

## BAB VI. PEMBAHASAN

### 6.1. Penelitian Tahap 1 : Hubungan Faktor Lingkungan dan Nutrisi Dalam Tanah Dengan Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* Alami

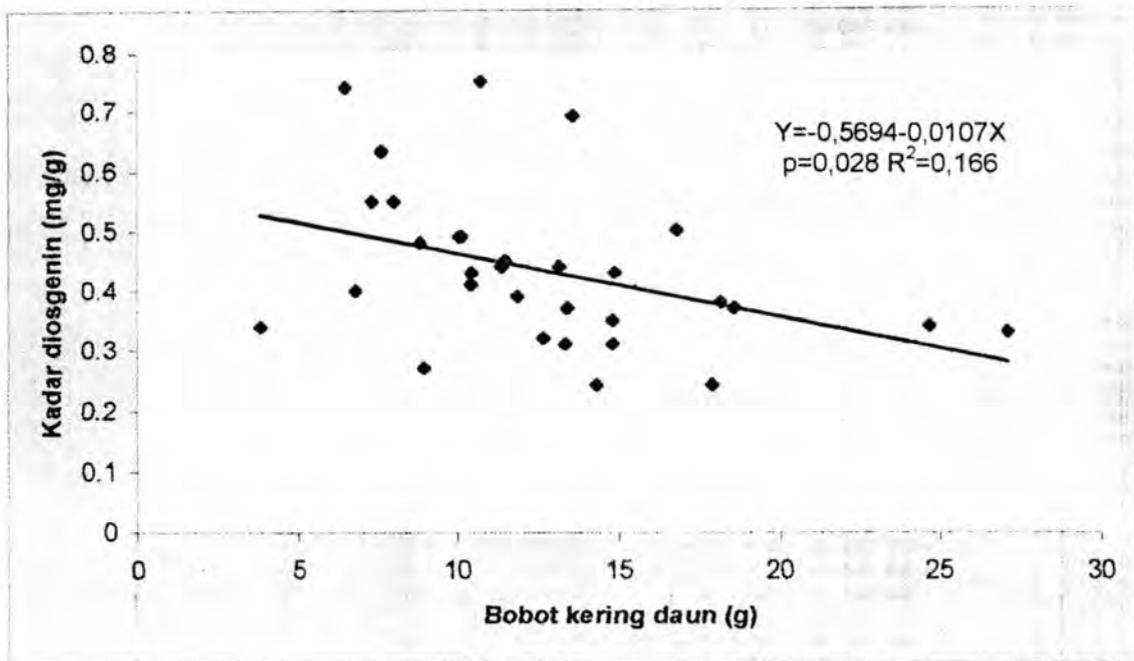
#### 6.1.1. Karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami

##### a. Biomassa tanaman

Karakteristik tanaman *Costus speciosus* yang diperoleh memiliki nilai luas daun berkisar antara 806,66 cm<sup>2</sup>/rumpun hingga 5303,21 cm<sup>2</sup>/rumpun, bobot kering daun 3,89 g/rumpun hingga 27,08 g/rumpun, bobot kering batang 19,54 g/rumpun hingga 83,24 g/rumpun, bobot kering rimpang 17,38 g/rumpun hingga 47,40 g/rumpun, bobot kering akar 1,20 g/rumpun hingga 6,14 g/rumpun, total biomassa tanaman 52,57 g/rumpun hingga 120,48 g/rumpun, serta kadar diosgenin rimpang 0,24 mg/g hingga 0,75 mg/g dan total diosgenin antara 3,87 mg/rumpun hingga 24,52 mg/rumpun (Tabel 5.1 dan Tabel 5.6).

Bila dibandingkan dengan hasil penelitian Lubis dan Sastrapradja (1984), kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* dapat mencapai 1,5-2,1 persen, maka tanaman *Costus speciosus* alami yang diperoleh kadarnya masih relatif lebih rendah. Rendahnya kandungan diosgenin tersebut dimungkinkan karena pada tanaman yang tumbuh alami tersebut tumbuh tanpa adanya pengolahan tanah dan pemupukan, serta umur tanaman yang bervariasi. Sedangkan pada penelitian Lubis dan Sastrapradja (1984) tanaman *Costus speciosus* yang dipanen telah berumur 2-3 tahun, dilakukan pemupukan dan pengolahan tanah yang optimal sehingga kadar diosgenin pada rimpang lebih tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar diosgenin dipengaruhi secara nyata oleh bobot kering daun. Hubungan antara bobot kering daun dengan kadar diosgenin (Lampiran 8) berupa persamaan regresi linier  $Y = -0,5694 - 0,0107X$  ( $p=0,028$  dan  $R^2=0,166$ ) seperti disajikan pada Gambar 6.1



Gambar 6.1. Grafik hubungan antara bobot kering daun dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

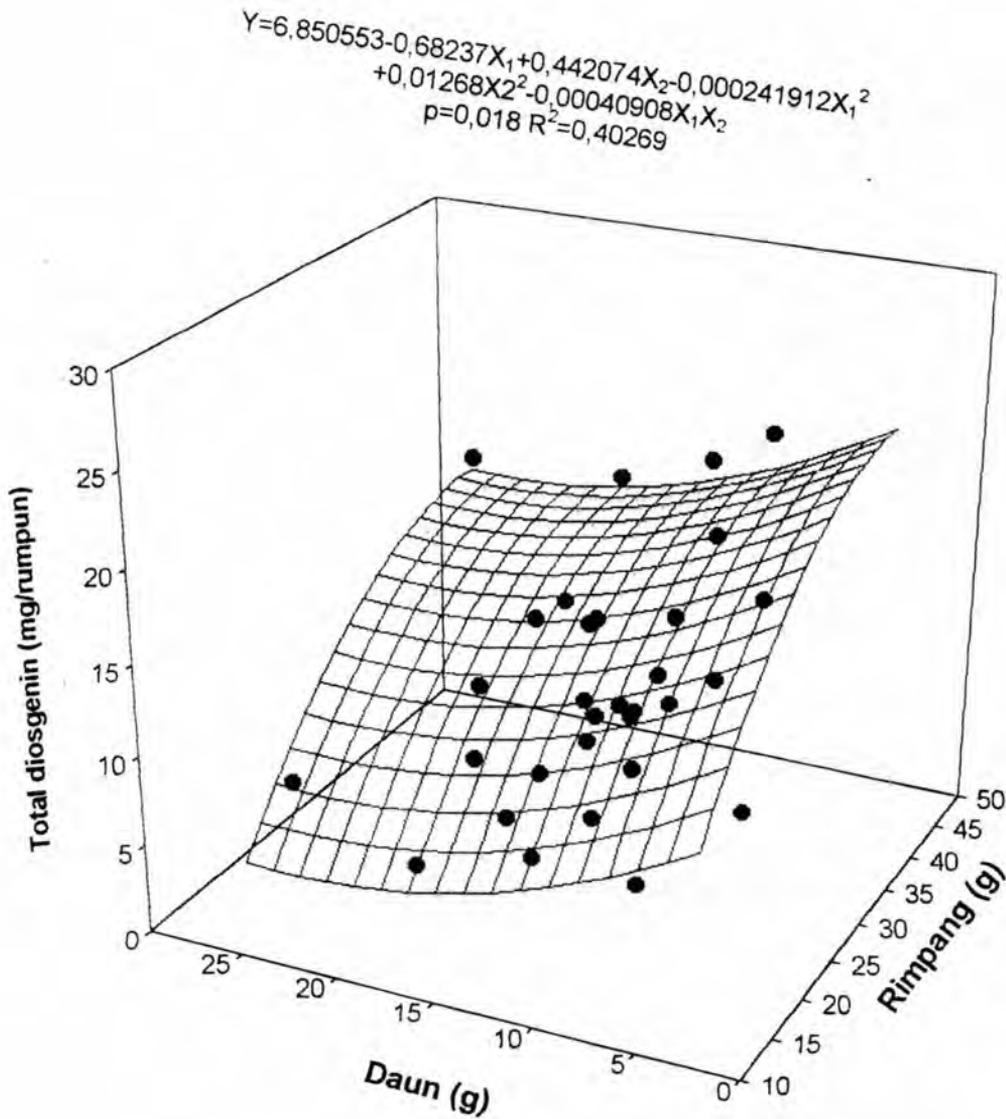
Semakin besar bobot kering daun menyebabkan semakin rendah kandungan diosgenin rimpang. Bobot kering daun merupakan salah satu indikator untuk mengetahui pertumbuhan tanaman. Karena bobot kering daun ditentukan oleh luas permukaan dan ketebalan daun, maka makin tinggi bobot kering berarti makin besar pula aktivitas pertumbuhan tanaman, yang sering disebut sebagai fase pertumbuhan logaritmik. Pada tahap ini sebagian besar hasil metabolit primer digunakan untuk pembentukan jaringan tanaman.

Akibatnya metabolit sekunder diosgenin yang dihasilkan masih rendah, sehingga kandungan diosgenin dalam rimpang masih rendah.

Kemungkinan kedua selain tanaman masih pada fase pertumbuhan logaritmik, adalah akibat perbedaan tingkat keracunan tanaman oleh nutrisi mikro tembaga, semakin besar tingkat keracunan semakin rendah bobot kering daun. Perilaku tersebut diperkuat oleh Alva, Graham dan Tucker (1993), yang menyatakan bahwa semakin besar tingkat keracunan akan menyebabkan bobot kering daun semakin rendah.

Bila dihubungkan dengan total diosgenin tanaman, total diosgenin pada rimpang dipengaruhi sangat nyata oleh bobot kering daun dan rimpang tanaman *Costus speciosus* alami. Hubungan antara bobot kering daun dan rimpang terhadap total diosgenin (Lampiran 12) berupa persamaan regresi kuadrat  $Y = 6,850553 - 0,68237 X_1 + 0,442074 X_2 - 0,000241912X_1^2 + 0,01268X_2^2 - 0,00040908X_1X_2$  ( $p=0,018$  dan  $R^2=0,40269$ )  $X_1$  adalah bk rimpang dan  $X_2$  bk daun seperti disajikan pada Gambar 6.2. Semakin besar bobot kering daun semakin rendah total diosgenin, akan tetapi semakin besar rimpang akan menyebabkan semakin besar pula total diosgenin pada rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami. Jika dilakukan pendekatan nilai korelasi, terlihat bahwa bobot kering rimpang mempunyai korelasi sangat nyata dengan bobot kering akar ( $r=0,469$  dan  $p=0,008$ ) dan total biomassa tanaman ( $r=0,456$  dan  $p=0,010$ ), akan tetapi tidak nyata dengan bobot kering daun ( $r=0,065$  dan  $p=0,728$ ) seperti pada Lampiran 13.

Hubungan antara bobot kering akar dengan bobot kering rimpang adalah sebagai berikut, semakin tinggi bobot kering akar semakin tinggi pula



Gambar 6.2. Grafik hubungan antara bobot kering rimpang dan daun terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

bobot kering rimpang. Perilaku tersebut bertentangan dengan Alva, Graham dan Tucker (1993) yang menyatakan semakin besar tembaga yang diserap

oleh tanaman akan menyebabkan bobot kering akar justru semakin rendah. Dari fenomena tersebut diduga tingginya total diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami bukan hanya disebabkan oleh tingkat peracunan nutrisi mikro, akan tetapi juga disebabkan oleh faktor lain yaitu besarnya rimpang.

Bila dihubungkan dengan total biomassa tanaman, ada hubungan semakin tinggi total biomassa semakin tinggi pula bobot kering rimpang dan semakin tinggi pula total diosgenin. Diduga bahwa tingginya total diosgenin pada rimpang tersebut selain disebabkan oleh kadar diosgenin, juga disebabkan oleh umur tanaman yang identik dengan bobot kering rimpang. Dalam penelitian ini walaupun sudah dilakukan penyeragaman *Costus speciosus* dengan batasan jumlah batang 4-5 dan tinggi 75-150 cm, umur tanaman yang sebesarnya sulit diketahui karena tanaman tumbuh secara alami. Adanya umur tanaman yang semakin tua menyebabkan total biomassa tanaman juga semakin tinggi, dan total diosgenin pada rimpang juga semakin tinggi. Total biomassa lebih mencerminkan umur tanaman dibandingkan dengan bobot kering daun, hal tersebut disebabkan daun mengalami regenerasi secara berkala, sedangkan total biomassa merupakan akumulasi bobot antara akar, rimpang, batang dan daun. Di samping itu tanaman *Costus speciosus* batangnya beruas tidak bercabang, sehingga jumlah daunnya relatif sama kecuali ada penambahan jumlah batang.

#### **b. Nutrisi mikro daun**

Bila dibandingkan antara tanah dan tanaman, terlihat bahwa kadar kelima jenis nutrisi mikro logam pada daun lebih tinggi dibandingkan kadar nutrisi tersedia pada tanah, hal tersebut menunjukkan telah terjadi

akumulasi kadar logam dalam tanaman. Kandungan kation  $Al^{3+}$  tersedia pada tanah 10,7-74,6 ppm (kadar pada daun 15,3-85,7 ppm),  $Mn^{2+}$  tersedia pada tanah 18,3-184,5 ppm (kadar pada daun 8,1-149,6 ppm),  $Zn^{2+}$  tersedia pada tanah 2,9- 40,7 ppm (kadar pada daun 26,7-91,8 ppm),  $Cu^{2+}$  tersedia pada tanah 3,9-28,8 ppm (kadar pada daun 10,9-42,2 ppm),  $Fe^{2+}$  tersedia pada tanah antara 37,4-1075,0 ppm (kadar pada daun 50,8-395,3 ppm) seperti pada Tabel 5.6.

Menurut Smith (1966) dalam Bidwell (1979), kadar nutrisi besi dalam tanaman tersebut berada pada tingkat optimum sampai berlebihan, dinyatakan bahwa untuk logam besi optimum dengan kisaran 50-120 ppm, tinggi 130-200 ppm dan menimbulkan eksekse bila di atas 250 ppm.

Berdasarkan pada kadar nutrisi mikro pada daun tanaman *Costus speciosus* terlihat bahwa  $Cu^{2+}$  berada pada tingkat kurang (5-12 ppm) hingga berlebihan ( $> 20$  ppm), dan  $Zn^{2+}$  berada pada tingkat optimum (25-49 ppm) hingga tingkat tinggi (50-200 ppm). Kisaran nutrisi mikro pada daun tersebut menunjukkan bahwa sebagian tanaman *Costus speciosus* alami yang diteliti telah berada pada kondisi mengalami cekaman/keracunan akibat tingginya kandungan nutrisi mikro pada daun dan kadar nutrisi mikro tersedia pada tanah. Dengan kondisi tumbuh tersebut berarti telah terjadi akumulasi metabolit sekunder diosgenin pada rimpang *Costus sopeciosus*, akibat nutrisi mikro pada daun.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat hubungan yang nyata antara kadar nutrisi mikro ( $Al^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  dan  $Zn^{2+}$ ) pada daun dengan kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang. Tidak terdapat hubungan nyata tersebut disebabkan kadar nutrisi mikro pada daun tersebut bukan merupakan indikator keracunan yang baik bagi tanaman *Costus speciosus*. Diperkuat oleh

Alva, Graham dan Tucker (1993), yang menyatakan bahwa indek keracunan terhadap logam tembaga yang baik untuk tanaman jeruk adalah kadar tembaga pada akar, bukan pada daun. Dijelaskan bahwa pada tanaman jeruk mandarin Cleopatra, hubungan antara kadar Cu daun dengan kadar Cu tersedia tanah berupa persamaan  $Y = 7,14 + 0,057 X$  ( $R^2=0,169$  dan  $p=0,01$ ), sedangkan antara kadar Cu akar dengan Cu tersedia tanah berupa  $Y = -3,81 + 8,22 X$  ( $R^2=0,813$  dan  $p=0,001$ ) seperti pada Lampiran 18.

### 6.1.2. Lingkungan tumbuh *Costus speciosus* Alami

Lingkungan tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami (liar) ditemukan pada ketinggian 100 m sampai 2.838 m dpl, sedangkan menurut Van Steenis (1978), Lubis dan Sastrapradja (1984) tempat tumbuh tanaman tersebut antara 1 m hingga 1.200 m dpl. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman *Costus speciosus* mempunyai kisaran tempat tumbuh yang lebih luas, yaitu dapat tumbuh dengan baik pada tanah dengan ketinggian 2.838 m dpl., sehingga potensi tanaman tersebut untuk dikembangkan mempunyai kisaran daerah yang cukup luas.

Ketinggian tempat berhubungan dengan intensitas cahaya dan suhu lingkungan. Pengaruh intensitas cahaya telah diteliti oleh Huang dan Grundwal (1989), mereka menyatakan bahwa pada biosintesis metabolit sekunder penggabungan mevalonat kedalam sterol akan lebih cepat dengan adanya cahaya, sehingga akan terjadi demetilasi 4,4-dimetil sterol. Akan tetapi pada intensitas cahaya yang tinggi justru akan mengakibatkan fotoinhibisi dalam proses fotosintesis (Kok, 1956; Critkley dan Smillie, 1981; Langenheim *et al.*, 1984; Oberbauer dan Strain, 1985 dalam Kamaludin dan Grace, 1992).

Kelembaban relatif lingkungan mikro tanaman yang diperoleh berkisar antara 42 persen hingga 64 persen. Kelembaban relatif berpengaruh terhadap transpirasi tanaman, semakin rendah kelembaban menyebabkan semakin besar penguapan air oleh daun, besarnya proses transpirasi akan berpengaruh terhadap kecepatan metabolisme dalam tanaman semakin menurun. Rendahnya kelembaban relatif tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* disebabkan pengadaaan sampel dalam percobaan dilakukan pada musim kering, yaitu bulan Juni 1995 sampai dengan bulan Desember 1995. Kelembaban relatif ini akan lebih besar apabila pengukuran kelembaban dilakukan pada musim hujan atau dengan kelembaban relatif rerata tahunan, yang merupakan rerata antara kelembaban pada musim kering dan musim penghujan.

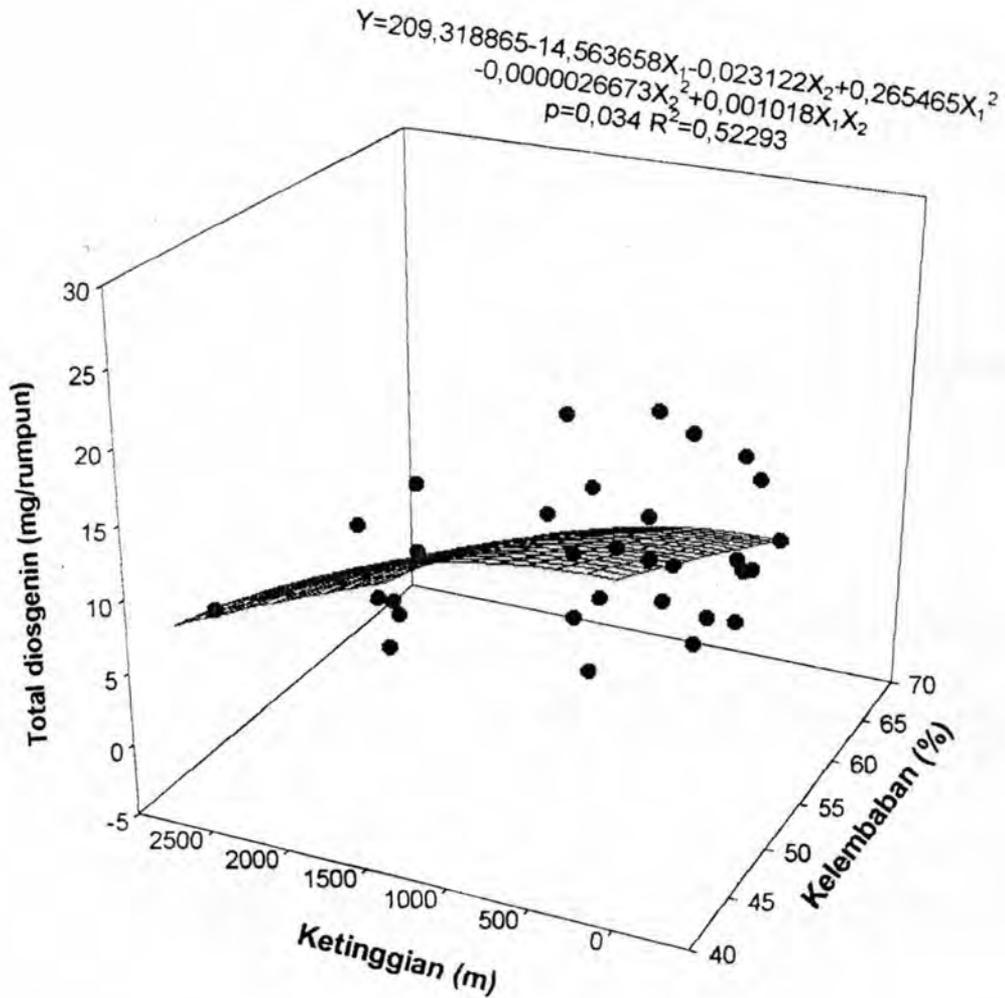
Suhu mikro tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* berkisar antara 24,5° C hingga 32° C. Suhu mikro akan berpengaruh terhadap kecepatan metabolisme tanaman. Pada suhu yang rendah akan menurunkan aktivitas metabolisme dan fungsi fisiologis tanaman (Alberdi dan Corcuera, 1991), sehingga dengan adanya perbedaan tempat tumbuh akan menyebabkan perbedaan pertumbuhan tanaman yang pada akhirnya juga akan mempengaruhi kandungan diosgenin tanaman *Costus speciosus* alami. Hal tersebut diperkuat oleh hasil penelitian Midmore dan Prance (1992) yang menunjukkan bahwa pada suhu yang tinggi akan menurunkan NAR (*net assimilation rate*) dan kecepatan pertumbuhan relatif pada tanaman *Solanum*.

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang nyata antara lingkungan yang terdiri dari suhu, kelembaban dan ketinggian tempat terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* ( $p=0,326$ ), akan tetapi kelembaban mikro dan ketinggian tempat berpengaruh nyata ( $p=0,005$ )

tempat berpengaruh nyata ( $p=0,005$ ) terhadap total diosgenin. Hubungan antara kelembaban dan ketinggian tempat terhadap total diosgenin (Lampiran 23) berupa persamaan regresi kuadrat  $Y = 209,318865 - 14,563658X_1 - 0,023122X_2 + 0,265465X_1^2 - 0,0000026673X_2^2 + 0,001018X_1X_2$  ( $p=0,0347$  dan  $R^2=0,52293$ ),  $X_1$  kelembaban dan  $X_2$  ketinggian tempat tumbuh tanaman seperti disajikan pada Gambar 6.3.

Pada gambar terlihat bahwa semakin tinggi kelembaban dan semakin tinggi tempat tumbuh menyebabkan semakin menurun total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami. Kadar diosgenin merupakan jumlah diosgenin yang berada pada setiap gram matriks rimpang *Costus speciosus* yang dinyatakan dalam satuan mg/g, sedangkan total diosgenin merupakan jumlah dalam setiap rimpang tanaman, yang dinyatakan dalam satuan mg/rimpang tanaman. Kelembaban mikro berhubungan dengan jumlah uap air yang ada di udara sekitar tanaman, kelembaban tersebut dipengaruhi oleh uap air udara, air pada permukaan tanah. Dalam mencapai keseimbangan, akan terjadi perembesan air dalam tanah menuju ke permukaan tanah dan selanjutnya akan terjadi penguapan ke udara, dan sebaliknya bila terjadi hujan. Oleh sebab itu terdapat hubungan antara kadar air dalam tanah dengan kelembaban udara sekitar.

Semakin meningkat kelembaban mikro lingkungan akan menyebabkan penurunan total diosgenin tanaman, walaupun kadar diosgeninnya tidak berbeda nyata. Hubungan antara kelembaban relatif dengan kadar diosgenin dan total diosgenin tersebut adalah sebagai berikut, semakin meningkat kelembaban diduga kecepatan pertumbuhan tanaman semakin tinggi sehingga



Gambar 6.3. Grafik hubungan antara kelembaban relatif mikro lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

total biomassa tanaman meningkat. Meningkatnya kecepatan pertumbuhan menyebabkan aktivitas metabolisme dalam pembentukan metabolit sekunder semakin rendah, hal tersebut menyebabkan total diosgenin semakin rendah.

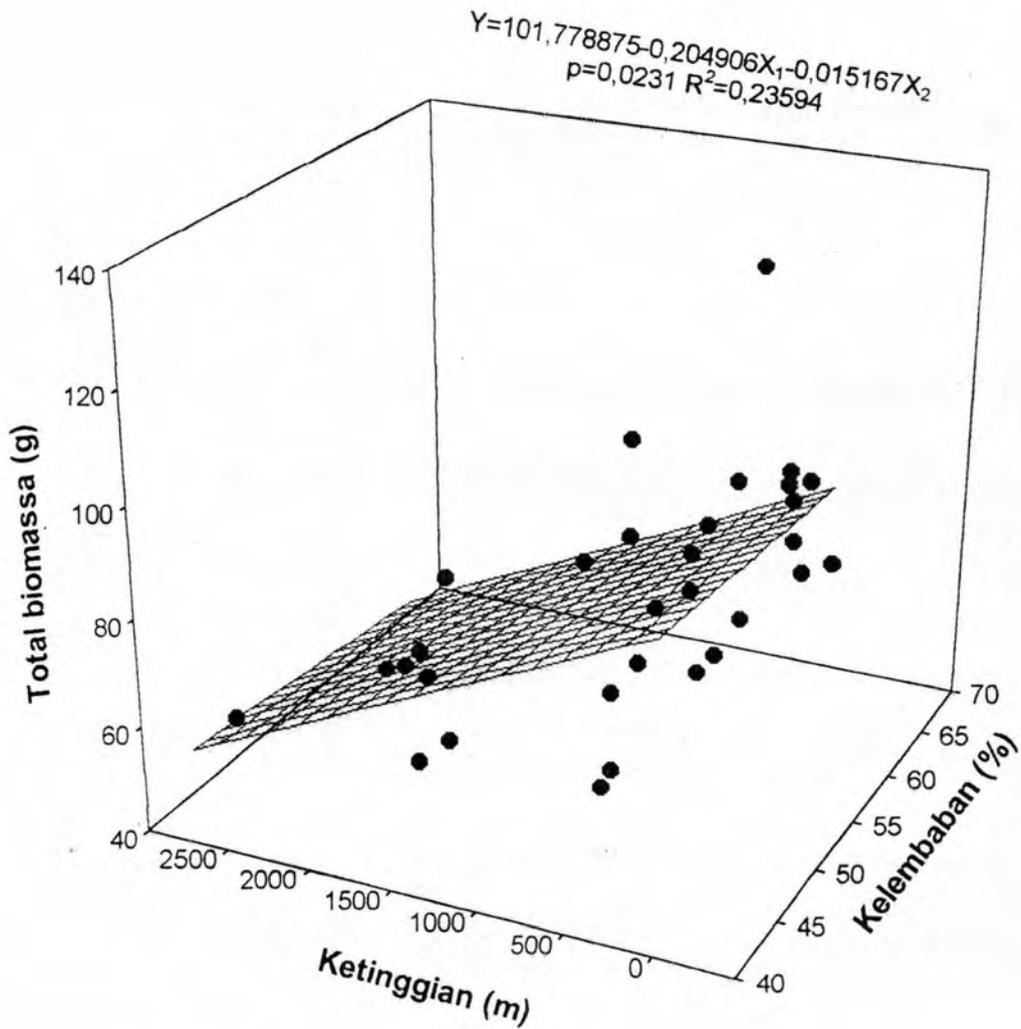
Tingginya kecepatan pertumbuhan tanaman *Costus speciosus* akibat meningkatnya kelembaban diperkuat oleh Lampiran 24, Kelembaban dan ketinggian tempat berpengaruh nyata ( $p=0,0231$ ) terhadap total biomassa

tanaman. Hubungan negatif antara kenaikan kelembaban dan ketinggian tempat terhadap total biomassa tanaman, nyata pada model linier ( $p=0,0231$  dan  $R^2=0,23594$ ) dengan persamaan  $Y = 101,778875 - 0,204906X_1 - 0,015167X_2$  ( $X_1$  kelembaban dan  $X_2$  ketinggian tempat) seperti disajikan pada Gambar 6.4.

Diduga rendahnya kelembaban mikro tempat tumbuh tanaman disebabkan oleh kadar air tanah yang rendah, rendahnya kadar air tanah tersebut menyebabkan cekaman pada tanaman, dengan adanya cekaman akan menyebabkan akumulasi metabolit sekunder diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* sehingga kadar total diosgenin semakin besar. Perilaku tersebut diperkuat oleh pendapat Stefanov *et al.* (1992), yang menyatakan bahwa jumlah air tanah berpengaruh terhadap kecepatan biosintesis metabolit sekunder. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada defisit air 50 persen akan menyebabkan perubahan komposisi sterol pada tanaman *Herbelea rhodopensis*, sedangkan pada defisit air 87 persen komposisi sterolnya menyerupai tanaman segar tanpa defisit air.

Pada tanaman *Costus speciosus* yang diamati, diduga telah terjadi defisit air pada tanah antara 50 hingga 87 persen, sehingga total diosgeninnya meningkat. Hal tersebut disebabkan pengadaan contoh tanaman *Costus speciosus* dilakukan pada musim kemarau antara bulan Juni hingga Desember 1995, sehingga nilai kelembaban relatif lingkungan tumbuh yang terukur rendah.

Ketinggian tempat berpengaruh terhadap suhu mikro dan intensitas cahaya, hasil analisis menunjukkan tidak terdapat pengaruh nyata ketinggian tempat terhadap kadar diosgenin, akan tetapi berpengaruh nyata terhadap total diosgenin. Pengaruh ketinggian tempat tersebut tidak diikuti oleh



Gambar 6.4. Grafik hubungan antara kelembaban relatif mikro lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total biomassa tanaman *Costus speciosus* alami

suhu lingkungan, suhu lingkungan tidak berpengaruh nyata terhadap total diosgenin.

Hal tersebut bertentangan dengan hasil penelitian terdahulu, tidak terdapatnya pengaruh lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat) terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus*, dimungkinkan karena rentang variasi suhu lingkungan tempat tumbuh tanaman kurang lebar hanya antara 24,5° C hingga 32° C. Suhu tersebut belum mewakili nilai rerata tahunan, hal tersebut disebabkan pengukuran suhu dilakukan pada musim kering. Diduga pengaruh lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat) akan semakin nyata bila pengukuran suhu dilakukan pada musim kemarau dan musim hujan, atau menggunakan rerata suhu tahunan.

### 6.1.3. Karakteristik tanah tempat tumbuh *Costus speciosus*

#### a. Nutrisi makro

Nutrisi makro terdiri dari bahan organik yang tersusun dari C, H, O, N, S dan P, serta bahan anorganik yang terdiri dari K, Ca dan Mg. Menurut Stevenson (1985) bahan organik yang banyak terdapat dalam tanah adalah asam humat.

Kandungan C-organik total pada tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami berkisar antara 0,26 persen hingga 4,42 persen. C-organik pada tanah berasal dari perombakan bahan organik, utamanya dari tumbuh-tumbuhan. Menurut Syekhfani (1998), senyawa organik yang tahan lapuk dalam tanah terdiri dari senyawa humus, senyawa tersebut tersusun dari poliuronida dan lignin sebagai komponen utama. Dijelaskan bahwa kandungan komponen C-organik memegang peran penting dalam menentukan

kesuburan tanah, namun demikian sebagai indikator kesuburan tanah lebih ditentukan oleh nisbah C/N.

Kandungan N total tanah berkisar antara 0,07 persen hingga 1,28 persen. Nitrogen merupakan salah satu nutrisi makro yang besar pengaruhnya terhadap kecepatan pertumbuhan tanaman. Menurut Landon (1986) dalam Syekhfani (1998), kandungan N tanah dinyatakan kurang apabila  $<0,1$  persen, rendah bila kadarnya 0,1-0,2 persen, sedang antara 0,2 persen hingga 0,5 persen, tinggi antara 0,5 persen hingga 1,0 persen dan sangat tinggi bila  $> 1$  persen.

Dari 31 lokasi pengambilan contoh tanah seperti pada Tabel 5.4, sebanyak 5 lokasi kandungan N total kurang ( $<0,1$  persen), 17 lokasi berada pada level rendah (0,1-0,2 persen) dan sisanya berada pada tingkat cukup ( $>0,2$  persen). Rendahnya kandungan N tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh liar, bukan mutlak berarti tanaman tidak tumbuh secara optimal. Rendahnya kandungan N tanah tersebut disebabkan pengambilan contoh dilakukan pada musim kering, sehingga kandungan N tanah relatif lebih kecil tidak sebesar apabila dilakukan pada musim hujan.

Menurut Syekhfani (1998), salah satu penyebab terjadinya penambahan nitrogen pada tanah berasal dari air hujan, selain dari pelapukan bahan organik, penambatan  $N_2$  atmosfer oleh bakteri *Rhizobium* bersimbiose dengan *Leguminosae*, penambatan  $N_2$  atmosfer nonsimbiotik oleh jasad mikro tanah oleh *Azobacter* dan *Clostridium*, gas  $N_2$  atmosfer oleh ganggang biru bersimbiose dengan paku *Azolla*, terbawa asap gunung berapi dan pemupukan baik organik maupun anorganik. Diduga bila pengukuran pengambilan contoh dilakukan pada musim hujan, kadarnya akan meningkat, sehingga tingkat N dalam tanah diduga cukup untuk pertumbuhan tanaman *Costus speciosus*.

Nilai nisbah C/N tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* berkisar antara 5 hingga 15. Nisbah C/N merupakan indikator terhadap ketersediaan bahan organik dalam tanah bagi pertumbuhan tanaman. Menurut Syekhfani (1998), kisaran normal nisbah C/N bagi pertumbuhan tanaman sebesar 10 hingga 15, dan semakin tinggi nilainya semakin jelek bagi pertumbuhan tanaman. Pada Tabel 5.4 terlihat bahwa bahan organik tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami yang diperoleh berada pada tingkat kecukupan bagi pertumbuhan tanaman. Cukupnya kebutuhan bahan organik tersebut menunjukkan aktivitas metabolisme primer dalam hal ini pembentukan jaringan tanaman berjalan dengan optimal, karena tak satupun tanah yang mempunyai nilai nisbah C/N > 15. Hal tersebut memperkuat dugaan bahwa kandungan nitrogen pada tanah telah berada pada tingkat kecukupan bagi pertumbuhan tanaman *Costus speciosus*.

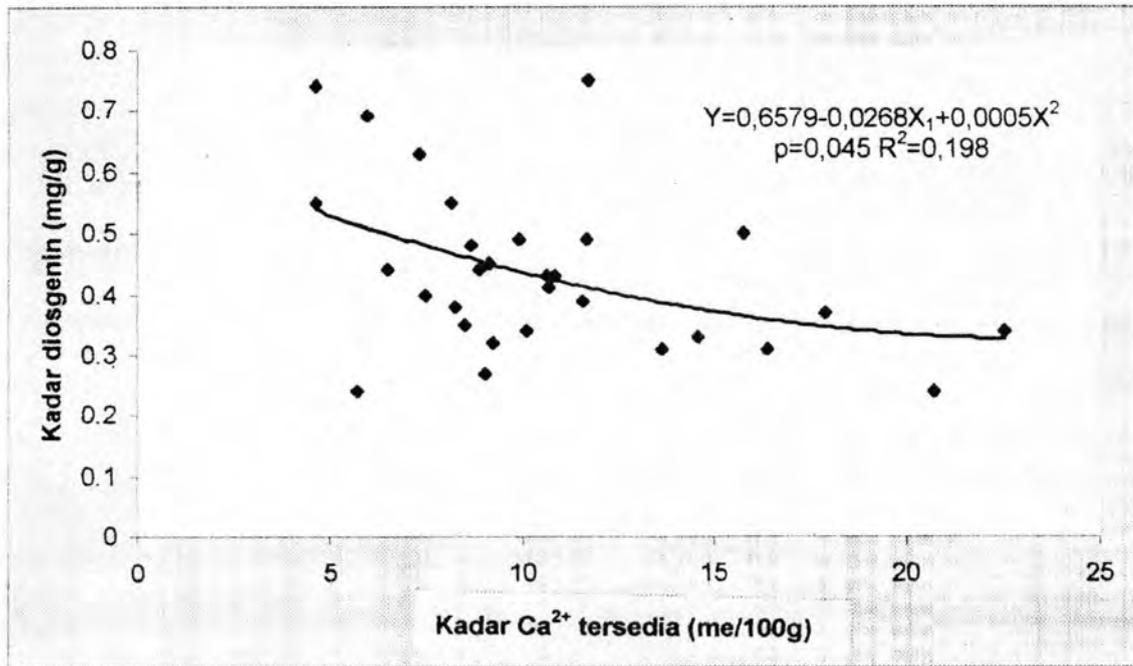
Kandungan P tersedia tanah berkisar antara 4 ppm hingga 125 ppm, fosfor merupakan unsur kedua setelah nitrogen sebagai nutrisi yang penting bagi pertumbuhan tanaman. Dalam tanaman fosfor berperan pada proses pembungaan, perkembangan akar dan ketahanan terhadap serangan penyakit. Menurut Landon (1984) dalam Syekhfani (1998) untuk tanaman yang kebutuhan fosfornya sedang, fosfor dalam tanah dianggap cukup apabila > 14 ppm. Dari 31 lokasi pengambilan contoh sebanyak 13 lokasi kekurangan fosfor, hal tersebut menunjukkan bahwa sebanyak 58 persen lokasi telah terpenuhi kebutuhan fosfornya, sehingga kecepatan pertumbuhan berjalan dengan normal. Salah satu sifat dari fosfor selain sebagai unsur penting dalam pertumbuhan adalah dalam bentuk ion mudah sekali berikatan dengan kation  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  membentuk ikatan kompleks yang mengendap.

Terbentuknya senyawa kompleks tersebut menyebabkan fosfor maupun unsur mikro (logam) sulit diserap oleh tanaman.

Berdasarkan pada kandungan C, N, P dan nisbah C/N, sebagian besar bahan organik tersebut telah mencukupi kebutuhan tanaman *Costus speciosus* alami untuk pertumbuhannya secara normal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak satupun nutrisi makro organik yang berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami. Perilaku tersebut sesuai dengan pendapat Shetty dan Curtis (1955), yang menyatakan bahwa metabolit sekunder tidak ada kaitannya dengan metabolit primer dan juga tidak berperan langsung dengan proses fisiologis tanaman.

Sementara itu salah satu nutrisi makro anorganik,  $\text{Ca}^{2+}$  tersedia berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang *Costus speciosus*. Hubungan antara kadar  $\text{Ca}^{2+}$  tersedia dengan kadar diosgenin (Lampiran 28) berupa persamaan  $Y = 0,5737 - 0,0127 X$  ( $p=0,045$  dan  $R^2=0,198$ ) seperti pada Gambar 6.5, sedangkan hubungan antara  $\text{Ca}^{2+}$  tersedia tanah dengan total diosgenin (Lampiran 31) berupa persamaan  $Y = 15,618 - 0,3282 X$  ( $p=0,046$  dan  $r^2=0,180$ ) seperti disajikan pada Gambar 6.6.

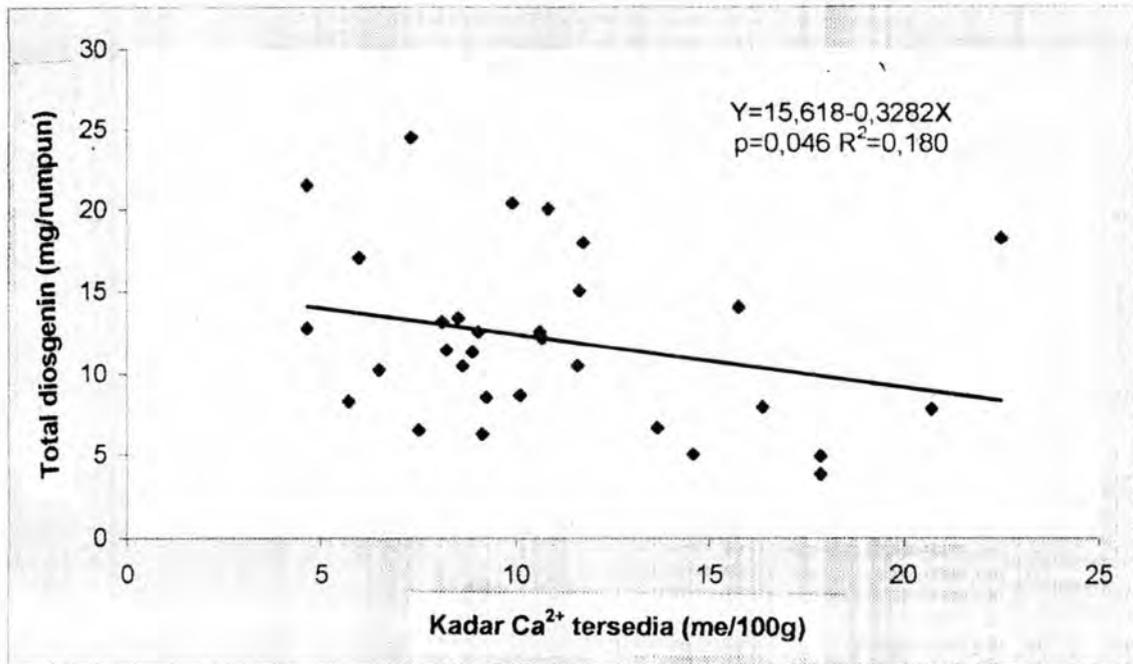
Perilaku tersebut sesuai dengan pernyataan Indrayanto *et al.* (1996), yang menyatakan bahwa ion  $\text{Ca}^{2+}$  menghambat pembentukan hekogenin pada tanaman *Agave amaniensis* Trel-Nowell. Semakin tinggi kadar  $\text{Ca}^{2+}$  pada tanah akan menyebabkan penurunan kadar diosgenin dan total diosgenin, perubahan tersebut disebabkan semakin tinggi kadar  $\text{Ca}^{2+}$  semakin rendah kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang dapat diserap oleh akar tanaman *Costus speciosus*. Rendahnya  $\text{Cu}^{2+}$  yang terserap oleh tanaman menyebabkan tingkat keracunan yang dialami semakin rendah, sehingga kadar diosgenin dan total diosgenin juga semakin rendah.



Gambar 6.5. Grafik hubungan antara kadar Ca<sup>2+</sup> tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Perilaku antara kalsium dan tembaga pada tanah tersebut diperkuat oleh Alva, Graham dan Tucker (1993), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa penambahan Ca pada tanah akan menurunkan kadar Cu pada akar tanaman jeruk, selanjutnya ditambahkan pula bahwa pemberian Ca sekitar akar dapat mengurangi efek keracunan akibat Cu. Akan tetapi berdasarkan Lampiran 28, ternyata kenaikan Ca<sup>2+</sup> pada tanah tidak berpengaruh nyata ( $p=0,2572$ ) terhadap kadar Cu<sup>2+</sup> pada daun tanaman *Costus speciosus* alami. Tidak nyatanya pengaruh akibat kenaikan Ca<sup>2+</sup> tanah terhadap status Cu<sup>2+</sup> daun tersebut disebabkan daun bukan merupakan indek peracunan kation

logam  $\text{Cu}^{2+}$ , seperti hasil penelitian Alva, Graham dan Tucker (1993). Disamping itu penyebab kedua diduga disebabkan oleh umur tanaman yang tidak sama, sehingga waktu akumulasi  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanaman berbeda.



Gambar 6.6. Grafik hubungan antara kadar  $\text{Ca}^{2+}$  tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Peran  $\text{Ca}^{2+}$  terhadap kadar diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* telah pula diteliti oleh Emiliawati (1994), hasil percobaan menunjukkan bahwa  $\text{Ca}^{2+}$  berpengaruh terhadap kadar diosgenin kultur tunas. Dinyatakan pula bahwa kadar diosgenin tertinggi dicapai pada kalus yang berumur 6 minggu, sedangkan pada minggu ke 8 hingga ke 10 mengalami penurunan. Pada penelitian ini karena tanaman telah berumur lebih dari enam bulan, maka

adanya kenaikan  $\text{Ca}^{2+}$  pada tanah cenderung menurunkan kadar diosgenin pada rimpang.

### b. Nutrisi mikro

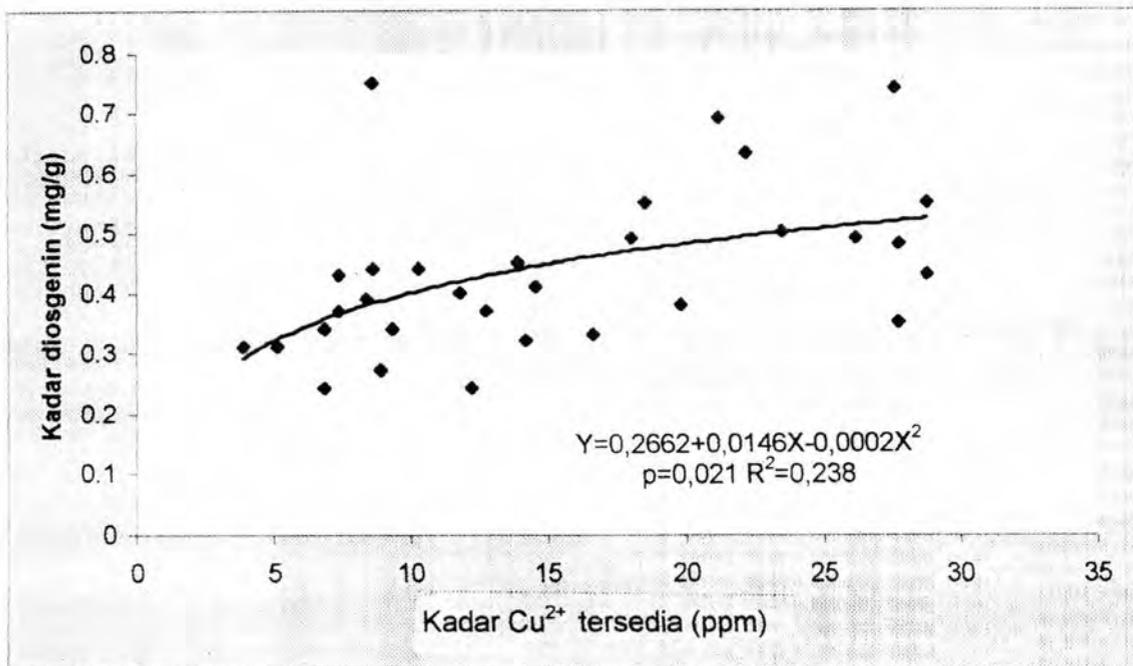
Kondisi nutrisi mikro dalam tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* berada pada tingkat kekurangan hingga berlebihan. Pada Tabel 5.6, nilai rerata kadar kation  $\text{Al}^{3+}$  tersedia pada tanah yang ditumbuhi oleh tanaman *Costus speciosus* alami berkisar antara 10,7 ppm hingga 74,6 ppm,  $\text{Fe}^{2+}$  37,4 ppm hingga 1075,0 ppm,  $\text{Mn}^{2+}$  18,3 ppm hingga 184,5 ppm,  $\text{Zn}^{2+}$  9 ppm hingga 40,7 ppm dan  $\text{Cu}^{2+}$  3,9 ppm hingga 28,8 ppm. Kadar tersebut merupakan kisaran normal dalam tanah.

Menurut Sillanpaa (1972) dan Uritani (1975), kisaran normal untuk seng tersedia dalam tanah antara 5-30 ppm, sedangkan tembaga tersedia antara 20-40 ppm. Lebih lanjut Soepartini *et al.* (1973) dalam Syekhfani (1985) membagi seng dan tembaga tersedia dalam tanah menjadi 5 tingkat. Kadar seng rendah sekali bila  $<5$  ppm, rendah 5-10 ppm, sedang 10-15 ppm, tinggi 15-20 ppm dan tinggi sekali bila  $>20$  ppm. Sedangkan untuk tembaga rendah sekali bila  $<4$  ppm, rendah antara 4- 8 ppm, sedang 8-12 ppm, tinggi 12-15 ppm dan tinggi sekali bila  $>15$  ppm.

Status nutrisi mangan berada pada tingkat kurang sampai berlebihan, kekurangan bila  $<18$  ppm, rendah 18-24 ppm, optimum 25-49 ppm, tinggi 50-500 ppm dan menimbulkan ekses (cekaman/keracunan) bila lebih dari 100 ppm.

Hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia dalam tanah dengan kadar diosgenin (Lampiran 35) rimpang *Costus speciosus* alami berupa persamaan

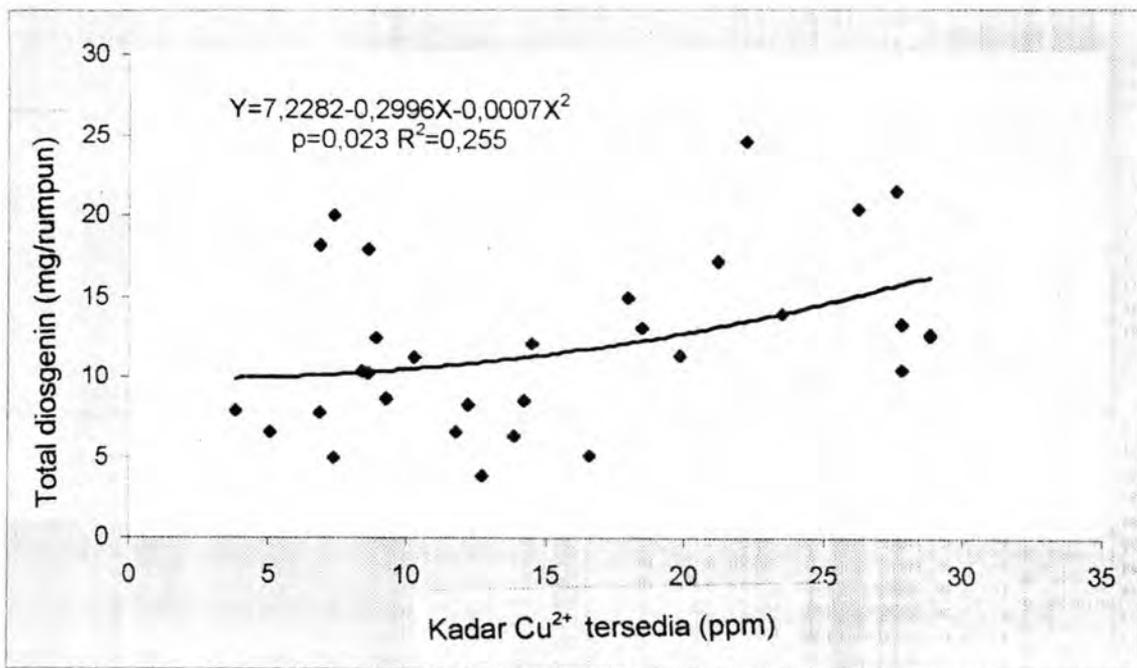
regresi  $Y = 0,2662 + 0,0146 X - 0,0002 X^2$  ( $p=0,021$  dan  $R^2=0,238$ ) seperti pada Gambar 6.7, sedangkan hubungan antara  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dengan total diosgenin (Lampiran 38) berupa persamaan  $Y = 7,2282 - 0,2996 X - 0,0007 X^2$  ( $p=0,023$  dan  $R^2=0,255$ ) seperti pada Gambar 6.8.



Gambar 6.7. Grafik hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Semakin besar kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah semakin besar pula kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang. Terjadinya kenaikan kadar tembaga tersedia pada tanah semakin menyebabkan keracunan tanaman, akibat keracunan tersebut menyebabkan produksi metabolit sekunder semakin besar. Tingkatan peran  $\text{Cu}^{2+}$  dalam memacu terbentuknya diosgenin tersebut

adalah sebagai berikut, pada jumlah rendah peran  $\text{Cu}^{2+}$  sebagai kofaktor enzim oksidase dalam metabolisme metabolit sekunder, semakin besar  $\text{Cu}^{2+}$  yang terserap semakin meningkat aktivitas enzim oksidase. Beberapa senyawa yang dipacu oleh enzim oksidase antara lain perubahan senyawa hidrosimetil glutaril menjadi asam mevalonat, perubahan skualen menjadi skualen 2,3 epoksida dan perubahan skualen 2,3 epoksida menjadi sikloartenol. Tersedia senyawa tersebut menyebabkan kecepatan pembentukan diosgenin semakin besar.



**Gambar 6.8.** Grafik hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Pada kadar yang lebih tinggi lagi peningkatan  $\text{Cu}^{2+}$ , diduga justru mengakibatkan terhambatnya enzim pertumbuhan tanaman dengan cara

penghambatan non-kompetitif yaitu mengikat sisi aktif enzim. Pada kondisi tersebut terjadi penghambatan pertumbuhan tanaman, akan tetapi kecepatan metabolime sekunder masih tinggi sehingga kadar diosgenin masih meningkat. Pada konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  yang lebih tinggi lagi disamping mulai terjadi gangguan enzim pertumbuhan tanaman, juga terjadi penghambatan enzim oksidase sehingga aktivitas enzim oksidase juga terhambat sehingga kadar diosgenin juga mengalami penurunan.

Hal tersebut diperkuat oleh pernyataan Weber, Schat dan Maarel (1991) yang menyatakan bahwa keracunan tembaga pada dosis tinggi akan menyebabkan kerusakan dalam metabolisme nitrogen, menghambat aktivitas enzim reduktase, glutamik sintetase dan alanin transaminase serta mempercepat kerusakan membran protein.

Menurut Holden *et al.* (1988), ion logam berat sangat efektif untuk menginduksi pembentukan sesquiterpenoid pada kultur suspensi sel *Datura stramonium*. Semakin besar tembaga semakin besar produksi metabolit sekunder, hal ini disebabkan karena pembentukan metabolit sekunder juga merupakan upaya tanaman untuk melindungi diri dari faktor luar penyebab cekaman maupun keracunan. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Muljati (1988), logam  $\text{Cu}^{2+}$  berpengaruh nyata terhadap pembentukan solasodin pada tanaman *Solanum khasianum*. Semakin tinggi kadar diosgenin semakin tinggi pula total diosgenin, total diosgenin merupakan hasil kali kadar diosgenin dikalikan dengan bobot kering rimpang. Dibandingkan dengan nutrisi mikro yang lain, hanya  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia yang berpengaruh nyata terhadap pembentukan diosgenin, hal tersebut disebabkan fitotoksisitas  $\text{Cu}^{2+}$  lebih besar dibandingkan  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$ .

Menurut Nieboer dan Richardson (1980) *dalam* Raskin *et al.* (1991) fitotoksisitas beberapa logam berat dapat didekati dengan melihat kemampuan logam bersangkutan untuk membentuk kompleks ligan dengan senyawa lain yang ada dalam jaringan tanaman. Diperjelas oleh Raskin *et al.* (1991) bahwa urutan fitotoksisitas beberapa logam berat adalah sebagai berikut Cd, Cu, Hg dan Ni > Pb dan Zn. Akan tetapi Zancani *et al.* (1995) menyatakan bahwa fitotoksisitas Cu>Cd, Ni dan Zn, jadi Cu>Cd, Hg, Ni, Pb dan Zn sehingga potensi sebagai elisitor sangat besar.

Perilaku terjadinya akumulasi logam berat pada tanaman banyak dibahas oleh Raskin *et al.* (1991), dinyatakan bahwa tanaman dapat mengalami hiperakumulasi terhadap logam berat. Kemampuan akumulasi tersebut tergantung pada kemampuan adaptasi tanaman yang bersangkutan dengan kondisi tanah yang tinggi kadar logam beratnya. Dinyatakan bahwa tanaman mengalami hiperakumulasi apabila kandungannya mencapai 0,1 persen (1000 ppm) untuk logam Ni, Co, Cu, Cr dan Pb, sedangkan untuk logam Pb dan Zn sebesar 1 persen (10.000 ppm) dari bobot kering daun.

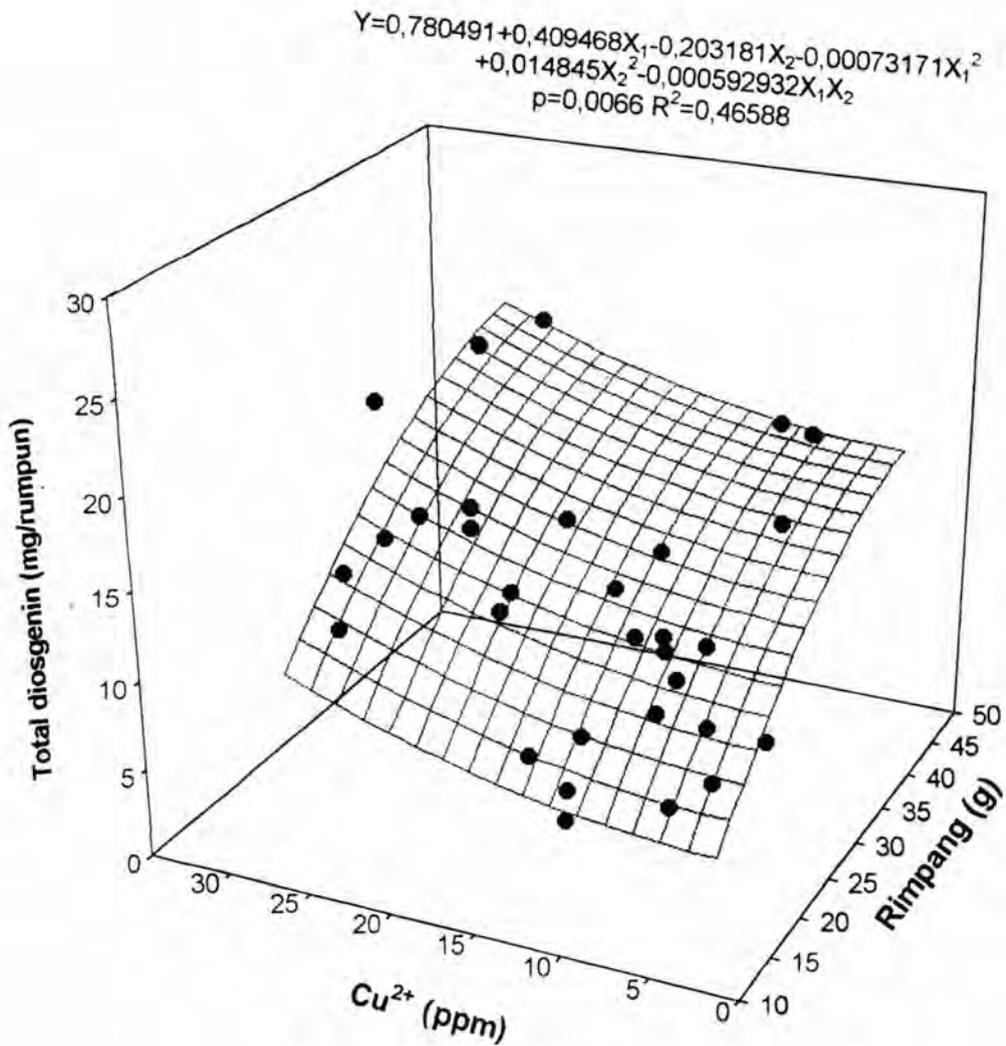
Akumulasi logam berat pada tanaman melalui 3 mekanisme. Pertama adalah molekul pengkhelat-logam (disebut *phytosiderophore*) disekresi ke akar untuk membentuk khelat, dengan cara melarutkan logam yang telah terkhelat oleh tanah kemudian setelah larut diikat olehnya. Sebagai contoh dari *phytosiderophore* adalah asam mugineat, asam avenat dan nikotinamida yang merupakan *phytosiderophore* pada tanaman spesies *Gramineae* dan bertanggung jawab terhadap pengkhelatan logam Co, Zn dan Mn pada tanah. *Phytosiderophore* lain pada tanaman antara yang lain logam-khelat-protein, metionin, M-glutamin-sisteinilisopeptida. Kedua adalah akar tanaman dapat menurunkan ikatan logam-tanah dengan enzim *specific plasma membrane*

*bound reductase*, dengan adanya enzim tersebut logam yang terkhelat tanah akan terlepas yang selanjutnya diikat oleh tanaman. Ketiga adalah akar tanaman dapat melarutkan logam berat dengan pengasaman tanah yaitu dengan cara mengeluarkan protein dari akar (Raskin *et al.*, 1991). Lebih lanjut dinyatakan bahwa tempat penyimpanan logam berat pada tanaman berada pada vakuola.

#### 6.1.4. Variabel dominan berpengaruh terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin

Variabel yang dominan pengaruhnya terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* adalah kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah, perubahan kadar diosgenin akibat kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah berupa persamaan regresi  $Y = 0,2662 + 0,0146 X - 0,0002 X^2$  ( $p=0,021$  dan  $R^2=0,236$  pada Lampiran 34). seperti disajikan pada Gambar 6.7. Terlihat bahwa semakin meningkat kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah, akan menyebabkan kenaikan diosgenin pada rimpang, kenaikan tersebut disebabkan oleh peran  $\text{Cu}^{2+}$  sebagai kofaktor enzim (dalam jumlah kecil) juga akibat tingkat keracunan terhadap pertumbuhan tanaman (dalam jumlah besar) sehingga semakin besar pula akumulasi metabolit sekunder diosgenin yang terbentuk.

Bila dihubungkan dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami, bobot kering rimpang dan kadar kation  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah merupakan variabel dominan yang berpengaruh sangat nyata terhadap total diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* (Lampiran 36 dan 37). Hubungan antara variabel bobot kering rimpang dan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah terhadap total diosgenin (Lampiran 49) berupa persamaan regresi kuadrat  $Y = 0,780491 + 0,409468X_1 - 0,203181X_2 - 0,000731371X_1^2 + 0,014845X_2^2 - 0,000592932$



**Gambart 6.9. Grafik hubungan antara kadar Cu<sup>2+</sup> tersedia tanah dan bobot kering rimpang dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami**

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub> (p=0,0066 dan R<sup>2</sup>=0,46588 Lampiran 49), X<sub>1</sub> bk rimpang dan X<sub>2</sub> kadar Cu<sup>2+</sup> tersedia tanah seperti disajikan pada Gambar 6.9.

Semakin meningkat bobot kering rimpang dan semakin meningkat kadar Cu<sup>2+</sup> tersedia pada tanah menyebabkan semakin besar total diosgenin



pada rimpang tanaman *Costus speciosus* alami. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah akan menyebabkan semakin besar  $\text{Cu}^{2+}$  yang terserap tanaman dan semakin besar pula tingkat keracunan sehingga akumulasi diosgenin juga semakin besar, dan dengan semakin lamanya waktu keracunan akan menyebabkan akumulasi pada rimpang juga semakin besar, sehingga total diosgenin semakin meningkat.

Besarnya bobot kering rimpang identik dengan total biomassa tanaman dan identik juga dengan umur tanaman *Costus speciosus* alami. Semakin lama umur tanaman semakin banyak metabolit primer dalam hal ini jaringan tanaman yang terbentuk yaitu bobot kering rimpang. Dari hasil tersebut terbukti bahwa total diosgenin pada tanaman *Costus speciosus* alami sangat dipengaruhi oleh umur tanaman dan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah.

Jika ditinjau nilai koefisien korelasi antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dengan kadar diosgenin yaitu sebesar 0,477 ( $p=0,007$ ), antara  $\text{Cu}^{2+}$  tanah dengan total diosgenin yaitu sebesar 0,485 ( $p=0,006$ ) dan antara bobot kering rimpang dengan total diosgenin sebesar 0,599 ( $p=0,000$ ). Rendahnya nilai tersebut diduga disebabkan tanaman *Costus speciosus* alami yang diambil umurnya tidak sama, walaupun sudah diupayakan agar contoh tanaman seragam dengan menggunakan batasan jumlah batang 4 sampai 5 dan tinggi tanaman 75 cm hingga 150 cm. Seperti diketahui bahwa umur tanaman sangat berpengaruh terhadap kandungan diosgenin pada tanaman *Costus speciosus*. Disamping banyaknya faktor luar yang tak terkendali pada tanaman *Costus speciosus* alami, ternyata bila dibandingkan dengan percobaan rumah kaca (terkendali) seperti pada Tabel 6.1, juga terjadi variasi respon yang besar antar individu tanaman dengan adanya peracunan logam berat  $\text{Cu}^{2+}$ , hal tersebut ditunjukkan oleh rendahnya nilai  $R^2$ .

Di antara variabel-variabel yang diteliti, kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah merupakan variabel dominan yang berpengaruh terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus*, sedangkan yang dominan terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami adalah kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah dan bobot kering rimpang.

## **6.2. Penelitian Tahap 2 : Pengaruh Kadar Nutrisi $\text{Cu}^{2+}$ Yang Ditambahkan Dalam Media Tanah Terhadap Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus***

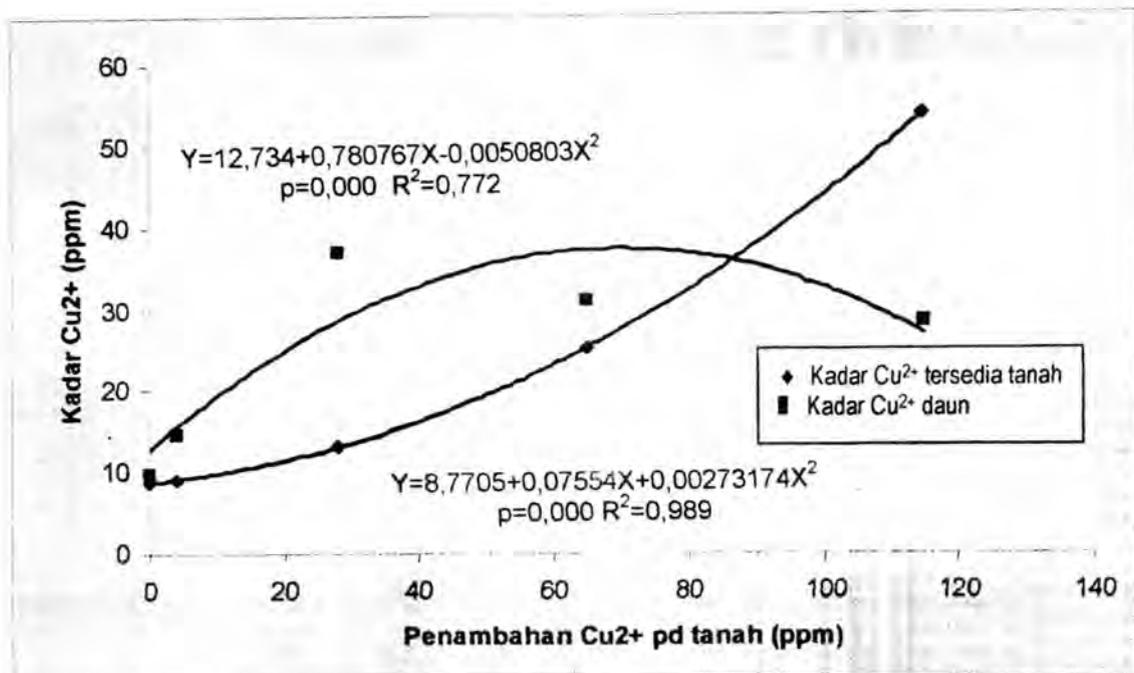
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah sebesar 115 ppm telah mengakibatkan gangguan fisiologis tanaman *Costus speciosus*, yang ditandai dengan menggulunga tepi daun dan warna hijau keputihan. Bila pemberian  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm ke atas dan waktu elisitasi melebihi 4 bulan diduga tanaman akan mengalami kematian, oleh sebab itu pada pembahasan ini pengkajian ditekankan pada tingkat penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada konsentrasi 0, 4, 28, 65 dan 115 ppm.

### **6.2.1. Kadar $\text{Cu}^{2+}$ tersedia tanah dan kadar $\text{Cu}^{2+}$ daun *Costus speciosus***

Penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah menaikkan kandungan  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah dan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun *Costus speciosus*. Kadar nutrisi mikro (logam) tersedia menunjukkan jumlah nutrisi dalam tanah yang dapat dimanfaatkan bagi tumbuhan, kadar tersebut diekstrak dengan menggunakan pelarut HCl 0,1 N, sedangkan kadar nutrisi mikro total adalah total jumlah nutrisi mikro dalam media tanah yang diekstrak dengan menggunakan pelarut HCl 10 N.

Kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah, semakin besar penambahan menyebabkan semakin besar pula kadar tersedia dalam tanah. Pada Tabel 5.8 terlihat bahwa pada kontrol (tanpa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$ ) kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah 8,8 ppm, akan tetapi pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  4 ppm ( $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah 9,0 ppm) dan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  28 ppm ( $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah 13,2 ppm), penambahan 115 ppm ( $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah 53,6 ppm) dan pada penambahan 230 ppm ( $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah 137,5 ppm).

Pada rentang penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  0-115 ppm, hubungan positif antara  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah berupa persamaan  $Y = 8,7705 + 0,07554 X + 0,00273174 X^2$  ( $p=0,000$  dan  $R^2= 0,989$  Lampiran 51), seperti pada Gambar 6.10. Pada gambar terlihat bahwa ada selisih nilai antara  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah dengan  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah. Hal tersebut disebabkan sebagian  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan akan berikatan dengan senyawa lain membentuk senyawa kelat atau senyawa kompleks. Dugaan tersebut sesuai dengan pernyataan Syekhfani (1985) yang menyatakan bahwa tembaga dan seng mudah membentuk senyawa kelat atau kompleks dengan fosfat dan humat yang ikatannya sangat mantap, hal tersebut mengakibatkan kadar tembaga tersedia rendah walaupun kadar tembaga total tinggi. Diperkuat oleh pernyataan Suyono *et al.* (1997) bahwa asam humat dalam tanah mudah sekali membentuk kelat dengan logam berat seperti Cd, Pb dan juga logam berat lain yang ikatannya sangat kuat.



Gambar 6.10. Grafik hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan

Semakin besar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah menyebabkan semakin meningkat pula kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun tanaman *Costus speciosus*. Kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun akibat penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah adalah sebagai berikut : pada kontrol (tanpa elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$ ) kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun sebesar 9,8 ppm, pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  4 ppm (kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun 14,8 ppm) dan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  28 ppm (kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun sebesar 36,9 ppm). Di atas 28 ppm yaitu pada tingkat penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  65 ppm kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun tanaman *Costus speciosus* cenderung menurun. Pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  28 ppm terlihat bahwa perlakuan elisitasi tersebut telah menyebabkan terjadinya cekaman/keracunan pada tanaman, yaitu kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun sebesar 36,9

ppm. Hubungan antara penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah konsentrasi 0-115 ppm dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun berupa persamaan  $Y = 12,734 + 0,70767 X - 0,0050803 X^2$  ( $p=0,000$  dan  $R^2=0,772$  Lampiran 53) seperti pada Gambar 6.10)

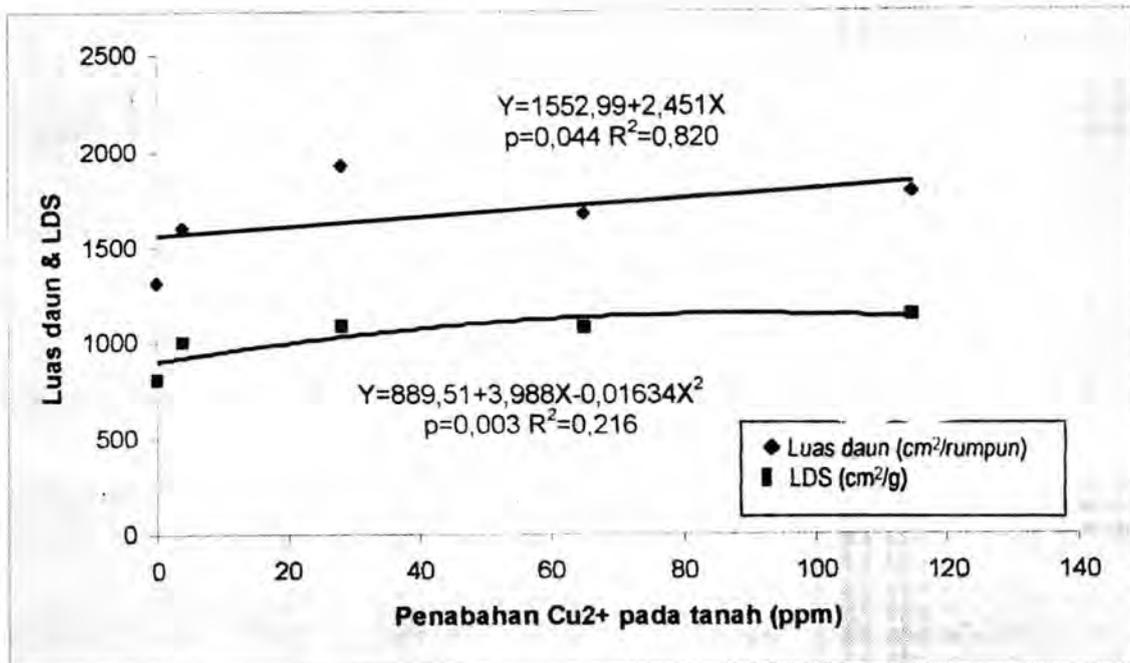
Penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah akan menyebabkan kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun hingga terbesar pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sebesar 65 ppm, di atas 65 ppm peningkatan konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah justru menyebabkan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun menurun. Terjadinya penurunan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun pada tingkat penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  tanah sebesar 65 ppm tersebut diduga disebabkan tingkat keracunan akar semakin besar sehingga  $\text{Cu}^{2+}$  yang dapat terserap tanaman semakin kecil. Pada penambahan 115 ppm, level pemberian  $\text{Cu}^{2+}$  diduga telah menyebabkan tingkat keracunan tanaman yang serius sehingga penyerapan logam  $\text{Cu}^{2+}$  pada akar juga terhambat. Pada konsentrasi tersebut diduga *phytosiderophore* yang berada pada akar tanaman telah mengalami gangguan fisiologis sehingga daya serapnya untuk membentuk kelat dengan logam berkurang.

Hal tersebut diperkuat oleh adanya gejala gangguan fisiologis tanaman seperti pada Gambar 5.10, terlihat bagian tepi daun menggulung, daun kurang segar dan warna daun agak memucat. Bila dibandingkan dengan Tabel 5.8, terlihat bahwa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  diatas 115 ppm yaitu 170 ppm dan 230 ppm, kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun semakin rendah masing-masing sebesar 27,4 ppm dan 27,3 ppm. Semakin besar tingkat keracunan akan menyebabkan  $\text{Cu}^{2+}$  yang terserap oleh tanaman semakin kecil. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Chapman (1966) dan Jones (1972) yang menyatakan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  di atas 20 ppm akan menyebabkan tanaman mengalami keracunan/ekses.

Di atas 170 ppm, penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah dapat menaikkan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun, akan tetapi bila waktu elisitasi dilakukan lebih dari 4 bulan, diduga tanaman akan mengalami kematian karena pada perlakuan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm selama 4 bulan sudah timbul gejala gangguan pada daun tanaman. Berdasarkan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun tanaman *Costus speciosus* tersebut, kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun tertinggi dapat dicapai pada perlakuan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah sebesar 65 ppm.

### 6.2.2. Luas daun dan luas daun spesifik (LDS)

Penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah berpengaruh sangat nyata terhadap luas daun tanaman *Costus speciosus*, semakin meningkat kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah semakin meningkat pula luas daun. Pada Tabel 5.9 terlihat bahwa pada kontrol luas daun 1308,12  $\text{cm}^2/\text{rumpun}$  dan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm sebesar 1786,99  $\text{cm}^2/\text{rumpun}$ , dan pada 230 ppm sebesar 1897,05  $\text{cm}^2/\text{rumpun}$ . Pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  0-115 ppm, pola hubungan positif antara penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah dengan luas daun berupa persamaan linier  $Y = 1552,99 + 2,451 X$  ( $p=0,044$  dan  $R^2=0,820$  Lampiran 55) seperti pada Gambar 6.11. Pada gambar terlihat bahwa luas daun tertinggi pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sebesar 65-80 ppm, di atas konsentrasi tersebut cenderung menurun.



Gambar 6.11. Hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan luas daun dan LDS tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan

Bila dihubungkan dengan tanaman *Costus speciosus* alami pada penelitian tahap satu, ternyata kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah tidak berpengaruh nyata ( $p=0,9738$ ) terhadap luas daun (Lampiran 38). Hal tersebut diduga tanaman yang dianalisis tidak seragam, yang disebabkan oleh perbedaan umur tanaman dan lingkungan tumbuh yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman, diantaranya adalah pengaruh kelembaban dan ketinggian tempat.

Luas daun spesifik tanaman *Costus speciosus* dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah, pada kontrol LDS sebesar 806,15  $\text{cm}^2/\text{g}$ , pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm sebesar 1133,78  $\text{cm}^2/\text{g}$  dan 230 ppm sebesar 1025,07  $\text{cm}^2/\text{g}$ . Pada tingkat penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  0-115 ppm, pola hubungan positif antara kedua variabel tersebut berupa persamaan

regresi kuadratik  $Y = 889,51 + 3,988 X - 0,01634 X^2$  ( $p=0,003$  dan  $R^2=0,216$  Lampiran 57) seperti pada Gambar 6.11.

Pada gambar terlihat bahwa penambahan  $Cu^{2+}$  pada tanah menyebabkan kenaikan LDS, LDS maksimal tercapai pada penambahan  $Cu^{2+}$  sekitar 75-115 ppm, di atas konsentrasi tersebut LDS cenderung menurun.

Menurut Uritani (1975) fungsi seng dan tembaga berkaitan dengan aktivator metaloprotein dan faktor pertumbuhan, dalam aksi enzim seperti pendayaguna, pemantap dan penghambat. Lebih lanjut Syekhfani (1985), menyatakan bahwa peran logam tembaga pada tanaman hampir sama dengan logam seng, fungsi utama dari logam tersebut adalah dalam proses anhidrase karbonat, dimana anhidrase karbonat mengkatalisis interkonversi  $HCO_3^-$  dan  $CO_2$  dalam daun dan mungkin mengambil bagian dalam angkutan  $CO_2$ . Karbondioksida diserap ke dalam jaringan daun dan diubah menjadi  $HCO_3^-$  dengan bantuan enzim tersebut, ion  $HCO_3^-$  selanjutnya diangkut ke sel-sel daun dan kloroplas, kemudian diubah menjadi  $CO_2$  oleh enzim dalam kloroplas.

Meningkatnya metabolisme menyebabkan jumlah  $CO_2$  yang dihasilkan dan dilepaskan ke udara oleh daun semakin besar oleh sebab itu pembentukan sel-sel stomata meningkat, meningkatnya stomata diduga mengakibatkan luas daun juga semakin besar. Bila dibandingkan dengan bobot kering daun, ternyata kenaikan penambahan nutrisi mikro  $Cu^{2+}$  dalam tanah tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap bobot kering daun. Akan tetapi nilai luas daun spesifik (LDS), terlihat semakin besar dengan semakin meningkatnya penambahan  $Cu^{2+}$  pada tanah. Pada daun yang

bobotnya sama, semakin besar nilai LDS menunjukkan semakin tipis daun tanaman.

Menurut Sitompul dan Guritno (1995), daun yang tebal akan mempunyai kloroplas yang lebih besar persatuan luas daun, sehingga akan mempunyai kapasitas mengintersepsi energi cahaya dan mereduksi CO<sub>2</sub> yang lebih tinggi dibandingkan daun yang tipis. Namun demikian bila dihubungkan dengan total biomassa tanaman, terlihat bahwa kenaikan penambahan Cu<sup>2+</sup> cenderung menaikkan total biomassa tanaman seperti juga pada LDS. Hal tersebut menunjukkan semakin besar penambahan Cu<sup>2+</sup> pada tanah, semakin besar luas daun sehingga stomata dan kloroplas daun juga semakin banyak. Dugaan terjadinya penambahan kloroplas dan stomata tersebut diperkuat oleh Sillanpaa (1972), yang menyatakan bahwa tembaga memegang peran penting dalam pertumbuhan, sebagai aktivator enzim atau bagian dari enzim pengoksidasi seperti mono dan polifenol oksidase (tirosinase), laktase dan askorbat oksidase yang berfungsi dalam proses respirasi.

Penambahan Cu<sup>2+</sup> pada tanah menyebabkan luas daun spesifik (LDS) terus meningkat sampai pada perlakuan penambahan Cu<sup>2+</sup> 75-115 ppm, lebih besar dari 115 ppm luas daun mulai menurun. Menurunnya LDS tersebut dapat diartikan telah terjadi penurunan jumlah stomata pada daun, hal tersebut merupakan indikator bahwa penambahan Cu<sup>2+</sup> pada tanah lebih besar dari 115 ppm menyebabkan keracunan tanaman mulai serius, sehingga pembentukan stomata berkurang, sehingga proses respirasi mulai terganggu.

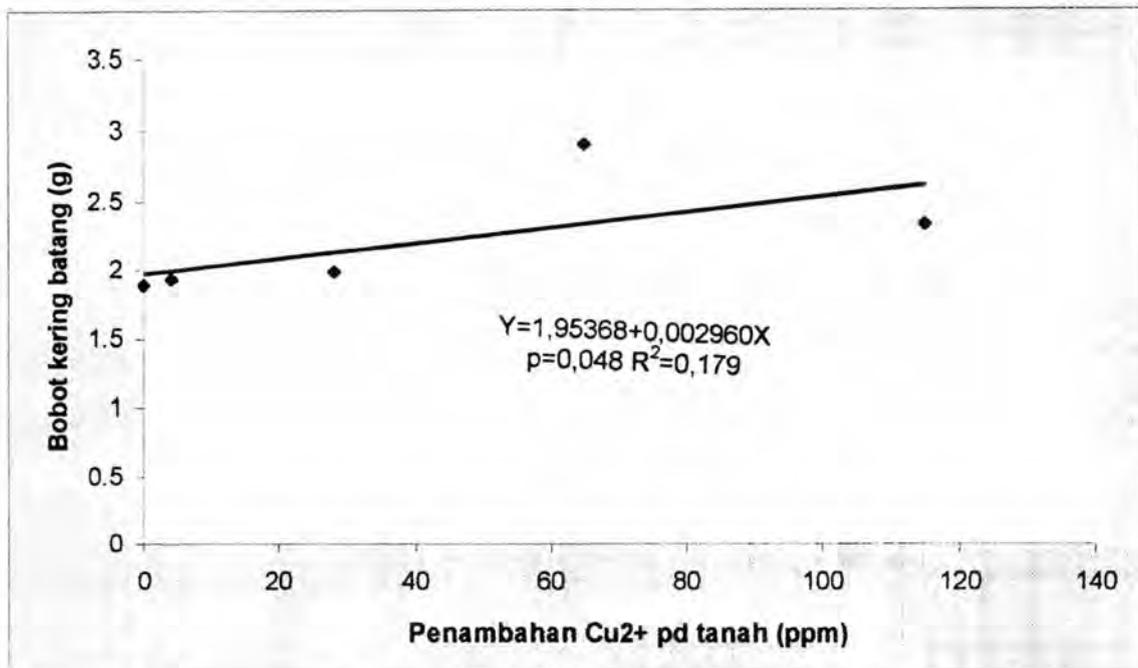
### 6.2.3. Biomassa tanaman

Penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot kering daun, sangat nyata terhadap bobot kering batang, rimpang dan total biomassa, akan tetapi tidak nyata terhadap bobot kering akar. Pada Tabel 5.10 terlihat bahwa meningkatnya  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah cenderung menaikkan bobot kering daun, batang, rimpang dan total biomassa tanaman.

Pada perlakuan kontrol bobot kering daun sebesar 1,61 g, pada  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm sebesar 1,63 g/rumpun dan  $\text{Cu}^{2+}$  230 ppm sebesar 1,88 g/rumpun. Bobot kering batang pada kontrol 1,89 g/rumpun,  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm sebesar 2,33g/rumpun dan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  230 ppm sebesar 2,71 g/rumpun, begitu juga untuk bobot kering rimpang dan total biomassa meningkat dengan meningkatnya penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah. Akan tetapi pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  konsentrasi 0-115 ppm, tidak menunjukkan pola regresi linier dan kuadratik yang nyata terhadap bobot kering daun, rimpang dan total biomassa, hanya batang yang mempunyai hubungan linier dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan, yaitu berupa persamaan  $Y = 1,95368 + 0,002960 X$  ( $p=0,048$  dan  $R^2=0,079$  Lampiran 59) seperti pada Gambar 6.12. Bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* meningkat seiring dengan meningkatnya penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah.

Berdasarkan Tabel 5.10 kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah cenderung menaikkan bobot kering batang, rimpang dan total biomassa. Kenyataan tersebut sesuai dengan pendapat Muljati (1988) yang menyatakan terdapat korelasi antara pemberian  $\text{Cu}^{2+}$  pada daun dengan pertumbuhan tanaman *Solanum khasianum*.

Lebih lanjut Gunarto (1992) juga menyatakan bahwa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  akan menaikkan tinggi tanaman, panjang tongkol dan bobot kering tanaman jagung. Hal tersebut juga didukung oleh Ojeniji dan Kayode (1993) yang menyatakan bahwa kenaikan kandungan  $\text{Cu}^{2+}$  akan meningkatkan produksi biji jagung.



**Gambar 6.12.** Hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan biomassa tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan

Tingginya nilai total biomassa tanaman tersebut disebabkan luas daun dan luas daun spesifik (LDS) semakin tinggi sehingga aktivitas fotosintesis tanaman semakin tinggi pula, dengan tingginya aktivitas fotosintesis maka fotosintat yang berupa jaringan tanaman juga semakin banyak, sehingga bobot

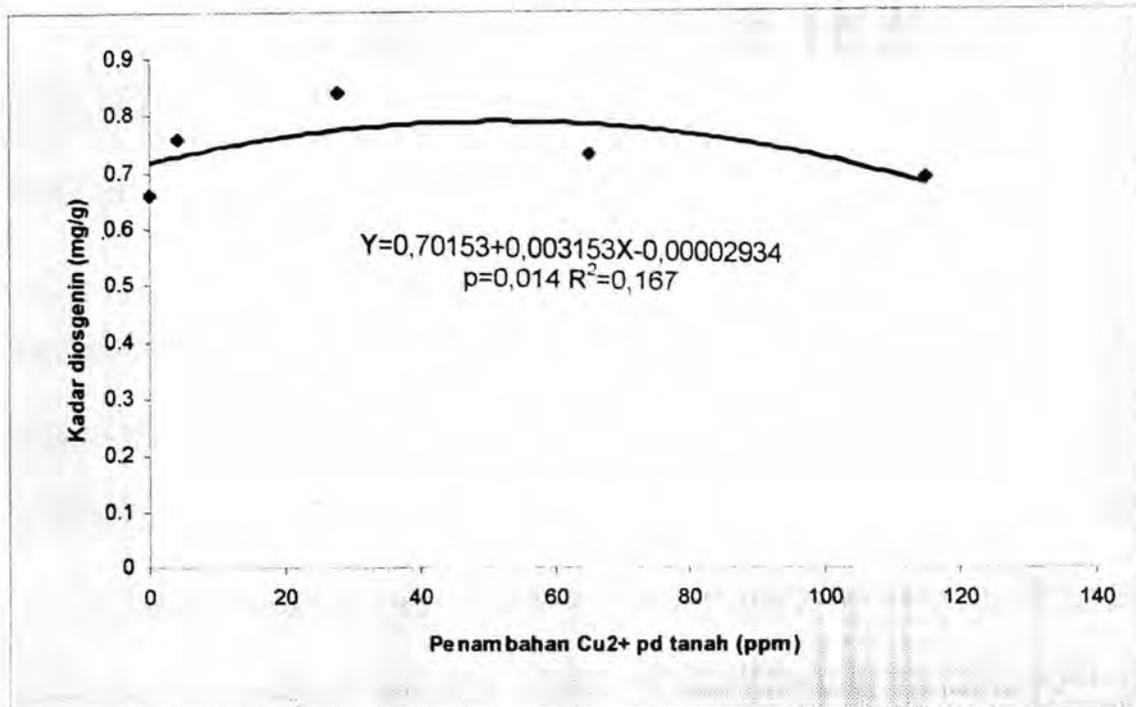
kering tanaman meningkat. Terjadinya kenaikan biomassa tanaman akibat kenaikan  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian Alva, Graham dan Tucker (1993), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kenaikan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah menyebabkan rendahnya bobot kering akar dan daun. Perbedaan tersebut diduga disebabkan oleh tanaman yang digunakan dalam percobaan berbeda, pada penelitian Alva, Graham dan Tucker (1993) menggunakan tanaman jeruk dan pada tahap perkecambahan, sedangkan pada penelitian ini menggunakan tanaman *Costus speciosus*. Hal tersebut didukung oleh Raskin *et al.* (1991) menyatakan bahwa toleransi tanaman terhadap keracunan logam berbeda antara satu tanaman dengan tanaman lain. Selain itu toleransi terhadap keracunan logam juga tergantung dari tingkatan adaptasi tanaman, semakin lama beradaptasi semakin tinggi tingkat toleransi terhadap keracunan logam.

Penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah antara 4 ppm sampai 230 ppm selama waktu elisitasi 4 bulan cenderung meningkatkan bobot kering batang, bobot kering rimpang dan total biomassa tanaman *Costus speciosus*. Akan tetapi berdasarkan LDS dan gejala gangguan fisiologis pada daun, maka penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah sebesar 115 ppm merupakan batas tertinggi yang dapat diberikan pada tanaman.

#### 6.2.4. Kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang

Kadar diosgenin dipengaruhi sangat nyata oleh penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah, hubungan antara penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  ke dalam tanah dengan kadar diosgenin rimpang pada konsentrasi 0-115 ppm berupa persamaan regresi

kuadratik  $Y = 0,70153 + 0,003153X - 0,00002934 X^2$  ( $p=0,014$  dan  $R^2=0,167$  Lampiran 69) seperti pada Gambar 6.13.



**Gambar 6.13.** Hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

Terlihat bahwa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah cenderung menaikkan kadar diosgenin, dan tertinggi pada tingkat penambahan antara 40 ppm hingga 60 ppm, di atas tingkat tersebut kadar diosgenin cenderung menurun. Bila dilihat pada Tabel 5.11 terlihat bahwa kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* pada perlakuan kontrol (tanpa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$ ) sebesar 0,66 mg/g, pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  4 ppm kadar diosgenin meningkat menjadi 0,76

mg/g, meningkat lagi pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  28 ppm menjadi 0,84 mg/g. Selanjutnya pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  65 ppm kadar diosgenin menurun lagi menjadi 0,73 mg/g dan terendah penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  230 ppm (kadar diosgenin 0,47 mg/g).

Adanya elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  akan menaikkan kadar diosgenin rimpang, kadar diosgenin tertinggi tercapai pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  antara 40 hingga 60 ppm, dan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  65 ppm ke atas kadar diosgenin telah menurun. Bila dihubungkan dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun pada Gambar 6.9 terlihat bahwa kadar  $\text{Cu}^{2+}$  daun tertinggi pada perlakuan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  60-70 ppm, maka dapat dipastikan bahwa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sekitar 60 ppm merupakan perlakuan terbaik sehingga dihasilkan kadar diosgenin tertinggi. Di atas konsentrasi tersebut kadar diosgenin cenderung menurun, sampai 115 ppm merupakan batas maksimal penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah. Oleh sebab itu selain terjadinya penurunan kadar diosgenin pada rimpang, pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm tanaman telah mengalami gangguan fisiologis sehingga mengalami kerusakan pada daun yang ditandai dengan daun mulai menggulung dan bagian tepinya mengering seperti tampak pada Gambar 5.10. Ditunjang oleh pendapat Weber, Schat dan Maarel (1991), yang menyatakan bahwa keracunan tembaga pada dosis tinggi akan mengakibatkan kerusakan metabolisme nitrogen, menghambat aktivitas reduktase, glutamik sintetase dan alanin transaminase serta mempercepat kerusakan membran protein.

Bila dilihat pada pola perubahan kadar diosgenin pada Gambar 6.13, terlihat pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sekitar 40-60 ppm kadar diosgeninnya tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi tersebut menyebabkan cekaman/keracunan optimal sehingga kadar diosgenin justru tertinggi. Pada percobaan ini kadar diosgenin rimpang akibat elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah antara

4 sampai dengan 230 ppm belum begitu besar, seperti hasil penelitian Sudiarto (1984) dapat mencapai 0,2-0,9 persen, Lubis dan Sastrapradja (1985) yang dapat mencapai 0,55 persen. Hal tersebut diduga disebabkan oleh 3 faktor yaitu masa induksi kurang lama, tanaman masih berada pada fase pertumbuhan logaritmik serta tidak menggunakan pupuk makro secara optimal.

Disamping itu pada percobaan ini masa elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  hanya dilakukan selama 4 bulan, padahal tanaman *Costus speciosus* menurut Van Steenis (1988) termasuk dalam tanaman tahunan. Hasil kadar diosgenin tertinggi pada percobaan ini sebesar 0,84 mg/g, namun bila dibandingkan dengan kadar diosgenin tanaman alami tertinggi hanya mencapai 0,74 mg/g (contoh 95C-M7), berarti elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  telah berhasil menaikkan kadar diosgenin rimpang. Percobaan Sudiarto (1984) menggunakan tanaman *Costus speciosus* berumur 1 tahun, sedangkan Lubis dan Sastrapradja (1985) tanaman berumur 2 tahun.

Faktor kedua adalah fase pertumbuhan, terlihat bahwa kenaikan  $\text{Cu}^{2+}$  menyebabkan kenaikan luas daun dan total bobot kering tanaman. Pada kontrol (tanpa penambahan  $\text{Cu}^{2+}$ ) total bobot kering tanaman sebesar 4,97 g/rumpun, penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  29 ppm sebesar 5,97 g/rumpun dan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  230 ppm sebesar 6,40 g/rumpun. Bila dibandingkan dengan Tabel 5.3 terlihat bahwa pada tanaman alami dewasa memiliki karakteristik luas daun antara 806,66-5303,21  $\text{cm}^2$ /rumpun, bobot kering daun antara 3,85-27,08 g/rumpun, bobot kering batang antara 19,54-83,24 g/rumpun, bobot kering rimpang antara 17,38-47,40 g/rumpun, bobot kering akar antara 1,20-6,14 g/rumpun, total biomassa tanaman 52,57 sampai 120,48 g/rumpun. Data tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan *Costus speciosus* yang dielisitasi masih berada pada fase logaritmik, yaitu fase dimana kebutuhan nutrisi

sebagian besar digunakan untuk pembentukan biomassa tanaman. Perilaku tersebut ditunjang oleh pernyataan Burden *et al.* (1989) yang menyatakan terdapat korelasi antara proses penghambatan pertumbuhan dengan akumulasi metabolit sekunder. Diduga bila elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  dilakukan lebih dari 4 bulan, dan tanaman telah melewati fase logaritmik maka kandungan diosgenin rimpang semakin meningkat, sejalan dengan bertambahnya waktu setelah melewati fase logaritmik akan terjadi pembesaran pada rimpang, hal tersebut menyebabkan naiknya total diosgenin (produktivitas) tanaman *Costus speciosus*.

Faktor ketiga adalah pada percobaan ini substrat tanah sangat minim, sehingga ketersediaan nutrisi bagi tanaman relatif terbatas, sedangkan penelitian Sudiarto (1984), Lubis dan Sastrapradja (1984) menggunakan tanah lapang. Diduga bila elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$  dilakukan lebih dari 4 bulan, dan tanaman telah melewati fase pertumbuhan logaritmik serta ditanam pada tanah lapang kandungan diosgenin dan produktivitas diosgenin tanaman *Costus speciosus* semakin meningkat.

Dari percobaan ini terbukti bahwa kenaikan kandungan nutrisi mikro  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia dalam media tanah menyebabkan kenaikan kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh. Pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  40-60 ppm kadar diosgenin tertinggi, sedangkan pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  115 ppm merupakan ambang batas toleransi, pada kondisi tersebut kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah sekitar 50 ppm. Karena pada kondisi tersebut tanaman telah mulai mengalami gangguan metabolisme sehingga daun mulai keputihan (kloropil mengalami kerusakan) dan tepi daun mulai menggulung. Dari hasil tersebut terlihat bahwa batas kritis kandungan  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia dalam tanah untuk kehidupan tanaman *Costus speciosus* adalah sekitar 50 ppm.

### 6.3. Hubungan $\text{Cu}^{2+}$ Dengan Karakteristik Tanaman *Costus speciosus* Alami dan Pada Kondisi Terkendali (percobaan rumah kaca)

Hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah terhadap karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami dan pengaruh penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah terhadap karakteristik tanaman pada kondisi terkendali (percobaan rumah kaca) disajikan pada Tabel 6.1.

**Tabel 6.1. Regresi hubungan antara kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah dengan karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami (penelitian 1), serta  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan dengan karakteristik tanaman pada kondisi terkendali (penelitian 2).**

Penelitian ke	Variabel terikat	Persamaan regresi	Nilai p	Nilai $R^2$	Lampiran
Tahap 1 (Eksplorasi)	Luas daun	Tidak nyata	0,9738		39
	Daun (bk)	Tidak nyata	0,0518		40
	Batang (bk)	Tidak nyata	0,4132		42
	Rimpang (bk)	Tidak nyata	0,5171		43
	Akar (bk)	Tidak nyata	0,5943		44
	Total biomassa	Tak nyata	0,6692		45
	Kadar diosgenin	$Y=0,2662+0,0146X-0,0002X^2$	0,0210	0,238	35
	Total diosgenin	$Y=7,2282+0,2996X-0,0007X^2$	0,0230	0,255	38
Tahap 2 (Terkendali di rumah kaca)	Luas daun	$Y=1552,99+2,451X$	0,044	0,820	56
	Daun (bk)	Tidak nyata	0,439		60
	Batang (bk)	$Y=1,95368+0,002960X$	0,048	0,179	63
	Rimpang (bk)	Tidak nyata	0,726		64
	Akar (bk)	Tidak nyata	0,378		66
	Total biomassa	Tak nyata	0,517		68
	Kadar diosgenin	$Y=0,70153+0,003153X-0,00002934X^2$	0,014	0,167	70
	Total diosgenin	Tidak nyata	0,141		71

Pada Tabel 6.1 terlihat bahwa perilaku  $\text{Cu}^{2+}$  tanah (tidak berpengaruh nyata) terhadap luas daun dan biomasa tanaman bk daun, batang, rimpang, akar dan total biomassa. Sedangkan pada percobaan rumah kaca, penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  berpengaruh nyata terhadap luas daun dan biomassa tanaman bk batang.

Terdapatnya perbedaan pengaruh  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah terhadap bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* alami dengan tanaman terkendali hasil percobaan di rumah kaca, disebabkan pada tanaman *Costus speciosus* alami yang digunakan sebagai contoh tersebut antara satu tanaman dengan yang lain berbeda lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat), nutrisi dan umur tanaman. Perbedaan kondisi tersebut menyebabkan perbedaan respon terhadap pertumbuhan tanaman, sehingga pengaruh  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah terhadap bobot kering batang dan total diosgenin berbeda antara tanaman alami (liar) dengan tanaman terkendali.

Pada percobaan rumah kaca pengaruh kenaikan  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan sangat nyata terhadap luas daun dan bobot kering batang, hal tersebut diduga tingginya kandungan  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah menyebabkan tingkat keracunan semakin besar sehingga pengaruhnya terhadap biomassa tanaman nyata. Pada tanaman *Costus speciosus* alami disamping rendahnya kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia pada tanah (maksimal 28,8 ppm), juga banyaknya senyawa organik di alam sebagai hasil degradasi tumbuhan menyebabkan tingkat keracunan  $\text{Cu}^{2+}$  rendah karena terbentuknya kelat, sehingga tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman *Costus speciosus*.

Bahan organik seperti halnya asam humat dengan adanya kation  $\text{Cu}^{2+}$  mudah membentuk senyawa kelat yang ikatannya sangat kuat (Suyono *et al*, (1997), hal tersebut yang diperkirakan menyebabkan sulitnya senyawa tembaga diserap oleh tanaman (Syekhfani, 1998)

Bila dilihat pengaruh  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kadar diosgenin rimpang, terdapat perilaku yang sama antara tanaman alami dan tanaman pada kondisi terkendali. Pada Gambar 6.6 terlihat bahwa kenaikan  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia dalam tanah menyebabkan kenaikan kadar diosgenin, dan sampai pada kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah tertinggi yaitu 28 ppm, kadar diosgenin belum mengalami penurunan walaupun hubungannya berupa regresi kudrat. Pada Gambar 6.13, kenaikan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  pada tanah menyebabkan kadar diosgenin rimpang semakin meningkat, akan tetapi pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  60 ppm, mulai terjadi penurunan kadar diosgenin walaupun penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  semakin besar.

Bila dilihat pada Gambar 6.9, pada penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  60 ppm menyebabkan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah sekitar 25 ppm mendekati kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tertinggi pada tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami. Walaupun kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tersedia tanah hampir sama, akan tetapi pengaruhnya terhadap kadar diosgenin lebih besar pada kondisi terkendali, yaitu sebesar 0,75 mg/g, sedangkan pada tanaman alami dengan kadar  $\text{Cu}^{2+}$  tanah sekitar 25 ppm kadar diosgeninnya hanya sekitar 0,55 mg/g. Rendahnya pengaruh  $\text{Cu}^{2+}$  pada kondisi lapang diduga selain disebabkan oleh banyaknya nutrisi makro yang menyebabkan kecepatan pertumbuhan tinggi (metabolisme diosgenin rendah), juga disebabkan waktu adaptasi tanaman *Costus speciosus* terdapat lingkungan lebih lama, sehingga tanaman lebih toleran terhadap keracunan  $\text{Cu}^{2+}$  tanah. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Raskin *et al.* (1991) yang menyatakan bahwa tanaman memiliki kemampuan adaptasi terdapat keracunan logam berat.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, untuk meningkatkan kadar diosgenin dan total diosgenin tanaman *Costus speciosus* dapat dilakukan

dengan beberapa cara antara lain memperlama waktu elisitasi, membuat rentang kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang ditambahkan sama dan mengetahui mekanisme ikatan antara  $\text{Cu}^{2+}$  dengan enzim atau senyawa lain dalam jaringan tanaman.

Perpanjangan waktu elisitasi akan menyebabkan kadar diosgenin dan total diosgenin semakin meningkat setelah tanaman melewati fase pertumbuhan logaritmik, disamping itu bila tanaman dibudidayakan sampai 2 tahun maka selain dihasilkan diosgenin pada rimpang juga dihasilkan diosgenin pada biji. Pemilihan rentang kadar  $\text{Cu}^{2+}$  yang sama diharapkan untuk mengetahui kadar optimal elisitasi  $\text{Cu}^{2+}$ , sehingga tanaman menghasilkan diosgenin paling tinggi akan tetapi tidak melewati daerah kritis toleransi, sehingga tidak terjadi gangguan fisiologis tanaman. Perlunya studi biomolekuler mekanisme peracunan  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap tanaman, dengan diketahuinya mekanisme pengikatan antara  $\text{Cu}^{2+}$  dengan *phytosiderophore* diharapkan dapat diketahui faktor-faktor berpengaruh lain seperti asam amino pembentuk *phytosiderophore* maupun senyawa logam lain yang berpengaruh terhadap kerja enzim *spesific plasma membrane bound reductase* yang terdapat pada akar, maupun enzim oksidase yang memerlukan  $\text{Cu}^{2+}$ .