savage, 1995 ; Suranto, 2007).

Pendekatan tradisional terhadap diversitas sering didasarkan pada perbedaan sifat-sifat morfologi, namun sekarang lebih meningkat dengan adanya penelitian-penelitian baru yang mengelompokkan tumbuhan tidak hanya berdasarkan hubungan sifat morfologi, tetapi juga karakter – karakter mikro atau karakter morfologi, misalnya kandungan zat kimia, enzim, jumlah kromosom, dan data genetik dengan memanfaatkan teknik mikroskopis baik konvensional maupun elektron dengan pengujian biokimia dan fitokimia. Dengan bertambahnya data-data yang diperoleh melalui teknik-teknik molekuler seperti DNA, maka perlu dilakukan peninjauan

ulang terhadap kemungkinan terjadinya kesalahan dalam pengklasifikasian / pengelompokan suatu taksa atau varietas tertentu. Sifat molekuler terletak pada DNA, sehingga lebih superior daripada sifat-sifat yang diperoleh dengan metode tradisional. Pengujian molekuler memberi sejumlah besar data untuk menentukan biodiversitas dan dapat digunakan untuk menetapkan tingkatan taksonomi (Karp *et al.*, 1996 ; Suranto, 2007).

Sebagai contoh di Indonesia terdapat berbagai kultivar nenas dengan nama daerah yang berbeda-beda dan klasifikasi botani yang belum jelas. Pembagian tersebut berdasarkan pada kesamaan morfologi daun, ada tidaknya duri daun, warna daun, serta bentuk dan ukuran buah. Penanda biokimia seperti isozim merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengklasifikasi koleksi plasma nutfah, karena isozim relatif stabil terhadap lingkungan yang umumnya polimorfik (Hadiati dan Sukmadjaja, 2002). Demikian pula dengan bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*) yang memiliki keragaman warna bunganya meliputi merah, putih, merah jambu, orange, kuning, hingga warna-warna majemuk dapat diketahui hubungan kekerabatannya berdasarkan sifat morfologi dan pola pita isozim. Kacang tanah (*Arachis hypogea*) dengan dua varietas yang berbeda (Julisainah, 2002). Tribus *Alpiniae* dengan perbedaan sifat morfologi serbuk sarinya (Lestari, 2005). Begitu pula dengan padi (*Oryza sativa*) varietas Rojolele (Widiyanti, 2007).

2. Biologi *Sansevieria trifasciata*

Sansevieria trifasciata ditinjau dari segi biologi meliputi taksonomi, morfologi, habitat, agroklimat, reproduksi, mutasi dan manfaat.

a. Taksonomi

Klasifikasi *S. trifasciata* menurut Stover (1983) adalah sebagai berikut :

| | |
|------------|----------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermathophyta |
| Sub divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Monocotyledoneae |
| Ordo | : Liliales |
| Famili | : Agavaceae |
| Genus | : <i>Sansevieria</i> |
| Spesies | : <i>Sansevieria trifasciata</i> |

Sebagian besar tumbuhan *Sansevieria* berasal dari benua Afrika, dan sebagian yang lainnya berasal dari Asia. *Sansevieria* digolongkan oleh Linnaeus ke dalam genus Aloe pada tahun 1753. Di tahun 1763 *Sansevieria* disebut "Cordyline" oleh Adanson. Pada tahun 1786 diubah namanya menjadi "Acyntha" dan beberapa tahun kemudian tumbuhan tersebut diberi nama "Sansevierina". Di tahun 1794 Thunberg mengganti pengejaannya menjadi "Sansevieria" (Stover, 1983).

b. Morfologi

Secara morfologi *S. trifasciata* memiliki daun yang tebal karena kandungan airnya yang tinggi. Bentuknya bermacam-macam, ada yang berbentuk silinder dan

ada yang mempunyai helaian kaku seperti pedang. Demikian pula dengan warna dan corak yang bervariasi dan bermacam – macam, dari warna hijau, kuning, dan putih (Robert, 2007)

Sifat daun tunggal, terdiri dari 2-6 helai daun per tanaman, berbentuk lanset, mempunyai panjang daun 15 - 150 cm, dan lebar 4 - 9 cm, teksturnya licin, umumnya berwarna hijau bernoda putih atau kuning. Pada beberapa jenis *Sansevieria*, daun berkedudukan seperti roset yang mengelilingi batang semu. Batang semu membentuk rimpang, bulat, kuning oranye. Disebut batang semu karena sesungguhnya *Sansevieria* tidak mempunyai batang. (Stover, 1983).

Sebagaimana tanaman monokotil lainnya, akar *S. trifasciata* berupa akar serabut atau juga disebut juga *wild root* (akar liar). Semua akar tumbuh dari pangkal batang dan berbentuk serabut. Akar yang sehat berwarna putih dan tampak berisi (gemuk), sedangkan akar yang sakit berwarna coklat. Selain akar serabut, ciri khas lain lain dari *Sansevieria* adalah mempunyai rhizoma yang tumbuh menjalar di atas permukaan tanah atau tumbuh di dalam tanah (Stover, 1983 ; Robert, 2007).



Gambar 1. *Sansevieria trifasciata*

Bunga *S. trifasciata* termasuk berumah dua. Artinya, benang sari dan putik terletak pada bunga yang berbeda. Tipe bunga majemuk, berbentuk tandan, terletak di ujung akar rimpang, memiliki tangkai yang panjang. Tandan bunga memiliki panjang 40-85 cm, berkas bunga berbilang 5- 10, daun pelindung menyerupai selaput kering, memiliki 6 buah benang sari yang menempel pada tabung mahkota bagian atas, kepala putik membulat, dasar mahkota membentuk tabung dengan panjang \pm 1 cm, di bagian ujung berbagi 6, dan berwarna putih kekuningan (Robert, 2007).

Bunga *S. trifasciata* berbau harum pada malam hari, dan mampu bertahan sampai tujuh hari. Apabila penyerbukan berhasil akan terjadi pembuahan yang bisa menghasilkan biji. Biji berjumlah 1 – 3 buah, dengan panjang 5- 8 mm, berbentuk bulat telur, berwarna hijau. Biji bersifat diploid, artinya terdapat dua embrio dalam satu biji sehingga kemungkinan akan menghasilkan dua jenis tanaman baru yang berbeda. Biji – biji *Sansevieria* ini akan masak setelah berumur 2 – 5 bulan, tergantung spesiesnya. Tipe buah buni, memiliki biji 1 – 3 buah. (Stover, 1983 ; Robert, 2007).

c. Habitat

Sansevieria trifasciata memiliki habitus terna, berumur tahunan, dan tinggi tanaman kira-kira 0,4 - 1,8 m. Tanaman ini habitat aslinya adalah daerah tropis yang kering dan mempunyai iklim gurun yang panas. *Sansevieria* juga tumbuh di pegunungan yang tandus dan gurun pasir yang gersang (Stover, 1983).

d. Agroklimat

Kebutuhan tanaman akan sinar matahari bersifat mutlak. Artinya, sinar matahari mutlak diperlukan untuk tumbuh dan berkembangnya tanaman. Aspek cahaya yang dibutuhkan adalah intensitas cahaya dan lama penyinaran (Purwanto, 2006 ; Robert, 2007).

Kebutuhan intensitas cahaya *Sansevieria trifasciata* sebesar 1000 – 10.000 *food candle*. Hal tersebut dapat diartikan bahwa *S. trifasciata* dapat bertahan hidup pada segala kondisi pencahayaan, meskipun idealnya *Sansevieria* membutuhkan sinar matahari 4000 – 6000 f.c (Purwanto, 2006 ; Robert, 2007).

Temperature optimal bagi *S. trifasciata* berkisar antara 24 – 29 °C pada siang hari dan 18 – 21 °C pada malam hari. Akan tetapi tanaman ini masih tahan pada suhu yang ekstrem panas. Suhu yang terlalu rendah justru akan menghambat pertumbuhannya. Daerah pegunungan yang bersuhu dingin tidak cocok untuk *Sansevieria*, khususnya jenis berdaun pipih atau membentuk helaian (Robert, 2007).

Sansevieria trifasciata tidak membutuhkan air dalam jumlah banyak untuk tumbuh dan berkembang. Hal itu sesuai dengan jenisnya *xerophyt* (tanaman dengan kebutuhan air yang sedikit). Tanaman jenis ini mampu menyimpan kelebihan air dalam sel daunnya. Tanaman ini hanya memerlukan sekitar 40 % air melalui umbi lapis untuk berkembang biak dan tumbuh (Robert, 2007).

Di habitat aslinya, *S. trifasciata* mampu bertahan di daerah yang hanya memiliki curah hujan sebesar 250 ml/tahun. Air yang berlebihan justru akan menyebabkan akar tanaman membusuk. Pembusukan ini dikarenakan media tumbuh

menyimpan air dalam waktu lama sehingga menyebabkan berkembangbiaknya organisme, seperti cendawan dan bakteri. Selain itu akan terbentuk toksin atau racun dalam media tumbuhnya karena drainase dan aerasi yang kurang baik (Robert, 2007).

e. Reproduksi

Sansevieria trifasciata termasuk tanaman yang sangat mudah perbanyakannya. Perbanyak tanaman dapat dilakukan secara generatif dengan biji ataupun secara vegetatif dengan stek, pemisahan anakan, cabut pucuk, dan kultur jaringan (*cloning*) (Robert, 2007).

Keunggulan perbanyak tanaman menggunakan biji antara lain dapat diperoleh tanaman dalam jumlah banyak dan seragam serta tidak merusak tanaman induk. Selain itu, sifat biji *S. trifasciata* umumnya diploid sehingga menyebabkan minimal dua keragaman dalam satu biji. Kelemahan cara generatif ini adalah memerlukan waktu yang lama. Selain itu tidak semua spesies mampu menghasilkan bunga dan biji. Cara ini biasanya hanya digunakan untuk memperoleh hibrida baru (Robert, 2007).

Perbanyak secara vegetatif dilakukan dengan menggunakan bagian tanaman itu sendiri. Secara vegetatif, *S. trifasciata* dapat diperbanyak menggunakan stek, pemisahan anakan, teknik cabut pucuk, dan kultur jaringan. Keunggulan perbanyak tanaman secara vegetatif adalah sifat keturunan yang diperoleh bisa sama persis dengan induknya (Robert, 2007).

Ada pengecualian untuk *Sansevieria*, yaitu adanya gejala chymera yang menyebabkan sifat genetiknya tidak stabil. Oleh karena itu, keturunannya bisa

berbeda dengan induknya. Kadang dijumpai corak dan warna yang sama sekali berbeda dengan induknya, terutama pada spesies *Sansevieria trifasciata*. Sebagai contoh, *Sansevieria* "futura" berubah menjadi robusta, *Sansevieria trifasciata* "golden Hahnii" berubah menjadi hahnii, dan *Sansevieria trifasciata* "moonshine" berubah menjadi robusta (Robert, 2007).

f. Mutasi

Banyak perubahan yang bermuara dalam mutasi tanaman. Umumnya mulai dari warna, bentuk, penampilan, dan proses tumbuh-kembang (umumnya dalam ukuran normal tanaman tumbuh lebih cepat atau tumbuh lebih lambat).

Gejala mutasi tak sama antara satu tanaman dengan yang lain. Biasanya hal ini terjadi akibat gejala genetik. Dalam sel makhluk hidup gen tersusun dengan rangkaian DNA yang saling membangun. DNA tersusun secara normal dengan struktur yang sesuai, tetapi terkadang susunan tersebut tidak selalu berjalan dengan semestinya. Ini dikarenakan beberapa bagian sering tersusun secara tidak beraturan. Biasanya susunan DNA terbalik atau bagian yang tersusun secara random. Hal tersebut mengakibatkan kelainan atau mutasi.

Mutasi pada tanaman biasanya dibagi jadi beberapa kelompok, yaitu mutasi morfologi, letal, kondisional, biokimia, dan mutasi resistensi. Mutasi morfologi adalah mutasi yang bisa dilihat dengan ciri perubahan pada bentuk, warna dan ukuran daun yang berubah dari induknya. Mutasi ini sering dijumpai pada *Sansevieria*. Pada *Sansevieria* mutasi ini ditandai dengan warna daun hijau bergaris kuning berubah menjadi kuning polos. Mutasi letal adalah perubahan yang bersifat negatif, karena ini

sering berakibat pada kematian (letal). Itu sering terjadi ketika *Sansevieria* di-stek. Mutasi kondisional terjadi akibat pengaruh lingkungan (kondisi) misalnya, *Anthurium black beauty*, di daerah dingin, mutasi warna jenis ini akan muncul, tetapi sebaliknya di daerah panas, mutasi jenis yang sama tak muncul. Mutasi biokimia disebabkan oleh bahan-bahan yang merusak tanaman, sehingga berakibat negatif, dengan ditandai struktur bagian tertentu menjadi tidak sehat, kriting, lemas, berubah warna menjadi kusam dan kering. Namun hal ini bisa diminimalisir dengan pemberian nutrisi yang baik. Terakhir adalah mutasi resistensi. Mutasi ini biasanya disebabkan oleh nutrisi atau bahan biokimia yang lain, seperti kolkisin atau irradiasi sinar gama. Mutasi ini bersifat resisten, karena perubahan atau tetap. Jumlah kromosom yang terlibat tersusun secara terbalik, berkurang atau bertambah.

Mutasi itu menyebabkan berkurangnya jumlah grana yang mengandung klorofil. Grana berperan menyerap sinar matahari yang diperlukan untuk fotosintesis. Namun, karena jumlah grana pada tanaman variegata terbatas, intensitas sinar matahari yang diperlukan pun hanya sedikit. Itulah sebabnya bila intensitas cahaya berlebihan dapat menyebabkan terbakarnya jaringan daun

Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), menyebutkan bahwa variegata atau gejala *chymera* disebabkan oleh mutasi pada gen kloroplas yang terdapat di dalam sitoplasma. Itulah sebabnya kelainan itu juga disebut *extranuclear mutation* atau disebut juga mutasi di luar inti sel. Mutasi itu menyebabkan kerusakan gen mutan sehingga mengganggu produksi klorofil yang berperan dalam fotosintesis. Tandanya muncul warna belang hijau-kuning di daun.

Sansevieria trifasciata memiliki daun keras, sukulen, tegak, ujung daun meruncing, dengan warna berloreng dan corak kuning di bagian tepi sehingga dapat tumbuh dalam kondisi yang sedikit air dan cahaya matahari. Akibatnya, ia banyak mengalami penyimpangan bentuk, corak, dan warna. Sehingga jenisnya bisa mencapai 600-an seperti *S. laurentii*, *S. golden king*, *S. pinguin cola*, *S. laurentii cola*, *S. superba futura*. Untuk spesies *Sansevieria trifasciata* sendiri terdapat beberapa varietas seperti *Sansevieria trifasciata* "Hahnii steaker", *Sansevieria trifasciata* "Golden Hahnii", *Sansevieria trifasciata* "moonshine", *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream", *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta", *Sansevieria trifasciata* "tiger stripe", *Sansevieria trifasciata* "Green arrow", *Sansevieria trifasciata* "Green tiger" dan sebagainya (Stover, 1983)

Menurut Kusuma (2008), perubahan warna dan bentuk tanaman pada *S. trifasciata* sering terjadi. Ini dikarenakan terjadinya perubahan dan penyusunan DNA yang tidak berjalan secara normal, sehingga terjadi perubahan sifat. Mutasi pada *S. trifasciata* dapat disebabkan oleh mutasi gen dan mutasi kromosom. Mutasi gen terjadi jika gen berubah menjadi bentuk yang berbeda. Mutasi kromosom adalah perubahan genetik karena terjadinya perubahan susunan kromosom, bisa jadi karena adanya kromosom yang hilang, bertambah atau susunannya terbalik (Purwanto, 2006).

g. Manfaat

Sansevieria trifasciata memiliki keunggulan yang jarang ditemukan pada tanaman lain, diantaranya sangat resisten terhadap polutan dan bahkan mampu menyerap polutan, sebagai tanaman hias, dan biasanya diletakkan di sudut ruangan seperti dapur atau kamar mandi untuk mengurangi bau tidak sedap. Hal itu dikarenakan sansevieria mengandung bahan aktif pregnane glikosid yang mampu mereduksi polutan menjadi asam organik, gula, dan beberapa senyawa asam amino. Di dalam tiap helai daun sansevieria terdapat senyawa aktif pregnane glykoside, yaitu zat yang mampu menguraikan zat beracun menjadi senyawa asam organik, gula, dan beberapa senyawa asam amino. Bahan Aktif : Pregnane glikosid yaitu 1 beta,3 beta-dihydroxypregna-5,16-dien-20-one glikosid, Ruscogenin, Abamagenin, Neoruscogenin, sansevierigenin, dan Saponin.

Beberapa senyawa beracun yang bisa diuraikan oleh tanaman ini diantaranya kloroform, benzen, xilen, formaldehid, dan triklorotilen. Kloroform adalah senyawa beracun yang menyerang sistem saraf manusia, jantung, hati, paru-paru, dan ginjal, melalui sistem pernafasan dan sirkulasi darah.

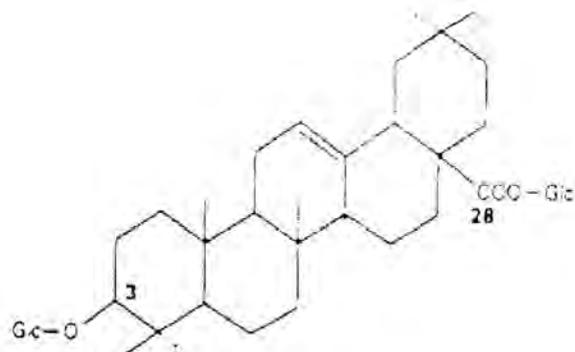
Kemampuan *Sansevieria* untuk menyerap racun berguna dalam penghijauan lingkungan. Tanaman ini dimanfaatkan untuk menyerap racun asap buangan kendaraan dari knalpot. Sementara itu sebagai tanaman hias, *Sansevieria* bisa menangani *sick building syndrome*, yaitu keadaan ruangan yang tidak sehat akibat tingginya konsentrasi gas karbondioksida, zat nikotin dari asap rokok, dan penggunaan AC dalam ruangan. Oleh karena itu *Sansevieria* sangat bagus diletakkan

di dalam ruangan baik di rumah ataupun di kantor-kantor, maupun dijadikan penghias taman di jalan-jalan yang lalu lintasnya padat sebagai anti polutan (Purwanto, 2006).

Rimpang dan daun *S. trifasciata* berkhasiat sebagai obat batuk serta obat luka akibat digigit ular. Hal ini disebabkan karena daun dan rimpangnya mengandung saponin, kardenolin, dan polifenol (Robert, 2007)

3. Metabolit Sekunder

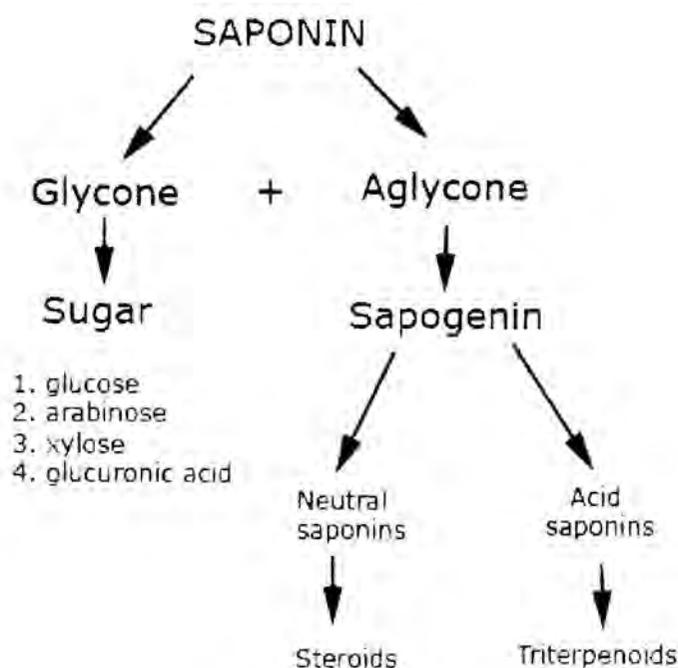
Polisakarida, protein ,lemak, dan asam nukleat merupakan penyusun utama makhluk hidup sehingga disebut metabolit primer. Proses – proses kimia jenis lain terjadi hanya pada spesies tertentu sehingga memberikan produk yang berlainan. Reaksi yang demikian tampaknya bukan merupakan proses yang terpenting bagi eksistensi dari suatu organisme sehingga disebut metabolit sekunder. Metabolit sekunder, meskipun tidak sangat penting sering berperan untuk kelangsungan hidup dalam pertahanan, penarik seks, dan feromon (Manitto, 1992).



Gambar 2. Struktur saponin triterpenoid

Metabolit sekunder terakumulasi dalam sel tanaman dalam jumlah yang kecil atau sedikit. Berdasarkan sumber biosintesisnya, metabolit sekunder dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu (1) glikosida steroid, (2) glikosida steroid alkaloid, dan (3) glikosida triterpen. Oleh karena senyawa ini merupakan senyawa glikosida maka hidrolisisnya akan menghasilkan bagian aglikon dan senyawa gula (Dodds dan Robert, 1983).

Saponin disintesis dalam suatu kompleks multienzim dari suatu metabolit primer yaitu asetil koenzim A, melalui jalur asam mevalonat (Hopkins, 1999). Saponin merupakan senyawa yang relatif stabil, tetapi dalam jangka waktu yang lama mungkin diubah sebagian ke dalam zat yang tidak aktif. Saponin tersebar luas dalam tanaman tingkat tinggi. Saponin steroid banyak terdapat dalam tanaman monokotil terutama famili Dioscoreaceae, Amaryllidaceae, dan Liliaceae; sedangkan tanaman dikotil banyak terdapat dalam famili Leguminosaceae dan Solanaceae (Brotosisworo, 1976)



Gambar 3. Bagan Pengelompokan saponin

Saponin tersusun atas ikatan hidrofobik triterpen dengan gula hidrofilik yang mempunyai sifat serupa dengan sabun (Hopkins, 1999 ; Croteau *et al.*, 2000). Saponin tersusun dari suatu aglikon (sapogenin), yang terikat pada suatu oligosakarida; oligosakarida tersebut terikat pada C – 3 orientasi β . Oligosakarida tersebut biasanya adalah heksosa atau pentosa, misalnya D-glukosa, D- silosa. Aglikon dari saponin diperoleh dengan cara hidrolisis asam lemah (Manitto, 1992).

Metabolit sekunder adalah bahan kimia yang dihasilkan tumbuhan melalui reaksi metabolisme sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, protein, lemak) (Anggarwulan dan Solichatun, 2001). Substansi yang termasuk dalam metabolit

sekunder adalah alkaloid, minyak atsiri, resin, tannin, flavonoid, glikosida, sterol, dan saponin (Dodds dan Robert, 1983).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan glikosida terpen (Hopkins, 1999). Menurut Robinson (1991) ada dua tipe saponin yaitu saponin triterpenoid dan saponin steroid. Senyawa ini terdiri dari gula dan komponen lain selain gula. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air, larut dalam alkohol dan dapat menghemolisis darah hewan.

Struktur saponin terdiri dari aglikon atau sapogenin dan gula (pentosa, heksosa, arbinosa, xilosa, atau asam glukoronat). Aglikon merupakan komponen non gula seperti : steroid atau triterpenoid (Friedly, 2006). Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau waktu memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti adanya saponin (Harborne, 1987).

Pada tanaman yang sehat, saponin berfungsi sebagai zat antifungal. Molekul ini dibentuk untuk mengatasi serangan fungi. Selain itu saponin juga mempunyai efek antimikrobia fitoprotektan yang signifikan (Papadopoulou *et al.*, 1999). Beberapa saponin juga diketahui aktif terhadap serangan virus (Wagle *et al.*, 1999).

Dewasa ini saponin banyak digunakan untuk aplikasi di bidang pertanian, industri kosmetik dan shampo, makanan, maupun obat-obatan. Saponin banyak digunakan sebagai obat-obatan karena diketahui mempunyai peranan yang penting. Secara komersial, saponin pada tumbuhan banyak digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor dan menurunkan kolesterol darah. Pada penelitian dewasa ini

menyalakan saponin pada makanan dapat menurunkan kolesterol darah, rendahnya kolesterol serum darah di daerah Afrika timur (yang mengkonsumsi makanan produk hewan banyak lemak dan kolesterol) karena diimbangi dengan memakam herba kaya dengan saponin (Davidson, 2004).

Saponin diketahui pula dapat meningkatkan absorpsi zat-zat diuretika (garam-garam) dan nampaknya juga merangsang ginjal untuk lebih aktif (Broto Sisworo, 1979). Beberapa obat antiinflamator dan antiendemik diketahui mengandung saponin. Beberapa saponin digunakan sebagai antitusif dan ekspektoran pada obat tradisional (Wagle *et al.*, 1999)

Nilai ekonomi saponin antara lain digunakan sebagai surfaktan film fotografi, sampo, sabun cair, pasta gigi, minuman serta digunakan dalam pengobatan dan pemanis, penyedap rasa makanan, dan rokok (Hopkins, 1999). Saponin diperoleh dari beberapa tumbuhan dan digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson, 1991). Menurut Manitto (1992), nilai ekonomi steroid terletak pada penggunaan senyawa tersebut sebagai bahan dasar produksi hormon seks, kortikosteroid, dan turunan steroid. Sumber utama saponin adalah tumbuhan tinggi. Saponin mempunyai khasiat seperti detergen sebagai antiseptik sehingga dapat digunakan sebagai antiradang (Sumastuti, 1999).

4. Isozim

Enzim tidak tersebar merata di dalam sel. Enzim yang berfungsi dalam fotosintesis berada di kloroplas; banyak enzim yang berperan dalam respirasi aerobik

berada hanya di mitokondria, sedangkan enzim respirasi yang lainnya terdapat di sitosol. Sebagian besar enzim yang harus ada untuk mensintesis RNA dan DNA serta untuk mitosis, berada di inti sel (nukleus) (Salisbury and Ross, 1992)

Banyak enzim terdapat dalam lebih dari satu bentuk molekul di dalam spesies yang sama, pada jaringan yang sama, atau bahkan di dalam sel yang sama. Pada kasus seperti ini, bentuk enzim yang berbeda mengkatalis reaksi yang sama, tetapi karena enzim-enzim tersebut berbeda dalam sifat-sifat kinetiknya dan dalam komposisi atau sekuen asam amino, enzim dapat dipisahkan oleh prosedur yang sesuai. Bentuk enzim yang bervariasi tersebut disebut isoenzim atau isozim (Lehninger, 1990).

Menurut Murray *et. al.* (1999) isozim adalah bentuk-bentuk enzim yang berbeda secara fisik dan dapat dipisahkan, terdapat dalam berbagai tipe sel atau kompartemen subseluler. Isozim lazim ditemukan dalam serum dan jaringan semua vertebrata, insekta, tumbuhan, dan organisme uniseluler. Jenis dan jumlah enzim pada masing - masing organisme berbeda - beda. Jaringan yang berbeda juga dapat mengandung isozim yang berbeda, dan semua isozim ini mempunyai afinitas yang berbeda-beda terhadap substrat. Goodwin dan Mereer (1983) menjelaskan bahwa fungsi utama isozim adalah sebagai kontrol terhadap aktivitas metabolisme di dalam sel. Frekuensi perbedaan isozim pada organela yang berbeda pada sel tumbuhan.

Perbedaan antara isozim disebabkan adanya lebih dari satu gen dalam suatu organisme yang mengkode setiap isozim. Pentingnya suatu organisme mempunyai isozim berbeda yang mampu mengkatalis reaksi yang sama, adalah perbedaan respon isozim terhadap faktor lingkungan. Sehingga apabila faktor lingkungan berubah,

isozim yang paling aktif dalam lingkungan tersebut melaksanakan fungsinya dan membantu organisme bertahan hidup (Salisbury dan Ross, 1992). Isozim dapat dipergunakan sebagai penanda genetik untuk mempelajari keanekaragaman antar individu dalam suatu populasi serta mengidentifikasi varietas dan hibridanya (Hunter, 1981). Isozim relative tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan produk langsung dari gen sehingga dapat digunakan dalam mengidentifikasi varietas dan studi populasi (Lee dan Paranjhoty, 1974).

Isozim merupakan *multiple band* yang terlihat dengan pewarnaan khusus pada elektroforesis karena adanya aktivitas enzim. Karena adanya aktivitas isozim menunjukkan variasi sekuen asam amino dari molekul – molekul yang memiliki fungsi katalik yang sama (Mc Donald dan Mc Dermont, 1993). Variasi enzim yang dapat ditunjukkan dengan elektroforesis ini dapat digunakan sebagai penanda guna mengetahui diversitas genetik suatu organisme (Chonklin dan Smith, 1971). Studi pola isozim pada taksonomi tumbuhan telah dimulai sejak beberapa tahun yang lalu. Studi ini meliputi variasi allozim dan isozim (Suranto, 1991).

Berdasarkan tipe reaksi yang dikatalis, enzim dapat dibagi menjadi enam kelompok yaitu : Oksidoreduktase, Transferase, Hidrolase, Liase, Isomerase, dan Ligase. Oksidoreduktase adalah enzim yang dapat mengkatalis reaksi oksidasi dan reduksi suatu bahan. Dalam enzim oksidoreduktase terdapat dua macam enzim yaitu oksidase dan dehidrogenase. Oksidase adalah enzim yang mengkatalis reaksi substrat dengan molekul oksigen, misalnya peroksidase. Dehidrogenase adalah enzim yang aktif dalam pengambilan atom hidrogen dari substrat, misalnya DPN (*Diphospho*

pyridine nucleotide). Transferase adalah enzim yang ikut serta dalam reaksi pemindahan suatu radikal atau gugus, misalnya transglikosidase. Hidrolase adalah enzim yang mengkatalis reaksi hidrolisis suatu substrat dengan bantuan molekul air, misalnya karboksil esterase. Liase adalah enzim yang aktif dalam pemecahan ikatan C – C dan C – O tanpa molekul air, misalnya dekarboksilase. Isomerase adalah enzim yang mengkatalis reaksi perubahan konfigurasi molekul, misalnya fosfoheksosa isomerase. Ligase adalah enzim yang mengkatalis pembentukan ikatan – ikatan tertentu, misalnya pembentukan ikatan C – O, C – C, C – S, dan C – N (Rothe, 1994; Slamet dan Suhargono, 2000).

Peroksidase dan esterase seingkali ditemukan dalam makhluk biologi khususnya tumbuhan. Isozim dapat berada dalam sitosol, organel atau dalam keduanya. Isozim peroksidase terdapat dalam organel lisosom (Rothe, 1994). Selain itu, peroksidase juga terdapat dalam dinding sel tumbuhan yang berfungsi menginduksi sintesis etilena yang digunakan untuk lignifikasi dan proses absisi (Fahn, 1995). Peroksidase termasuk dalam enzim oksidoreduktase yang mengkatalis reaksi pelepasan dan penambahan elektron (Acquaah, 1992 ; Rothe, 1994; Salisbury and ross, 1992). Dalam hal ini substrat yang optimal adalah hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida mengkatalis oksidasi senyawa fenol atau amina aromatik (AH_2) (Rothe, 1994).

Esterase adalah isozim yang berada dalam sitosol (Weeden dan Wendel, 1989 dalam Indriani, 2002). Esterase termasuk enzim hidrolase yang mengkatalis reaksi

pemutusan ikatan kimia seperti amida, ester dan glikodisa dengan menambahkan unsur air. Dalam enzim ini substrat yang optimal adalah α - naftil asetat (Rothe, 1994)

5. Elektroforesis Gel Poliakrilamid

Dengan majunya teknologi, analisa terhadap tumbuhan lebih cenderung melalui pendekatan unsur genetik (kualitatif) daripada analisa deskriptif (berbentuk daftar tumbuhan, hewan atau mikroorganisme) yang sewaktu-waktu berubah. Oleh karena itu pendekatan penelitian seperti Isozim Elektroforesis, kromosom (faktor keturunan di dalam sel mahluk hidup), dan DNA (urutan genetik dalam kromosom), mutlak diperlukan. Perkembangan dunia molekuler pada tumbuhan semakin cepat seiring dengan cepatnya tingkat kepunahannya, sehingga di negara seperti Amerika, Jepang dan Inggris sudah mengembangkan *database* DNA. Begitu juga dengan pengembangan bank benih dan bank gen. Analisa kromosom meskipun termasuk dasar dari analisa organisme sudah jauh berkembang kearah analisa mikrosatelit dan poliploidi bahkan *genome in situ hybridization* (GISH). Akhirnya dunia molekuler modern berkembang ke sektor enzim, protein, dan DNA (*deoxyribose nucleic acid*) atau RNA (*ribose nucleic acid*) tergantung pada tujuan dan sasaran yang ingin dicapainya (Sudarmono, 2005)

Analisa molekuler secara modern yaitu pemaparan bahan genetik menggunakan alat yang dikenal sebagai Elektroforesis dan ini membutuhkan kemampuan listrik dan pendingin yang memadai. Selain itu faktor bahan kimia yang dibutuhkan dan alat-alat yang dipakai beragam. Prinsip dasar elektroforesis yaitu

bahwa setiap genom tumbuhan (enzim/protein dan DNA) mempunyai berat yang berbeda-beda sehingga kecepatan Bergeraknya pada media gel juga berbeda-beda dan hal ini hanya dapat dilihat melalui pewarnaan (*trouble shooting*) (Sudarmono, 2006)

Elektroforesis merupakan studi dasar dalam studi isozim dan allozim. Penggunaan metode elektroforesis dapat menggunakan gerakan protein dan enzim dalam gel buffer karena adanya aliran arus listrik (Suranto, 1991). Elektroforesis adalah perpindahan partikel bermuatan di dalam medan listrik. Metode ini dapat digunakan untuk memisahkan molekul makro dengan ukuran dan muatan listrik yang berbeda. Teknik elektroforesis dapat digunakan dalam studi populasi genetik, guna mengetahui perbedaan di antara individu-individu dalam populasi. Studi variasi isozim dalam taksonomi tumbuhan memberikan sumbangan penting dalam mengkaji hubungan kekerabatan antar spesies atau antar individu (Allichio *et al.*, 1987)

Metode penelitian terhadap enzim (istilah lain isozim) atau protein dapat dilakukan dengan alat elektroforesis horizontal ataupun vertikal yang bergerak dari arus negatif (katoda) ke positif (anoda). Karena bahan genetik tersebut sensitif terhadap panas listrik maka pada saat *running* harus didalam pendingin (antara 4 sampai 20°C), biasanya memakan waktu 3-4 jam (80-300 volt). Untuk selanjutnya apabila menggunakan elektroforesis horizontal maka gel tepung setebal 1 cm dipotong lembaran menjadi 6 lembar (6 sistem enzim) dan diwarnai sehingga muncul pita sesuai dengan sistem enzim yang dipakai. Prinsip pewarnaan ini sama pada elektroforesis vertikal hanya bedanya bahan kimia gelnya berbahaya terhadap tubuh karena bersifat karsinogen atau penyebab kanker (poliakrilamid). Penelitian enzim

umumnya dilakukan terhadap populasi suatu tumbuhan dimana sampel yang diperlukan antara 7-50 sampel tiap populasi tergantung luasnya populasi. Oleh karena itu tujuan penelitian ini secara spesifik untuk menganalisa terjadinya perubahan variasi genetik, keragaman genetik, struktur genetik, arus gen (*gene flow*), bahkan hibrid antar populasi. Implikasi penelitian enzim dapat juga mengarah pada makin punahnya suatu populasi atau terjadinya perkawinan antar populasi sehingga terbentuk hibrid baru (Wyatt and Broyles, 1992; Ellstrand and Elam, 1993; Aparicio *et al.*, 2000)

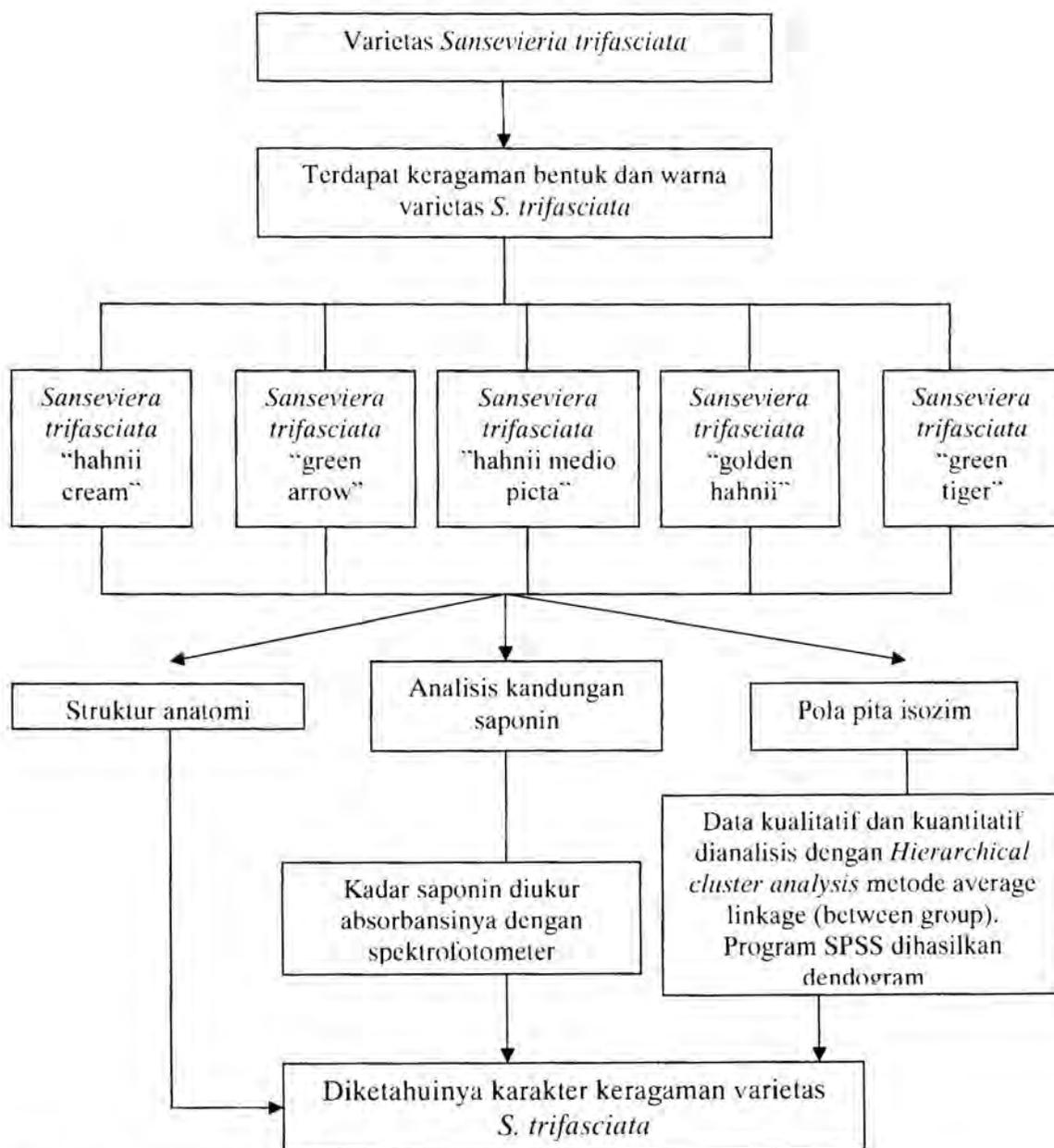
B. Kerangka Berfikir

Sansevieria trifasciata merupakan tanaman hias yang mempunyai keanekaragaman warna dan bentuk daun sehingga menjadikan *S. trifasciata* sebagai tanaman favorit masyarakat. *Sansevieria trifasciata* yang mengalami mutasi akan berubah warna guratan, dan bentuk daunnya. Umumnya tanaman memiliki corak dan warna daun menjadi tidak merata. Mutasi ini dapat disebabkan oleh mutasi gen dan kromosom (Purwanto, 2006). Analisis isozim dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik. Pengetahuan ini bermanfaat dalam mengetahui keanekaragaman di antara kultivar *S. trifasciata*.

Rimpang dan daun *S. trifasciata* banyak mengandung zat metabolit sekunder seperti saponin yang berkhasiat sebagai obat batuk dan obat luka akibat digigit ular selain kardenolin dan polifenol (Stover, 1983). Oleh karena itu dengan

keanekaragaman yang terdapat pada *S. trifasciata* juga menyebabkan perbedaan kandungan zat metabolit sekunder seperti saponin.

Data yang diperoleh meliputi data kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif dianalisis menggunakan Hierarchical Cluster Analysis metode average linkage (between groups) program SPSS 14 (Santoso, 2004). Hasil analisis tersebut diperoleh karakter keragaman *S. trifasciata* yang diuji. Secara singkat kerangka berfikir tersebut terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagan Kerangka Berfikir

C. Hipotesis

Ada keragaman tanaman *Sansevieria trifasciata* berdasarkan struktur anatomi kandungan saponin, dan pola pita isozim.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2008 sampai dengan Agustus 2008.

2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Laboratorium Bioteknologi Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

a. Alat Untuk Sterilisasi

Untuk sterilisasi alat dan media digunakan autoklaf yang telah diatur pada suhu 121 °C dan tekanan 1,5 atm.

b. Alat Untuk Analisis Kadar Saponin

Tabung reaksi, gelas beker, pipet tetes, rotavapor , penyaringan, oven, penangas air, dan spektrofotometer.

c. Alat untuk Analisis isozim

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *electrophoresis bath* tipe 6 gel vertikal (Nihon Eido NA – 1116); *glass plate* ukuran 6 X 16 cm (nihon Eido); *shield tube* ketebalan 1 mm (Marisol); *sample comb* jumlah 20 sampel; *power supply* tegangan 600V, arus 200 mA (Nihon Eido NC-1017); tangki air dingin (Eyela CAP – 100); *electronic balance* ketelitian hingga 0,001 g (AND-FX300); *refrigerated centrifuge* kapasitas 18 tabung *effendorf*, kecepatan 15000 rpm suhu 10 – 30 °C (Hitachi, Himac CR – 15); *freezer* suhu hingga – 30 °C (Sanyo Medical Freezer); *magnetic stirrer* (Termolyne); mortar dan penggerus/pestle diameter 7 cm; *stepper* ketelitian hingga 1 µl (Tridek Company); *syringe* 1 ml; *erlenmeyer* 250 ml; *volumetric pipet* 20 ml, 25 ml, 50 ml; *micropipete* 50 – 200 µl, 200 – 1 ml, 0,5 – 5 ml; botol pencuci 500 ml; baki plastik 15 cm x 10 cm; kertas kaca 30 cm x 30 cm; kaca 20 cm x 20 cm.

2. Bahan

a. Material Tumbuhan

Tanaman yang digunakan adalah lima macam yang berasal dari Nusa Hijau Gardening Yogyakarta yaitu : *Sansevieria trifasciata* yaitu *Sansevieria trifasciata* “Hahnii cream”, *Sansevieria trifasciata* “Green arrow”, *Sansevieria trifasciata* “Hahnii medio picta”, *Sansevieria trifasciata* “Golden hahnii”, *Sansevieria trifasciata* “Green tiger”. Jaringan yang diambil adalah organ akar.

b. Bahan untuk Analisis Kadar Saponin

Bahan yang digunakan adalah etanol (70%) dan larutan standar Saponin Merck.

c. Bahan untuk Pembuatan Isozim

1) buffer ekstraksi

1 M Tris (ph 7,5), sukrosa 7 %, 2-mercaptoethanol 70 μ l, albumin 12 mg, dan air suling 50 ml.

2) Gel poliakrilamid (Suranto, 2001)

- Larutan A (ph 8,9)

Trisma base 91,5 g, 1N HCL 120 ml, TEMED 0, 575 ml, dan air suling 500 ml.

- Larutan B

Acrilamide 150 g, BIS 4 g, dan air suling 500 ml.

- Larutan C

Amonium persulfate 140 mg, dan air suling 500 ml.

- Larutan D (pH 6,7)

Trisma base 14,95 g, 1 N HCL 120 ml, TEMED 1,15 ml, dan air suling 500 ml.

- Larutan E

Acrilamide 37,5 g, BIS 6, 25 g, dan air suling 500 ml

- Larutan F

Riboflavin 20 mg dan air suling 1000 ml.

3) Running buffer

- Stok buffer

Trisma base 6 g, *Glycine* 28.8 g, dan air suling 500 ml

- Running buffer

Stok *buffer* 250 ml dan air suling 5000 ml.

4) Pewarnaan (Suranto, 2001)

- Esterase

a) Staining buffer (pH 5,6) 50 ml

$\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7,8 g, NaH_2PO_4 1,42 g dan air suling 500 ml

b) Substrat dan koenzim

(1) Esterase A

0,1 M *α -Naphthyle propionate* 1 ml, *Naphthyle propionate* 200 ml, dan etanol 10 ml.

0,1 M *α -Naphthyle acetat* 2 ml, *Naphthyle acetat* 190 ml, dan etanol 10 ml.

(2) Esterase B

Fast Blue RR Salt 100 mg

- Peroksidase

a) Staining *buffer* 50 ml

Trisma base 0,75 g, asam asetat glacial 0,81 g, dan air suling 500 ml.

b) Substrat dan koenzim

Amino Ethyl Carbazole 42 mg, B naphtol 29 mg, aseton 20 ml,

H₂O₂ 3 % 2 ml.

5) Larutan fiksasi B

50 % alkohol (250 ml), 5 % acetone (25), H₂O 225 ml.

C. Cara Kerja

a. Pengamatan Morfologi dan Mikroskopis varietas-varietas *S. trifasciata*

- (i) Pengamatan morfologi beberapa organ seperti daun, batang semu, dan akar. dari kelima varietas *S. trifasciata*
- (ii) Pengamatan struktur mikroskopis dengan penampang lintang dan membujur organ daun, batang, dan akar. dari kelima varietas *S. trifasciata*

b. Analisis Kadar Saponin

Tahap analisis saponin menurut Stahl (1985) adalah sebagai berikut :

(1) Tahap Ekstraksi

Pengadaan ekstrak akar *S. trifasciata* dimulai dengan menimbang 5gr akar *S. trifasciata* dari masing-masing varietas. Kemudian dicuci, diiris kecil-kecil, dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 45 °C selama 12 jam. Daun kering digerus dengan mortal sampai menjadi serbuk, kemudian 0,1 gram serbuk yang telah halus diekstraksi dengan 10 ml etanol 70 % di atas penangas air dengan suhu 80 °C selama 15 menit.

(2) Tahap pembuatan kurva standart

Dibuat larutan standar Saponin Merck dengan konsentrasi 20, 40, 80, 160, dan 320 ppm kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 365 nm sehingga diperoleh kurva standar saponin.

c. Persiapan Elektroforesis untuk Analisis pola pita isozim

Untuk melakukan analisis pola pita isozim dengan langkah – langkah di bawah ini dengan merujuk (Hames, 1990; Suranto, 2002).

(i) Ekstraksi Sampel

Kuncup daun dan akar sebanyak 100 mg ditumbuk hingga hancur menggunakan mortar lalu ditambahkan dengan buffer ekstraksi. Setelah hancur dan homogen dimasukkan ke dalam tabung *efendorf* dan *disentrifuge* dengan kecepatan 15000 rpm selama 20 menit. Larutan supernatan sebanyak 10 µl diambil dengan menggunakan mikropipet untuk proses elektroforesis.

(ii) Pembuatan media gel

Terdapat dua macam gel poliakrilamid yang berbeda kepekatan untuk proses elektroforesis yaitu running yang terletak di bagian bawah dengan kepekatan 7,5 % dan gel pemisah yang terletak di bagian atas dengan kepekatan 3,75 %.

Untuk membuat running gel diperlukan larutan A, B, C dengan perbandingan 1 : 1 : 2. untuk mengisi 6 plat kaca diperlukan larutan A & B masing-masing 25 ml dan 50 ml larutan C. Ketiga larutan tersebut dicampur

dengan menggunakan magnetic stirer dan divakum selama 20 menit. Setelah homogen campuran ini dimasukkan ke dalam gelas elektroforesis, yaitu alat berupa sepasang kaca setebal 5 mm yang khusus dirancang untuk elektroforesis. Pada bagian tepi kiri, kanan, dan bawah dipasang sekat (*shield tube*). Sekat ini harus dipasang dengan cermat sehingga dapat membentuk rongga antar lapisan kaca setebal ± 1 mm dan harus tetap dijaga supaya larutannya tidak merembes keluar. Untuk satu buah plat kaca memerlukan 15 ml larutan. Selanjutnya untuk meratakan permukaan gel dapat ditambahkan alkohol atau air dengan ketinggian ± 1 mm. Untuk mempercepat proses pematatan gel diperlukan waktu ± 1 jam dengan menggunakan lampu.

Gel pemisah dibuat dengan mencampurkan larutan D, E, F dengan perbandingan 1 : 2 : 1. Untuk mengisi 6 plat kaca diperlukan 10 ml larutan D, 20 ml larutan E dan 10 ml larutan F. Ketiga larutan ini dicampur dengan *magnetic stirer* dan divakum selama 20 menit. Setelah homogen, campuran ini dimasukkan ke dalam gelas elektroforesis tepat diatas running gel. Sisir sampel kemudian dipasang pada gel pemisah dan dilepas setelah gel pemisah memadat. Untuk proses pematatan gel pemisah diperlukan waktu 30 menit dengan menggunakan lampu.

Sebelum lubang diisi dengan larutan supernatan terlebih dahulu dibilas dengan larutan *bromphenol blue* (20 mg *bromphenol blue* dilarutkan ke dalam 1 liter air suling) sampai 3 x dengan cara menuang dan mengisapnya kembali. Pada

bilasan terakhir larutan ditinggalkan setengahnya karena akan digunakan sebagai indikator. Lubang-lubang ini selanjutnya digunakan sebagai tempat sampel.

(iii) Proses elektroforesis

Proses elektroforesis dilakukan dengan menggunakan electrophoresis bath yang dirancang untuk 6 set gel, yang masing-masing gel dapat menampung 20 sampel. Proses ini dilakukan pada suhu 4 ° C. Penutup bak elektroforesis dibuka terlebih dahulu kemudian bak diisi dengan larutan elektroda running buffer yang telah dipersiapkan sebelumnya setinggi 2 cm. Selanjutnya klip penjepit dan *shield tube* dari plat kaca dilepas dan plat kaca dipasang pada bak elektroforesis secara berhadapan dengan plat kaca yang berada di sebelah dalam. Selanjutnya ditambahkan larutan *running buffer* ke bagian dalam plat kaca.

Setelah gel dipasang pada alat elektroforesis, larutan supernatant diisikan ke lubang sample sebanyak 10 µl. Selanjutnya running buffer diisikan lagi hingga penuh dan bak penutup dipasang lagi. Power supply dihidupkan untuk menjalankan proses elektroforesis dengan arus listrik sebesar 100 mA. Proses ini dihentikan setelah bromphenol blue ± 0,5 - 1 cm di atas dari dasar running gel dan biasanya memerlukan waktu 3 jam

(iv) Proses pewarnaan gel

Pewarnaan dilakukan dengan meletakkan gel yang telah dikeluarkan dari gelas elektroforesis ke dalam baki plastik berukuran 20 X 15 cm kemudian dituang larutan *staining* yang telah dipersiapkan sebelumnya. Selanjutnya dibiarkan selama beberapa saat sambil digoyang-goyang. Lama perendaman ini

tergantung pada larutan *staining* yang digunakan. Untuk proses *staining* isozim esterase selama 10 menit sedangkan peroksidase selama 120 menit.

(v) Proses fiksasi gel

Fiksasi dilakukan segera setelah proses pewarnaan gel selesai. Larutan pewarna dibuang dan diganti dengan larutan fiksasi sebanyak 50 ml, dengan tujuan untuk menghentikan aktivitas isozim. Larutan fiksasi yang dipakai tergantung system isozim yang digunakan.

Untuk isozim esterase dan peroksidase larutan fiksasi yang digunakan adalah larutan fiksasi B. Selanjutnya gel disimpan dalam suhu dingin 4°C selama 24 jam dan ditutup dengan plastic agar larutan fiksasi tidak menguap.

(vi) Pengeringan gel

Gel yang telah difiksasi perlu dikeringkan supaya gel tetap awet, mudah disimpan dan didokumentasikan. Pengeringan ini dilakukan dengan menggunakan *cellophane*.

(vi) Penyimpanan gel

Penyimpanan gel kering diperlukan untuk tujuan penelitian lebih lanjut atau untuk pengamatan kembali pada masa mendatang. Gel yang telah kering diambil. Berbagai keterangan mengenai system isozim, tanggal pengamatan, dan nomor sample yang digunakan dicatat.

C. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan analisis Cluster. Menurut Santoso (2004), analisis Cluster bertujuan mengelompokkan objek-objek berdasarkan kesamaan karakteristiknya. Objek tersebut akan diklasifikasikan ke dalam satu atau lebih cluster (kelompok) sehingga objek-objek yang berada dalam satu atau cluster akan mempunyai kemiripan satu dengan yang lain. Analisis Cluster ini sangat sesuai diterapkan dalam bidang biologi khususnya dalam membantu proses taksonomi untuk mengelompokkan organisme tertentu. Analisis data yang diterapkan pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Data morfologi tanaman diuraikan secara deskriptif meliputi variabel yang telah diamati untuk masing-masing varietas *Sansevieria trifasciata*. Data uji anatomis dilakukan dengan membuat irisan melintang dan membujur dari organ daun, batang, dan akar dari beberapa varietas *S. trifasciata* kemudian diamati perbedaan susunan jaringan masing-masing varietas di bawah mikroskop.
2. Penghitungan kadar saponin. Hasil ekstraksi akar dihitung kadar saponinnya dengan spektrofotometer UV-vis berdasarkan kurva standard saponin Merck. Kadar yang telah diperoleh kemudian dikonversikan ke dalam bentuk mg/g berat kering daun dengan rumus menurut Ruth and Blasche, 1985 :

$$\text{Kadar saponin (ppm)} = \frac{\text{Kadar Saponin Sampel} \times \text{Volume pengenceran (ml)}}{\text{Berat Sampel Akar (g)}}$$

3. Untuk percobaan elektroforesis, data tentang nilai Rf (perbandingan jarak migrasi isozim terhadap jarak migrasi *loading dye*) pada pola pita isozim. Data kuantitatif pola pita isozim tersebut selanjutnya diubah menjadi data biner dengan diberi nilai 0 untuk genotip yang tidak hadir (pita tidak tampak) dan nilai 1 untuk genotip yang hadir (ada pita). Data kuantitatif dan data biner dianalisis dengan menggunakan hierarchical cluster analysis metode average linkage (between group) program SPSS 14 (Santoso, 2004). Hasil analisis ditampilkan berupa hubungan kekerabatan tanaman yang diuji.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Bab IV ini akan dibahas tentang sifat morfologi daun, batang, dan akar di samping itu juga akan disampaikan hasil percobaan serta penjelasan pola pita isozim sedangkan kandungan saponin juga disampaikan secara mendalam.

A. Sifat Morfologi daun, batang dan akar

Dari hasil pengamatan morfologi lima varietas *Sansevieria trifasciata* adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi lima varietas *Sansevieria trifasciata*

| <i>Sifat Morfologi</i> | <i>S. trifasciata</i> "Green tiger" | <i>S. trifasciata</i> "Hahnii medio picta". | <i>S. trifasciata</i> "Green arrow" | <i>S. trifasciata</i> "Golden hahnii" | <i>S. trifasciata</i> "Hahnii cream" |
|--------------------------------|--|---|---|--|---|
| Jumlah daun per tanaman | 5 – 15 helai | 3 – 6 helai | 3 – 10helai | 5 – 15 helai | 2 – 6 helai |
| Daging daun | Berdaging lunak berair | Berdaging kaku berair | Berdaging kaku berair | Berdaging lunak berair | Berdaging lunak berair |
| Bangun daun | Oval | memanjang | Lanset | Oval | Oval |
| Panjang daun | 5 - 10 cm | 15 - 30 cm | 10 –15 cm | 5 - 10 cm | 5- 10 cm |
| Lebar daun | 4 - 9 cm | 3 - 9 cm | 2 - 3 cm | 3 - 6 cm | 3 - 6 cm |
| Ujung daun | Meruncing | Meruncing | Meruncing | Meruncing | Meruncing |
| Warna daun : | | | | | |
| 1) permukaan | hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal | hijau muda mendekati putih | hijau tua dengan semburat garis-garis hijau muda horizontal | hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna kuning | hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna putih tipis |
| 2) bawah | hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal | hijau muda mendekati putih | hijau tua dengan semburat garis-garis hijau muda horizontal | hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna kuning | hijau muda ditengah sedangkan ditepi sekelilingnya berwarna putih tipis |
| Warna akar | cokelat | cokelat | cokelat | oranye | putih kekuningan |

Perbedaan morfologi meliputi jumlah daun, daging daun, bangun daun, panjang daun, lebar daun, warna daun, dan warna akar, sedangkan sifat-sifat morfologi yang lain pada setiap varietas relatif sama.

a) *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"

Varietas ini memiliki sifat daun berupih, berbentuk oval, roset akar, jumlah daun 5 - 15 per tanaman, bentuk lanset, panjang daun 5- 10 cm, lebar daun 4 - 9 cm, licin, daun berwarna hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal tipis berwarna hijau muda, warna daun bagian bawahnya berwarna sama tetapi lebih muda, tepi daun rata, daging daun tebal dan berair, serta akar berwarna cokelat.

b) *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta"

Varietas ini memiliki sifat daun berupih, roset akar, jumlah daun 3 - 6 per tanaman, bentuk lanset memanjang, helaian daun paling lebar di antara varietas yang lainnya. Panjang daun 15- 30 cm, lebar daun 5 - 9 cm, licin, keseluruhan daun berwarna hijau muda mendekati putih, demikian pula warna bagian bawah daun, tepi daun rata, daging daun tebal, berair, dan kaku dibandingkan keempat varietas yang lain, serta akar berwarna cokelat.

c) *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"

Varietas ini memiliki sifat daun berupih, berbentuk memanjang, roset akar, jumlah daun 3 - 10 per tanaman, bentuk lanset (*lanceolatus*), panjang 10 -15

cm, lebar 2 - 3 cm, licin, keseluruhan daun berwarna hijau tua dengan semburat garis-garis horizontal, tepi daun rata, daging daun tebal, berair dan keras. Warna daun varietas ini mirip dengan *S. trifasciata* "Green tiger" hanya yang membedakan bentuk daun pada varietas *S. trifasciata* "Green arrow" lebih kecil dan memanjang, serta akar berwarna cokelat.

d) *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"

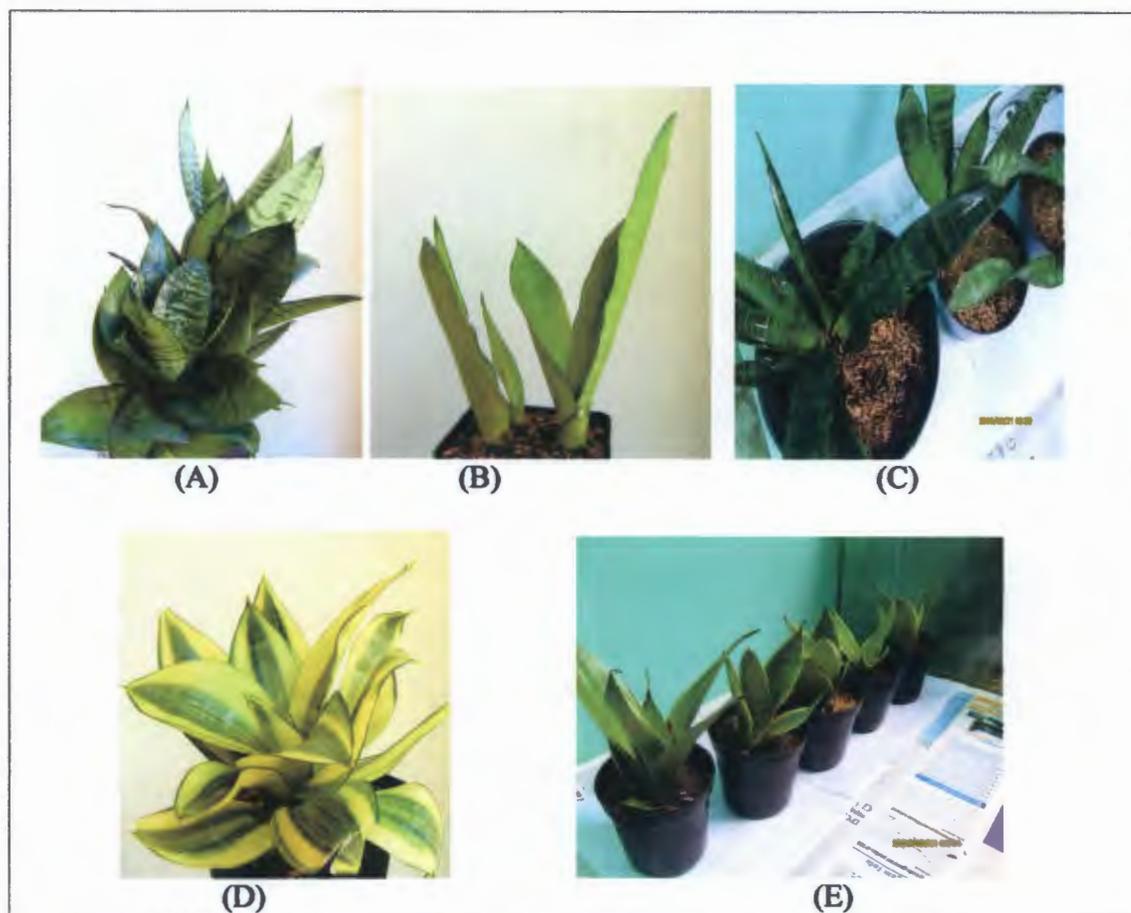
Varietas ini memiliki sifat daun berupih, berbentuk oval, roset akar, jumlah daun 5 - 15 helai per tanaman, bentuk lanset, panjang 5- 10 cm, lebar 3 - 6 cm, licin, daun berwarna hijau muda ditengah dan ditepi berwarna kuning serta di sekeliling tepi daun berwarna garis hijau tipis, warna daun bagian bawah sama seperti permukaan daun, tepi daun rata, berair dan daging daun paling lunak serta tipis jika dibandingkan varietas yang lainnya, serta akar berwarna oranye.

e) *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

Varietas ini memiliki sifat daun berupih, berbentuk oval, roset akar, jumlah daun 2 - 6 helai per tanaman, bentuk daun oval, panjang 5- 10 cm, lebar 3 - 6 cm, licin, keseluruhan daun berwarna hijau muda dan ditepi sekelilingnya berwarna putih tipis demikian pula warna daun bagian bawah, tepi daun rata, daging daun tebal dan berair, serta akar berwarna putih kekuningan.

Dari Tabel 1. dapat diketahui perbedaan yang nyata antara masing-masing varietas berdasarkan sifat-sifat morfologi. Variasi antar varietas dapat terlihat jelas

pada Gambar 5, terlihat di mana dalam satu spesies *Sansevieria trifasciata* tampak variasi warna dan corak daun yang sangat berbeda-beda. Varietas yang memiliki jumlah helaian daun yang banyak terdapat pada *S. trifasciata* “Green tiger” dan “Golden hahnii”. Sifat daging daun, panjang dan lebar daun antara keduanya sama. Kedua varietas tersebut memiliki kisaran ukuran yang hampir sama. Perbedaan yang mencolok hanya terjadi pada warna daun dan akar. Untuk varietas yang memiliki helaian daun yang paling luas adalah *S. trifasciata* “Hahnii medio picta”. Selain itu varietas ini memiliki satu warna daun yaitu hijau muda polos atau tidak bercorak seperti pada varietas yang lain. Helaian daun yang paling panjang dan sempit dimiliki oleh *S. trifasciata* “Green arrow”. Warna dan corak daunnya serupa dengan *S. trifasciata* “Green tiger” tetapi helaian daun *S. trifasciata* “Green arrow” lebih kaku dan tebal. Pada *S. trifasciata* “Hahnii cream” dan *S. trifasciata* “Golden hahnii” mempunyai ukuran daun yang serupa. Ini dapat dilihat dari rata-rata panjang dan lebar daun dari kedua varietas yang sama yaitu 5 – 10 cm dan 3 – 6 cm, akan tetapi yang membedakan kedua varietas ini adalah warna daun, warna akar dan jumlah daun pada setiap individu. Di lihat dari warna akar, *S. trifasciata* “Green tiger”, “Hahnii medio picta”, dan “Green arrow” berwarna coklat, sedangkan “Golden hahnii” berwarna oranye dan “Hahnii cream” berwarna putih kekuningan. Walaupun memiliki warna akar yang berbeda-beda tetapi semua varietas memiliki struktur perakaran yang sama.

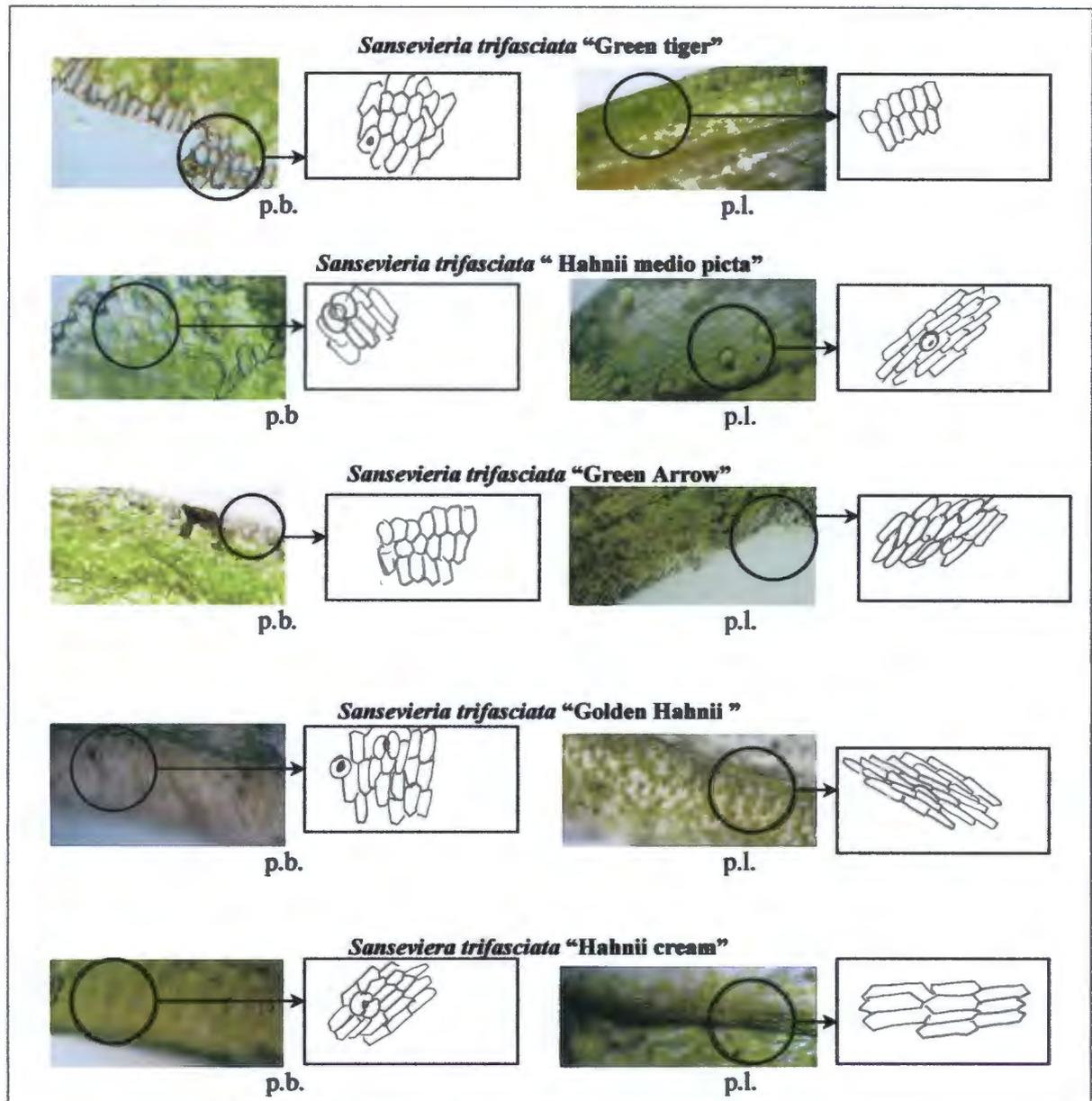


Gambar 5. Morfologi lima varietas *S. trifasciata*

Keterangan : A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

Pada penelitian ini selain membandingkan sifat-sifat morfologi, juga dilihat anatomi mikroskopisnya. Anatomi mikroskopis meliputi penampang melintang dan

membujur organ daun, batang, dan akar. Dari pengamatan, setiap individu mempunyai histologi yang hampir sama tiap-tiap organ.



Gambar 6. Penampang melintang dan membujur organ daun lima varietas *S.trifasciata* dengan Perbesaran 100X

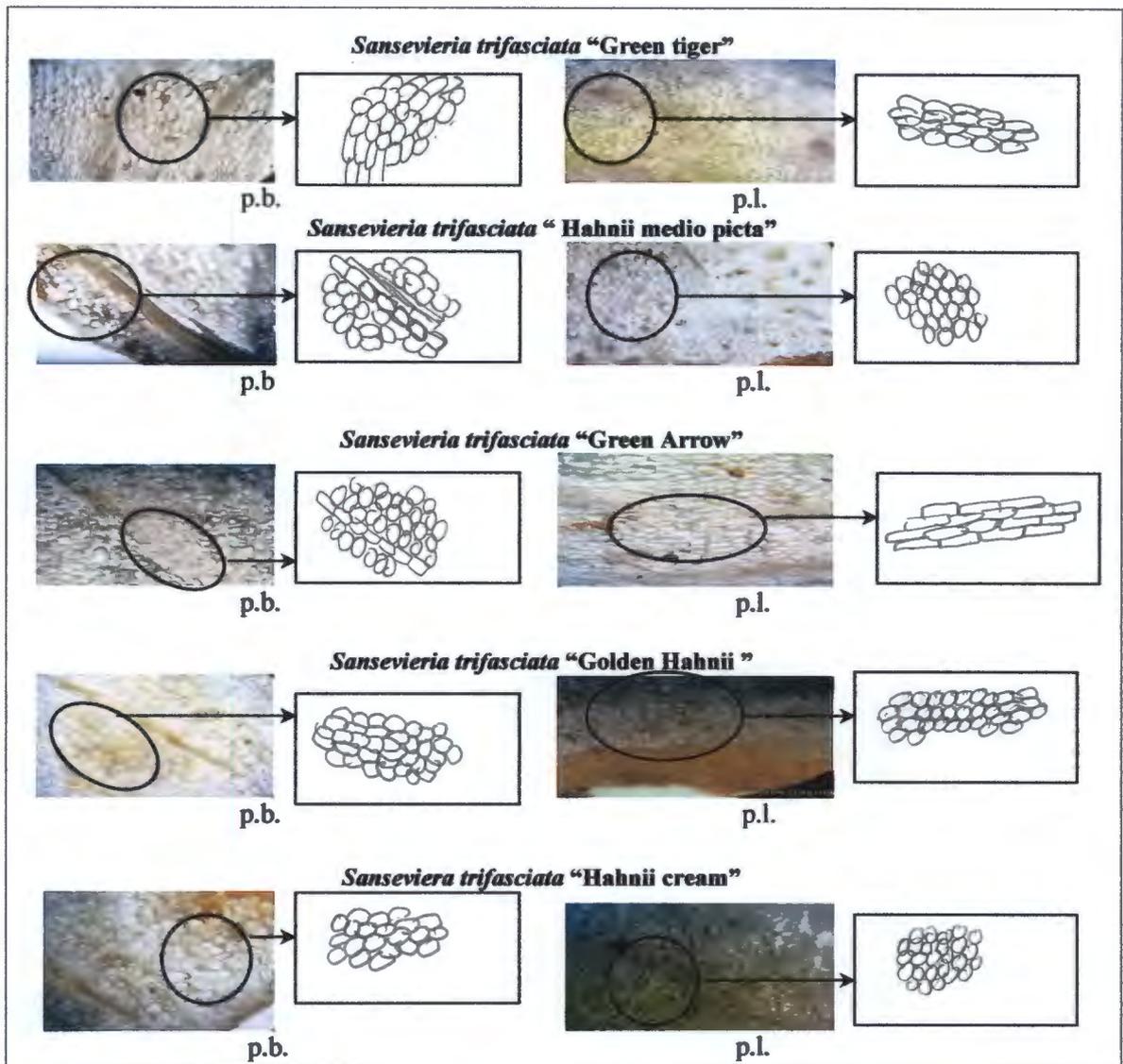
Ket : pb = penampang bujur
pl = penampang lintang

Pada pengamatan anatomi mikroskopis daun yang dipotong secara melintang dan membujur, sel-sel daun pada setiap varietas cenderung sama yaitu berbentuk hexagonal. Varietas “Green tiger”, “Green arrow”, “Golden hahnii”, dan “Hahnii cream” mempunyai bentuk sel yang sama yaitu hexagonal sempit dan memanjang, sedangkan varietas “Hahnii medio picta” mempunyai sel-sel daun berbentuk hexagonal yang lebih besar dan melebar. Sama halnya pada sifat morfologi, pada mikroskopis daun ini “Hahnii medio picta” mempunyai karakter sel-sel yang paling berbeda dengan varietas lainnya.

Anatomi mikroskopis daun secara melintang dapat dilihat bahwa daun tersusun atas tiga sistem jaringan yaitu epidermis, mesofil dan jaringan pembuluh. Pada stomata dari masing-masing individu memiliki bentuk dan letak yang sama. Sel penutupnya mempunyai struktur yang khusus dan seragam. Bila dilihat dari permukaan daun, sel penutup ramping di tengah dan menggelembung di ujungnya. Inti memanjang di sepanjang sel penutup, membulat di ujungnya dan berbentuk benang di tengah. Dua sel tetangga terdapat di masing-masing sel penutup. Tipe stomata *S. trifasciata* adalah *diasitik*, di mana setiap stomata dikelilingi dua sel tetangga. Dinding bersama dari kedua sel tetangga itu tegak lurus terhadap sumbu melalui panjang sel penutup serta celah (Gambar 6).

Pada pengamatan anatomi mikroskopis batang yang dipotong secara melintang dan membujur, sel-sel batang pada setiap varietas sama, kecuali sel-sel batang pada varietas “Green arrow”. Berbeda dengan pengamatan morfologi dan mikroskopis daun sebelumnya. Varietas “Green arrow” khusus pada batang memiliki

perbedaan yang kontras di mana sel-selnya bentuknya memanjang tidak seperti varietas-varietas lainnya yang memiliki sel-sel yang membulat (Gambar 7)



Gambar 7. Penampang melintang dan membujur rgan batang lima varietas *S.trifasciata* dengan perbesaran 100x

Ket : pb = penampang bujur
pl = penampang lintang

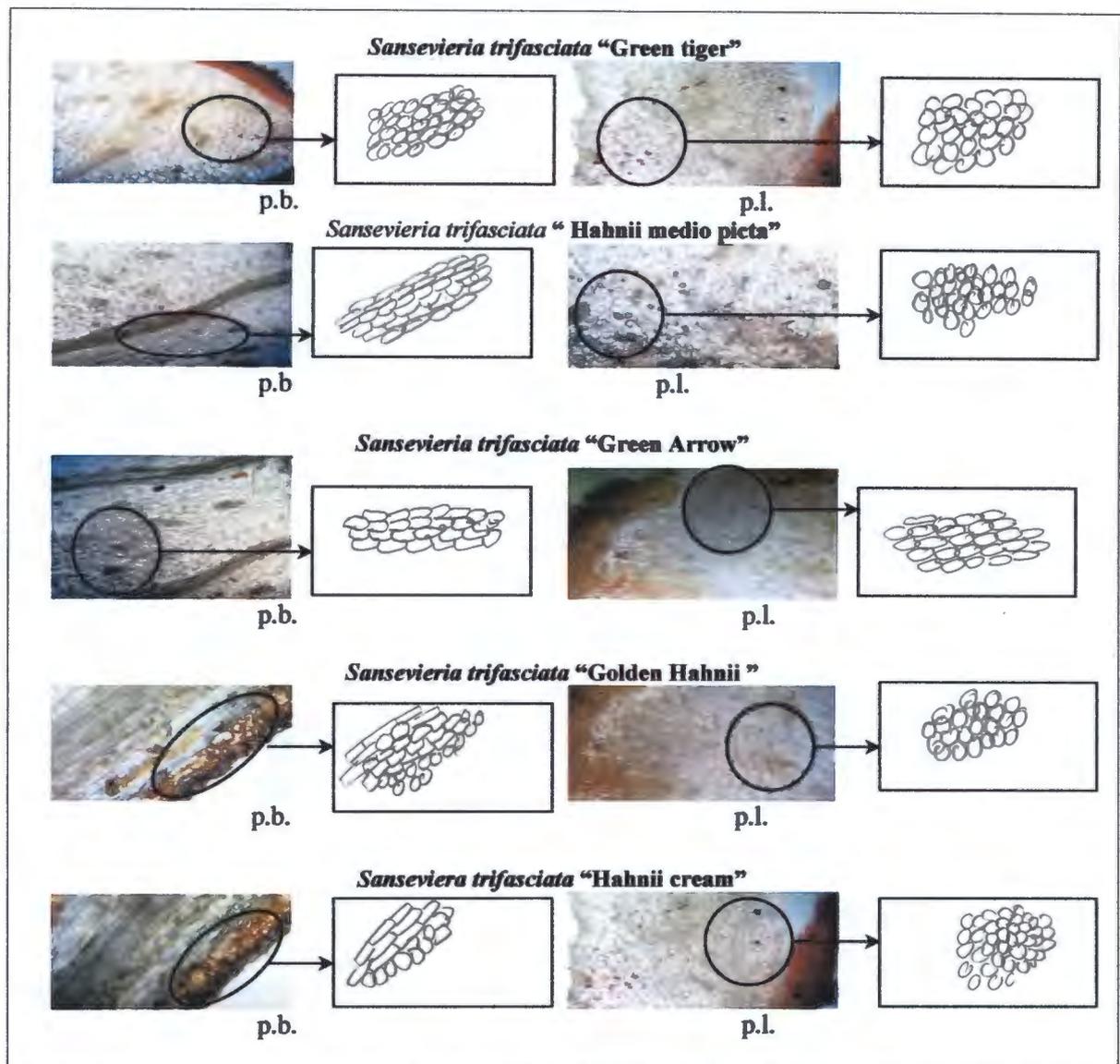
Sel sel yang terlihat pada Gambar 7 merupakan sel-sel korteks. Korteks adalah daerah berbentuk silinder di antara epidermis dan silinder pembuluh. Korteks dapat terdiri atas berbagai tipe sel, yaitu jaringan parenkima berdinding tipis. Parenkima ini berfungsi sebagai alat fotosintesis.

Sistem pembuluh pada batang *S. trifasciata* terdiri dari berkas yang tersebar tidak beraturan dan hal itu jelas terlihat pada penampang melintang (Gambar 7). Susunan jaringan pada batang terdiri dari epidermis, korteks dan endodermis. Sistem ikatan pembuluhnya merupakan jenis ikatan pembuluh amfivasal di mana xilem mengelilingi floem. Sistem pembuluh primer terdiri atas sejumlah besar ikatan yang menyebar secara tidak beraturan dan tidak dapat dibedakan secara jelas batas antara korteks, silinder pembuluh, dan empelur. Sistem pembuluh terdiri atas ikatan yang menyebar di seluruh jaringan dasar batang.

Pada pengamatan anatomi mikroskopis akar yang dipotong secara melintang dan membujur, bentuk sel-sel akar pada setiap varietas pada umumnya bentuknya sama. Akan tetapi apabila kita melihat dari penampang membujur varietas "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream", keduanya memiliki bentuk sel yang serupa dan berbeda dari varietas-varietas lain, yaitu bentuknya lebih pipih dan memanjang (Gambar 8). Kesamaan kedua varietas ini juga tampak pada sifat morfologi yang memiliki ukuran daun yang sama.

Sel-sel yang terlihat pada Gambar 8 merupakan sel-sel korteks. Hidayat (1995) menyatakan bahwa korteks akar terdiri atas sel-sel parenkima. Biasanya korteks akar lebih lebar daripada korteks batang. Susunan sel-sel korteks, terdapat

dalam baris radial lapisan sebelah dalam, atau sel-sel pada dua lapisan kosentrik berdekatan dapat disusun secara selang-seling.



Gambar 8. Penampang melintang dan membujur organ akar lima varietas *S.trifasciatai* dengan perbesaran 100X

Ket : pb = penampang bujur
pl = penampang lintang

Susunan jaringan pada akar terdiri dari epidermis, korteks akar, eksodermis, endodermis, dan silinder pembuluh. Susunan jaringan pembuluh primer dikitari oleh sekumpulan sel yang dinamakan perisikel. Pada akar perisikel secara langsung dibatasi di permukaan bagian dalam oleh untaian floem dan xilem (Gambar 8).

B. Kadar Saponin Daun

Metabolit sekunder terakumulasi dalam sel tanaman dalam jumlah yang sedikit. Metabolit sekunder berperan untuk kelangsungan hidup, salah satunya pertahanan diri (Manitto, 1992). Saponin merupakan salah satu metabolit sekunder golongan terpenoid yang disintesis melalui jalur asam mevalonat dari jalur respirasi.

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol, merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pencarian saponin dalam tubuh tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber saponin yang mudah diperoleh dan dapat diubah di laboratorium menjadi sterol yang berkhasiat penting, misalnya kortison, estrogen, dan kontraseptif, dan lain-lain. Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau waktu memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin (Harbone, 1987).

Tabel 2. Hasil ekstrak kadar saponin akar (dalam mg/g) dari lima varietas *S. trifasciata*

| Varietas <i>Sansevieria trifasciata</i> | Kadar Saponin Akar |
|---|--------------------|
| 1. <i>S. trifasciata</i> "Hahnii cream" | 0,8468 |
| 2. <i>S. trifasciata</i> "Green arrow" | 0,9229 |
| 3. <i>S. trifasciata</i> "Hahnii medio picta" | 0,8092 |
| 4. <i>S. trifasciata</i> "Golden hahnii" | 1,5810 |
| 5. <i>S. trifasciata</i> "Green tiger" | 0,7936 |

Tabel 3. Hasil uji kadar saponin daun *S. trifasciata* dan berbagai macam tanaman obat.

| Nama Tanaman | Kadar saponin (mg/g) | Sumber |
|---|----------------------|-----------------------|
| 1. <i>S. trifasciata</i> "Hahnii cream" | 0,4104 | Hasil penelitian |
| 2. <i>S. trifasciata</i> "Green arrow" | 0,9135 | Hasil penelitian |
| 3. <i>S. trifasciata</i> "Hahnii medio picta" | 1,0993 | Hasil penelitian |
| 4. <i>S. trifasciata</i> "Golden hahnii" | 1,7783 | Hasil penelitian |
| 5. <i>S. trifasciata</i> "Green tiger" | 0,9977 | Hasil penelitian |
| 6. <i>Plantago mayor</i> | 0,0301 | Khristyana dkk., 2005 |
| 7. <i>Gynura segetum</i> | 0,8425 | Wibawati, 2006 |
| 8. <i>Jatropha curcas</i> | 1,313 | Sugi Retno, 2008 |
| 9. <i>Talinum paniculatum</i> | 1,3571 | Suskendriyati, 2003 |
| 11. <i>Camellia sinensis</i> | 0,0500 | Rao and Sung, 2008 |
| 12. <i>Pandanus amaryfolius</i> | 0,2200 | Susana, dkk., 2003 |

Pada Tabel 2 dan Tabel 3 (No 1 -5) menunjukkan bahwa kadar saponin daun *S. trifasciata* "Golden hahnii" lebih tinggi daripada varietas lainnya demikian pula kadar saponin pada akar. Dari hasil yang diperoleh terdapat perbedaan kadar saponin dari organ daun dan akar. Pada *S. trifasciata* "Hahnii cream" dan "Green arrow" kadar saponin di akar lebih tinggi dibandingkan dengan kadar yang terdapat di daun, sedangkan pada "Hahnii medio picta", "Golden hahnii", dan "Green tiger" kadar

saponin daun lebih tinggi dibandingkan di akar. Hal ini disebabkan karena setiap varietas memiliki tingkat biosintesis metabolit sekunder yang dihasilkan berbeda pada masing-masing organnya.

Kadar saponin pada organ daun varietas *S. trifasciata* "Green arrow" tidak jauh berbeda dengan varietas "Green tiger", tetapi pada organ akar selisih kadarnya jauh mencapai 0,1293 mg/g. *S. trifasciata* "Hahnii cream" memiliki kandungan saponin terendah pada organ daun, tetapi pada akar kandungan terendah terdapat pada varietas "Green tiger". *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" memiliki kandungan saponin organ akar yang hampir sama dengan varietas "Hahnii cream" yaitu hanya berselisih 0,00376 mg/g

Meskipun terjadi perbedaan kandungan saponin antara daun dan akar tetapi selisih tersebut tidak terlalu jauh. Selisih kadar saponin pada *S. trifasciata* "Hahnii cream" antara daun dan akarnya adalah 0,4364 mg/g, di mana kadarnya lebih tinggi akar. Pada *S. trifasciata* "Green arrow" selisih kadar saponin hanya 0,0094 mg/g lebih tinggi akar dari daun. Sedangkan *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" kadar saponin daunnya yang lebih tinggi 0,2901 mg/g dibandingkan akar. Pada *S. trifasciata* "Golden hahnii" yang memiliki kadar daun 0,1973 mg/g lebih tinggi daripada akar. Demikian pula pada *S. trifasciata* "Green tiger" kadar daun lebih tinggi 0,2041 mg/g dibandingkan akar.

Tanaman lain yang mengandung saponin adalah *Plantago mayor* L. (daun sendok) dengan kadar saponin optimal adalah 0,03011 mg/g (Khristyana dkk., 2005). Tanaman *Gynura segetum* yang dikenal sebagai daun dewa memiliki kadar saponin

0,842570 mg/g (Wibawati, 2006). Tanaman *Jatropha curcas* memiliki kadar saponin optimalnya sebesar 1,313 mg/g (Sugi Retno, 2008). Tanaman *Talinum paniculatum* Gaerth. memiliki kadar saponin sebesar 1,3571 mg/g (Suskendriyati, 2003). Tanaman *Panax ginseng* memiliki kadar saponin sebesar 0,4040 mg/g (Kim *et al.*, 2005). Tanaman *Camellia sinensis* (teh) hanya memiliki kadar sebesar 0,0500 mg/l (Rao and Sung, 2008), daun pandan wangi (*Pandanus amaryfolius* Roxb) memiliki kandungan saponin sebesar 0,2200 mg/g (Susana, dkk., 2003). Dari ketujuh tanaman obat yang memiliki potensi saponin di atas, kadar *S. trifasciata* “Golden Hahnii” masih paling tinggi kandungannya yaitu 1,7783 mg/g.

Dengan mengetahui bahwa kandungan saponin pada varietas *S. trifasciata* “Golden hahnii” lebih tinggi daripada tanaman-tanaman obat yang telah diuji kadar saponinnya (Tabel 3), berarti selain berpotensi sebagai tanaman hias dengan keindahan daunnya juga dapat berpotensi sebagai tanaman obat dan dapat diaplikasikan di bidang pertanian serta industri. Hal ini dikarenakan saponin sebagai zat metabolit sekunder banyak digunakan sebagai obat antikarsinogen untuk menghambat pertumbuhan sel tumor dan menurunkan kolesterol darah (Rao and Sung, 2008). Selain itu saponin banyak digunakan untuk aplikasi di bidang pertanian, industri kosmetik dan shampo, makanan, serta dapat meningkatkan absorpsi zat-zat diuretika (garam-garam) dan merangsang ginjal untuk lebih aktif (Broto Sisworo, 1979). Beberapa obat antiinflamator dan antiendemik diketahui mengandung saponin. Beberapa saponin digunakan sebagai antitusif dan ekspektoran pada obat tradisional (Wagle *et al.*, 1999).

C. Pola Pita Isozim

Program pemuliaan suatu tanaman mensyaratkan variasi genetik yang cukup untuk memungkinkan dilakukannya seleksi dengan efisien dan efektif. Namun kebanyakan program pemuliaan tersebut sangat menekankan pada karakter kuantitatif, karena pertimbangan nilai ekonomis yang tinggi. Kendala yang sering ditemui dalam program pemuliaan untuk karakter kuantitatif adalah lamanya waktu yang dibutuhkan untuk mengevaluasi karakter tersebut secara genetik akibat adanya pengaruh lingkungan pada karakter tersebut (Zulkarnaen, 2004).

Menurut Suranto (2001) variasi genetik adalah variasi yang dapat disebabkan oleh mutasi, aliran gen, dan rekombinasi. Variasi ini diwariskan karena terjadi perubahan struktur dan komposisi kimia di dalam, sehingga sering menyebabkan terbentuknya individu yang secara genetik berbeda dengan induknya. Variasi genetik umumnya dipengaruhi oleh pola/cara reproduksi (*breeding system*) dan keseluruhan proses seleksi alam. Ciri morfologi dapat digunakan untuk mengkarakterisasi pola diversitas genetik namun sifat yang digambarkan hanya dalam proporsi kecil dari karakter genetik, oleh karena itu identifikasi variasi genetik secara molekuler dapat dilakukan antara lain dengan pola pita isozimnya karena mempunyai kelebihan karena isozim dipercayai merupakan ekspresi gen akhir. Ditinjau dari segi biaya percobaan ini memerlukan biaya yang relatif murah serta mempunyai kestabilan hasil pola pita karena tidak mudah berubah (Aradya *et al.*, 1994)

Di lain sisi, penggunaan penanda molekuler menjadi sangat penting dilakukan, karena sifatnya bebas dari pengaruh lingkungan, serta semakin tersedia

dan mudahnya teknologi untuk mengakses dan menganalisisnya. Dari penanda molekuler yang ada, isozim merupakan penanda yang paling mudah untuk menduga status keragaman genetik suatu tanaman seperti identifikasi triploid pada jeruk dengan empat sistem enzim (MDH, 6-PGD, SKDH, dan PGI) (King *et al.*, 1996), identifikasi kultivar nenas dengan enzim phosphoglucomutase (PGM) dan peroksidase (PER) (de Wald *et al.*, 1988), studi variasi pola pita protein pada varietas *Adenium obesum* (kamboja jepang) (Hastuti, 2008), studi pola pita isozim padi (*Oryza sativa*) varietas Rojolele (Widiyanti, 2007), karakterisasi beberapa varietas mangga (*Mangifera indica* L.) berdasarkan pola pita protein (Wahyuningsih, 2008) serta karakterisasi, klasifikasi, dan hubungan kekerabatan plasma nutfah nenas di Hawaii (ADH, GPI, PGM, SKDH, TPI, UGPP) (Aradya *et al.*, 1994).

Pola pita isozim telah banyak digunakan untuk identifikasi variasi genetik baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Variasi ini akibat dari peran gen yang mengarahkan pembentukan isozim yang bersangkutan. Isozim yang digunakan dalam penelitian ini adalah esterase dan peroksidase karena secara teknis mampu menghasilkan pola pita isozim yang jelas polimorfis serta telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi tanaman. Enzim-enzim tersebut mempunyai pola pita yang jelas dan polimorfis dan telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi tanaman nanas, jeruk besar, *Ranunculus nanus*, tebu (Hadiati *dkk.*, 2002; Purwanto *dkk.*, 2002; Suranto, 2001; Sugiyarta dan Murdiyatmo, 1992)

1. Enzim Peroksidase

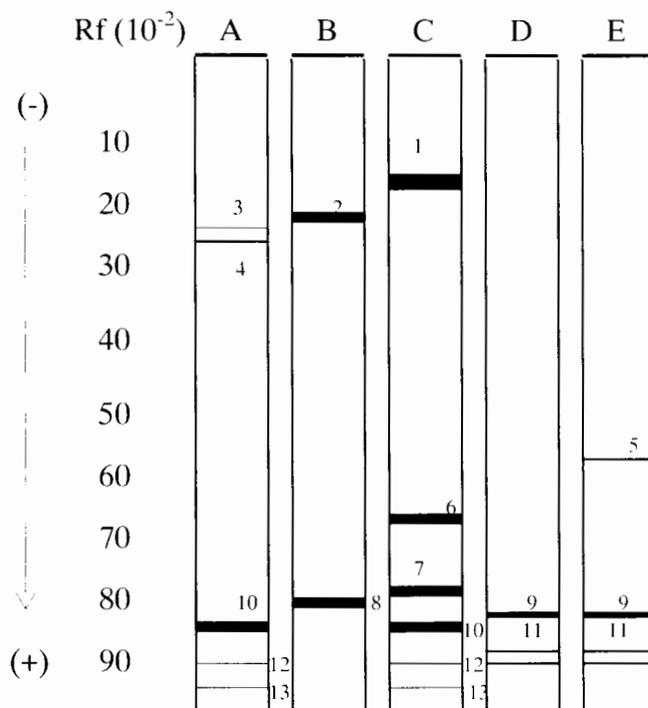
Peroksidase (PER) merupakan anggota enzim reduktase yang dianggap mempunyai hubungan nyata dengan penyebab perubahan pada rasa, warna, tekstur, dan kandungan gizi buah-buahan dan sayuran yang belum diolah (Burnette, 1977). Peroksidase pada tanaman merupakan isozim yang berperan dalam pertumbuhan, diferensiasi dan pertahanan (Gaspar *et al.*,1980). Aktivitas isozim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitasnya yang dominan pada jaringan (Touti, 1988).

Enzim peroksidase (PER) tergolong dalam kelompok oksidoreduktase. Reaksi yang terjadi dalam pewarnaan enzim adalah :



Peroksidase mengkatalis H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . substrat senyawa fenilin diamin seperti *3-amino-9etil karbazole* akan dioksidasi oleh oksigen hasil reduksi membentuk endapan berwarna merah kecoklatan (Vallejos, 1983 dalam Cahyarini, 2004). Warna merah kecoklatan yang timbul tersebut disebut pita dan berada pada jarak migrasi tertentu. Pada analisis isozim dengan menggunakan enzim Peroksidase untuk kelima varietas *S. trifasciata* ternyata menunjukkan variasi pola pita. Adanya enzim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitas dan stabilitasnya yang tinggi dan dapat mengoksidasi sejumlah substrat sebagai donor Hidrogen (Cahyarini, 2004).

Hasil analisis elektroforesis organ akar dengan menggunakan gel poliakrilamid pada isozim peroksidase pada gel tampak berwarna merah bata.



Gambar 9. Zimogram hasil elektroforesis isozim akar dari lima varietas *S. trifasciata* dengan pewarnaan peroksidase

Keterangan :
 A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

Nomor 1 s.d 13 menunjukkan posisi pita-pita pada tiap varietas tanaman yang diuji

Secara umum, pola pita isozim dari kelima varietas *S. trifasciata* tampak adanya perbedaan variasi, yang berarti terdapat perbedaan kandungan isozimnya. pola pita isozim hasil elektroforesis tersebut ditampilkan dalam bentuk zimogram (Gambar 9). Dari zimogram hasil elektroforesis isozim peroksidase organ akar, dapat diketahui bahwa isozim peroksidase menghasilkan 13 pita berdasarkan pergerakan relatif enzim

(Rf). Berdasarkan pita yang tampak, pita pertama yang muncul terdapat hanya pada varietas *S. trifasciata* "Green arrow" (C), Pita kedua pada varietas "Hahnii medio picta" (B), pita ketiga dan keempat pada varietas "Green tiger" (A), pita kelima pada varietas "Hahnii cream" (E), pita keenam dan ketujuh terdapat pada varietas "Green arrow" (C), kedelapan pada varietas "Hahnii medio picta" (B), dan pita kesembilan pada varietas "Golden hahnii" (D) dan "Hahnii cream" (E). Pita kesepuluh tampak pada kedua varietas "Green tiger" (A) dan "Green arrow" (C), kesebelas tampak di varietas "Golden hahnii" (D) dan "Hahnii cream" (E), pita keduabelas tampak pada "Green tiger" (A), "Green arrow" (C), "Golden hahnii" (D), "Hahnii cream" E, tapi tidak tampak di individu B. Terakhir pita ketigabelas tampak pada varietas "Green tiger" (A) dan "Hahnii medio picta" (B). Berdasarkan jumlah pita yang terekspresi, varietas *S. trifasciata* "Green tiger" memiliki lima pita, varietas "Hahnii medio picta" memiliki dua pita, varietas "Green arrow" memiliki enam pita, varietas "Golden hahnii" memiliki tiga pita, dan varietas "Hahnii cream" memiliki empat pita.

Metode elektroforesis digunakan dalam pemisahan enzim didasarkan pada salah satu atau kombinasi dari tiga prinsip : perbedaan atas berat molekul, perbedaan tipe muatan, dan perbedaan hidropobitasnya (Bachrudin, 1999). Metode penelitian terhadap isozim atau protein dapat dilakukan dengan alat elektroforesis vertikal yang bergerak dari arus negatif (katoda) ke positif (anoda) seperti yang terdapat pada Gambar 9 dan Gambar 11. Molekul enzim ataupun protein memiliki muatan positif atau negatif yang merupakan refleksi dari campuran asam amino – asam amino bermuatan yang dimilikinya. Apabila medan listrik dikenakan pada larutan yang

mengandung molekul enzim, maka enzim tersebut akan bergerak pada kecepatan yang tergantung pada ukuran dan bentuknya. Prinsip inilah yang dijadikan dasar teknik elektroforesis untuk memisahkan campuran enzim.

Campuran enzim ditempatkan dalam larutan berpenyangga atau gel poliakrilamida. Berbagai gugus R pada tiap enzim mengion ke tingkat tertentu, dikendalikan oleh sifat kimianya dan pH penyangga. Enzim yang banyak mengandung asam aspartat dan glutamat mempunyai muatan negatif oleh karena gugus karboksilnya terdisosiasi. Di lain pihak, enzim yang kaya akan lisin atau arginin akan bermuatan positif pada pH tersebut. Tiap enzim dalam campuran memperoleh muatan yang berbeda; dan jika perbedaan ini cukup besar, enzim dapat dipisahkan dengan aliran listrik dari elektroda negatif yang disisipkan pada ujung larutan atau gel ke elektroda positif di ujung yang lain (Salisbury and Ross, 1992)

Ada atau tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu menunjukkan ada atau tidaknya asam amino penyusun enzim yang termigrasi dan berhenti pada jarak tersebut selama proses elektroforesis (*running*). Menurut Cahyarini (2004), perbedaan jarak migrasi merupakan wujud dari perbedaan muatan dan bentuk molekul enzim. Rahayu dkk. (2006) menambahkan bahwa enzim dapat digunakan untuk menunjukkan variasi baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Variasi ini akibat dari peran gen yang mengarahkan pembentukan enzim yang bersangkutan, oleh karenanya variasi enzim dapat menggambarkan variasi gen.

Pita yang terbentuk pada gel poliakrilamid untuk enzim peroksidase ini berwarna merah bata. Ketebalan pita pada dasarnya bisa dibedakan menjadi dua,

yaitu pita yang tebal dan yang tipis. Pita tipis menunjukkan bahwa kandungan isozim tersebut kecil atau konsentrasinya sedikit. Perbedaan tebal tipisnya pita yang terbentuk disebabkan karena perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi, pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita. Pita yang memiliki kekuatan ionik lebih besar akan termigrasi lebih jauh daripada pita yang berkekuatan ionik kecil (Cahyarini, 2004).

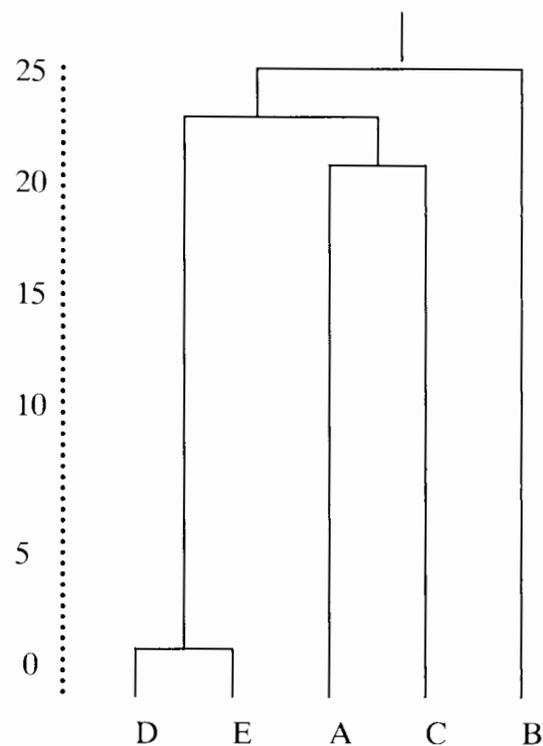
Menurut Hara dan Na-Nakorn (1996) penampakan pita enzim dipengaruhi oleh kondisi buffer seperti komposisi kimianya, pH, dan konsentrasi larutan. Larutan penyangga (*buffer*) berfungsi untuk m,enyangga terjadinya perubahan pH selama proses elektroforesis berlangsung, yaitu sebagai asam pada kutub positif (anoda) dan basa pada kutub negatif (katoda) (Haris dan Hopkinson, 1976).

Dari data biner tersebut (Gambar 6) kemudian dibuat data biner yakni nilai 1 untuk munculnya pita dan nilai nol (0) diberikan untuk ada tidaknya pita. Dengan demikian data dapat dianalisis menggunakan *Hierarchical Cluster Analysis* metode *Average linkage (Between group)* program SPSS 14.

Analisis cluster dengan menggunakan hierarki didasarkan pada konsep *treelike structure*. Konsep ini menggabungkan dua objek yang paling mirip, kemudian gabungan dua objek tersebut akan bergabung lagi dengan satu atau lebih objek yang mirip, sehingga membentuk cluster yang kemudian digambarkan dalam bentuk dendogram seperti pada Gambar 10.

Pola pita isozim akar dengan perwarnaan peroksidase dari lima varietas *S. trifasciata* kemudian dianalisa dengan Cluster Hirarki menggunakan dendogram Average linkage berdasarkan rescaled combine (Gambar 10)

Dari Gambar 10 dapat diketahui hubungan kekerabatan dari masing-masing individu. Dari dendogram tersebut diketahui *S. trifasciata* terbagi menjadi dua kelompok dimana varietas "Hahnii medio picta" (B) membentuk karakter sendiri yang terpisah dengan varietas "Green tiger" (A), "Green arrow" (C), "Golden hahnii" (D), "Hahnii cream" (E) pada skala 25. Varietas "Hahnii medio picta" ini juga tampak berbeda pada pengamatan morfologi dan sel-sel daunnya. Dua kelompok tersebut mempunyai perbedaan karakter yang sangat besar. Varietas "Golden hahnii" (D) dan "Hahnii cream" (E) memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat dibandingkan dengan varietas "Green tiger" (A) dan "Green arrow" (C). Hal ini dapat kita lihat dimana skala kekerabatan varietas "Golden hahnii" (D) dan "Hahnii cream" (E) lebih kecil dibandingkan individu "Green tiger" (A) dan "Green arrow" (C). Berdasarkan morfologi varietas "Golden hahnii" dan "Hahnii cream" memiliki bentuk, panjang, dan lebar daun yang sama, sedangkan Green tiger dan Green arrow sama dalam warna daunnya.



Gambar 10. Dendrogram pola pita isozim akar dari lima varietas *S. trifasciata* dengan pewarnaan peroksidase

Keterangan :
 A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

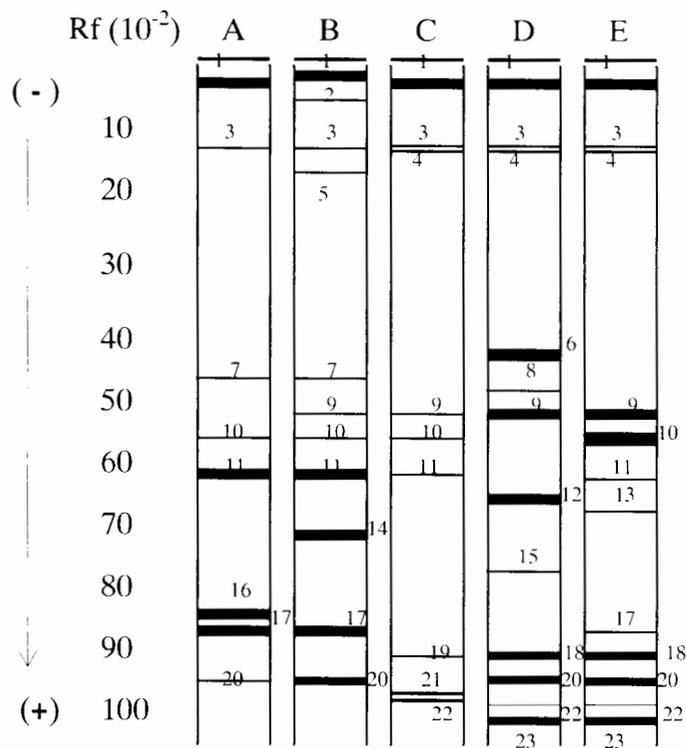
2. Isozim Esterase

Enzim esterase termasuk dalam kelas hidrolase yang reaksi spesifiknya adalah memutuskan ikatan kimia dengan menambahkan unsur air (Salisbury and Ross, 1992). Esterase merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut. Pita isozim esterase yang

tampak pada gel poliakrilamid berwarna biru tua (Subronto, 1989 *dalam* Setianto, 2001).

Esterase (EST) pada tanaman merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut (Subronto, 1986). Gaspar *et al.* (1980) menemukan dua kelompok enzim esterase dari kotiledon kedelai, yaitu E1 dan E2. E1 menghasilkan tiga pita pada anoda dengan α dan β naftil asetat, sedangkan E2 menghasilkan tiga pita pada katoda dengan β naftil asetat.

Hasil analisis elektroforesis organ akar dengan menggunakan gel poliakrilamid pada isozim esterase dapat diketahui pada gambar berikut ini :



Gambar 11. Zimogram hasil elektroforesis isozim akar dari lima varietas *S. trifasciata* dengan pewarnaan esterase

Keterangan :
 A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

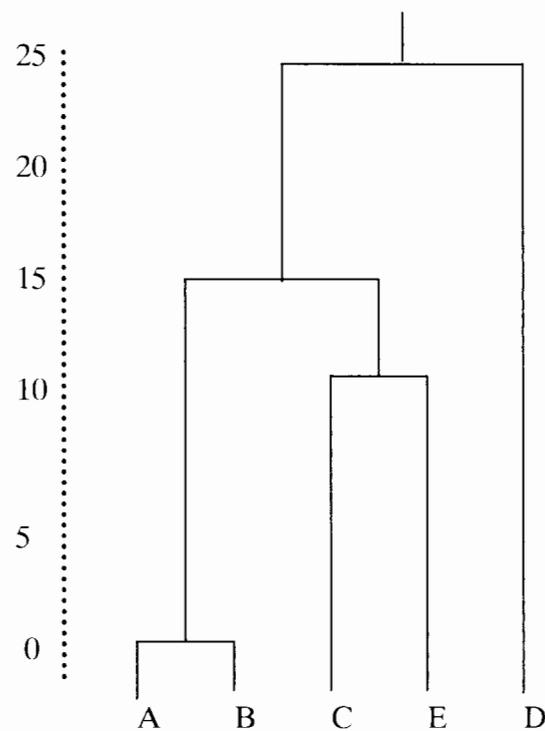
Nomor 1 s.d 13 menunjukkan posisi pita-pita pada tiap varietas tanaman yang diuji

Dari zimogram hasil elektroforesis isozim peroksidase organ akar, dapat diketahui bahwa isozim peroksidase menghasilkan 23 pita berdasarkan pergerakan relatif enzim (Rf). Pita pertama dan ketiga tampak pada seluruh individu, sedangkan pita kedua, kelima, dan keempatbelas hanya tampak pada varietas *S. trifasciata* "Hahnii medio picta" (B). Pita keempat dan keduapuluhdua tampak pada varietas

“Green arrow” (C), “Golden hahnii” (D), “Hahnii cream” (E). Pita keenam, kedelapan, keduabelas, dan limabelas hanya tampak pada varietas “Golden hahnii” (D). Pita ketujuh tampak pada varietas “Green tiger” (A) dan “Hahnii medio picta” (B), pita kesembilan dan keenambelas hanya tidak tampak pada varietas “Green tiger” (A). Pita kesepuluh dan kesebelas hanya tidak tampak pada varietas “Golden hahnii” (D). Pita ketigabelas tampak hanya pada varietas “Hahnii cream” (E) dan pita ketujuhbelas tampak pada “Green tiger” (A), “Hahnii medio picta” (B), dan “Hahnii cream” (E). Pita kedelapanbelas tampak pada varietas “Golden hahnii” (D) dan “Hahnii cream” (E), serta pita kesembilanbelas dan duapuluhsatu hanya tampak pada varietas “Green arrow” (C). Pita keduapuluh hanya varietas “Green arrow” (C) saja yang tidak muncul, dan pita terakhir tampak pada varietas “Golden hahnii” (D) dan “Hahnii cream” (E).

Berdasarkan jumlah pita yang terekspresi, varietas *S. trifasciata* “Green tiger” memiliki delapan pita, varietas “Hahnii medio picta” memiliki 11 pita, varietas “Green arrow” memiliki sembilan pita, varietas “Golden hahnii” memiliki duabelas pita, dan varietas “Hahnii cream” memiliki duabelas pita.

Pola pita isozim akar dengan perwarnaan esterase dari lima varietas *S. trifasciata* kemudian dianalisa dengan Cluster Hirarki menggunakan dendrogram *Average linkage* berdasarkan rescaled combine (Gambar 12)



Gambar 12. Dendrogram pola pita isozim akar lima varietas *S. trifasciata* dengan pewarnaan esterase

Keterangan :
 A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"

Dari Gambar 12 dapat diketahui hubungan kekerabatan dari masing-masing individu. Dari dendrogram tersebut terdapat dua kelompok di mana varietas *S. trifasciata* "Golden hahnii" (D) membentuk karakter sendiri dengan varietas "Green tiger"(A), "Hahnii medio picta" (B), "Green arrow" (C), "Hahnii cream"(E). Pada skala 15 terdapat dua kelompok lagi yaitu varietas "Green tiger"(A) & "Hahnii medio picta" (B), dengan varietas "Green arrow" (C) & "Hahnii cream"(E). Varietas

“Green tiger” (A) dan “Hahnii medio picta” (B) memiliki hubungan kekerabatan yang paling dekat karena memiliki skala yang lebih rendah dibandingkan hubungan kekerabatan antara varietas “Green arrow” (C) & “Hahnii cream”(E).

Hasil dendogram yang diperoleh antara pewarnaan peroksidase dan esterase memperlihatkan pengelompokkan yang sangat jauh berbeda. Hal ini disebabkan karena kandungan enzim peroksidase dan esterase dalam suatu individu tidak sama. Variasi pola pita isozim yang ditunjukkan oleh jarak migrasi pita juga berbeda antara pewarnaan peroksidase dan esterase juga berbeda. Ini terlihat dari jumlah pita-pita yang dihasilkan, pita isozim esterase lebih banyak daripada peroksidase. Hal tersebut dapat diperkirakan oleh beberapa hal, antara lain diperlukan konsentrasi sampel yang lebih banyak daripada enzim esterase, kemungkinan pengikatan warna isozim peroksidase sedikit terhalang oleh bahan-bahan atau materi lain yang terkandung dalam sampel misalnya karbohidrat, protein, dsb.

Berbagai jaringan yang berbeda dapat mengandung isozim yang berbeda pula dan semua isozim tersebut mempunyai afinitas terhadap substrat yang berbeda pula. Enzim peroksidase di dalam tubuh tumbuhan *S. trifasciata* memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan enzim esterase sehingga peroksidase sedikit terekspresikan pada gel.

Berdasarkan hasil elektroforesis baik dengan pewarnaan peroksidase maupun esterase, keragaman pola pita isozim lebih cenderung tergolong ke dalam keragaman kuantitatif, yaitu ada atau tidaknya pita pada gel. Sedangkan perbedaan ketebalan pita merupakan sifat kualitatif. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan jumlah dari

molekul-molekul yang termigrasi, pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita. Molekul yang mempunyai kekuatan ionik besar akan termigrasi lebih jauh daripada yang berkekuatan ionik rendah (Cahyarini, 2004).

Dari hasil zimogram dan dendogram di atas dapat menjelaskan bahwa isozim dalam penelitian ini berperan sebagai penanda genetik untuk mempelajari keanekaragaman antar individu serta mengidentifikasi varietas *S. trifasciata*. Isozim merupakan produk langsung dari gen sehingga dapat digunakan dalam mengidentifikasi varietas dan studi populasi.

Jenis dan jumlah enzim pada masing - masing organisme berbeda – beda. Jaringan yang berbeda juga dapat mengandung isozim yang berbeda, dan semua isozim ini mempunyai afinitas yang berbeda-beda terhadap substrat. Goodwin dan Mereer (1983) menjelaskan bahwa fungsi utama isozim adalah sebagai kontrol terhadap aktivitas metabolisme di dalam sel. Frekuensi perbedaan isozim pada organela yang berbeda pada sel tumbuhan.

Dari pengamatan morfologi, anatomi mikroskopis, kandungan saponin, dan analisis isozim, dapat diketahui bahwa morfologi dari *S. trifasciata* yang memiliki permukaan daun yang lebih luas, sel-sel daunnya juga lebih besar, dan memiliki kadar saponin yang tergolong tinggi seperti pada varietas "Hahnii medio picta". Varietas ini pada analisa isozim memiliki pita yang cenderung tebal baik peroksidase maupun esterase. Pada morfologi yang berdaun sempit dan tebal seperti yang terdapat pada varietas "Green arrow" memiliki sel-sel batang yang pipih dan memanjang, serta kandungan saponin yang tinggi dan pada analisis isozim pita yang terekspresi

pada gel poliakrilamid dengan pewarnaan peroksidase tebal dan banyak, sedangkan pada pewarnaan esterase cenderung tipis. Varietas "Hahnii cream" yang memiliki jumlah helaian daun paling sedikit, kandungan saponinnya paling sedikit di daun tetapi tinggi pada akar, dan pada analisis isozim pita yang terekspresi pada gel poliakrilamid cenderung tipis dan sedikit pada pewarnaan peroksidase, tetapi membentuk banyak pita pada pewarnaan esterase. Varietas "Green tiger" dan "Golden Hahnii" keduanya memiliki helaian daun yang banyak dan juga punya kandungan saponin yang tinggi. Pada analisis isozim dengan pewarnaan esterase pita dari kedua varietas banyak terekspresi pada gel poliakrilamid. Sedangkan pada perwarnaan peroksidase varietas "Golden hahnii" hanya sedikit. "Golden hahnii" ini memiliki kandungan saponin yang tertinggi, jumlah helaian daun yang banyak, dan warna yang paling mencolok yaitu hijau dan kuning.

Dari keterangan di atas dapat disimpulkan bahwa tanaman yang memiliki helaian daun yang luas dan besar memiliki sel-sel daun yang besar pula; tanaman yang memiliki helaian panjang dan sempit sel-selnya cenderung memanjang; tanaman yang memiliki warna daun terang cenderung mempunyai kandungan saponin yang tinggi.

Isozim merupakan bentuk-bentuk enzim yang berbeda yang tersebar di berbagai sel dan kompartemen subselluler yang fungsinya adalah sebagai kontrol terhadap aktivitas metabolisme di dalam tubuh tumbuhan termasuk metabolisme sekunder yang menghasilkan metabolit sekunder seperti saponin. Metabolit sekunder seperti saponin adalah suatu kompleks multienzim. Metabolit sekunder ini berasal

dari bahan organik primer yang salah satunya adalah protein yang berperan untuk kelangsungan hidup dan pertahanan. Isozim paling aktif dalam lingkungannya melaksanakan fungsinya dan membantu organisme bertahan hidup apabila lingkungan berubah. Isozim adalah enzim yang merupakan produk langsung dari gen, dan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis tanaman yang pengaturannya dikontrol secara genetik (Shanon, 1968).

Meskipun gen dalam keadaan normal bersifat stabil, akan tetapi dalam menghadapi perubahan lingkungan, gen dapat bersifat sensitif atau rentan sehingga dapat menimbulkan mutasi pada urutan basa nukleotidanya. Apabila sistem *proofreading* dari DNA untuk memperbaiki diri tidak berjalan dengan baik, maka hal ini akan berakibat pembacaan yang keliru dari *DNA template* pada saat replikasi maupun sintesis protein. Protein yang dihasilkan menjadi berubah fungsi atau bahkan menjadi *unfunctional protein* yang akan didegradasi oleh sistem dalam sel itu.

Analisis isozim adalah salah satu teknik yang secara sederhana digunakan untuk mendeteksi variasi. Deteksi pola pita isozim dilakukan berdasar pada adanya kemungkinan untuk membandingkan profil pita-pita yang dihasilkan dari individu yang berbeda. Berbagai mutasi yang terjadi pada suatu organisme mempengaruhi isozim dalam tubuh tanaman dengan berbagai cara, menghasilkan pita-pita dengan jarak pada gel poliakrilamid yang berbeda. Perbedaan ini dapat dilihat setelah dilakukan elektroforesis pada gel dan visualisasi. Aplikasi teknik ini biasa digunakan untuk mendeteksi diversitas genetik, hubungan kekerabatan, sejarah domestikasi, asal dan evolusi suatu spesies, seleksi, dan pemetaan keseluruhan genom.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap variasi morfologi, anatomi mikroskopis, pola pita isozim dan kandungan saponin dari lima varietas *Sansevieria trifasciata*, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan variasi morfologi, varietas yang memiliki jumlah helaian daun yang banyak terdapat pada "Green tiger" dan "Golden hahnii", serta yang memiliki helaian daun paling luas adalah "Hahnii medio picta". Helaian daun yang paling panjang dan sempit adalah "Green arrow". Warna akar "Green tiger", "Hahnii medio picta", dan "Green arrow" berwarna coklat, sedangkan "Golden hahnii" berwarna oranye dan "Hahnii cream" berwarna putih kekuningan. Pada anatomi mikroskopis daun, sel-sel varietas "Green tiger", "Green arrow", "Golden hahnii", dan "Hahnii cream" bentuk selnya hexagonal memanjang, sedangkan "Hahnii medio picta" berbentuk hexagonal yang besar dan lebar. Pada anatomi mikroskopis batang, hanya "Green arrow" berbentuk memanjang. Pada anatomi mikroskopis akar bentuk sel-sel penampang membujur "Golden Hahnii" dan "Hahnii cream", memiliki bentuk sel yang serupa yaitu bentuknya lebih pipih dan memanjang.
2. Kandungan saponin daun dan akar, *S. trifasciata* "Golden hahnii" lebih tinggi daripada varietas lainnya yaitu 1,7783 mg/g dan 1,5810 mg/g, dengan

demikian *S. trifasciata* dapat digolongkan sebagai salah satu tanaman obat yang sangat bermanfaat

3. Berdasarkan pola pita isozim akar, pada pewarnaan peroksidase *S. trifasciata* terbagi menjadi dua kelompok dimana varietas “Hahnii medio picta” membentuk karakter sendiri yang terpisah dengan varietas yang lainnya. Pada pewarnaan Esterase terdapat dua kelompok di mana varietas *S. trifasciata* “Golden hahnii”(D) membentuk karakter sendiri dengan varietas lainnya

B. Saran

Informasi *Sansevieria trifasciata* masih harus digali , sehingga terkumpul data yang lengkap dan pemanfaatannya lebih maksimal. Oleh karena itu penelitian *S. trifasciata* perlu ditindaklanjuti

1. Variasi pola pita isozim merupakan awal untuk mengetahui terjadinya variasi genetik *Sansevieria trifasciata*. Oleh karena itu perlu ditindaklanjuti penelitian dengan memanfaatkan data DNA atau karyotipe kromosom.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pola pita isozim dengan pengambilan sampel *S. trifasciata* pada lokasi yang berbeda
3. Pewarnaan pola pita isozim pada penelitian ini hanya menggunakan dua pewarna yaitu peroksidase dan esterase, maka perlu dilakukan penelitian pola pita isozim dengan pewarna yang lain.

- Acquaah, G. 1992. *Practical Protein Electrophoresis for Genetic Research*. Portland. Oregon : Dioscorides Press.
- Alliechio, R., C. Antonioli, L. Graziani, R. Roncarati dan C. Vannini. 1987. "Isozyme Variation in Leaf –Callus Regenerated Plants of *Solanum tuberosum*". *Plant Science*. 53 : 81-86.
- Aparicio, A, R.B. Albaladejo, M. Porras and G. Ceballos. 2000. "Isozyme evidence for natural hybridization in *Phlomis* (Lamiaceae): Hybrid origin of the rare *P.x margaritae*". *Annals of Botany* 85:7-12.
- Brotosisworo, S. 1979. *Obat Hayati Golongan Glikosida*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Cahyarini, R. D. 2004. Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Kedelai Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. *Thesis*. Program Pascasarjana Universitas Maret, Surakarta.
- Choklin, M. E. dan M. M. Smith. 1971. "Peroxidase Isozyme, a Measure of Molecular Variation in Ten Herbaceous Species of *Datura*". *American Journal of Botany* 58 (7) : 688 – 696
- Croteau, R., Katchan, T. M., Lewis, N. G. 2000. "Natural Product (Secondary Metabolites)". In B. Buchanan, W. Gruissem, B. Jones (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Pp. 1250 – 1268.
- Davidson, 2004. Saponin. <http://micro.magnet.fsu.edu/phytochemicals/pages/saponin.html>. [4 Maret 2004]
- De Wald M., G. A. Moore, and W. B. Sherman. 1988. "Identification of Pineapple Cultivar by Isozyme Genotype". *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133 (6) : 935 - 938
- Dodds, J. H. and Robert, L. W. 1983. *Experimental in Plant Tissue Culture*. New York : Cambridge University Press.
- Ellstrand, N.C. and Elam, D.R. 1993. "Population genetic consequences of small population size: Implication for plant conservation". *Annual Rev. Ecol. Syst.*(24): 217-237.

- Friedly. 2006. Saponin Glycoside. www.friedly.com/herbs/phytochem/glycosides.html. [6 Juni 2006]
- Gaspar, T., C. Penel, T. Thorpe and H. Greppin, 1980. *Peroxidases A Survey of Their Biochemical and Physiological Roles in Higher Plant*. Switzerland: University of Geneva.
- Gilman, Edward F. 1999. *Sansevieria trifasciata* "Hahnii". University of Florida, Institute of Food and Agriculture Science. *Fact Sheet FPS 534* : 1 – 3.
- Goodwin and Mereer. 1983. *Introduction to Plant Biochemistry*. London : Second Edition. Pergamon Press.
- Groombridge, B. 1992. *Global Diversity : Status of Eart 's Living Resources*. London: Chapman and Hall.
- Hadiati, Siti., dan Sukmadjaja, Deden. 2002. Keragaman Pola Pita Beberapa Aksesori Nenas berdasarkan Analisis Isozim. *Jurnal teknologi Pertanian* 7 (2) : 62 – 70.
- Hames, B. D. and Rickwood, D. 1990. *Gel Electrophoresis of Proteins*. Oxford : Oxford University Press.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern menganalisis Tumbuhan*. Bandung : Penerbit ITB.
- Hopkins, W. G. 1999. *Introduction to Pplant Physiology*. Canada : John Wiley and Sons, Inc.
- Indriani, F. C., Lita Soetopo, Sujindro dan Arifin N. Sugiharto. 2002. "Keragaman genetik palsma Nutfah Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan Beberapa Spesies yang Sekerabat Berdasarkan Analisis Isozim". *Biosains* 2(1) : 29 - 39
- Ishak, M., 1991, *Isolasi dan Identifikasi Saponin Akar Krokot Belanda Asal Kab. Wojo*, Ujung Pandang : FMIPA, Universitas Hasanudin,.
- Jones, S. B. dan A. L. Luchsinger. 1986. *Plant Systematics*, Second Ed. New York : Mc Graw-Hill Book Company Inc.
- Julisaniah, Nur Indah. 2002. *Studi Tentang Pola Pita Protein dan Isozim dari Varietas Kacang tanah (Arachis hypogea) terhadap Infeksi Peanut Stripe*

- Virus (PStV) dengan Metode Elektroforesis* [Thesis]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Karp, A., O. Seberg, dan M. Buiatti. 1996. "Molecular Techniques in The Assessment of Botanical Diversity". *Annals of Botany* 78 : 146-149.
- Khristyana, L., Anggarwulan, E., dan Marsusi. 2005. "Pertumbuhan Kadar Saponin dan Nitrogen Jaringan Tanaman Daun Sendok (*Plantago Mayor* L.) pada Pemberian Asam Giberelat (GA₃)". *Biofarmasi* 3(1):11-15
- Kim, Jung Hea., Chang, Eun., Jung and Oh, Hoon-II. 2005. "Saponin Production in Submerged Adventitious Root Culture of *Panax ginseng* as Affected by Culture Conditions and Elicitors". *Asia Pasific of Journal Molecular* 13 (2) : 87-91
- King, B. J., L. S. Lee and P. T. Scott. 1996. "Identification of Triploid *Citrus* by Isozyme Analysis". *Euphytica* 99 : 223-231
- Kurz, W. G.W., dan Constabel. F. 1991. "Produksi dan Isolasi Metabolit Skunder". Dalam C. R. Wetter dan F. Constabel (Ed). *Metode Kultur Jaringan Tanaman*(diterjemahkan oleh Widiyanto, Mathilda, B). Bandung : Penerbit ITB.
- Komisi Nasional Plasma Nutfah. 1997. *Pemuliaan Tanaman Pangan*. Jakarta : Komisi Plasma Nutfah.
- Lee, D. W. Dan Paranjothy. 1974. "New Technique in Crop Improvement". *Planter*. 50 : 295 – 306.
- Lehninger, A. L. 1990. *Dasar-dasar Biokimia* (diterjemahkan oleh Maggy Thenawijaya). Jilid I. Jakarta : Erlangga.
- Lestari, Asriati Asih. 2005. *Kajian Morfologi Tribus Alpineae Berdasarkan Sifat Morfologi Serbuk Sari dan Pola Pita Isozim*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami* (diterjemahkan oleh Koesoemadiyah). Semarang : IKIP Semarang Press
- McDonald, B. A. dan J. M. McDermot. 1993. "Population Genetics of Plant Pathogenic Fungi". *Bioscience* 43 (5) : 311 – 319

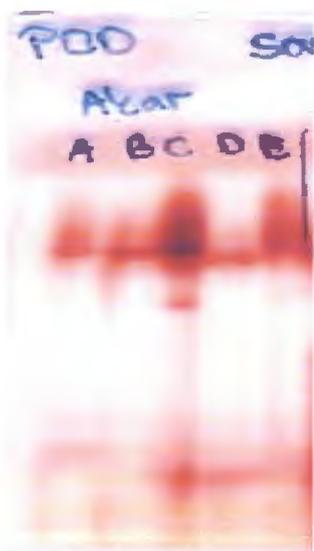
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes dan V. W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper* (diterjemahkan oleh Andry Hartono). Jakarta : EGC.
- Papadopoulou, K., Melton, R. E., Leggeff, M., Daniels, M. J., and Osbourne, A. E. 1999. "Compromise Disease Resistance in Saponin – Deficient Plants". *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96(22):12923 – 12928.
- Purwanto, E., Sukaya, A. Setianto, H. Santoso, 2002. "Identifikasi Berdasarkan Penanda Isozim terhadap Plasma Nutfah Jeruk Besar (*Citrus maxima* Merr.) di Blora, Jawa Tengah". *Biosmart* 4 (22): 44-47.
- Purwanto, Arie W. 2006. *Sansevieria*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Rao, A. V., Sung, M. K. 2008. " Nonisoflavone Soybean Anticarcinogens : Saponins as Anticarcinogens". *Journal of Nutrition* 27 : 717-724
- Riesenberg, L. H., P. M. Peterson, D. E. Soltis dan C. R. Annable. 1987. "Genetic divergence and isozyme number variation among four varietas of *Allium douglassi* (Alliaceae)". *American Journal of Botany* 74 (11) : 1614 – 1624.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik tumbuhan Tingkat tinggi*. Bandung : Penerbit ITB
- Rothe, G. M. 1994. *Electrophoresis for Enzymes*. Laboratory Methods. . Berlin : Springer-Verlag.
- Ruth, H. J. and G, Blaschre. 1985. *Analisis Farmasi* (diterjemahkan oleh Sarjono Kisman dan Slamet Ibrahim). Yogyakarta : UGM Press.
- Santoso, S. 2004. *Pengolahan Data Statistik dengan SPSS 11.5*. Jakarta.
- Salisbury, F. B., and C. W. Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan* (diterjemahkan oleh Diah R. Lukman dan Sumaryono). Jilid 2. ITB. Bandung.
- Savage, J. M. 1995. "Systematic and The Biodiversity Crisis". *Bioscience* 45 (10): 673 – 679.
- Shannon, L. M. 1968. "Plant Isozymes". *Ann. Rev. Plant Physiology* 19:187-210.
- Slamet dan Suhargono. 2000. *Sains Biologi 3*. Jakarta : Bani Aksara.
- Stover, Hermine. 1983. *Sansevieria Book, First Edition*. California : Endangered Species Press.

- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi* (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro). Bandung : ITB press.
- Sudarmono. 2005. "Konservasi tumbuhan dengan pendekatan genetik populasi". *INOVASI 4 (XVII):33-35*
- Sudarmono. 2006. "Pendekatan Konservasi Tumbuhan dengan Teknik Molekuler Elektroforesis". *INOVASI 7 (18)*
- Sugiyarta, E. dan Untung Murdiyatmo. 1992. "Stabilitas Isoenzim Peroksidase untuk Identifikasi Varietas Tebu *Saccharum species*". *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi*. Bogor. Hal 118 – 125.
- Sumastuti, R. 1999. "Efek Anti radang Infas Daun dan Akar Som Jawa (*Talinum Paniculatum* Gaerth.) Pada Tikus Putih *In vitro*". *Warta Tumbuhan Obat Indonesia 5 (4) : 15 – 17*
- Suranto. 1991. *Studies of Population Variation in Spesies of Ranunculus*. (M. Sc. Thesis). Hobart : Departement of Plant Science- University of Tasmania.
- Suranto. 2000. "Electrophoresis Studies of *Ranunculus triplodontus* Populations". *Biodiversitas. 1 (1) : 1 – 7*
- Suranto, 2001. "Isozyme Studies on The Morphological Variation of *Ranunculus nanus* population". *Agrivita 3 (2):139-146*.
- Suranto. 2002. "Cluster Analysis of *Ranunculus* Spesies". *Biodiversitas 3 (1) : 201 – 206*.
- Suranto. 2002. "The Early Application of Electrophoresis of Protein in Higher Plant Taxonomy". *Biodiversitas 3 (2) : 257 - 262*
- Suranto. 2007. *Prospek Pemanfaatan Sumber-Sumber Bukti Baru dalam Pemecahan Permasalahan Taksonomi Tumbuhan*. Surakarta : Program Studi Biosains. Pascasarjana Universitas Sebelas Maret.
- Suryowinoto, S. M. 1997. *Flora Eksotika Tnaman hias*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Susanna, Dewi., Rahman, A., dan Pawenang, Eram Tunggul. 2003. "Potensi Daun pandan Wangi untuk Membunuh Larva *Aedes Aegypti* Larvae". *Jurnal Ekologi Kesehatan 2 (2) : 228 - 231*

- Suskendriyati, H. 2003. "Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum Paniculatum* Gaerth. Dengan Variasi Pemberian Sumber Karbon". *Skripsi*. UNS. Surakarta
- Thebbaut, C. dan R. J. Abbott. 1995. "Characterization of Invasive Consa spesies (Asteraceae) in Europe; Quantitative Frait and Isozyme Analysis". *American Journal of Botany* 82 (3) : 360 – 368
- Touti, D. 1988. "Molecular Genetic of SOD Free Radical". *Biol. Med* 5 : 393 – 405.
- Vallejos, C. E. 1983. "Enzyme Activity Staining "in S. D. Tanskley and T.J. Orton. *Isozyme in Plant Genetic and Breeding Part A*. Elsevier. p : 469 – 519
- Wagle, A., Keklar, G. D., and Heble, M. R. 1999. "Production of Steroid and Saponin". In K. G. Ramawat and J. M. Merillon (eds.). *Biotechnology Secondary Metabolites*. Science Publishers Inc. USA. Pp. 219 – 235.
- Wibawatai, Rafika Husna. 2006. pertumbuhan dan Kandungan Saponin daun Gynura segetum (Lour.) Mer. Pada Pemberian Air yang Berbeda [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Widyanti. 2007. *Studi Variasi Morfologi Biji, Serbuk Sari, dan Pola Pita isozim Padi (oryza sativa) Varietas Rojolele* [Thesis]. Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Wyatt, R and S.B. Broyles. 1992. "Hybridization in North American Asclepias III. Isozyme evidence". *Systematic Botany* 17(4): 640-648.
- Zulkarnaen, Iskandar Siregar. 2004. Keragaman Genetik Pohon Plus Mahoni (*Swietenia macrophylla*) di Jawa Tengah dan Jawa Timur Berdasarkan Analisa Isozim. *Thesis*. Program Pascasarjana IPB Press, Bandung.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Pola Pita Isozim dengan Pewarnaan Peroksidase dan Esterase Akar *Sansevieria trifasciata*



Peroksidase



Esterase

Keterangan :
A = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"
B = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
D = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
E = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"

Lampiran 2. Tabel Data biner Pola Pita Isozim Akar *S. trifasciata* dengan Pewarnaan Peroksidase

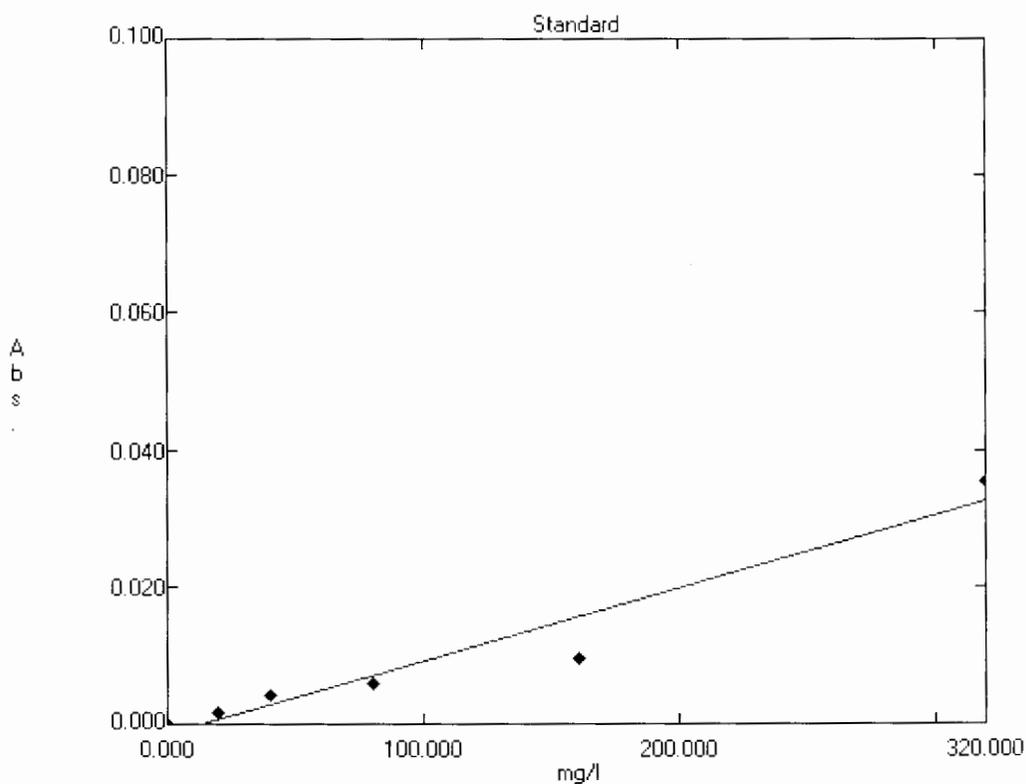
| Rf | A | B | C | D | E |
|-------|---|---|---|---|---|
| 0,164 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,218 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,236 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,545 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0,673 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,764 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,8 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,818 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 0,836 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,855 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 0,873 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,891 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Keterangan : A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"
1 = Pita protein pada posisi tertentu muncul
0 = Pita protein pada posisi tertentu tidak muncul

Lampiran 3. Tabel Data biner Pola Pita Isozim Akar *S. trifasciata* dengan Pewarnaan Esterase

| Rf | A | B | C | D | E |
|-------|---|---|---|---|---|
| 0,018 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,036 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,109 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,127 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 0,145 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,436 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 0,454 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,491 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 0,509 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,545 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 0,618 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 0,655 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 0,691 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0,709 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0,782 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 0,836 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,873 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 0,891 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 0,909 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,927 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 0,936 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0,945 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 0,982 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

Keterangan : A = *Sansevieria trifasciata* "Green tiger"
 B = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii medio picta",
 C = *Sansevieria trifasciata* "Green arrow"
 D = *Sansevieria trifasciata* "Golden hahnii"
 E = *Sansevieria trifasciata* "Hahnii cream"
 1 = Pita protein pada posisi tertentu muncul
 0 = Pita protein pada posisi tertentu tidak muncul

Lampiran 4. Gambar Grafik Kadar Saponin Daun Lima Varietas *S. trifasciata*

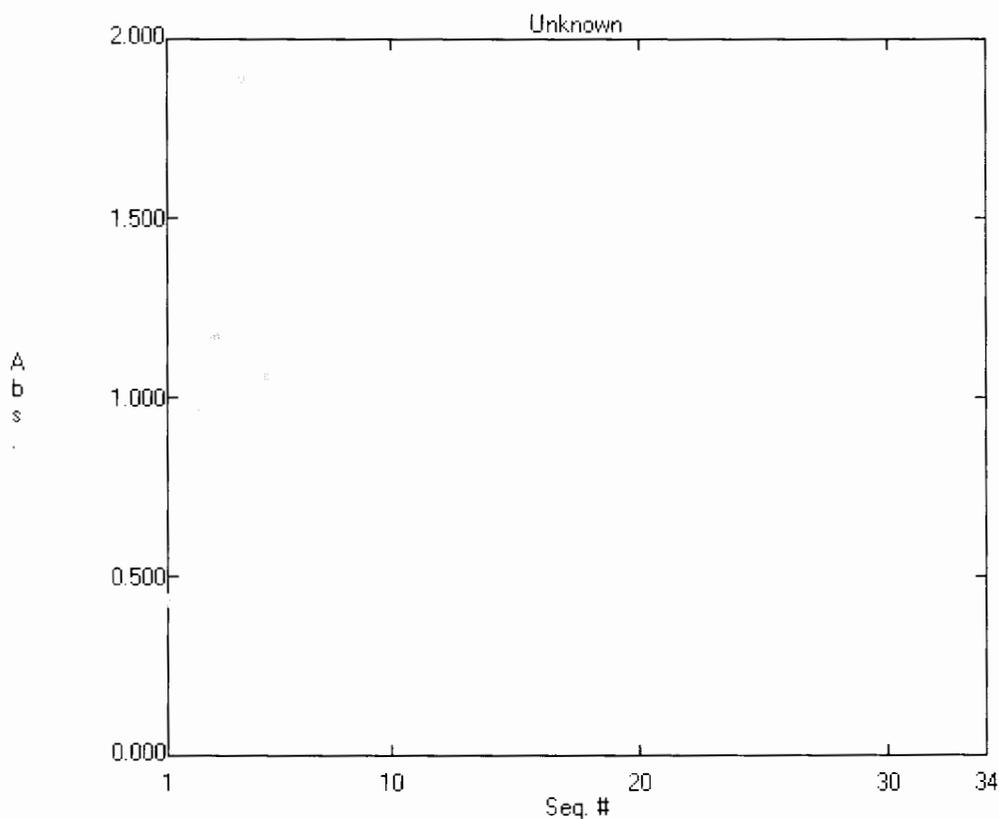
Multi-Point Working Curve

 $\text{Conc} = k1 \text{ A} + k0$ $k1 = 9413 \quad k0 = 14.07$

Chi-Square: 0.00361

Number of Points: 6

| Std # | Conc. | Abs. |
|-------|--------|-------|
| 1 | 0.0000 | 0.000 |
| 2 | 20.000 | 0.002 |
| 3 | 40.000 | 0.004 |
| 4 | 80.000 | 0.006 |
| 5 | 160.00 | 0.009 |
| 6 | 320.00 | 0.036 |



Multi-Point Working Curve

$$\text{Conc} = k_1 A + k_0$$

$$k_1 = 9413 \quad k_0 = 14.07$$

Wavelength: 365.0

Slit Width: 2.0

Multi-Point Working Curve

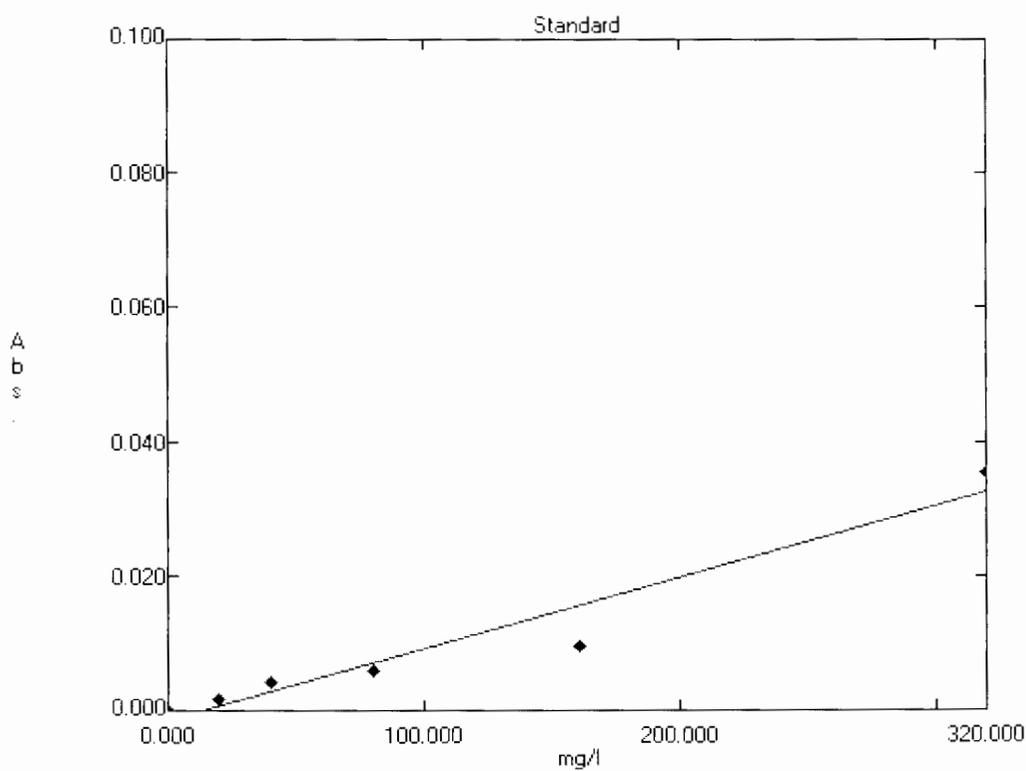
$$\text{Conc} = k_1 A + k_0$$

$$k_1 = 9413 \quad k_0 = 14.07$$

Chi-Square: 0.00361

Number of Points: 5

| ID | Conc. | Abs. |
|----|-------|-------|
| 1 | 4104. | 0.435 |
| 2 | 9135. | 0.969 |
| 3 | 10993 | 1.166 |
| 4 | 17783 | 1.888 |
| 5 | 9977. | 1.05 |

Lampiran 5. Grafik Kadar Saponin Akar Lima Varietas *S. trifasciata*

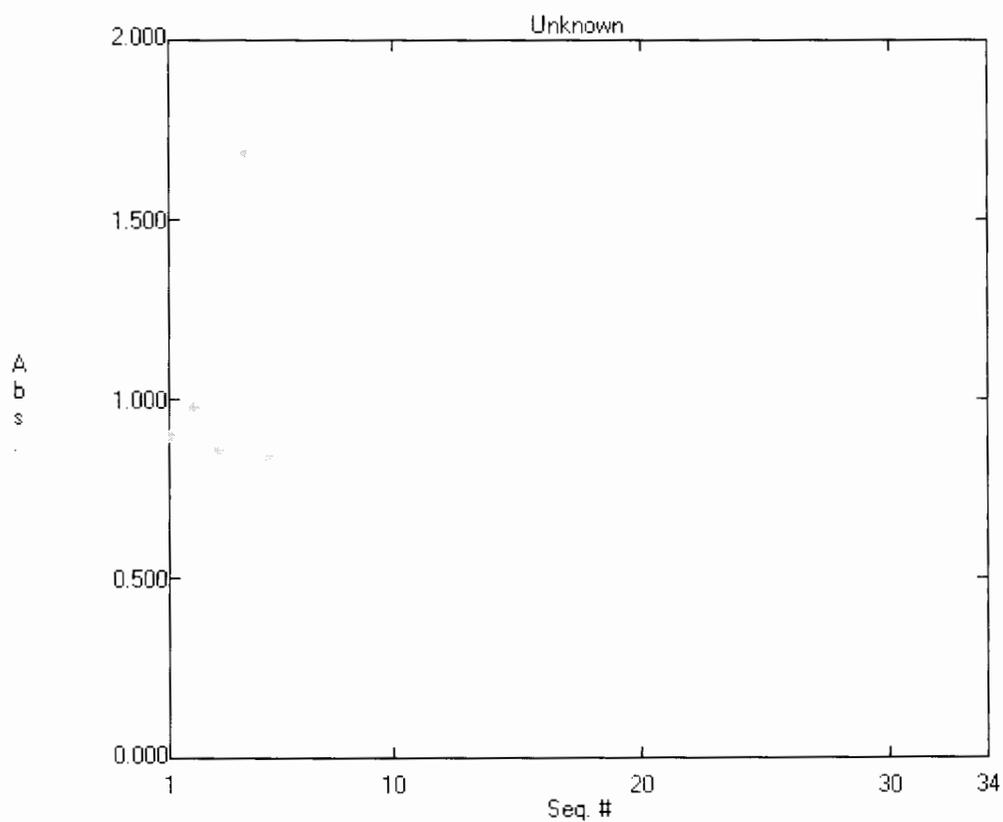
Multi-Point Working Curve

 $\text{Conc} = k_1 A + k_0$ $k_1 = 9413 \quad k_0 = 14.07$

Chi-Square: 0.00361

Number of Points: 6

| Std # | Conc. | Abs. |
|-------|--------|-------|
| 1 | 0.0000 | 0.000 |
| 2 | 20.000 | 0.002 |
| 3 | 40.000 | 0.004 |
| 4 | 80.000 | 0.006 |
| 5 | 160.00 | 0.009 |
| 6 | 320.00 | 0.036 |



Wavelength: 365.0
Slit Width: 2.0

Multi-Point Working Curve
Conc = k1 A + k0
k1 = 9413 k0 = 14.07

Multi-Point Working Curve
Conc = k1 A + k0
k1 = 9413 k0 = 14.07

Chi-Square: 0.00361
Number of Points: 5

| ID | Conc. | Abs. |
|----|-------|-------|
| 1 | 8468. | 0.898 |
| 2 | 9229. | 0.979 |
| 3 | 8092. | 0.858 |
| 4 | 1581 | 1.678 |
| 5 | 7936. | 0.842 |