

1. COSTUS
2. PLANT BIOMASS

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
DIS M 05/
WTJ
&

Diterbitkan untuk keperluan
Ujian Tahap II

DISERTASI

**KAJIAN HUBUNGAN BIOMASSA TANAMAN,
LINGKUNGAN DAN NUTRISI DALAM TANAH DENGAN
KANDUNGAN DIOSGENIN RIMPANG
Costus speciosus (Koen.) Smith**

**PENELITIAN EKSPLORASI DAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK
(Suatu Studi Geobotani)**



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SUSINGGIH WIJANA

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

**KAJIAN HUBUNGAN BIOMASSA TANAMAN,
LINGKUNGAN DAN NUTRISI DALAM TANAH DENGAN
KANDUNGAN DIOSGENIN RIMPANG**
Costus speciosus (Koen.) Smith

PENELITIAN EKSPLORASI DAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Ilmu Matematika dan Sains
pada program Pascasarjana Universitas Airlangga
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga
Prof.H. Socdarto,dr.DTM&H,Ph.D.
Untuk dipertahankan di hadapan
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga

Oleh :

SUSINGGIIH WIJANA
NIM 099311500 D

Telah diuji pada ujian tertutup
Tanggal 26 April 1999

PANITIA PENGUJI DISERTASI :

- Ketua : Prof. H.A. Soeparmo, Drs.,M.Sc.
Anggota : 1. Prof. Soemadi, Drs.Apt.
2. Prof.Dr. Gunawan Indrayanto, Drs.Apt.
3. Prof.Dr. Soetarjadi, Drs.Apt.
4. Prof.Dr. Noor Cholies Zaini, Drs.Apt.
5. Prof.Dr. H.Tri Susanto, Ir.M.App.Sc.
6. Prof.Dr. Syekhfani, Ir.M.S.
7. Prof.Dr. Loekito Adi Soehono, Ir.M.Agr.
8. Dr. Tatik Wardiyati, Ir.M.S.

Ditetapkan dengan Surat keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor 3888/j03/PP/1999
Tanggal 10 Mei 1999

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah kehadiran Allah Swt., kami telah berhasil menyelesaikan disertasi untuk memperoleh gelar Doktor dalam Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dalam laporan ini kami menyampaikan ucapan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada :

Prof. H. Soedarto, dr. DTM & H., Ph.D. sebagai Rektor Universitas Airlangga dan Prof.H. Bambang Rahino Sctokocsocmo, dr. scbagai mantan Rektor yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh program Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Soedijono Tirtowidarjo, dr. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan Prof Dr.Soetarjadi, Drs.Apt. mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan, fasilitas dan berbagai kemudahan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof. Soemadi, Drs.Apt. sebagai Promotor yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam upaya memberikan wawasan, arahan dan bimbingan yang diberikan sehingga kami dapat menyelesaikan studi kami.

Prof.Dr.Gunawan Indrayanto, Drs.Apt. sebagai Kopromotor yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam upaya memberikan wawasan, arahan dan bimbingan, serta fasilitas laboratorium Bioteknologi Farmasi sehingga penelitian ini dapat selesai.

Prof. Dr. Loekito Adi Soehono, Ir.M.Agr. atas bimbingannya dalam bidang statistik dan saran-sarannya yang sangat berguna dalam penulisan laporan disertasi ini.

Dr. Tatik Wardiyati, Ir.M.S., atas bantuannya dalam perbanyakkan dan aklimatisasi *plantlet* tanaman *Costus speciosus* dan saran-sarannya, dalam penulisan laporan ini.

Staf Pengajar Program Doktor Program Pascasarjana Universitas Airlangga Bidang Ilmu MIPA yang sejak awal sampai akhir penulisan berkenan memberikan masukan dan saran, yaitu Prof. Abdul Gani, S.H.; Prof. H.A. Soeparmo, Drs.M.Sc.; Prof. Moh. Basir, Drs. (Almarhum); Prof. Soemadi, Drs.Apt.; Prof. Dr. H.Noor Cholies Zaini, Drs.Apt.; Prof. Dr. Gunawan Indrayanto, Drs.Apt.; Dr. Susanti Linuwih, Dra.; Dr.Ami Suwandi JS, Drs.Apt.; Dr. Purwanto, Drs.Apt.; Dr. Widji Soeratri, Dra.Apt; Dr. H.Amiruddin Prawita, Drs.Apt.; Dr. H. M. Zainuddin, Drs.Apt.; Dr. Mulya Hadi Santosa, Drs.Apt. dan H. Sugianto, Drs.Apt.M.S.

Para penguji pada seminar hasil penelitian pada tanggal 22 Juni 1998 antara lain Prof. H.A. Soeparmo, Drs., M.Sc.; Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini, Drs.Apt.; Prof. Dr. Soetarjadi, Drs.Apt.; Prof. Dr. H.Tri Susanto, Ir. M.App.Sc.; Prof. Dr. Loekito Adi Soehono, Ir.M.Agr.; Prof. Dr.Syekhfani, Ir. M.S. dan Dr. Tatik Wardiyati, Ir.M.S. atas saran-sarannya demi perbaikan laporan.

Wahyu Suprpto, Ir. dan Siti Hidjrati Arlina, Dra. serta Staf Balai Materia Medica Batu Malang, atas bantuannya dalam pengenalan tanaman *Costus speciosus* serta dalam identifikasi tanaman alami.

Prof.Dr. H. Eka Afnan Troena, SE. Rektor Universitas Brawijaya, Prof. H.M. Hasyim Baisoeni, Drs. mantan Rektor Universitas Brawijaya; Prof.Dr. Yogi Sugito, Ir. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Prof.Dr. Tri Susanto, Ir. M.App.Sc. Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Dr. Bambang Suharto, Ir.M.S. mantan Ketua Jurusan Teknologi Pertanian dan Prof.Dr. Sri Kumalaningsih, Ir.M.App.Sc. Ketua Lab. Rekayasa Industri dan Sistem

Produksi, yang kesemuanya telah memberikan restu kepada kami untuk mengikuti Program Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dr. Solimun, Ir.M.S., Didik Suprayoga, Ir.M.Sc. dan Sudarto, Ir.M.S. yang telah menyempatkan waktu diskusi. EF. Sri Maryani Santoso, Ir.M.S. atas bantuan dan saran-sarannya, Sutrisno, S.T. dan Imam Rosidi, A.Md. yang telah membantu dalam menjelajahi hutan, sawah, kebun dan menelusuri sungai untuk mencari tanaman *Costus speciosus* alami di wilayah Kabupaten Blitar, Kediri, Malang dan Pasuruan. Semua sejawat di Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian yang telah ikut andil dalam membangun situasi kerja yang kondusif sehingga dapat memberikan dorongan moral bagi kami.

Prof.Dr. Jajah Koeswara, Ir. selaku Direktur Ditbinlitabmas Dirjen Dikti Depdikbud atas dana Proyek Penelitian Dasar, Prof.Dr. H.Eka Afnan Troena, SE., Rektor Universitas Brawijaya, Ali Affandi bendaharawan Yayasan Supersemar atas beasiswa yang diberikan, Prof.Dr. Zuhul, Ir. dan Dr. Sumarna yang telah memberikan Beasiswa Selektif Yayasan ICMINET dan Hendrowasisto Pengurus Beasiswa PT. Indocement Tunggal Prakarsa atas beasiswa yang diberikan. Berkat semua bantuan dana tersebut kami dapat menyelesaikan penelitian penyelesaian penulisan Disertasi.

Bapak kami Djojo Semito beserta Ibu Kaswira serta Bapak mertua Sakri Hadi (Almarhum) beserta Ibu mertua Kusmini, yang senantiasa mendoakan penulis dan memberikan bantuan pada keluarga penulis pada akhir masa studi ini.

Isteri tercinta Enny Wijayani beserta anak-anakku Shinta Kusuma Dewi, Sekar Dyah Prameswari, Luckyan Rosa Anjani dan Vanesa Dian Krisantini yang telah mendoakan dan pengertian serta pengorbanannya sejak penulis memasuki Program Pascasarjana Universitas Airlangga sampai selesai.

ABSTRACT

Key words : *Costus speciosus* (Koen.) Smith, diosgenin, tropical environment, cations

Diosgenin, a sapogenin steroid, is commonly used as raw material for the preparation of contraceptive tablets. *Costus speciosus* is known as a potential source of diosgenin. However, information available related to various external factors that influence the rate of diosgenin metabolism of such plant is relatively scarce.

The aim of this work is to assess the effect of tropical environment, plant biomass and soil nutrients on the diosgenin content of rhizome of wild *Costus speciosus*, and the effect of available Cu^{2+} cation level in the soil on the diosgenin content of the rhizome of the plant cultivated under controlled condition.

The results indicated that the diosgenin and total diosgenin content of the rhizome of the wild *Costus speciosus* are affected by the dry matter of leaves and the levels of available Ca^{2+} and Cu^{2+} cations in the soil. In addition, the total diosgenin content is also affected by the leaves and rhizomes dry matter. It is likely that the level of available Cu^{2+} cation in the soil being the most dominant factor affecting the rhizome's diosgenin content, while the total diosgenin is mostly affected by available Cu^{2+} cation in the soil and the dry matter of the rhizome.

Under controlled tropical condition four months induction period, an optimum diosgenin synthesis may be achieved by regulating the available Cu^{2+} cation in the soil in the range of 40-60 ppm. It was found that the diosgenin level of the rhizome was 0.75-0.80 mg/g. The leaves were characterized by a Cu^{2+} cation level of 32.80-36.74 ppm, an area of 1768-1834 cm^2 and a specific leaves area of 1072-1120 cm^2/g , stem dry matter of 2.19-2.30 g and diosgenin content of 0.75-0.80 mg/g.

RINGKASAN

Diosgenin merupakan salah satu senyawa steroid hasil metabolit sekunder tanaman yang kini banyak diperlukan sebagai bahan dasar dalam sintesis kontrasepsi. Salah satu tanaman yang potensial sebagai penghasil diosgenin adalah *Costus speciosus* (Koen.) Smith, tanaman tersebut mempunyai ke-lebihan sebaran tumbuh luas pada 1 hingga 1200 m di atas permukaan laut, mudah tumbuh pada berbagai tempat secara alami, senyawa diosgenin dihasilkan pada bagian rimpang dan biji.

Permasalahan yang timbul hingga kini adalah belum diketahuinya faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kecepatan pembentukan diosgenin, sebagian besar penelitian di bidang pertanian masih dipusatkan pada pembibitan, penggunaan hormon tumbuh dan penanganan penyakit. Hasil penelitian secara kultur jaringan menunjukkan bahwa adanya elisitor (penyebab cekaman/keracunan) dapat memacu terbentuknya metabolit sekunder. Elisitor dapat berupa faktor biotik maupun abiotik, diantara elisitor abiotik, logam berat paling efektif dalam memacu produksi metabolit sekunder.

Pada penelitian ini dilakukan analisis faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan diosgenin tanaman *Costus speciosus*, yang meliputi lingkungan, biomassa tanaman dan nutrisi dalam tanah. Selanjutnya faktor yang paling dominan pengaruhnya dicobakan untuk mengetahui kadar yang optimal terhadap pembentukan diosgenin.

Penelitian dilakukan menjadi 2 tahap, tahap pertama adalah penelitian eksplorasi *Costus speciosus* alami dan tahap kedua adalah percobaan eksperimental di rumah kaca. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor yang paling dominan terhadap pembentukan diosgenin tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh secara alami.

Contoh tanah dan tanaman diambil dari 31 lokasi di wilayah kabupaten Malang, Blitar, Kediri dan Pasuruan, dengan ulangan sebanyak 3 kali. Data yang diambil meliputi variabel bebas lingkungan (suhu, kelembapan relatif dan ketinggian tempat), tanaman (luas daun dan biomassa tanaman) dan nutrisi tanah yang terdiri dari nutrisi makro (C, N, P, K⁺, Ca²⁺ dan Mg²⁺), nutrisi mikro (Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ dan Zn²⁺). Sedangkan variabel terikatnya adalah kandungan diosgenin yang terdiri dari kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus*.

Data yang diperoleh dilakukan analisis regresi dan korelasi terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami.

Variabel yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan analisis model regresi untuk mengetahui hubungan antara masing-masing variabel dengan kandungan diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami.

Hasil analisis menunjukkan bahwa tempat tumbuh *Costus speciosus* alami berada pada ketinggian 100-2838 m dari permukaan laut, suhu mikro 24,5-30° C, kelembapan relatif 42-64 persen. Tanaman yang diperoleh mempunyai luas daun 806,66-4661,95 cm², bobot kering daun 3,85-27,08 g, bk batang 19,54-83,24 g, rimpang 15,47-47,40 g, akar 1,20-6,14 g dan total biomassa tanaman 52,67-132,48 g. Kadar diosgenin rimpang berkisar antara 0,24-0,75 mg/g dan total diosgenin antara 3,87 hingga 24,52 mg/rimpang.

Tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* dengan kandungan nutrisi makro C-organik total 0,43-4,42 persen, N total 0,04-0,40 persen, C/N ratio 5-15, P tersedia 2-125 mg/kg, K⁺ tersedia 0,29-4,46 me/100g, Ca²⁺ tersedia 4,63-22,50 me/100g dan Mg²⁺ tersedia antara 0,15 hingga 6,66 me/100g. Nutrisi mikro Al³⁺ tersedia antara 10,7-74,6 ppm, Fe²⁺ tersedia 37,4-1075,0 ppm, Cu²⁺ tersedia 3,9-28,8 ppm, Mn²⁺ tersedia 18,3-184,5 ppm dan Zn²⁺ tersedia antara 2,9 hingga 40,7 ppm.

Hasil analisis statistik menunjukkan kadar diosgenin dipengaruhi oleh bobot kering daun, kadar kation Ca²⁺ dan Cu²⁺ tersedia tanah, sedangkan total diosgenin dipengaruhi oleh kelembapan dan tinggi tempat, bobot kering daun dan rimpang tanaman serta kation Ca²⁺ dan Cu²⁺ tersedia tanah. Variabel yang paling berpengaruh terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami adalah kadar Cu²⁺ tersedia tanah, sedangkan total diosgenin rimpang dipengaruhi sangat nyata oleh bobot kering rimpang dan kadar Cu²⁺ tersedia tanah.

Penelitian tahap dua bertujuan untuk mengetahui besarnya Cu²⁺ yang ditambahkan pada media tanah (dalam pot) terhadap kandungan diosgenin rimpang *Costus speciosus* yang telah mengalami elisitasi selama 4 bulan.

Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan kadar Cu²⁺ yang ditambahkan terdiri dari 7 tingkat (0, 4, 28, 65, 115, 170 dan 230 ppm), dengan menggunakan ulangan sebanyak 10 tanaman/ulangan. Data yang diamati meliputi kadar Cu²⁺ tanah dan daun, luas daun, luas daun spesifik (LDS), dan biomassa tanaman (bobot kering daun, batang, rimpang, akar dan total biomassa), serta kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada penambahan Cu²⁺ sebesar 115 ppm telah mengakibatkan gangguan fisiologis pada tanaman, yang ditandai dengan tepi daun mulai menggulung dan warna daun hijau kepuatan. Kadar diosgenin tertinggi pada rimpang *Costus speciosus*

dicapai pada perlakuan penambahan Cu^{2+} ke dalam tanah sebesar 40 hingga 60 ppm, pada kondisi tersebut kadar Cu^{2+} daun sebesar 32,9 – 36,9 ppm, luas daun 1768,68-1834,42 cm^2 , luas daun spesifik 1072,71-1120,05 cm^2/g , bobot kering batang 2,19-2,30 g, kadar diosgenin 0,75-0,80 mg/g. Pada kisaran penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, bobot kering daun, rimpang dan total biomassa tidak menunjukkan pola nyata pada regresi linier dan kuadratik, sedangkan bobot kering batang linier dan kadar Cu^{2+} tersedia tanah, kadar Cu^{2+} daun, luas daun, luas daun spesifik (LDS), dan kadar diosgenin mempunyai pola kuadrat.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xviii
DAFTAR ISTILAH	xx
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Steroid Pada Tanaman	8
2.2. Biosintesis Steroid Pada Tanaman	11
2.3. Tanaman Penghasil Steroid	17
2.4. Faktor-faktor Yang Berpengaruh Dalam Pembentukan metabolit Sekunder Pada Tanaman	19
2.4.1. Lingkungan	20
2.4.2. Nutrisi pada tanah	21
2.4.3. Bahan kimia yang digunakan selama budidaya	32
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
3.1. Kerangka Konseptual Penelitian	35
3.2. Kerangka Operasional	36
3.3. Hipotesis	39

BAB IV. METODE PENELITIAN

- 4.1. Penelitian tahap 1 : Hubungan Antara Faktor Lingkungan dan Nutrisi Dalam Tanah Dengan Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* Yang Tumbuh Alami 41
- 4.2. Penelitian tahap 2 : Pengaruh Kadar Cu^{2+} Yang Ditambahkan Dalam Media Tanah Terhadap Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* 67

BAB V. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL

- 5.1. Penelitian tahap 1 : Hubungan Antara Faktor Lingkungan dan Nutrisi Dalam Tanah Dengan Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* Yang Tumbuh Alami 74
- 5.2. Penelitian tahap 2 : Pengaruh Kadar Cu^{2+} Yang Ditambahkan Dalam Media Tanah Terhadap Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* 89

BAB VI PEMBAHASAN

- 6.1. Penelitian tahap 1 : Hubungan Antara Faktor Lingkungan dan Nutrisi Dalam Tanah Dengan Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* Yang Tumbuh Alami 99
- 6.2. Penelitian tahap 2 : Pengaruh Kadar Cu^{2+} Yang Ditambahkan Dalam Media Tanah Terhadap Kandungan Diosgenin Rimpang *Costus speciosus* 125
- 6.3. Hubungan Cu^{2+} Dengan Karakteristik Tanaman *Costus speciosus* Yang Tumbuh Alami dan Pada Kondisi Terkendali 140

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1. Kesimpulan	144
7.2. Saran	145
DAFTAR PUSTAKA	146
Lampiran	157

DAFTAR TABEL

No. urut	J u d u l	Halaman
Tabel 2.1.	Jenis-jenis elemen yang diserap dari tanah	22
Tabel 2.2.	Standar klasifikasi status nutrisi jeruk (<i>Citrus sinensis</i>) umur 4-7 bulan	23
Tabel 2.3.	Beberapa peran logam besi dalam enzim	27
Tabel 2.4.	Peran mangan dalam beberapa enzim	28
Tabel 2.5.	Peran tembaga dalam beberapa enzim	29
Tabel 4.1.	Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian	45
Tabel 4.2.	Jenis dan tipe peralatan yang digunakan dalam penelitian	46
Tabel 5.1.	Luas daun, bobot kering daun, bk batang dan bk rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	75
Tabel 5.2.	Bobot kering akar, total biomassa dan kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	76
Tabel 5.3.	Kadar nutrisi mikro pada daun (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	78
Tabel 5.4.	Kandungan bahan organik tanah tempat tumbuh <i>Costus speciosus</i> alami	81
Tabel 5.5.	Kadar nutrisi makro anorganik(K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}) tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	83

Tabel 5.6.	Kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tersedia tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	85
Tabel 5.7.	Kapasitas tukar kation, jumlah basa, kejenuhan basa dan pH tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	87
Tabel 5.8.	Kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah dan kadar Cu^{2+} daun tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan	89
Tabel 5.9.	Luas daun dan luas daun spesifik tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan	92
Tabel 5.10.	Biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan	94
Tabel 5.11.	Kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan	97
Tabel 6.1.	Regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (penelitian 1), serta Cu^{2+} yang ditambah kan dengan karakteristik tanaman pada kondisi terkendali (penelitian 2)	140

DAFTAR GAMBAR

No. urut	J u d u l	Halaman
Gambar 2.1.	Rumus bangun kerangka dasar steroid	8
Gambar 2.2.	Rumus bangun diosgenin, solasodin dan heko- genin	10
Gambar 2.3.	Reaksi pembentukan asam mevalonat	13
Gambar 2.4.	Perubahan mevalonat 5-PP menjadi skualen	14
Gambar 2.5.	Siklisasi skualen dan pembentukan kolesterol	15
Gambar 2.6.	Perubahan skualen menjadi diosgenin dan solasodin	16
Gambar 3.1.	Kerangka konseptual yang digunakan dalam pendekatan penelitian 1	37
Gambar 3.2.	Kerangka konseptual yang digunakan dalam pendekatan penelitian 2	38
Gambar 4.1.	Peta lokasi pengambilan contoh tanaman <i>Costus speciosus</i>	44
Gambar 4.2.	Kerangka operasional penelitian hubungan bimassa tanaman, lingkungan dan nutrisi dalam tanah dengan kandungan diosgenin rimpang <i>Cosus speciosus</i> alami	47
Gambar 4.3.	Tanaman <i>Costus speciosus</i>	48
Gambar 4.4.	Kerangka opsional analisis statistik pada penelitian tahap 1	66

Gambar 4.5	Rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> yang digunakan sebagai bibit dalam percobaan elisitasi Cu^{2+}	69
Gambar 4.6.	Kerangka operasional studi pengaruh kadar Cu^{2+} yang ditambahkan dalam media tanah terhadap kandungan Diosgenin rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i>	70
Gambar 4.7.	Tanaman <i>Costus speciosus</i> yang telah mengalami elisitasi nutrisi mikro Cu^{2+} selama 4 bulan	73
Gambar 5.1.	Grafik histogram kisaran biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	77
Gambar 5.2.	Grafik histogram kadar nutrisi mikro pada daun <i>Costus speciosus</i> alami	79
Gambar 5.3.	Grafik histogram kisaran kadar bahan organik (C,N, P dan nisbah C/N) tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	82
Gambar 5.4	Grafik histogram kisaran kadar nutrisi makro anorganik (K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}) tersedia tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	84
Gambar 5.5.	Grafik histogram kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tersedia tersedia tanah tempat tumbuh <i>Costus speciosus</i> alami	86
Gambar 5.6.	Tanaman <i>Costus speciosus</i> yang mengalami gangguan pada daun setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan	98
Gambar 6.1.	Grafik hubungan antara bobot kering daun dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	100

Gambar 6.2.	Grafik hubungan antara bobot kering rimpang dan daun terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	102
Gambar 6.3.	Grafik hubungan antara kelembapan relatif mikro lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	108
Gambar 6.4.	Grafik hubungan antara kelembapan relatif mikro lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	110
Gambar 6.5.	Grafik hubungan antara Ca^{2+} tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	115
Gambar 6.6.	Grafik hubungan antara Ca^{2+} tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	116
Gambar 6.7.	Grafik hubungan antara Cu^{2+} tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	118
Gambar 6.8.	Grafik hubungan antara Cu^{2+} tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	119
Gambar 6.9.	Grafik hubungan antara bobot kering rimpang dan Cu^{2+} tersedia tanah terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	123
Gambar 6.10	Grafik hubungan antara Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah dengan kadar Cu^{2+} tanah dan daun <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-115 ppm selama 4 bulan	124

- Gambar 6.11 Grafik hubungan antara Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan luas daun dan LDS tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-115 ppm selama 4 bulan 130
- Gambar 6.12 Grafik hubungan antara Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan bobot kering daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-115 ppm selama 4 bulan 134
- Gambar 6.13 Grafik hubungan antara Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-115 ppm selama 4 bulan 136

DAFTAR LAMPIRAN

No. urut	J u d u l	Halaman
Lampiran 1.	Kondisi lokasi pengambilan contoh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	157
Lampiran 2.	Karakteristik fisis tanah tempat tumbuh tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	159
Lampiran 3.	Persamaan regresi larutan standar yang digunakan dalam penelitian tahap 1	161
Lampiran 4.	Persamaan regresi larutan standar yang digunakan dalam penelitian tahap 2	163
Lampiran 5.	Nilai kritis taraf 5 dan 1 % pada uji selisih untuk contoh normal	164
Lampiran 6.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel biomassa tanaman terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	164
Lampiran 7.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel biomassa tanaman terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	165
Lampiran 8.	Koefisien persamaan regresi hubungan bobot kering daun dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	165
Lampiran 9.	Nilai korelasi antara variabel biomassa tanaman, lingkungan dengan kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	166

Lampiran 10.	Analisis multiregresi kelompok variabel biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami terhadap total diosgenin rimpang (SPSS)	167
Lampiran 11.	Analisis multiregresi kelompok variabel biomassa tanaman terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	168
Lampiran 12.	Koefisien model persamaan regresi hubungan antara bobot kering rimpang dan daun terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	168
Lampiran 13.	Nilai korelasi variabel biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	169
Lampiran 14.	Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro pada daun terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	170
Lampiran 15.	Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro pada daun terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	170
Lampiran 16.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro daun tanaman <i>Costus speciosus</i> alami terhadap total diosgenin rimpang (program SPSS)	171
Lampiran 17.	Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro daun terhadap total diosgenin rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	171

Lampiran 18.	Regresi hubungan antara Cu dan Ca^{2+} tanah dengan biomassa dan kandungan Cu tanaman jeruk mandarin Cleopatra	172
Lampiran 19.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel lingkungan terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	173
Lampiran 20.	Analisis multiregresi kelompok variabel lingkungan terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	173
Lampiran 21.	Analisis multiregresi bertatar variabel lingkungan terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	174
Lampiran 22.	Analisis multiregresi hubungan antara kelompok variabel lingkungan dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	174
Lampiran 23.	Koefisien regresi hubungan antara kelembapan relatif lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	175
Lampiran 24.	Analisis multiregresi hubungan antara kelompok variabel kelembapan dan ketinggian tempat dengan total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	176
Lampiran 25.	Koefisien regresi hubungan antara kelembapan relatif lingkungan dan ketinggian tempat terhadap total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	177

Lampiran 26.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi makro tanah terhadap kadar diosgenin tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	178
Lampiran 27.	Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	178
Lampiran 28.	Koefisien persamaan regresi hubungan antara Ca^{2+} tanah dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	179
Lampiran 29.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	179
Lampiran 30.	Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap total diosgenin tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	180
Lampiran 31.	Koefisien persamaan regresi hubungan Ca^{2+} tanah dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	181
Lampiran 32.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Ca^{2+} tanah dengan Cu^{2+} daun tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	181
Lampiran 33.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro pada tanah terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	181

Lampiran 34.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro tersedia tanah terhadap kadar diosgenin tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	182
Lampiran 35.	Koefisien regresi hubungan Cu^{2+} tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	183
Lampiran 36.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro tersedia pada tanah terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program SPSS)	183
Lampiran 37.	Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro tanah terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (program Minitab)	184
Lampiran 38.	Koefisien persamaan regresi hubungan Cu^{2+} tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	185
Lampiran 39.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan luas daun tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	185
Lampiran 40.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan bobot kering daun tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	186
Lampiran 41.	Koefisien persamaan regresi hubungan Cu^{2+} tersedia tanah dengan bobot kering daun tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	186

Lampiran 42.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan bobot kering batang tanaman <i>Costus speciosus</i> alami (SPSS)	186
Lampiran 43.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan bobot kering rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	187
Lampiran 44.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan bobot kering akar tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	187
Lampiran 45.	Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	187
Lampiran 46.	Analisis multiregresi bertatar variabel berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> alami	188
Lampiran 47.	Analisis multiregresi bertatar variabel berkorelasi nyata terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	189
Lampiran 48.	Analisis multiregresi bertatar variabel berpengaruh nyata terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	189
Lampiran 49.	Analisis multiregresi bertatar variabel berkorelasi nyata dengan total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	190

Lampiran 50.	Koefisien model persamaan regresi hubungan antara bobot kering rimpang dan Cu^{2+} tersedia tanah terhadap total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> alami	191
Lampiran 51.	Analisis keragaman kadar Cu^{2+} tersedia tanah substrat tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	192
Lampiran 52.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah kadar 0-115 ppm terhadap kadar Cu^{2+} tersedia tanah setelah mengalami elisitasi 4 bulan	193
Lampiran 53.	Analisis keragaman kadar Cu^{2+} daun tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	194
Lampiran 54.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah kadar 0-115 ppm terhadap kadar Cu^{2+} daun <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	194
Lampiran 55.	Analisis keragaman luas daun tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	195
Lampiran 56.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah kadar 0-115 ppm terhadap luas daun <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	196
Lampiran 57.	Analisis keragaman luas daun spesifik (LDS) tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	197

Lampiran 58.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap luas daun spesifik <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	197
Lampiran 59.	Analisis keragaman bobot kering daun tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	198
Lampiran 60.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah kadar 0-115 ppm terhadap bobot kering daun tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	199
Lampiran 61.	Analisis keragaman bobot kering batang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	200
Lampiran 62.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering batang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	200
Lampiran 63.	Analisis keragaman bobot kering rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	201
Lampiran 64.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	201

Lampiran 65.	Analisis keragaman bobot kering akar tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	202
Lampiran 66.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering rimpang tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	203
Lampiran 67.	Analisis keragaman total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	204
Lampiran 68.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap total biomassa tanaman <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	204
Lampiran 69.	Analisis keragaman kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	205
Lampiran 70.	Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm terhadap kadar diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi 4 bulan	206
Lampiran 71.	Analisis keragaman total diosgenin rimpang <i>Costus speciosus</i> setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan	207
Lampiran 72	Hasil identifikasi tanaman <i>Costus speciosus</i> (Koen.) Smith alami	208

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}$	Derajad
%	Persen
μ	Mikro (10^{-6})
AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>
bk	Bobot kering
BLIP	Balai Latihan Instruktur Pertanian
<i>et al.</i>	<i>et alibi</i>
g	Gram
kg	Kilogram
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
KTK	Kapasitas Tukar Kation
LDS	Luas daun spesifik
me	Milieqivalen
mesh	Ukuran saringan (jumlah lubang per inch ²)
mg	Miligram
mm	Milimeter
N	Nitrogen
\underline{N}	Normalitas
nm	Nanometer (10^{-9} m)
p	Probabilitas kesalahan
ppm	<i>Part per million</i> (per satu juta bagian)
r	Koefisien korelasi
R ²	Koefisien determinasi
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>

DAFTAR ISTILAH

- Metabolit primer : Hasil metabolisme yang berguna dalam sistem pembentukan jaringan tanaman atau dalam sistem energi
- Metabolit sekunder : Hasil metabolisme yang tidak secara langsung bermanfaat dalam sistem pembentukan jaringan tanaman dan energi
- Elisitor : Faktor luar yang dapat menyebabkan tanaman mengalami cekaman (non-logam) atau keracunan (logam berat)
- Elisitasi : Proses terjadinya cekaman atau keracunan tanaman yang disebabkan oleh faktor luar
- Kelat : Senyawa kompleks ikatan antara logam dengan senyawa organik yang ikatannya sangat kuat
- In vivo : Dalam sistem organisme hidup
- In vitro : Dalam sistem organisme tidak utuh, misalnya dalam kultur jaringan
- Rumpun : Sekelompok tanaman yang rimpang atau akarnya berhubungan antara satu dengan yang lain
- me/100g : Setara dengan 1 mol H^+ tiap 100g, atau untuk 1me K^+ (BA 39 dan valensi 1) mengandung 39 mg dan untuk 1me Ca^{2+} mengandung 20 mg (BA 40 dan valensi 2).
- Phytosiderophore* : Senyawa protein tanaman yang mempunyai gugus aktif yang berfungsi mengikat logam
- Kofaktor : Logam yang diikat oleh enzim yang berfungsi untuk mengaktifkan enzim
- Specific plasma membrane bound reductase* : Enzim khusus pada membran plasma tanaman yang berfungsi untuk menurunkan ikatan kelat logam-bahan organik pada tanah

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Tanaman dalam pertumbuhan dan perkembangannya dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Diantara faktor lingkungan yang paling menentukan pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah tanah, dan iklim. Karena tanah mempunyai fungsi sebagai penyangga dari fisika, kimia dan biologi bagi tanaman, dan iklim sebagai parameter bagi pertumbuhan dan perkembangan serta penyebaran tanaman.

Kajian hubungan antara kondisi tanah pada berbagai lingkungan dengan tanaman yang tumbuh di atasnya disebut studi geobotani. Studi tersebut bermanfaat sebagai informasi awal dalam mempelajari persyaratan tumbuh tanaman yang selanjutnya bermanfaat dalam penelitian maupun budidaya secara intensif.

Gardner *et al.* (1991) menyatakan bahwa tanaman akan tumbuh dengan baik bila tersedia 16 unsur nutrisi esensial, yang terdiri dari nutrisi makro (C, H, O, N, S, P, K, Ca dan Mg) dan nutrisi mikro (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, B dan Cl). Kebutuhan akan jenis dan kuantitas nutrisi tersebut sangat dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain jenis tanaman dan tingkat hasil (produksi) yang diinginkan. Lebih lanjut dinyatakan bahwa status nutrisi tanaman dapat dikelompokkan menjadi 4 tingkatan yaitu kurang, peralihan, cukup dan beracun. Di pihak lain Smith (1966) dalam Bidwell (1979) mengelompokkan status nutrisi dalam tanah menjadi 5 tingkatan yaitu kurang, rendah, optimum, tinggi dan berlebihan. Keadaan nutrisi dalam tanah tersebut sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman.

Lingkungan tumbuh tanaman yang optimal mutlak diperlukan, agar metabolisme dapat berlangsung sempurna, sehingga kuantitas produk metabolit yang dihasilkan tinggi. Produk metabolit dalam tanaman terdiri dari metabolit primer dan metabolit sekunder, salah satu produk metabolit sekunder yang kini sangat diperlukan terutama sebagai bahan awal untuk sintesis bahan obat kontrasepsi dan kortikosteroid adalah diosgenin. Oleh karena itu dalam penelitian ini ingin dipelajari hubungan antara ketersediaan nutrisi dalam tanah dengan metabolit sekunder tersebut.

Hasil skrining Tarigan (1980) menunjukkan bahwa dari 118 spesies dalam 46 genus tanaman yang tumbuh di Indonesia, hanya 5 genus yang mempunyai prospek sebagai penghasil steroid. Genus-genus yang kandungan steroidnya tinggi adalah *Agave*, *Yucca*, *Solanum*, *Costus*, dan *Dioscorea*. Meskipun *Agave* dan *Yucca* kandungan steroidnya relatif tinggi, namun hingga kini belum banyak diteliti dan dikembangkan di Indonesia, karena produktivitas kedua tanaman tersebut bila ditanam di Indonesia masih rendah. Sehingga penelitian banyak dipusatkan pada *Costus speciosus* (Koen.) Smith, *Dioscorea hispida* Dennst dan *Solanum khasianum* Clarke. Diantara ketiga jenis tanaman tersebut *Costus speciosus* yang paling besar peluangnya untuk dikembangkan, disebabkan daerah tumbuhnya sangat luas, pada rentang ketinggian 1 m hingga 1200 m di atas permukaan laut (Van Steenis, 1978). Tanaman *Costus speciosus* (Koen) Sm dapat menghasilkan diosgenin pada bagian rimpang dan biji. Di samping itu *Costus speciosus* (Koen.) Smith banyak tumbuh secara liar, sehingga mudah untuk dibudidayakan secara masal.

Permasalahan yang timbul hingga kini adalah sebagian besar penelitian di bidang pertanian untuk menghasilkan steroid baru dipusatkan

pada studi pembibitan, penggunaan hormon tumbuh, penyakit tanaman dan nutrisi makro. Namun, dari segi nutrisi mikro terhadap kecepatan pembentukan steroid secara *in vivo* belum banyak diteliti. Menurut Trease dan Evans (1985) kecepatan pembentukan metabolit sekunder pada tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain iklim (suhu, curah hujan, lama penyinaran) dan cara kultivasi (budidaya) terutama pengolahan tanah dan pemberian pupuk. Pada kebanyakan tanaman dengan kultur jaringan, ternyata dalam pembentukan metabolit sekunder juga dipengaruhi oleh adanya faktor penyebab cekaman pada tanaman yang disebut dengan elisitor. Hasil penelitian Crocomo *et al.* (1981) menunjukkan bahwa adanya elisitor sangat berpengaruh terhadap pembentukan steroid. Lebih lanjut Holden, Holden dan Yeoman (1988) menambahkan bahwa elisitor dapat berupa faktor biotik (mikroba) maupun abiotik (sinar UV, pH medium, tekanan osmotik dan logam berat). Kesemua faktor tersebut dapat menginduksi pembentukan metabolit sekunder, terutama ion logam berat sangat efektif untuk menginduksi pembentukan metabolit sekunder.

Pengaruh tembaga dan boron secara *in vivo* pada tanaman telah pula dibuktikan oleh Muljati (1988), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa dengan pemberian pupuk Cu^{2+} melalui daun pada tanaman *Solanum khasianum* Clarke mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar solasodin pada buah, tetapi BO_3^- tidak berpengaruh nyata. Lebih lanjut Kusmawati (1994) dengan kultur jaringan membuktikan bahwa Cu^{2+} dan Co^{2+} berpengaruh terhadap kecepatan pembentukan sapogenin steroid. Menurut Silva dan Williams (1991), tembaga dalam tanaman berperan dalam enzim sitokrom oksidase, laktase, tirosinase, askorbat oksidase, galaktosa oksidase dan superoksida dismutase. Dalam biosintesis diosgenin, enzim oksidase

berperan pada perubahan skualen menjadi skualen-2,3-epoksida serta pada perubahan 7,24 kolestandien-3 β -ol menjadi desmosterol (Anonymous, 1993).

Pada kebanyakan tanaman dengan kultur jaringan komposisi media dan lingkungan dapat dikendalikan dengan baik, sedangkan pada kebanyakan tanaman yang langsung di lapang banyak menghadapi permasalahan. Diantara permasalahan yang ada adalah terjadi interaksi yang kompleks antara nutrisi yang diberikan dengan karakteristik tanah seperti pH tanah, bahan organik, jumlah senyawa basa dan nutrisi mikro yang lain serta iklim yang berfluktuasi. Tingginya serapan besi pada tanaman akan menurunkan serapan terhadap tembaga, demikian juga tingginya bahan organik dan kapasitas tukar kation pada tanah akan menyebabkan rendahnya serapan tembaga oleh tanaman (Syekhfani, 1998).

Untuk mengetahui pengaruh nutrisi pada media tumbuh terhadap kadar steroid diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus*, pada penelitian ini perlu dilakukan beberapa tahap penelitian. Penelitian tahap pertama merupakan penelitian koleksi eksploratif yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan yang dominan terhadap kandungan diosgenin rimpang *Costus speciosus* (Koen.) Smith yang tumbuh secara alami. Oleh karena itu pada penelitian tahap pertama ini dilakukan analisis terhadap faktor lingkungan (iklim dan tanah) dan faktor tanaman (karakteristik tanaman dan kandungan diosgenin rimpang). Faktor iklim yang diamati terdiri dari suhu mikro, kelembapan mikro dan ketinggian tempat. Faktor tanah yang diamati meliputi nutrisi makro C-organik, N, P, K, Ca²⁺ dan Mg²⁺, sedangkan nutrisi mikro meliputi Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ dan Zn²⁺, serta karakteristik tanah meliputi jumlah basa, kejenuhan basa dan kapasitas tukar kation. Selanjutnya variabel yang paling berpengaruh terutama nutrisi mikro logam berat dari hasil

penelitian tahap pertama, digunakan sebagai acuan pada penelitian tahap kedua dalam upaya mengkaji peran logam sebagai nutrisi dan sebagai elisitor (penyebab keracunan) pada tanaman. Pada penelitian tahap kedua dilakukan percobaan elisitasi nutrisi mikro yang paling berpengaruh yaitu nutrisi tembaga pada media tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* dalam kondisi terkendali (percobaan di rumah kaca) untuk mengetahui perubahan kandungan diosgenin rimpang *Costus speciosus*.

1.2. Perumusan Masalah

Penelitian dirancang untuk menjawab berbagai permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimanakah hubungan antara biomassa tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami di berbagai lokasi dengan kandungan diosgenin pada rimpang.
2. Bagaimanakah hubungan antara lingkungan tempat tumbuh (suhu mikro, kelembapan relatif mikro dan ketinggian tempat) dengan kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami ?
3. Bagaimanakah hubungan antara nutrisi makro dalam tanah dengan kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami pada berbagai lokasi ?
4. Bagaimanakah hubungan antara nutrisi mikro dalam media tanah dengan kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami pada berbagai lokasi ?

5. Bagaimanakah pengaruh nutrisi mikro yang paling potensial terhadap kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* pada kondisi terkendali di rumah kaca ?.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian adalah untuk mengetahui faktor-faktor lingkungan tumbuh yang paling berpengaruh terhadap pembentukan metabolit sekunder diosgenin pada tanaman *Costus speciosus*.

1.3.2. Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini meliputi :

1. Mengkaji biomassa tanaman *Costus speciosus* dari berbagai lokasi dikaitkan dengan kandungan diosgenin pada rimpang.
2. Mengkaji lingkungan tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami pada berbagai lokasi dikaitkan dengan kandungan diosgenin rimpang.
3. Mengkaji kandungan nutrisi makro tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami pada berbagai lokasi dikaitkan dengan kandungan diosgenin rimpang.
4. Mengkaji kandungan nutrisi mikro tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami pada berbagai lokasi dikaitkan dengan kandungan diosgenin pada rimpang.
5. Mengkaji penambahan nutrisi mikro paling potensial dalam media tanah terhadap kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* pada kondisi terkendali (percobaan di rumah kaca).

1.4. Manfaat Penelitian

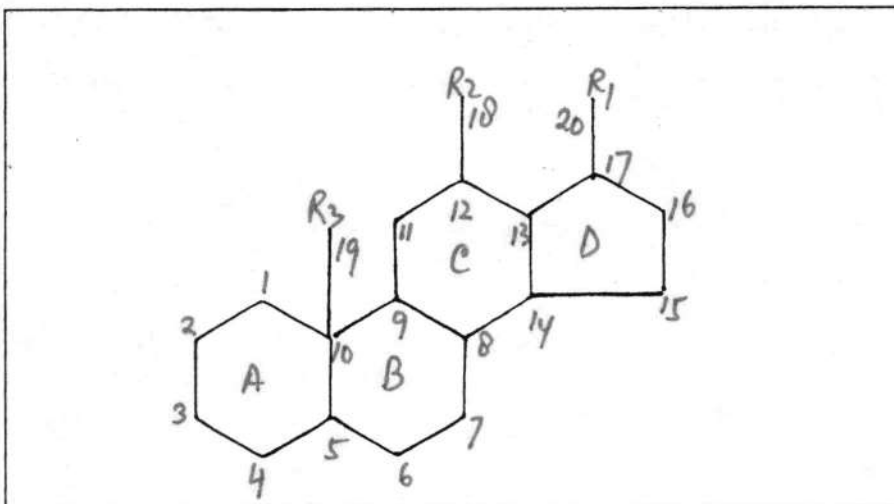
Hasil penelitian diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai informasi dalam hal :

1. Penggunaan pupuk mikro dalam budidaya tanaman *Costus speciosus* dalam upaya memproduksi diosgenin sebagai bahan baku sintesis obat kontrasepsi.
2. Pemetaan wilayah pengembangan tanaman *Costus speciosus* berdasarkan potensi kandungan nutrisi mikro pada tanah.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Steroid Pada Tanaman

Steroid merupakan kelompok senyawa yang mempunyai kerangka dasar C₁₇, merupakan fusi dari 3 siklopentano perhidropentantren, seperti disajikan pada Gambar 2.1. Senyawa steroid mempunyai struktur kimia yang bervariasi dan bahan tersebut memegang peran penting dalam kehidupan, beberapa contoh senyawa steroid antara lain kolesterol, asam empedu, vitamin D, hormon seks dan kortikoid, aglikon kardiak dan antibiotik.



Gambar 1. Rumus bangun kerangka dasar steroid

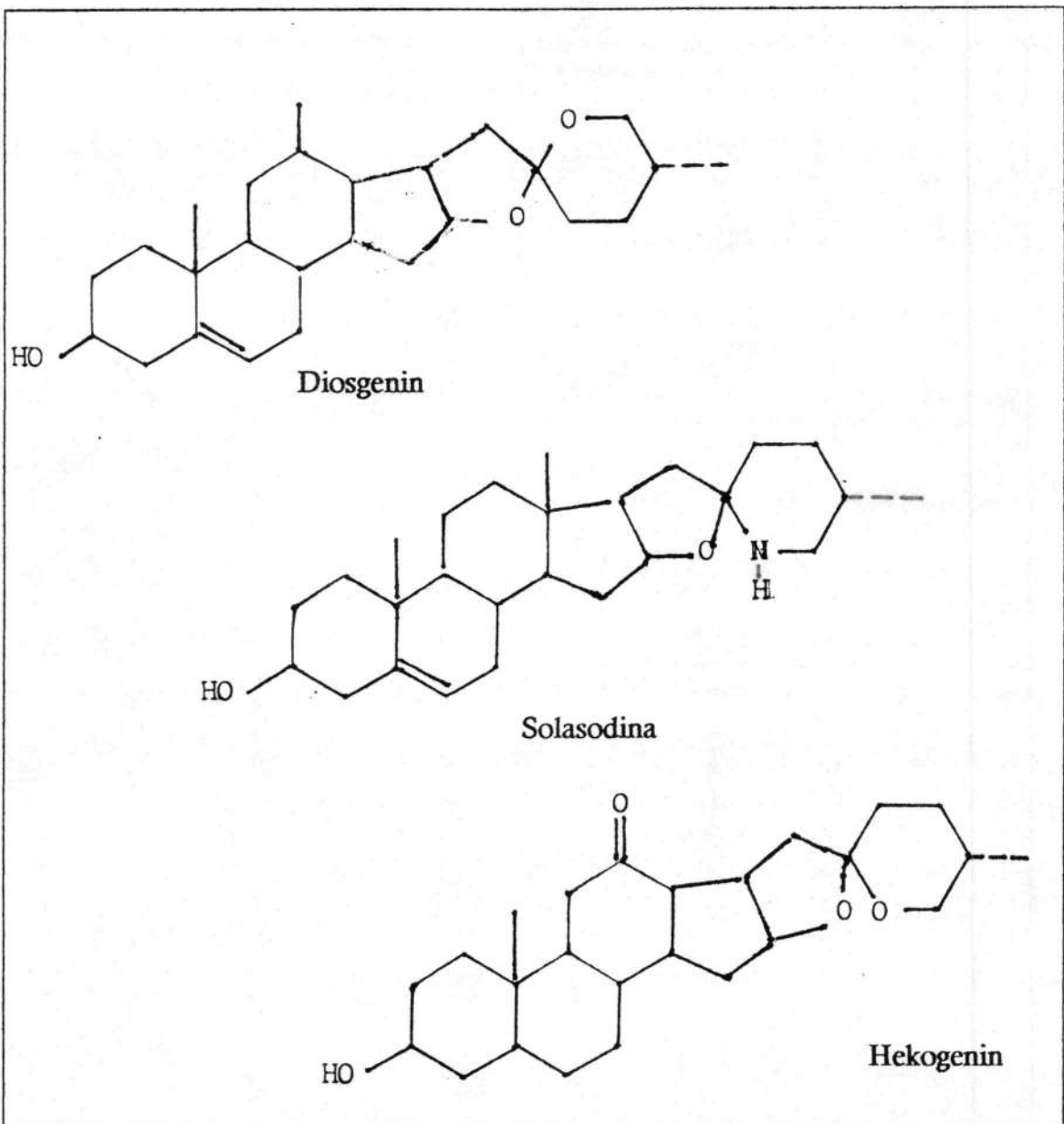
Bila ditinjau dari sifat fisiologisnya, menurut Achmad (1986) senyawa steroid dapat dibedakan atas beberapa kelompok yaitu sterol (ergosterol, stigmasterol, kampesterol dan kolesterol), asam-asam empedu (asam kolat dan asam litokolat), hormon seks (oesteron dan progesteron), adrenokortikoid (kortison dan aldosteron), aglikon kardiak (digitoksigenin dan strofantidin),

sapogenin (diosgenin dan sarsapogenin). Dilihat dari asalnya, maka steroid yang dihasilkan oleh tumbuhan (fitosteroid) terdiri dari steroid alkohol (sterol), sapogenin steroid dan steroid alkaloid. Yang termasuk kedalam fitosterol antara lain sitosterol, stigmasterol, kampesterol dan brassicasterol (deMan, 1976). Sedangkan yang termasuk pada sapogenin steroid (steroid yang mengandung glikosida) adalah diosgenin dan sarsapogenin), dan yang termasuk steroid alkaloid adalah solasodina dan tomatidina (Achmad, 1986).

Diantara jenis-jenis steroid dari tanaman (fitosteroid) yang paling banyak digunakan sebagai bahan dasar sintesis kontrasepsi adalah solasodina dan diosgenin. Hal tersebut disebabkan molekulnya memiliki kerangka yang mirip dengan senyawa- senyawa hormon steroid, terutama cincin A, B, C dan D (Muljati, 1988). Lebih lanjut Tarigan (1980) menyatakan bahwa solasodina dan diosgenin hanya berbeda pada atom oksigen yang diganti dengan nitrogen, oleh sebab itu solasodina termasuk dalam steroid alkaloid. Rumus bangun beberapa senyawa fitosteroid seperti disajikan pada Gambar 2.2.

Diosgenin merupakan fitosteroid yang mempunyai rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$ (Tedder *et al.*, 1972), senyawa tersebut mempunyai berat molekul 414,61, titik cair 204-207 °C, larut dalam pelarut organik serta asam asetat. Steroid diosgenin termasuk dalam senyawa sapogenin steroid atau diosgenin merupakan aglikon dari saponin. Saponin merupakan glikosida nabati yang bebas dari basa nitrogen, sehingga tidak termasuk dalam kelompok alkaloid steroid.

Selama ini sebagian besar senyawa diosgenin diperoleh dari tanaman genus *Dioscorea* dan genus *Costus*. Senyawa tersebut sejak lama telah banyak dimanfaatkan sebagai racun ikan, obat cuci/deterjen, obat sipilis, diuretika dan ekspektoransia (Robinson, 1964 dan Lubis, 1980).



Sumber : Tarigan (1980)

Gambar 2.2. Rumus bangun Diosgenin, Solasodina dan Hekogenin

Solasodina mempunyai struktur yang hampir sama dengan diosgenin, hanya dibedakan pada atom oksigennya diganti dengan nitrogen, sehingga senyawa tersebut termasuk alkaloid steroid (Tarigan, 1980). Di alam solasodina tidak terdapat dalam bentuk bebas, melainkan terikat senyawa-

senyawa glikosida, jika senyawa tersebut dihidrolisis dengan asam encer akan terurai menjadi solasodina sebagai aglikonnya. Sumber solasodina di alam adalah tanaman *Solanum khasianum* Clarke.

Hekogenin mempunyai struktur molekul yang hampir sama dengan diosgenin, perbedaannya adalah pada senyawa hekogenin tidak mempunyai ikatan rangkap pada atom C₅ dan terdapat gugus keton pada C₁₂. Menurut Trease dan Evans (1983), senyawa hekogenin banyak terdapat pada tumbuhan genus *Agave* dan *Hechtia*.

2.2. Biosintesis Steroid Pada Tanaman

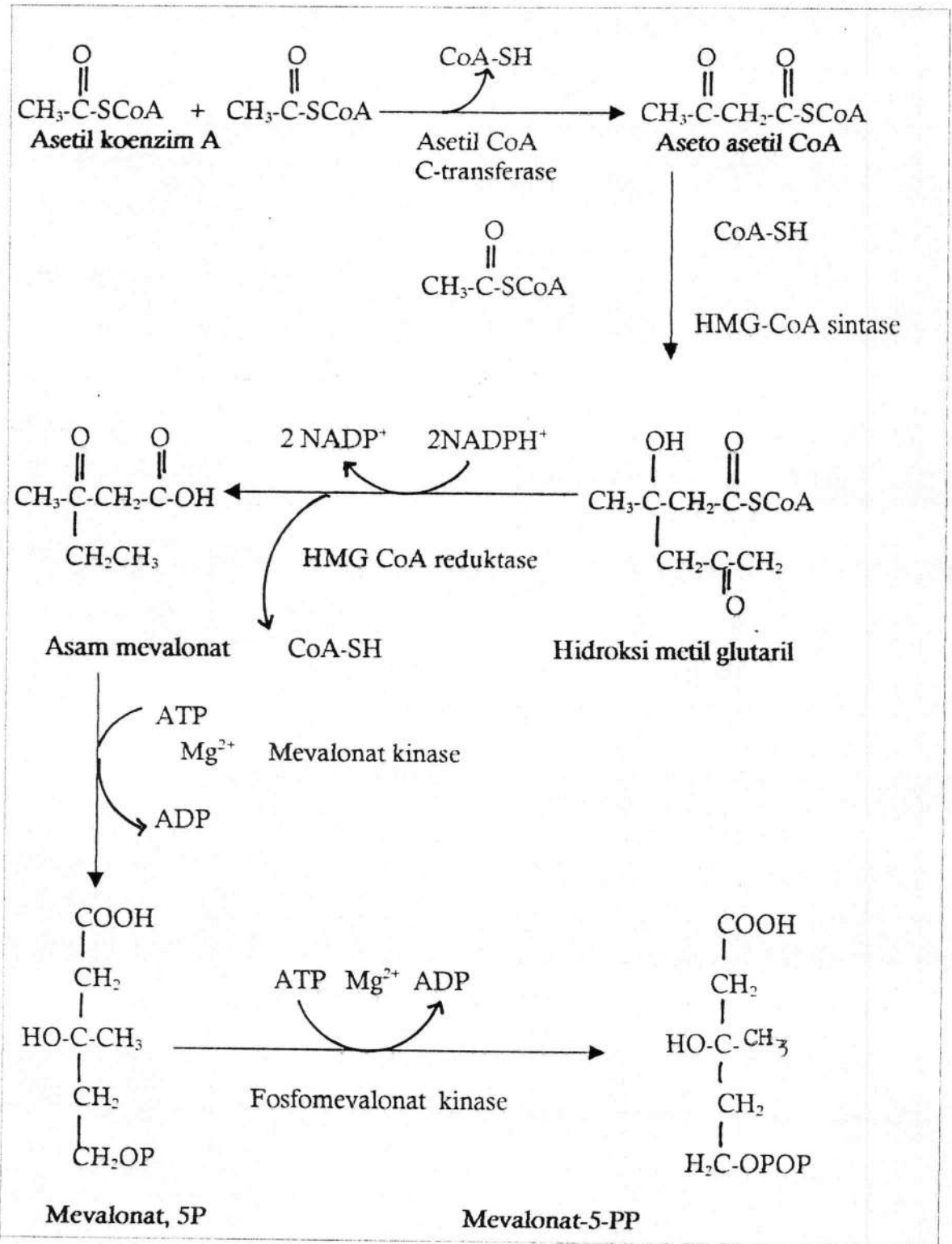
Steroid merupakan senyawa yang termasuk dalam produk metabolit sekunder. Menurut Trease dan Evans (1985), pada dasarnya lintasan biosintesis metabolit sekunder hampir sama antara yang terjadi pada binatang maupun tumbuhan, hanya jumlahnya yang berbeda. Selanjutnya Prave *et al.* (1987) menambahkan bahwa metabolit sekunder merupakan penyimpangan dari metabolit primer, merupakan produk antara, produk yang berfungsi dalam proses detoksifikasi, produk akumulasi dari proses penghambatan pertumbuhan dan lain-lain. Hal tersebut ditunjang oleh Shetty dan Curtis (1995) yang menyatakan bahwa metabolit sekunder tidak ada hubungannya dengan metabolit primer dan juga tidak berperan secara langsung dengan proses fisiologis tanaman. Fungsi metabolit sekunder tidak jelas, tetapi sebagian berfungsi dalam : mengatur pertumbuhan dan perkembangan, melindungi tanaman dari serangan jamur dan bakteri, membuat tanaman tak disukai oleh hewan, bereaksi sebagai insektisida dan membantu proses polinasi atau distribusi biji.

Senyawa golongan sterol disintesis dan disimpan dalam organ sel retikulum endoplasma, kompleks golgi, membran plasma dan tonoplasma. Senyawa tersebut sebagian besar disimpan dalam bentuk steril ester dan sterol bebas. Lebih lanjut menurut Burden, Coke dan Carter (1989) pada tanaman terdapat korelasi antara proses penghambatan pertumbuhan dengan akumulasi metabolit sekunder.

Achmad (1986), Fessenden dan Fessenden (1992), menyatakan bahwa senyawa steroid berasal dari triterpen sikloartenol, setelah mengalami serentetan perubahan tertentu. Pada tahap awalnya sama untuk semua jenis steroid, yaitu perubahan asam asetat menjadi mevalonat, pada tahap tersebut senyawa asetil CoA dengan adanya enzim asetil CoA C- transferase, HMG-CoA sintase dan HMG-CoA reduktase akan diubah menjadi asam mevalonat (Curry, 1987). Reaksi pembentukan asam mevalonat tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.3.

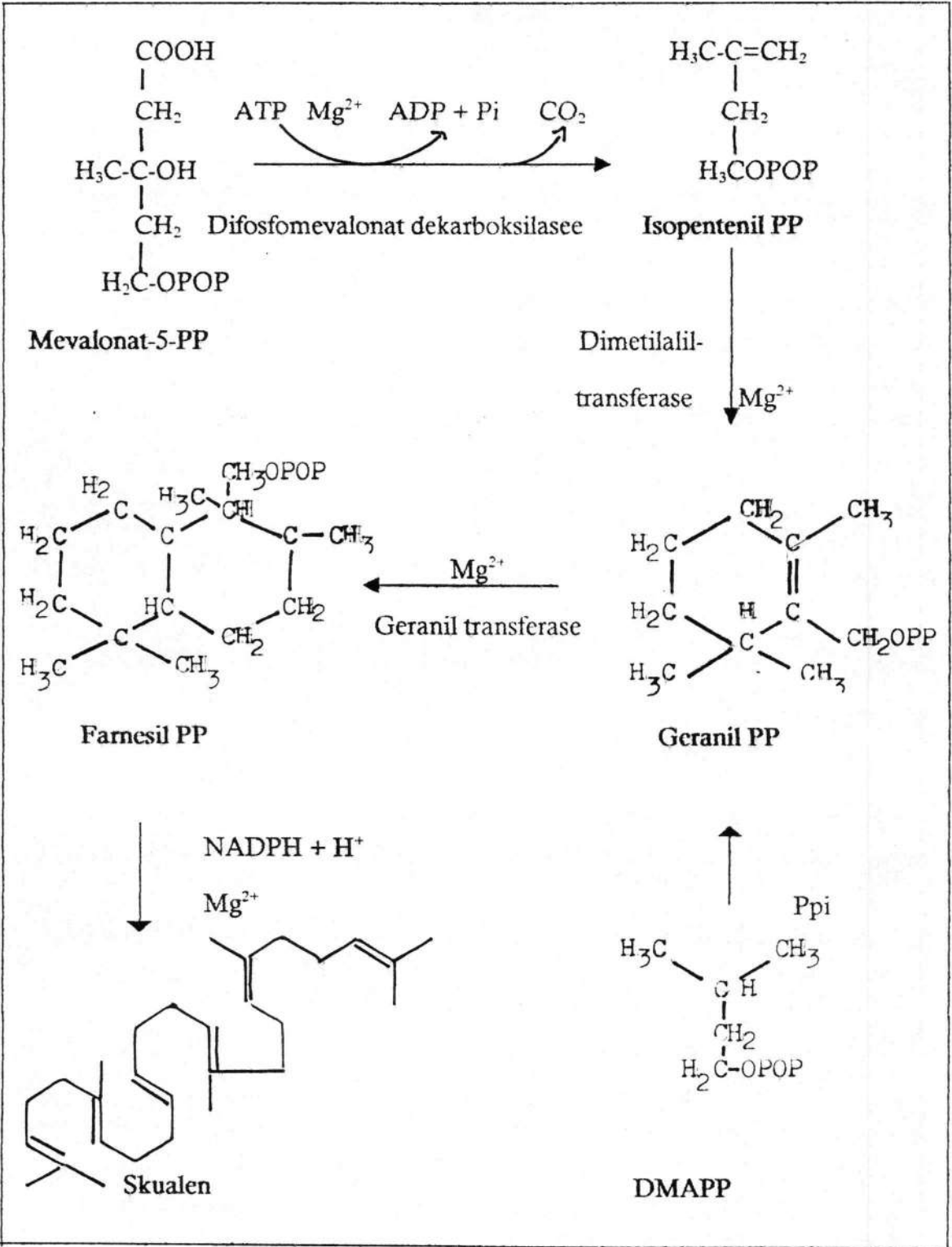
Pada tahap selanjutnya asam mevalonat akan diubah menjadi isopentenil pirofosfat (IPP), dimetilalil pirofosfat (DMAPP) dan farnesil pirofosfat (FPP) (Achmad, 1986). Senyawa farnesil pirofosfat akan mengalami perubahan menjadi skualen dan sikloartenol. Siklisasi senyawa tersebut melibatkan aktivitas enzim Sitokrom P-450 yang berfungsi sebagai enzim oksidase (Croteau *et al.*, 1991). Menurut Silva dan Williams (1991), enzim oksidase dalam aktivitasnya memerlukan tembaga. Reaksi tahapan perubahan mevalonat menjadi skualen disajikan pada Gambar 2.4.





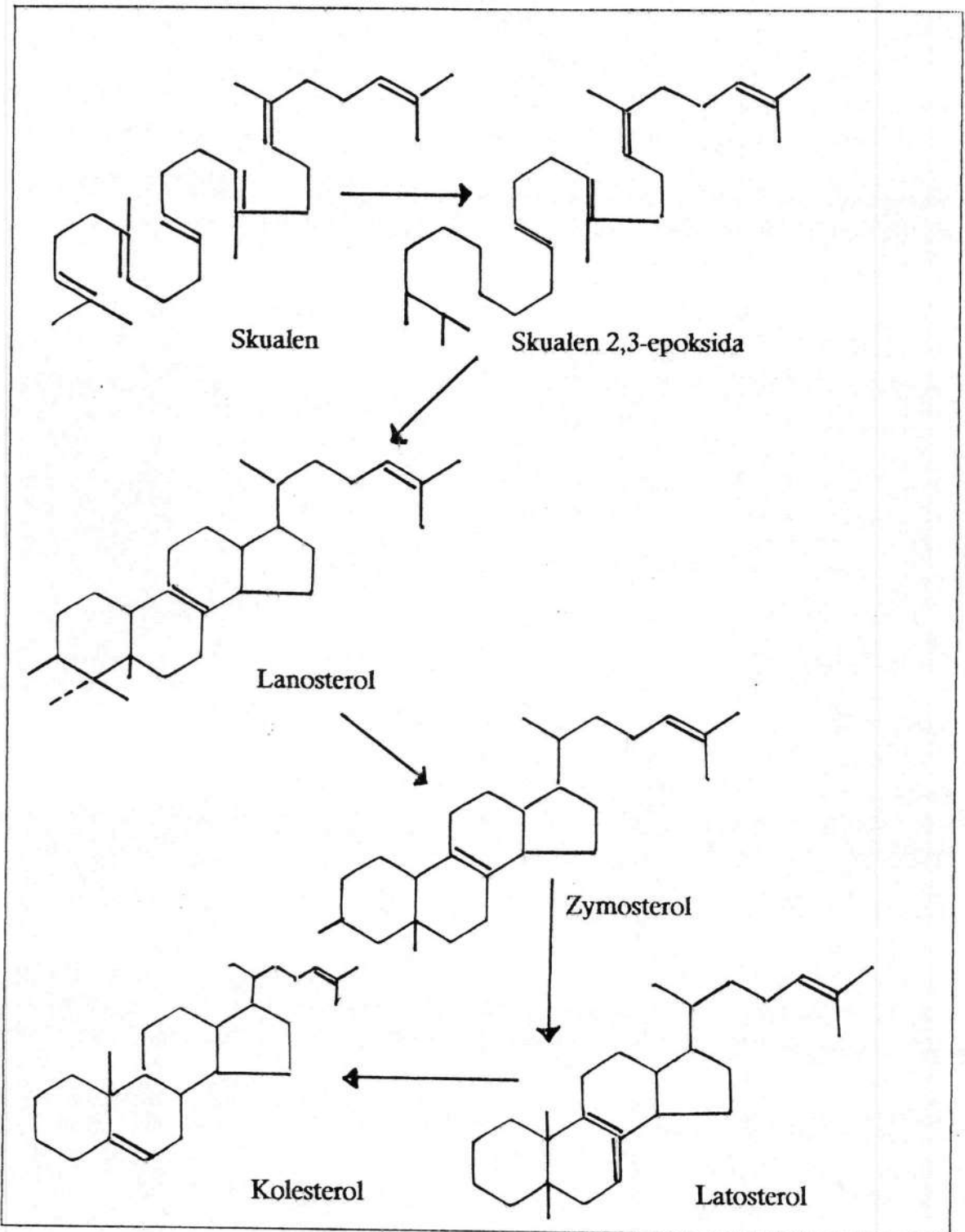
Sumber : Curry (1987)

Gambar 2.3. Reaksi pembentukan asam Mevalonat



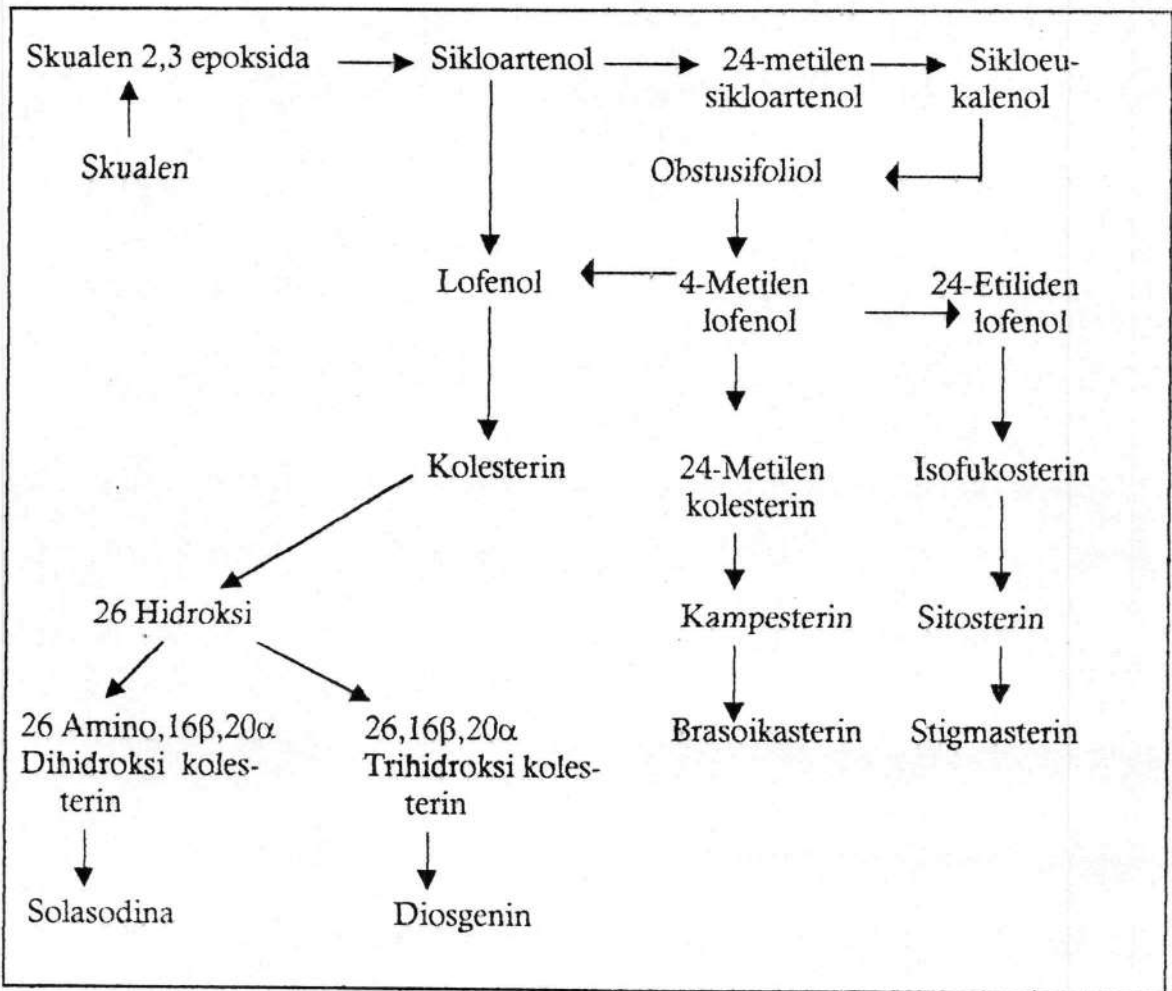
Sumber : Achmad (1986) dan Croteau *et al.* (1991).

Gambar 2.4. Perubahan Mevalonat-5-PP menjadi Squalen



Sumber : Trease dan Evans (1985).

Gambar 2.5. Siklisasi Squalen dan pembentukan Kolesterol



Sumber : Emma (1989)

Gambar 2.6. Perubahan Skualen menjadi Solasodina dan Diosgenin

Senyawa sikloartenol selanjutnya akan berubah menjadi kolesterol dan pada tanaman akan berubah menjadi diosgenin dan lain-lain yang mengandung gugus gula (Trease dan Evans, 1985) seperti pada Gambar 2.5 dan Gambar 2.6. Menurut Paczkowski *et al.* (1990) penggabungan antara kolesterol dengan gugus gula tersebut melibatkan aktivitas enzim UDPG-glukasil transferase.

2.3. Tanaman Penghasil Steroid

Menurut Giner dan Djerasi (1991) sumber-sumber sterol pada tanaman antara lain meliputi famili *Compositaceae*, *Cucurbitaceae*, *Leguminosaceae* dan *Apocynaceae*. Dalam hal pencarian sumber bahan kontrasepsi, Tarigan (1980) telah melakukan skrining sekitar 118 spesies tumbuhan dari 16 genus yang mengandung senyawa steroid. Dari jumlah tersebut yang memiliki kandungan steroid sebanyak 9 genus, sedangkan yang kandungannya tinggi atau potensial untuk dikembangkan hanya 5 genus yaitu *Agave*, *Costus*, *Dioscorea*, *Solanum* dan *Yucca*. Kelima genus tersebut termasuk dalam divisi Spermatofita dan sub-divisi Angiospermae. Dari kelima genus tanaman penghasil steroid tersebut yang sudah banyak diteliti kemungkinan pengembangan di bidang pertanian adalah *Costus*, *Dioscorea* dan *Solanum*, sedangkan genus *Agave* dan *Yucca* belum banyak diteliti.

Menurut Trease dan Evans (1985) jenis steroid yang terdapat pada tumbuhan genus *Yucca* yang paling banyak adalah steroid sarsapogenin. Pada genus *Agave* tersebut ada 9 spesies yang mengandung steroid, namun demikian yang potensial hanya 2 spesies yaitu *A. cantala* dan *A. sisalana*, Perrina karena kedua spesies tersebut bagian tanaman yang tinggi kandungan steroidnya adalah daun (Tarigan, 1980).

Genus-genus *Costus*, *Dioscorea* dan *Solanum* merupakan tanaman yang kini telah mendapat perhatian di bidang pertanian. Genus *Dioscorea* mempunyai kelebihan kadar steroidnya tinggi, pada tanaman *Dioscorea hispida* Dennst bagian ubinya mengandung diosgenin 4-6 persen (Sudiarto, 1984), akan tetapi mempunyai kelemahan tanamannya bersifat tahunan dan belum banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Genus *Solanum* mempunyai kelebihan tanaman bersifat musiman, akan tetapi memerlukan persyaratan

tumbuh yang rumit dan kandungan solasodina pada *Solanum khasianum* hanya mencapai 2,5- 3,0 persen.

Genus *Costus* kadar steroid diosgenin pada rimpangnya hanya mencapai 1,5-2,1 persen, akan tetapi mempunyai banyak kelebihan diantaranya bagian biji juga mengandung diosgenin sekitar 2,7-3,4 persen (Lubis dan Sastrapradja, 1984), daerah tumbuh luas 1-1.200 m dpl., dan tanaman banyak tumbuh liar pada berbagai kondisi tanah sehingga memungkinkan untuk dibudidayakan secara masal. Dari 14 spesies *Costus* yang diteliti hanya ada 3 spesies yang mengandung steroid diosgenin, spesies-spesies tersebut adalah *C. rhumpianus* Val., *C. speciosus* (Koen.) Smith dan *C. villosissimus* Jacq. (Tarigan, 1980).

Diantara 3 spesies tersebut yang hingga kini yang mendapat perhatian serius untuk diteliti dan dibudidayakan adalah *C. speciosus*. Sistematika tanaman *Costus speciosus* sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
- Kelas : Monocotyledoneae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae
- Genus : *Costus*
- Spesies : *Costus speciosus*

Dalam bahasa daerah *Costus speciosus* dikenal dengan nama Pacing atau tawar (Jawa) maupun tetawar (Sunda). Tanaman *Costus speciosus* merupakan tumbuhan tahunan yang bercabang pada tengah bagian atas batangnya. Batang sebesar ibu jari dan berserat. Tinggi tanaman 0,5-4 meter. Daun pada umumnya berbentuk lembing dan melebar di bagian tengah, pada permukaan atas daun di sekitar jari tulang daun kadang-kadang dijumpai bulu-

bulu halus. Panjang daun sekitar 12-34 cm, lebar mencapai 4-10,5 cm dan tangkai daun pendek agak berbulu (Van Steenis, 1978). Selanjutnya dinyatakan bahwa bunga bersifat majemuk yang terdiri atas serangkaian bunga. Daun pelindung bunga primer bulat telur, lunak atau keras dan berduri. Warna bunga putih dan pada umumnya berbulu halus. Daun pelindung bunga primer bulat telur, lunak atau keras dan berduri. Daun pelindung bunga sekunder bercelah, runcing dan berwarna merah. Panjang kelopak bunga 2-2,35 cm, kepala sari 8 mm dan tangkai putik sekitar 2,75 cm.

Buahnya sedikit sampai banyak, dengan panjang hampir sama dengan daun pelindungnya. Letaknya terbuka, berbentuk corong, berwarna merah, ukurannya 1-2,5 cm. Kulit buah tebal, biji berukuran 3mm (Van Steenis, 1978). Tanaman *Costus speciosus* banyak tumbuh pada ketinggian 1-1200 m dari permukaan air laut. Tumbuh liar pada tempat yang lembab, bahkan pada tempat yang berkapur.

Bagian tanaman yang banyak mengandung diosgenin adalah bijinya. Kandungan diosgenin pada biji *Costus speciosus* berkisar antara 2,7-3,4 persen (bk), yang lebih tinggi sekitar 1,25 persen bila dibandingkan dengan diosgenin pada umbinya (Lubis dan Sastrapradja, 1985).

2.4. Faktor-faktor Berpengaruh Dalam Pembentukan Metabolit Sekunder Pada Tanaman

Menurut Trease dan Evans (1983), faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada tanaman antara lain iklim, hara, teknik budidaya dan penanganan pasca panen. Iklim terdiri dari suhu, curah hujan, lama penyinaran, intensitas cahaya dan ketinggian tempat, sedangkan teknik

budidaya terdiri dari pengaturan nutrisi pada tanah dan cara perbanyak tanaman. Penanganan pascapanen meliputi proses pengeringan dan penyimpanan yang lebih ditujukan untuk menjaga keutuhan senyawa metabolit sekunder.

2.4.1. Lingkungan

Pengaruh suhu dan lama penyinaran sangat besar terhadap aktivitas metabolisme tanaman. Menurut Alberdi dan Corcuera (1991) suhu yang rendah akan menurunkan aktivitas metabolisme dan fungsi fisiologis tanaman. Suhu yang terlalu ekstrem kadang-kadang menyebabkan produktivitas tanaman terhambat, bahkan dapat menyebabkan kerusakan jaringan hidup (Fircks dan Verwijst, 1993). Di samping itu juga dapat menyebabkan kerusakan-kerusakan permanen, yang pada akhirnya menyebabkan kematian.

Hasil penelitian Midmore dan Prance (1992) membuktikan bahwa pada suhu yang tinggi dan iradiasi cahaya rendah akan menyebabkan rendahnya NAR (*net assimilation rate*) dan RGR (*relative growth rate*) pada tanaman *Solanum*. Ditunjang oleh Burke dan Oliver (1993) menyatakan bahwa suhu untuk proses metabolisme tanaman *Cucumis sativus* L. sebesar 23,5-39 ° C, dan suhu optimalnya sebesar 30-35 ° C. Untuk tanaman *Arabidopsis thaliana*, terjadinya perubahan suhu dingin ternyata tidak mempengaruhi komposisi sterol (Patterson, Hugly dan Harrison, 1993). Peran cahaya terhadap pembentukan sterol telah diteliti oleh Huang dan Grundwald (1989), mereka menyatakan bahwa penggabungan mevalonat ke dalam sterol akan lebih cepat dengan adanya cahaya, sehingga terjadi demetilasi 4,4-dimetil sterol. Kok (1956); Critckley dan Smillie (1981); Langenheim *et al.* (1984) Oberbauer dan Strain (1985) dalam Kamaludin dan Grace (1992) menambahkan bahwa selain

efek dari suhu, kontak tanaman pada intensitas cahaya yang tinggi juga akan mengakibatkan fotoinhibisi dalam proses fotosintesis.

Pengaruh jumlah air tanah terhadap biosintesis metabolit sekunder pada tanaman telah diteliti oleh Stefanov *et al.* (1992), hasil percobaan menunjukkan bahwa pada defisit air sebanyak 50 persen akan terjadi perubahan komposisi sterol pada tanaman *Herbelea rhodopensis*, sedangkan pada defisit air 87 persen komposisinya sama dengan tanaman segar tanpa defisit air.

Pengaruh ketinggian tempat tanam terhadap pertumbuhan 3 varietas *Solanum khasianum* telah diteliti oleh Januwati (1985). Mereka menyimpulkan bahwa pada ketinggian 1500 m dpl., laju pertumbuhan (tinggi tanaman, diameter batang dan jumlah cabang primer) ketiga jenis yaitu BD (banyak duri), KD (kurang duri) dan DB (duri bengkok) adalah sama, akan tetapi jenis KD cenderung menghasilkan buah lebih banyak. Pada ketinggian tersebut jenis KD memberikan hasil berat buah, jumlah buah dan diameter buah lebih tinggi dibandingkan jenis BD dan DB. Pada ketinggian 1200 m dpl. hanya jumlah buah jenis KD yang lebih tinggi dibandingkan lainnya. Pada ketinggian 115 m dpl., kelima sifat yaitu tinggi tanaman, jumlah cabang primer, jumlah buah, berat buah dan diameter buah besarnya sama antara ketiga jenis/klon di atas.

2.4.2. Nutrisi pada Tanah

Ada 16 jenis unsur nutrisi yang diperlukan bagi tanaman, dari jumlah tersebut 13 diantaranya diperoleh tanaman dari tanah, hanya C, H dan O dapat diambil dari luar tanah (Gardner, Pearce dan Mitchell, 1991). Lebih lanjut dinyatakan bahwa karbon, air dan oksigen secara total mencapai 95 persen,

sisanya terdiri dari elemen makro dan elemen mikro. Sembilan elemen yang termasuk unsur makro (S, P, Mg, K, Ca, N, C, H dan O), nutrisi mikro esensial (Mo, Cu, Mn, Fe, B dan Cl) dan nutrisi mikro non-esensial (Li, Be, Ni, Al, Cd, Pb, Hg). Rincian kebutuhan hara bagi tanaman disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Jenis-jenis elemen yang diserap dari tanah

Jenis Unsur	Diserap dalam bentuk senyawa	Jumlah diperlu kan dalam nutrisi (ppm)
Nitrogen	$\text{NO}_3^-; \text{NH}_4^+$	100-200
Fosfor	$\text{H}_2\text{PO}_4^-; \text{HPO}_4^{2-}$	63
Belerang	SO_4^{2-}	32
Kalium	K^+	200
Kalsium	Ca^{2+}	120
Magnesium	Mg^{2+}	24
Besi	$\text{Fe}^{2+}; \text{Fe}^{3+}$	5,6
Mangan	Mn^{2+}	0,6
Boron	$\text{BO}_3^{2-}; \text{BO}_3^{3-}$	-
Tembaga	$\text{Cu}^+; \text{Cu}^{2+}$	0,02
Seng	Zn^{2+}	0,07
Molibdenium	MoO_4^{2-}	0,01
Khlor	Cl^-	-

Sumber : Gardner *et al.* (1991).

Variasi kuantitas nutrisi yang diperlukan oleh tanaman sangat dipengaruhi oleh jenis tanaman yang dibudidayakan, tingkat/jumlah hasil yang diinginkan dan jenis unsur nutrisi yang diperlukan. Diperjelas bahwa kandungan nutrisi dalam jaringan tumbuhan yang lebih dikenal dengan istilah status nutrisi dalam tanaman dapat dikelompokkan menjadi 4 tingkatan yaitu defisien, peralihan, cukup dan beracun (Gardner *et al.*, 1991). Contoh kebutuhan beberapa unsur-unsur nutrisi pada tanaman seperti disajikan pada Tabel 2.2 .



Kebutuhan akan nutrisi mikro jauh lebih kecil dibandingkan dengan nutrisi makro, dan semua jenis hara mikro tersebut dalam jumlah tertentu justru bersifat meracuni tumbuhan (Gardner *et al.*, 1991) oleh sebab itu penggunaan pupuk mikro harus dilakukan dengan hati-hati. Hal tersebut berbalikan dengan konsep produksi metabolit sekunder pada tanaman, tingginya logam berat sebelum pada batas meracuni justru memacu pembentukan metabolit sekunder (Holden, Holden dan Yeoman, 1988).

Tabel 2.2. Standar klasifikasi status nutrisi Jeruk (*Citrus sinensis*) umur 4-7 bulan

Jenis unsur	Defisien bila < dari	Kisaran rendah	Kisaran optimum	Kisaran tinggi	Menimbulkan ekkses bila >
Nitrogen (%)	2,20	2,20-2,40	2,50-2,70	2,80-3,00	3,00
Fosfor (%)	0,09	0,09-0,11	0,12-0,16	0,17-0,29	0,30
Belerang (%)	0,14	0,14-0,19	0,20-0,39	0,40-0,60	0,60
Kalium (%)	0,70	0,70-1,10	1,20-1,70	1,80-2,30	2,40
Kalsium (%)	1,50	1,50-2,90	3,00-4,50	4,60-6,00	7,00
Magnesium (%)	0,20	0,20-0,29	0,30-0,49	0,50-0,70	0,80
Besi (ppm)	35	35-49	50-120	130-200	250
Mangan (ppm)	18	18-24	25-49	50-500	1.000
Boron (ppm)	20	2-35	36-100	101-200	260
Tembaga (ppm)	3,60	3,70-4,90	5-12	13-19	20
Seng (ppm)	10	18,24	25-49	50-200	200
Molibdenium (ppm)	0,05	0,06-0,09	0,10-1	2-50	100
Klor (ppm)	-	-	<0,16	0,30-0,50	0,70
Lithium (ppm)	-	-	<1	1-5	12

Sumber : Smith (1966) dalam Bidwell (1979).

a. Kalsium (Ca)

Di dalam tanaman kalsium mempunyai beberapa fungsi antara lain : membentuk kalsium pektat sebagai komponen dinding sel, berperan pada pembentukan asam indol asetat, mempengaruhi pertumbuhan yang non-spesifik, struktur membran dan perubahan ion, sebagai pelindung transportasi

ion dan proses fisiologis, mempengaruhi reduktase nitrat, berperan dalam nodulasi dan fiksasi nitrogen (Bonner dan Varner, 1976).

Kalsium diperlukan oleh beberapa enzim antara lain amilase, ATP-ase dan fosfolipase (Bonner dan Varner, 1976). Hal tersebut juga didukung oleh Silva dan Williams (1991) yang menyatakan bahwa kalsium diperlukan dalam enzim fosfolipase A₂, termolisin dan sakarase. Hasil penelitian Noeraini (1992) menunjukkan bahwa peningkatan ion Ca²⁺ sampai pada kadar 880 µg/l pada kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell menghasilkan hekogenin sebesar 56,45 ± 1,33 µg/g, akan tetapi Indrayanto *et al.* (1996) menyatakan bahwa ion Ca²⁺ tidak berpengaruh terhadap kadar hekogenin *Agave amaniensis*.

b. Magnesium (Mg)

Fungsi logam magnesium dalam tanaman sebenarnya hampir sama dengan kalsium, yaitu membantu proses pertumbuhan. Beberapa enzim yang memerlukan magnesium antara lain adenilat siklase, ATP-ase, alkalin fosfatase, enolase, isositrat liase, metil aspartase, ribulosa bifosfatase karboksilase dan secara umum enzim kinase (Silva dan Williams, 1991). Lokasi enzim-enzim tersebut kesemuanya terdapat pada sitoplasma. Defisiensi unsur magnesium akan mengakibatkan sintesis klorofil terhambat dan tanaman mengalami klorosis (Treshow, 1961).

Hasil penelitian Noeraini (1992) menunjukkan bahwa kenaikan ion magnesium justru menurunkan kandungan hekogenin *Agave amaniensis*, sedangkan menurut Indrayanto *et al.* (1996) ion Mg²⁺ tidak berpengaruh dalam pembentukan hekogenin tanaman *Agave amaniensis*.

c. Nitrogen (N)

Nitrogen dalam tanaman mempunyai peran penting dalam hal sebagai penyusun asam amino, amida, nukleotida, dan nukleoprotein, serta esensial dalam proses pembelahan sel untuk pertumbuhan (Gardner *et al.*, 1991). Defisiensi terhadap nitrogen akan mengurangi kualitas dan ukuran buah, dan menyebabkan kematangan lebih cepat (Treshow, 1961).

Peran nitrogen belum jelas dalam pembentukan steroid, hasil penelitian Nuliyantini (1989) menunjukkan bahwa kenaikan nitrogen dalam bentuk kalsium nitrat dan amonium hidroksida sampai 2 kali tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus *Solanum indicum* L. Sedangkan pada tanaman *Dioscorea alata* L., pemberian nitrogen dan kalium dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan produksi umbi secara nyata (Supandji, 1984).

d. Fosfor (P)

Fosfor merupakan komponen struktural dari sejumlah senyawa penting, molekul pentransfer energi ADP dan ATP (adenosin di/tri fosfat), NAD, NADH dan senyawa sistem informasi genetik DNA dan RNA. Selain fosfor juga merupakan bahan penyusun fosfolipid seperti lesitin dan kolin yang memegang peran penting dalam hal integritas membran (Gardner *et al.*, 1991). Pengaruh fosfor pada tanaman berhubungan dengan pertumbuhan tanaman, defisit fosfor akan menyebabkan turunnya biomassa dan hasil pada tanaman kedelai. Pada sistem kultur jaringan, Sunarlin (1989) menyatakan bahwa H_3PO_4 berpengaruh pada pertumbuhan kalus *Agave amaniensis* dan

kandungan steroidnya, akan tetapi tidak berpengaruh pada macam hekgeninnya (Worokarti, 1991).

e. Besi (Fe)

Beberapa macam peran unsur besi dalam aktivitas kehidupan tumbuhan, antara lain sebagai komponen struktur molekul porpirin, komponen struktur non-heme (misal feridoksin) dan sistem enzim. Yang termasuk dalam porpirin tersebut antara lain sitokrom, heme, hematin, ferikrom, leghemoglobin. Selain itu besi terlibat dalam reaksi oksidasi dan reduksi pada proses respirasi dan fotosintesis.

Beberapa jenis enzim pada tanaman yang memerlukan besi antara lain sitokrom oksidase, katalase, peroksidase, akonitase, nitrogenase, peptidilkolin hidrolase dan sintesis kloropil yang meliputi gama-aminolevulenat dehidrase, gama-aminolevulenat sintetase dan ferokinase. Beberapa enzim yang memerlukan besi serta fungsinya seperti pada Tabel 2.3.

Greene *et al.* (1992), menyatakan bahwa rendahnya kandungan besi pada tanaman akan menyebabkan berkurangnya kadar kloropil pada daun, meskipun lebih banyak cahaya yang terabsorpsi namun terbatasnya besi akan menurunkan efisiensi energi eksitasi dalam fotosistem. Diperkuat oleh Treshow (1961) menyatakan bahwa gejala tanaman yang kekurangan besi kadang-kadang disebabkan akibat terlalu tingginya pH tanah, atau tidak seimbang antara ketersediaan dan kebutuhan besi oleh tanaman di dalam tanah.

Tabel 2.3. Beberapa peran logam Besi dalam enzim

Enzim/protein	Lokasi	Fungsi
Haemoglobin (Fe)	Sitoplasma	Tranfer oksigen
Transferin (Fe& Mg)	Plasma (luar sel)	Tranfer Fe & Mn
Feritin (Fe)	Sitoplasma	Penyimpanan Fe
Rubredoksin, Feredoksin (Fe)	Sitoplasma (prokariota)& membran	Transfer elektron
Hidroksilase (Fe) Peroksidase (Fe)	Sitplasma & membran	Hidroksilasi
Fostfatase asam (Fe dan Mn)	Gelembung&luar sel	Penggunaan O
Superoksida dismutase	Gelembung & luar sel mitokondria (pro-kariota)	Hidrolisis gugus fosfat
		Dismutasi Oksigen

Sumber : Silva dan Williams (1991).

Perilaku logam besi berhubungan dengan logam berat yang lain, Pich *et al.* (1994) menyatakan bahwa tingginya kadar besi tersedia pada tanah akan menyebabkan turunnya kandungan seng, mangan dan tembaga pada semua jaringan tanaman dari bermacam-macam jenis.

f. Mangan (Mn)

Unsur mangan dalam tumbuhan mempunyai peran dalam tranfer elektron pada fotosistem II, menjaga struktur membran kloroplas dan sebagai pembentuk anganin. Selain fungsi tersebut di atas mangan diperlukan oleh beberapa enzim, antara lain kromatin RNA polimerase, sintesis RNA primer oligoadenilat dan sintesis fosfatidil inositol, inaktivasi pelindungasam indolasetat dan enzim NAD malat pada tipe aspartat tanaman C₄ (Bonner dan Varner, 1972).

Hasil penelitian Gregory (1971); Terry dan Ulhrich (1975) *dalam* Last dan Bean (1991), menunjukkan bahwa logam mangan mempunyai manfaat yang sangat penting dalam fotosintesis dan metabolisme nitrogen pada

jaringan tanaman. Disamping hal tersebut mangan juga berpengaruh pada proses lignifikasi tanaman *Pinus radiata*. Kekurangan logam mangan pada tanaman akan berakibat tanaman mengalami klorosis (Polle *et al.*, 1992) serta daya tahan tanaman menurun, penurunan tersebut disebabkan kandungan fenol dan lignin berkurang.

Tabel 2.4. Peran Mangan dalam beberapa enzim dan protein

Enzim/protein	Valensi	Sisi aktif	Fungsi dalam enzim
Galaktosil transferase	2	Mn spesifik <i>in vivo</i>	Transfer gugus galaktosil
Arginase	2	4 atom Mn per enzim	Hidrolisis arginin ke ornitin dan urea
Glikosil aminase	2	Gugus S-H dekat sisi aktif	Hidrolisis guanidino asetat ke glisin dan urea (mitokondria)
Fosfoenolpiruvat karboksikinase	2	Mengikat lewat O (bersaing dengan Fe)	Karboksilasi C-C (mitokondria)
Piruvat karboksilase	2	4 atom Mn per enzim	Sintesa C-C (mitokondria)
Prolin dipeptidase	2	Ligan O dan N	Hidrolisis atom C terminal prolin di peptida (ada dimana-mana)
Isopropil malat sintase	2	Gugus S-H dekat sisi aktif	Liase asam C-C Okso (mitokondria)
Mn-ribonukleotida reduktase	2	Ligan O dan N (kemungkinan)	Eliminasi reduksi 2 hidroksil dari ribonukleotida (prokariota)
Fosfatase asam	3	Residu penting hidtidin	Hidrolisis ortofosforit monoester (prokariota)
Mn-dioksigenase	2	<i>Low symmetry Mn²⁺ centre</i>	Katalisis pembelahan esterdiol ke katekol (prokariota)
Mn-katalase	3		Enzim redok, berperan pada H ₂ O ₂ (prokariota)
Mn-peroksidase lignase	2/3	His, His, Asp.His, H ₂ O	Degradasi lignin
Mn-superoksida	3	Donor N/O	Enzim redok, berperan pd superoksida radikal (mitokondria, kloropil)
Fotosistem II	2/4		Membebaskan dioksigen pada tanaman(kloropil)
Imidasol gliserol fosfat dehidrastase	2	Donor N/O	Sintesis histidin
Gluatamat sintetase	2		Sintesis glutamin (mitokondria)
Isositrat dehidrogenase	2		Siklus Krebs (mitokondria)

Sumber : Silva dan Williams (1991).

g. Tembaga (Cu)

Elemen tembaga dalam tanaman mempunyai beberapa fungsi antara lain dalam oksidasi terminal oleh sitokrom oksidase, sebagai media transfer elektron dalam fotosintesis pada plastosianin dan mempunyai efek tak langsung pada pembentukan tunas (Bonner dan Varner, 1972). Hal tersebut ditunjang oleh Sillanpaa (1972), yang menyatakan bahwa tembaga pegang peran penting dalam pertumbuhan, sebagai aktivator enzim atau bagian dari enzim pengoksidasi seperti mono dan polifenol oksidase (tirosinase), laktase dan asam askorbat oksidase yang berfungsi dalam respirasi. Selain itu tembaga juga penting dalam metabolisme protein dan berhubungan dengan pembentukan protein. Beberapa enzim yang memerlukan logam tembaga, lokasi dan fungsinya disajikan pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Peran Tembaga dalam beberapa enzim

Jenis enzim	Lokasi	Fungsi
Sitokrom oksidase	Permukaan mitokondria	Oksidasi alkohol primer menjadi aldehyd pada gula reduksi O ₂ ke H ₂ O ₂
Laktase, tirosinase	Ekstraseluler	Reduksi O ₂ ke H ₂ O
Askorbat oksidase	Ekstraseluler	Oksidasi fenol
Galaktosa oksidase	Ekstraseluler	Oksidasi as. Askorbat
Superoksida dismutase	Sitosol	Superoksida dismutasi (eukariota)

Sumber : Silva dan Williams (1991).

Selain perannya dalam membantu aktivitas enzimatik, kation Cu²⁺ juga dapat menghambat aktivitas enzim NADH oksidase pada plasma membran kedelai, daya penghambatan tersebut lebih besar bila dibandingkan kation logam lain seperti Cd²⁺, Ni²⁺, dan Zn²⁺ (Zancani *et al.* (1995). Diperjelas

bahwa mekanisme terjadinya keracunan tersebut melalui 2 kemungkinan, yaitu terjadi ikatan antara logam dengan sulfidril atau terjadi penggeseran logam esensial pada kompleks protein-logam. Ketahanan tanaman terhadap keracunan logam tersebut mungkin tergantung dari biokimia detoksifikasi, susunan/ikatan elemen racun/logam dalam sel dan batas terkecil kebutuhan logam oleh sel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa logam tembaga pada tanaman berpengaruh pada produksi biji, proses lignifikasi, senyawa etilena dan metabolisme nitrogen. Kenaikkan kandungan tembaga pada tanah menurut Ojeniyi dan Kayode (1993) akan meningkatkan produksi biji pada jagung, disamping hal tersebut kenaikan tembaga akan menstimulir pembentukan senyawa etilena (Matto, Mehta dan Baker, 1992).

Lebih lanjut dinyatakan bahwa defisiensi logam tembaga akan mengakibatkan proses lignifikasi pada tanaman *Pinus radiata* terganggu, sebaliknya kelebihan tembaga justru akan menyebabkan keracunan tanaman yang berakibat terhambatnya enzim glutamin sintetase dan alanin transaminase (Weber, Schat dan Maarel, 1991). Peranan logam tembaga pada produksi solasodina telah diteliti oleh Muljati (1988), hasil penelitian menunjukkan penambahan Cu^{2+} melalui pupuk daun pada tanaman *Solanum khasianum* dapat meningkatkan kadar solasodina buah yang dihasilkan. Akan tetapi terhadap metabolit primer yaitu bobot ubi pada tanaman kentang, kenaikan tembaga tidak menaikkan ubi yang dihasilkan (Susilowati, 1983).

h. Seng (Zn)

Peran elemen seng dalam tanaman menurut Bonner dan Varner (1992) meliputi metabolisme hormon tumbuh auksin (triptopan sintetase dan

metabolisma triptamin), enzim dehidrogenase (piridin nukleotida, alkohol, glukosa-6-fosfat dan triosa fosfat), enzim fosfodiester pada karbonat, memacu sintesis sitokrom C dan sebagai stabiliser fraksi ribosoma.

Seng sangat diperlukan oleh beberapa enzim seperti fosfolipase C, peptidase, dengan logam magnesium pada enzim fosfatase basa, kesemua enzim tersebut terletak pada luar sel (Silva dan Williams, 1991). Menurut Uritani (1975) fungsi seng dan tembaga berkaitan dengan aktivator metaloprotein dan faktor pertumbuhan dalam aksi enzim seperti pendaya guna, pemantap dan penghambat. Sebagai penggerak metaloenzim seng memegang peran dalam anhidrase karbonat, dehidrogenase alkohol dan laktat, ribonuklease, dan pembentukan zat tumbuh auksin.

Treshow (1961) menyatakan bahwa defisiensi seng biasanya terjadi pada tanah kapur yang hujannya kurang, atau pada tanah yang terlalu tinggi bahan organiknya atau nitrogennya. Hasil penelitian Susilowati (1983) menunjukkan bahwa peningkatan seng pada tanaman kentang ternyata tidak menaikkan hasil umbi kentang secara nyata.

i. Boron (B)

Boron dalam tanaman berperan pada translokasi gula, metabolisma senyawa fenol, metabolisma RNA dan berperan pada hormon GA₃ dan aktivitas enzim alfa amilase (Bonner dan Varner, 1972). Lebih lanjut Gardner *et al.* (1991) menyatakan bahwa kebutuhan antara boron dan natrium berhubungan erat, hal tersebut disebabkan boron juga diperlukan dalam pembentukan dinding sel dan untuk metabolisma senyawa pektat.

Hasil penelitian Muljati (1988) membuktikan bahwa penambahan konsentrasi boron pada tanaman *Solanum khasianum* ternyata tidak

meningkatkan kandungan solasodina. Pada tanaman kacang tanah, kandungan boron pada tanah yang paling optimal sebesar 3,42 mg/kg, di atas konsentrasi tersebut produktivitas akan menurun (Santosa, 1992).

i. Aluminium (Al)

Aluminium tergolong hara non esensial bagi tanaman, elemen tersebut dalam tanah kadarnya sangat tinggi terutama pada lapisan bawah tanah tua, tingginya aluminium menyebabkan tanah bersifat masam. Bersama-sama dengan besi atau mangan berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan tanaman (Syekhfani, 1998). Lebih lanjut dinyatakan bahwa pada tanah yang semakin masam kelarutan aluminium tinggi, sehingga yang terserap tanaman semakin besar.

2.4.3. Senyawa Kimia Yang Digunakan Selama Budidaya

Disamping faktor-faktor nutrisi/hara pada tanah, penggunaan bahan kimia selama budidaya sangat berpengaruh terhadap pembentukan steroid tanaman. Pengaruh hormon tumbuh terhadap kecepatan pembentukan steroid telah diteliti oleh Samino *et al.* (1993), hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan hormon tumbuh triakontanol 0,3 ppm dan auksin 0,2 ppm dapat menaikkan kandungan solasodina buah *Solanum khasianum* sebesar 2,75 persen dan 3,65 persen.

Disamping hormon tumbuh, zat penghambat tumbuh juga memacu pembentukan metabolit sekunder. Menurut Khalil dan Mercer (1990), penggunaan fungisida *tridemorp* dan *fenpropimorph* dapat menghambat pertumbuhan tanaman *Triticum aestivum* dan mengakibatkan akumulasi

senyawa 9β , 19- siklopropilsterol. Hal tersebut juga diperkuat oleh Haughan *et al.* (1989), yang menyatakan bahwa pemanfaatan zat penghambat tumbuh triazol dan enantiomernya pada kultur sel *Apium graveolens* dapat mengakibatkan akumulasi senyawa metil sterol, sikloeukalenol, dimetil kolesterol dan dimetil kolestandiol.

Pada sistem kultur jaringan tanaman, Crocomo *et al.* (1981) menyatakan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder. Faktor-faktor tersebut meliputi cahaya, prekursor, nutrisi, hormon pertumbuhan, pH media, elisitor, adanya penambahan ekstrak khamir, konsentrasi O_2 dan CO_2 serta etilena. Penambahan elisitor biotik (mikroba) maupun abiotik (sinar UV, pH, tekanan osmotik dan ion logam berat) dapat memacu kecepatan pembentukan metabolit sekunder. Nishi (1994) menambahkan bahwa penggunaan elisitor dapat memacu aktivitas enzim pada beberapa tanaman, antara lain ATP sitrat liase pada ubi jalar (*Ipomoea batatas*), tirosin dekarboksilase pada *Eschscholtzia californica* dan *Thalictrum rugosum*, 3-hidroksi-3-metil glutaril CoA reduktase dalam tembakau dan kentang.

Holden, Holden dan Yeoman (1989) menyatakan bahwa ion logam berat sangat efektif dalam mengelisitasi pembentukan fitoaleksin pada kultur suspensi sel *Datura stramonium*. Efek dari elisitor logam berat tersebut sangat tergantung dari konsentrasi, macam dan lama waktu perlakuan serta macam media pertumbuhan yang digunakan. Fitotoksisitas logam berat Cd, Cu, Hg dan Ni lebih besar dibandingkan dengan logam Pb dan Zn (Raskin *et al.*, 1991), lebih lanjut Zancani *et al.* (1995) menambahkan bahwa fitotoksisitas Cu lebih besar dibandingkan Cd, Ni dan Zn.

Pengaruh logam berat tembaga pada pembentukan solasodina secara *in vitro* telah dibuktikan oleh Muljati (1988), hasil penelitian menunjukkan bahwa pemupukan Cu^{2+} lewat daun meningkatkan kadar solasodina buah *Solanum khasianum*. Diperkuat oleh Nishi (1994) yang membuktikan bahwa induksi senyawa CuCl_2 pada kultur akar wortel, menyebabkan akumulasi senyawa 6-metil mellein (6 MM) dan kenaikan aktivitas enzim 6-hidroksi mellein (6 HM) sintase dan enzim 6-ortodimetil transferase (OMT). Pengaruh logam berat timbal, telah diteliti oleh Stefanov *et al.* (1992), hasil penelitian menunjukkan bahwa timbal lebih berpengaruh pada biosintesis lipid dibandingkan dengan sterol, baik pada tanaman jagung maupun kacang tanah.

BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

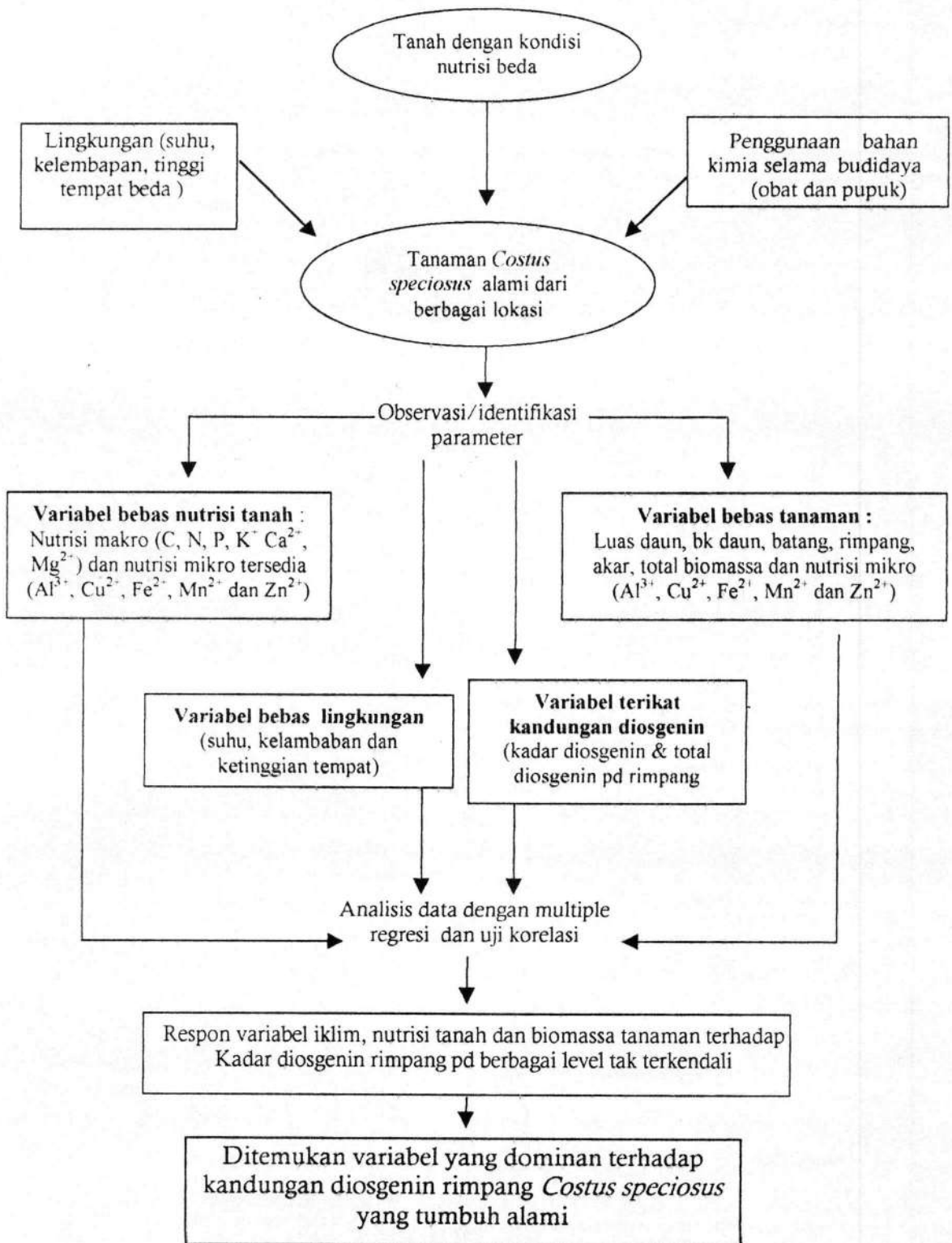
Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan senyawa steroid pada tanaman antara lain faktor dalam dan faktor luar. Faktor dalam adalah jenis tanaman, sedangkan yang termasuk faktor luar antara lain nutrisi dalam tanah, iklim, serangan mikroorganisme dan adanya perlakuan penambahan senyawa kimia selama budidaya seperti halnya pemupukan serta pemberantasan hama dan penyakit. Kandungan senyawa yang ada dalam tanaman sangat ditentukan oleh faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetik meliputi varietas, sedangkan yang termasuk faktor lingkungan meliputi nutrisi dalam tanah, baik berupa nutrisi esensial makro, esensial mikro maupun non-esensial mikro. Sedangkan faktor lingkungan dalam hal ini iklim meliputi suhu, curah hujan, intensitas cahaya dan lama penyinaran, serta ketinggian tempat tumbuh tanaman.

Ditinjau dari peran komponen nutrisi tanaman, dalam jumlah kecil nutrisi mikro berfungsi sebagai kofaktor enzim dalam biosintesis metabolit sekunder (dalam hal ini steroid diosgenin). Pada kadar besar peran nutrisi mikro justru sebagai penyebab cekaman pada tanaman sehingga semakin memperbesar akumulasi metabolit sekunder, dan pada kadar yang lebih tinggi dan tak tertoleransi akan menyebabkan gangguan fisiologis dan akhirnya menyebabkan kematian tanaman. Dari fenomena tersebut dipelajari peran nutrisi mikro terhadap akumulasi metabolit sekunder tanaman *Costus speciosus*. Diduga pengaruh terbesar adalah pada nutrisi mikro non-esensial, kemudian menyusul nutrisi mikro esensial dan efek terendah pada nutrisi makro.

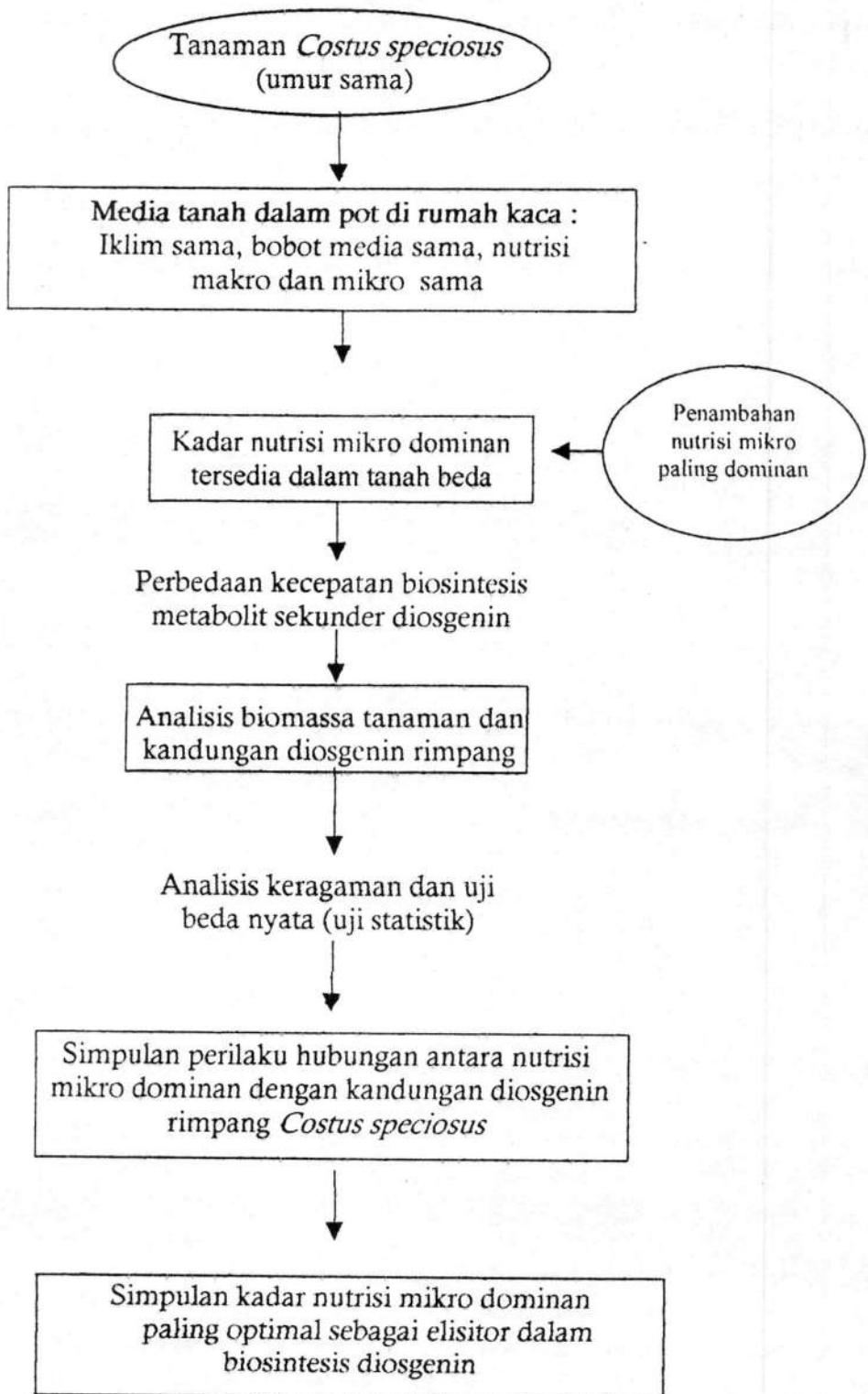
Dari berbagai studi pustaka diperoleh informasi bahwa nutrisi mikro yang potensial sebagai elisitor tanaman dalam menginduksi akumulasi metabolit sekunder adalah logam berat kadmium, tembaga, timbal, air raksa, nikel dan seng. Di antara logam-logam berat tersebut, logam berat yang kadarnya cukup tinggi dalam tanah dan potensial menyebabkan keracunan pada tanaman adalah besi, mangan, dan aluminium, sedangkan logam berat tembaga dan seng walaupun kadarnya dalam tanah relatif rendah akan tetapi sangat penting dalam proses oksidasi reduksi bagi tanaman. Kerangka konseptual yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Gambar 3.1 dan Gambar 3.2.

3.2. Kerangka Operasional

Pada penelitian ini dikaji hubungan antara biomassa tanaman, lingkungan serta 4 macam nutrisi mikro esensial dan 1 nutrisi mikro non-esensial terhadap kandungan diosgenin *Costus speciosus*. Tembaga dan Seng (merupakan dua macam logam berat yang bersifat kompetitif dalam reaksi oksidasi dan reduksi), besi dan mangan (nutrisi mikro esensial yang kadarnya dalam tanah tinggi), sedangkan nutrisi mikro non-esensial adalah aluminium (kadar dalam tanah tinggi) dengan pembentukan steroid diosgenin tanaman *Costus speciosus*. Untuk itu diperlukan koleksi dan analisis tanah serta tanaman yang tumbuh secara alami (liar) di berbagai tempat. Analisis dilakukan dengan metode multiregresi dan uji korelasi antara variabel dalam tanaman (luas daun, biomassa tanaman yang terdiri dari bobot kering daun, batang, rimpang, akar dan total biomassa, dan nutrisi mikro pada daun) dengan faktor lingkungan (suhu, kelembapan mikro dan ketinggian tempat), serta nutrisi dalam tanah. Dari hasil analisis tersebut akan diketahui



Gambar 3.1. Kerangka konseptual yang digunakan dalam pendekatan penelitian 1



Gambar 3.2. Kerangka konseptual yang digunakan dalam pendekatan penelitian 2

variabel yang dominan pengaruhnya terhadap kandungan diosgenin tanaman, selanjutnya dipilih variabel yang paling berpengaruh dan digunakan dalam penelitian tahap kedua.

Pada penelitian tahap kedua akan dilakukan elisitasi (pemupukan kadar tinggi hingga tingkat keracunan) nutrisi mikro yang paling berpengaruh terhadap kadar diosgenin tanaman *Costus speciosus* pada media tanah pada berbagai tingkat konsentrasi. Setelah dilakukan elisitasi pada waktu tertentu, tanaman dipanen dan dilakukan pengamatan karakteristik tanaman, kandungan diosgenin pada rimpang dan kadar nutrisi mikro logam yang ada dalam daun dan yang berada pada tanah. Data hasil pengamatan selanjutnya dilakukan analisis keragaman, bila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji beda nyata dan regresi untuk mengetahui perilaku hubungan antara nutrisi mikro yang ditambahkan ke dalam tanah dengan kandungan steroid diosgenin rimpang tanaman, dan sekaligus mengetahui perlakuan terbaik untuk menghasilkan kadar diosgenin tertinggi pada rimpang *Costus speciosus*. Kerangka operasional yang digunakan dalam penelitian 1 dan 2 disajikan pada Bab IV.

3.3. Hipotesis

Dari uraian model teoritis pemecahan masalah tersebut terhadap masalah penelitian yang terinci pada Bab I pasal 1.2. diajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Terdapat hubungan respon biomassa tanaman terhadap kandungan diosgenin pada rimpang *Costus speciosus*.

2. Terdapat hubungan respon tanaman terhadap lingkungan (suhu, kelembapan dan ketinggian tempat) dengan pembentukan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami di berbagai lokasi.
3. Terdapat hubungan respon tanaman terhadap nutrisi makro dalam tanah dengan pembentukan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami di berbagai lokasi.
4. Terdapat hubungan respon tanaman terhadap nutrisi mikro dalam tanah dengan pembentukan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami di berbagai lokasi.
5. Semakin tinggi kandungan nutrisi mikro dalam tanah menyebabkan semakin tinggi kandungan diosgenin pada rimpang *Costus speciosus*.

BAB IV. METODE PENELITIAN

Penelitian dibagi menjadi 2 tahap, tahap pertama adalah penelitian koleksi eksploratif, dan tahap kedua adalah penelitian eksperimental elisitasi nutrisi mikro yang paling dominan di rumah kaca.

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

4.1.1. Rancangan penelitian yang digunakan

Penelitian berbentuk observasi korelasional yang dilakukan dengan cara koleksi eksploratif, untuk melihat hubungan antara faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh secara alami.

Data lapangan yang diamati meliputi 3 parameter, yaitu lingkungan, nutrisi tanah dan biomassa tanaman. Data lingkungan (suhu mikro, kelembaban relatif mikro dan ketinggian tempat), data nutrisi tanah terdiri dari kandungan nutrisi mikro tersedia (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}), sifat-sifat tanah (pH, tekstur, kapasitas tukar kation, kejenuhan basa), bahan organik (N, P dan C-organik), serta nutrisi makro non-organik (K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}). Data biomassa tanaman yang diambil meliputi luas daun, biomassa tanaman yang terdiri dari bobot kering (bk) daun, bk batang, bk rimpang, bk akar, total biomassa tanaman, kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* serta kadar nutrisi mikro pada daun yaitu Al^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} .

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis untuk mengetahui variabel yang berpengaruh terhadap kandungan diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami, selanjutnya variabel yang dominan digunakan sebagai acuan dalam penelitian tahap 2.

4.1.2. Populasi dan besar contoh

Contoh yang digunakan berasal dari 31 lokasi dengan ulangan 3 kali, jumlah lokasi tersebut dengan pertimbangan bahwa kandungan nutrisi mikro pada tanah telah berada pada tingkat kurang hingga berlebihan, sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk menetapkan nutrisi mikro tersebut telah menyebabkan keracunan pada tanaman *Costus speciosus* alami.

Contoh tanaman *Costus speciosus* diambil satu rumpun (*cluster*) sedangkan contoh tanah tempat tumbuh tanaman diambil sebanyak 20 kg. Total contoh tanaman berjumlah 93 rumpun dan tanah sebanyak 93 karung (@ 20 kg).

4.1.3. Variabel penelitian

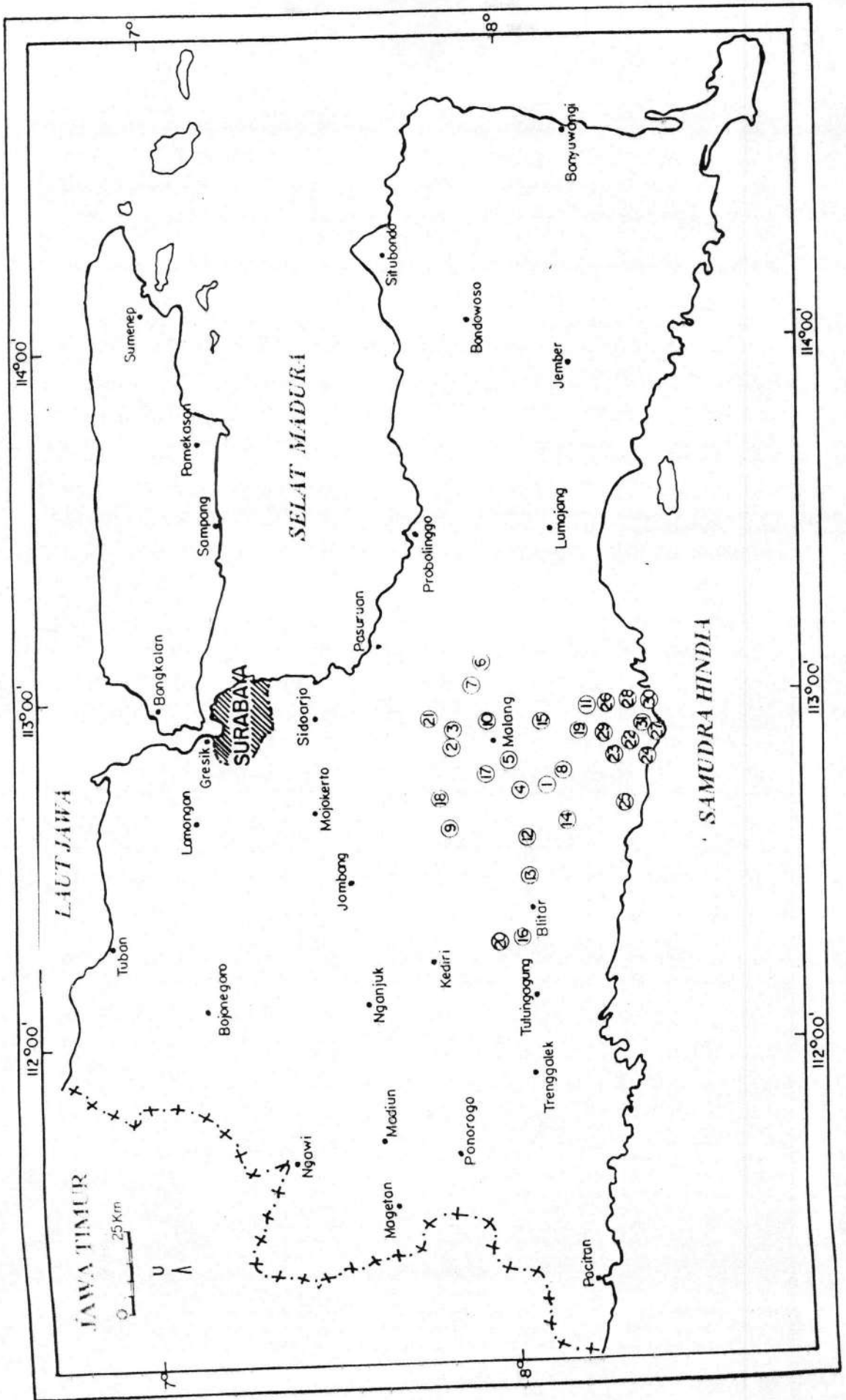
Variabel bebas yang diamati pada tanah meliputi nutrisi makro (N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, C-organik dan nisbah C/N), nutrisi mikro (Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ dan Zn²⁺), serta karakteristik tanah yang terdiri dari kapasitas tukar kation (KTK), kejenuhan basa, jumlah basa dan pH tanah. Sedangkan variabel bebas pada tanaman meliputi luas daun, biomassa tanaman (yang terdiri dari bobot kering (bk) daun, bk batang, bk rimpang, bk akar dan total biomassa), serta kadar nutrisi mikro pada daun (Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ dan Zn²⁺).

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan diosgenin yang terdiri dari kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang tanaman *Costus speciosus*. Kadar diosgenin mencerminkan konsentrasi diosgenin pada matriks rimpang, sedangkan total diosgenin mencerminkan produktivitas diosgenin pada masing-masing tanaman.

4.1.4. Bahan

Bahan penelitian berupa tanah tempat tumbuh dan tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami (untuk penyeragaman tanaman digunakan ketentuan jumlah batang 4-5 tiap rumpun dan tinggi tanaman 75 cm hingga 150 cm), diambil di wilayah Kabupaten Malang, Pasuruan, Blitar dan Kediri. Untuk dataran rendah (<200 m dpl) diambil dari kecamatan Sumbermanjing Wetan, Sumbermanjing Kulon dan Donomulyo wilayah kabupaten Malang. Dataran sedang (200-500 m dpl) diambil dari wilayah kecamatan Purwodadi (Pasuruan), Wagir, Kepanjen, Pakisaji, Gondanglegi, Bantur (Malang), kecamatan Garum, Kesamben dan Wlingi (Blitar) serta kecamatan Kandat (Kediri). Dataran tinggi (>500 m dpl) diwakili oleh daerah kecamatan Kromengan, Ngajum, Lawang, Ngantang, Singosari, Batu, Pujon wilayah kabupaten Malang dan kecamatan Nongkojajar kabupaten Pasuruan. Peta lokasi pengambilan contoh disajikan pada Gambar 4.1

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian dengan spesifikasi seperti disajikan pada Tabel 4.1.



DISERTASI KAJIAN HUBUNGAN BIOMASSA *Eusynchytraea* *sp.* DENGAN TANAMAN ALAMI
Gambar 4.1. Peta lokasi pengambilan contoh tanaman *Eusynchytraea* alami

Tabel 4.1. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian

Nomer	Nama bahan	Merek
1.	Plat TLC	Merck
2.	Kloroform	Riedel de Hein
3.	HCl	Merck
4.	NaOH	Merck
5.	n-Heksan	Merck
6.	Etil asetat	Merck
7.	Asam sulfat	Merck
8.	Anisaldehyda	Merck

4.1.5. Peralatan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam percobaan dengan rincian seperti pada Tabel 4.2.

4.1.6. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium yang terdiri dari :

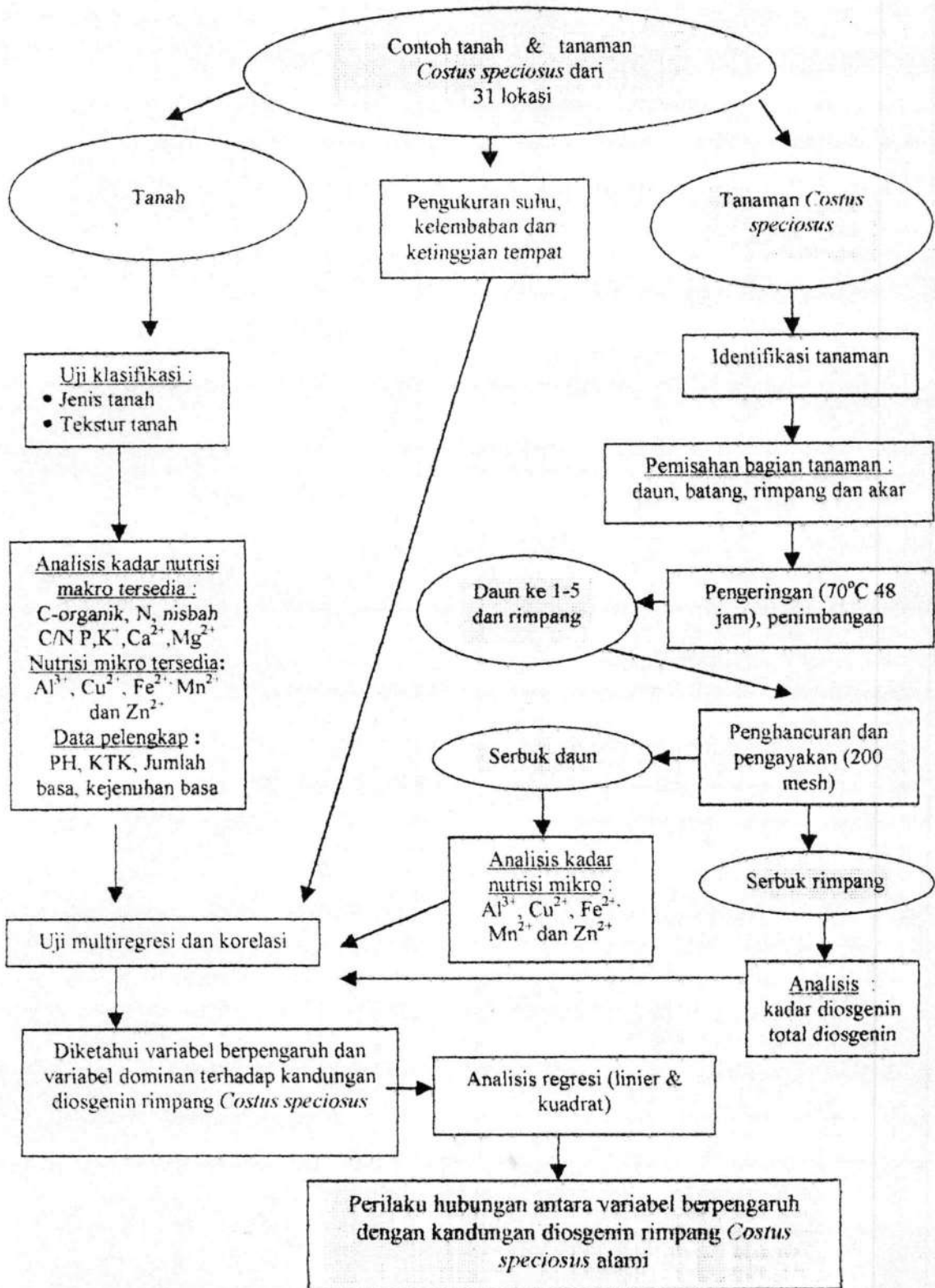
- a>. Lab. Kimia dan Fisika Tanah, Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian Univ. Brawijaya (bahan organik, KTK, kandungan basa, kelas dan tekstur tanah);
- b>. Lab. Penginderaan Jarak Jauh, Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Univ. Brawijaya (data ketinggian tempat dan gambar lokasi pengambilan contoh);
- c>. Lab. Kimia, Fakultas MIPA, Univ. Brawijaya (kandungan nutrisi mikro pada tanah dan daun);
- d>. Lab. Klimatologi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya (analisis luas daun);

- e>. Lab. Rekayasa Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya (analisis biomassa tanaman);
- f> Lab. Sentral Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Brawijaya (ekstraksi diosgenin);
- g>. Lab. Bioteknologi Farmasi, Fak. Farmasi Univ. Airlangga (preparasi analisis dengan densitometer);
- h>. Lab. Dasar Bersama Univ. Airlangga (analisis diosgenin dengan densitometer).
- i>. Balai Materia Medica Batu, Malang (identifikasi tanaman *Costus speciosus*).

Tabel 4.2. Jenis dan tipe peralatan yang digunakan dalam penelitian

Nama peralatan	Merek	Tipe
Timbangan mikro analitis	Ohaus	AS 120
Oven (pengukuran kadar air)	Heraeus	T 6
Pengukur luas daun	Li-Cor	LI-3100
<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Philip	PU 9100 X
<i>Densitometer</i>	Shimadzu	CS-930
<i>Shaker</i> (pengocok)	Thermolyne	16700 Linier
<i>Vortex</i>	Janke & Kunkel	Vibrofix UF ₁
Sentrifus	Heraeus	Labofug 200
Waring blender	National	-
<i>Flame photometer</i>	Corning	400
Leaf area meter	LI-COR	3100

Penelitian dilakukan mulai bulan Juni 1995 sampai dengan bulan Desember 1995, kerangka operasional penelitian secara rinci dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Kerangka operasional penelitian hubungan biomassa tanaman, lingkungan, dan nutrisi dalam tanah dengan kandungan diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

4.1.7. Prosedur pengumpulan data

a. Identifikasi tanaman

Tanaman *Costus speciosus* alami yang diperoleh dari berbagai lokasi dipisahkan dari kotoran bahan asing, bagian pangkal dicuci dengan air bersih dan diangin-anginkan sampai air menguap. Tanaman selanjutnya dilakukan identifikasi di Balai Materia Medica Batu, Malang untuk memastikan bahwa contoh yang diambil adalah *Costus speciosus* (Koen.) Smith dengan menggunakan dasar taksonomi buku Flora of Java oleh Backer dan Brink (1968). Contoh tanaman *Costus speciosus* seperti disajikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Tanaman *Costus speciosus*

b. Preparasi tanaman

Setelah tanaman diidentifikasi, selanjutnya bagian tanaman dipotong-potong sehingga terpisah antara bagian daun, batang, rimpang dan akar. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap luas daun dan bobot basah daun, batang, rimpang, dan akar, tahap selanjutnya bagian tanaman dikeringkan pada suhu 70-80 °C selama 48 jam dan setelah didinginkan pada desikator ditimbang. Daun ke 1 sampai 5, serta rimpang dilakukan penepungan dengan *waring blender* sampai lolos ayak 200 mesh, bahan disimpan dalam plastik polietilena (PE) menunggu proses analisis. Analisis daun meliputi kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}), luas daun, bobot kering daun, bk. batang, bk. rimpang, bk. akar dan total biomassa, sedangkan pada rimpang *Costus speciosus* dilakukan analisis terhadap kandungan diosgenin.

b. Preparasi contoh tanah

Untuk tanah berat dan tanah berkerikil ringan, dilakukan dengan metoda basah. Sejumlah tanah direndam dalam air suling selama semalam dalam silinder (diameter 8,5 cm dan tinggi 25 cm). Setelah perendaman, tanah diremas-remas dengan air, dipisahkan sedikit demi sedikit ke bejana plastik melalui pengayak diameter 2 mm. Tanah hasil pengayakan dicampur dengan pengadukan berulang-ulang, selanjutnya dilakukan pengeringan pada penangas air dan setelah kering dianginkan di tempat teduh. Kecuali untuk analisis elemen karbon dan nitrogen diperlukan contoh dengan ukuran partikel <0,5 mm.

Tanah yang telah kering udara dihaluskan dengan alu kayu dan porselin, kemudian ditimbang untuk mengetahui persentase tanah dan kerikil.

Bahan disimpan, setiap akan dilakukan analisis dilakukan pengadukan hingga merata.

Untuk tanah yang gembur dilakukan dengan metode kering, sebelum tanah ditumbuk, bongkahan tanah dihancurkan dengan tangan dalam lumpang porselin. Kemudian tanah dihaluskan perlahan-lahan dengan alu kayu dan diayak dengan pengayak berlubang bundar 2 mm. Sisa tanah yang tidak lolos saringan dihaluskan lagi dengan pemerasan, selanjutnya dilakukan pengayakan ulang. Sisa akhir yang tidak lolos ayak dinyatakan sebagai jumlah kerikil. Fraksi yang lolos ayak 2 mm dicampurkan dan dimasukkan ke dalam botol contoh, untuk analisis selanjutnya.

d. Metode analisis

📄 Validasi Metode Analisis Kuantitatif

Sebelum dilakukan analisis terhadap contoh percobaan terlebih dahulu dilakukan validasi metode yang digunakan untuk analisis kuantitatif. Validasi metode diperlukan agar analisis kimia yang dilakukan memberikan hasil yang mendekati kebenaran (Indrayanto, 1994). Dalam penelitian ini metode validasi dilakukan pada analisis kuantitatif kadar kation logam dengan metoda AAS (*Atomic absorption spectroscopy*).

Parameter yang diuji dalam validasi metode biasanya meliputi selektivitas, linieritas, limit deteksi, limit kuantitasi, akurasi, presisi, stabilitas sistem dan *ruggedness* atau ketidakrataan (Sumadi, 1991 dan Indrayanto, 1994). Dalam penelitian ini parameter yang diuji meliputi selektivitas, linieritas dan akurasi.

▣ Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan untuk memperoleh nilai analisa yang baik pada penggunaan kromatografi maupun AAS. Pada analisis kadar diosgenin dengan menggunakan metoda densitometri dilakukan pemeriksaan panjang gelombang 270-700 nm dan hasilnya dibandingkan dengan standar diosgenin yang serapannya pada 430 nm.

Untuk analisis kation logam dengan menggunakan metoda AAS, pemeriksaan spektrumnya pada panjang gelombang 190-700 nm dan hasilnya dibandingkan dengan standar. Untuk Al^{3+} pada 309,3 nm, Cu^{2+} 324,7 nm, Zn^{2+} pada 213,9 nm, Fe^{2+} 248,3 nm dan Mn^{2+} 279,5 nm (Pecsok *et al.*, 1976). Larutan standar yang digunakan adalah $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ untuk kation Al^{3+} , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ untuk Zn^{2+} , KMnO_4 untuk Mn^{2+} , $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ untuk Fe^{2+} dan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ untuk Cu^{2+} (Sudjadi *et al.*, 1971).

▣ Uji Linieritas

Uji linieritas diperlukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi yang memberikan respon linier pada detektor. Untuk analisis diosgenin dengan metoda densitometri, penentuan linieritas dilakukan dengan membuat larutan standar diosgenin 0,03 sampai dengan 0,7 mikrogram per noda dalam plat Silika gel, kemudian ditentukan luas area spektrumnya pada panjang gelombang optimal yaitu 430 nm. Tahap selanjutnya adalah membuat kurva linier luas area dan konsentrasi senyawa diosgenin (mikrogram/noda) atau dengan memasukkan pada program validasi.

Pada analisis kation logam dengan menggunakan AAS, penentuan linieritas dengan larutan standar pada kisaran konsentrasi 0,5-10 ppm untuk

kation Al^{3+} , 0,5-5 ppm untuk Zn^{2+} dan Cu^{2+} , 5-50 ppm untuk Mn^{2+} dan 1-10 ppm untuk Fe^{2+} .

▣ Akurasi

Untuk mengetahui efek atau pengaruh dari matrik bahan selama analisis pada masing-masing metoda yang digunakan dalam analisis kimia, dilakukan perhitungan persentase penemuan kembali dengan dan tanpa penambahan senyawa standar pada konsentrasi tertentu (cara adisi), kemudian respon detektornya ditentukan.

Data hasil pengamatan selanjutnya digunakan untuk membuat kurva hubungan antara x_f (kadar senyawa yang sesungguhnya melalui percobaan/hasil pengamatan) dan x_c (kadar senyawa yang sesungguhnya/teoritis) dengan persamaan regresi linier (Funk et al., 1992) :

$$x_f = a_f + b_f \cdot x_c$$

Selanjutnya dihitung harga *confidence range* dan a_f (VB_{af}) dan *confidence range* dari b_f (VB_{bf}). Harga VB_{bf} harus melewati nol dan harga VB_{af} harus melewati satu.

Hasil pengukuran penemuan kembali matrik contoh tanah untuk kation Al^{3+} sebesar 106,96 persen, Cu^{2+} 103,95 persen, Fe^{2+} 105,25 persen, Mn^{2+} 95,34 persen dan Zn^{2+} 96,27 persen. Nilai penemuan kembali matrik daun tanaman *Costus speciosus* untuk kation Al^{3+} sebesar 107,37 persen, Cu^{2+} 103,00 persen, Fe^{2+} 104,26 persen, Mn^{2+} 98,11 persen dan Zn^{2+} 97,10 persen.

❏ **Prosedur Analisis**

❏ **Kadar diosgenin (Indrayanto et al., 1994)**

Irisan rimpang tanaman *Costus speciosus* yang telah dikeringkan selama 24 jam pada suhu 70° C, dihancurkan dengan *waring blender*, selanjutnya dilakukan pengayakan sampai lolos saringan 20 mesh. Serbuk contoh sebanyak 0,9-1,1 g dimasukkan pada Erlenmeyer 50 ml, ditambah dengan 10 ml kloroform ditutup dengan aluminium foil dan dikocok dengan *vortex shaker* selama 10 menit. Ekstrak kloroform disaring dengan kertas saring Whatman 40, filtrat ditampung dalam botol kecil 30 ml. Residu pada kertas saring dimasukkan ke dalam erlenmeyer bersama dengan kertas saring yang digunting kecil-kecil, untuk diekstrak lagi dengan kloroform sampai 3 kali. Filtrat yang diperoleh tersebut merupakan ekstrak komponen sterol.

Residu hasil ekstraksi sterol ditambah dengan HCl 2 N sebanyak 10 ml, erlenmeyer ditutup dengan Aluminium foil dan dihidrolisis selama 2 jam pada suhu 100° C. Setelah dingin dinetralkan dengan NaOH 10 N, selanjutnya ditambah dengan kloroform 10 ml, dikocok pada *vortex shaker*, selanjutnya dimasukkan dalam tabung sentrifus.

Sentrifusi dilakukan pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, ekstrak kloroform pada bagian bawah tabung (berwarna jernih) diambil dengan pipet dan ditampung dalam botol kecil (volume 30 ml). Sisa larutan pada tabung sentrifus diekstrak lagi dengan kloroform 2 kali, sehingga total ekstrak kloroform yang mengandung diosgenin berjumlah 30 ml. Larutan diosgenin diuapkan pada suhu ruang sampai kering (sekitar 3 hari).

Botol yang berisi padatan diosgenin ditambah dengan kloroform sebanyak 2 ml, dikocok dengan *vortex*, selanjutnya dibagi menjadi 3 botol kecil (1 ml) masing-masing 0,5 ml. Sisa pada botol 30 ml ditotolkan pada plat

Silika gel (Merck) yang telah diaktivasi untuk orientasi sebanyak 2 noda masing-masing 2 mikro liter, pada plat sama juga ditotolkan larutan diosgenin standar dengan interval 6 konsentrasi mulai dari 0,03 sampai 1,54 $\mu\text{gram/noda}$. Plat KLT selanjutnya dilakukan pengembangan dengan eluen kloroform : etil-asetat (4:1), noda diosgenin contoh dan standar diwarnai dengan menggunakan pewarna anisaldehyd-asam sulfat, selanjutnya dilakukan pemanasan pada suhu 100°C selama 10 menit.

Kuantitas warna noda pada plat selanjutnya ditera secara densitometri dengan menggunakan alat KLT *scanner* (Shimadzu CS-930) pada panjang gelombang 430 nm. Dengan mengetahui persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan diosgenin standar dan respon kuantitas warna, dapat diketahui konsentrasi diosgenin pada contoh yang ditotolkan. Linieritas larutan standar yang digunakan pada analisis diosgenin dengan densitometer disajikan pada Lampiran 3 dan 4.

Contoh diosgenin pada 3 botol kecil, selanjutnya dilakukan analisis juga pada hari yang berbeda dengan jalan melarutkan dengan kloroform sebanyak 0,5 ml. Ditotolkan pada plat KLT dan dianalisis seperti di atas. Kadar diosgenin dinyatakan dalam satuan mg/g rimpang (basis kering), sedangkan total diosgenin merupakan hasil kali antara kadar diosgenin dengan bobot kering rimpang pada masing-masing tanaman.

$$\text{Kadar diosgenin} = \frac{\mu\text{g/noda} \times \text{Faktor pengenceran (1.000)}}{\text{Bobot contoh (gram bk)}}$$

Untuk mengetahui rerata kadar diosgenin pada setiap contoh, terlebih dahulu dilakukan rejeksi (pembuangan) data yang nilainya terlalu kecil dan

terlalu besar dengan menggunakan metoda Greenberg, Clesceri dan Eaton (1992) dengan menggunakan rumus :

$$T = (X_h - X_{med})/s \quad \text{dan} \quad T = (X_{med} - X_l)/s$$

Dimana X_h merupakan nilai amatan tertinggi, X_l nilai amatan terendah, X_{med} nilai amatan rerata dan s adalah standar deviasi. Nilai T selanjutnya dibandingkan dengan tabel pada Lampiran 5, jika lebih besar dari nilai tabel data ditolak dan jika lebih kecil data diterima.

▣ Total diosgenin

Total diosgenin merupakan hasil kali antara kadar diosgenin (mg/g) dalam rimpang dengan bobot total rimpang (bk) tiap rumpun (*cluster*) yang dinyatakan dalam satuan mg/rimpang.

$$\text{Total diosgenin} = \text{Kadar diosgenin (mg/g)} \times \text{bobot rimpang (g/rimpang atau cluster)}$$

▣ Kadar nutrisi mikro daun (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tanaman *Costus speciosus*

• Ekstraksi (Issac dan Kerber, 1971)

Serbuk contoh daun kering sebanyak 0,9-1 g dibakar dalam tungku pembakar pada suhu $450^{\circ}C$ selama 4 hingga 6 jam. Setelah dingin abu ditetesi dengan 1 ml HCl pekat, selanjutnya setelah dingin diuapkan di atas penangas pada suhu $175^{\circ}C$. Setelah dingin dilarutkan dengan HCl 0,1 N sebanyak 10 ml, cairan disaring dengan kertas saring Whatman no. 42 dan filtrat ditampung dalam botol ukur 100 ml. Cawan dicuci dengan HCl 0,1 N dan disaring lagi,

filtrat dijadikan satu dengan penyaringan pertama. Kertas saring dicuci dengan air bebas ion, hingga volume tampungan mencapai 100 ml.

• **Peneraan kadar logam (AAS)**

Larutan yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS), dengan kondisi panjang gelombang 248,2 nm untuk Fe^{2+} 213,4 nm untuk Zn^{2+} , pada 279,5 nm untuk Mn^{2+} , pada 324,7 nm untuk Cu^{2+} dan pada 396,2 nm untuk kation Al^{3+} . Kadar kation logam dalam contoh dapat ditentukan dengan cara kalibrasi pada kurva standar. Konsentrasi larutan standar yang digunakan dengan kadar 0,5-10 ppm untuk kation Al^{3+} , 0,5-5 ppm untuk Zn^{2+} dan Cu^{2+} , 5-50 ppm untuk Mn^{2+} dan 1-10 untuk Fe^{2+} .

Klasifikasi dan Tekstur Tanah (Sudjadi et al., 1971)

Fraksi pasir

Fraksi pasir dipisahkan dengan cara pengayakan basah, suspensi tanah dituangkan kedalam ayakan 0,05 mm, diaduk dengan karet yang lemas sambil dialiri air suling. Fraksi lolos ayakan yang terdiri dari suspensi debu dan liat ditampung dalam silinder sedimentasi 1 liter. Proses pengayakan selesai setelah air saringan terlihat jernih.

Pasir dipindahkan kedalam pinggan aluminium yang telah diketahui bobotnya. Diuapkan di atas penangas air. Setelah kering dimasukkan ke dalam pengering listrik pada suhu 105°C selama 3 jam, didinginkan ke dalam desikator selama 45 menit dan ditimbang bobotnya sebagai fraksi pasir.

Fraksi pasir dipisahkan lagi dengan 1 set ayakan pemisah pasir yang digoyangkan dengan mesin, masing-masing bagian ditimbang dalam pinggan aluminium yang telah diketahui bobotnya.

▣ Fraksi debu dan liat

Suspensi debu dan liat diencerkan sampai tanda 1 liter dengan air suling, diaduk dengan pengaduk kayu yang digerakkan secara vertikal selama 1 menit dan segera dipipet sebanyak 40 ml suspensi dengan pipet 20 ml. Pemipetan dilakukan 2 kali yaitu pada kedalaman 9 cm dan 11 cm, dan masing-masing suspensi yang dipipet dimasukkan ke dalam piringan aluminium yang telah diketahui bobotnya. Diuapkan di atas penangas air sampai kering dan dilanjutkan selama 3 jam dengan oven pada suhu 105 ° C. Didinginkan dalam desikator selama 45 menit dan ditimbang sebagai fraksi 0,05-0 mm.

Selanjutnya suspensi liat dan debu dikocok lagi selama 1 menit dan pada waktu yang telah ditentukan seperti pada Lampiran 6, dipipet 20 ml pada kedalaman 10 cm, dimasukkan ke dalam piringan aluminium yang telah diketahui bobotnya. Diuap keringkan di atas penangas air dan selanjutnya dikeringkan pada oven dengan suhu 105 ° C. Setelah didinginkan di dalam desikator ditimbang bobotnya sebagai fraksi 0,02-0 mm.

Larutan suspensi dan koloid dikocok lagi selama 1 menit dan dipipet sebanyak 20 ml pada kedalaman 10 cm menurut waktu pemipetan menurut Tabel 3 (Sudjadi *et al.*, 1971). Suspensi yang dipipet dimasukkan ke dalam piringan aluminium yang telah diketahui bobotnya, dikeringkan pada oven suhu 105 ° C. Setelah kering dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang sebagai fraksi 0,005-0 mm.

Setelah dikocok lagi selama 1 menit, pada waktu yang telah ditetapkan pada Tabel 3 (Sudjadi *et al.*, 1971), dipipet 20 ml pada kedalaman 5,2 cm dan dimasukkan ke dalam piringan aluminium yang telah diketahui bobotnya.

Stelah diuapkan pada penangas air dan dikeringkan pada oven suhu 105°C , didinginkan pada desikator, ditimbang bobotnya sebagai fraksi 0,002-0 mm.

Suspensi di dalam silinder sedimentasi dikocok lagi selama 1 menit dan dipipet 20 ml pada kedalaman 2 cm atau 4,2 cm pada waktu yang telah ditetapkan sesuai Tabel 3 (Sudjadi *et al.*, 1971). Suspensi dalam pipet dimasukkan ke dalam piringan yang telah diketahui bobotnya, diuapkan pada penangas air dan dikeringkan pada oven suhu 105°C . Setelah didinginkan pada desikator ditimbang bobotnya sebagai fraksi 0,0005-0 mm.

Blangko dibuat dengan cara mengambil 20 ml cairan dan dimasukkan ke dalam piringan yang telah diketahui bobotnya. Diuapkan pada penangas air dan dikeringkan pada oven 105°C . Selanjutnya didinginkan pada desikator, ditimbang bobotnya sebagai peptisator. Bobot peptisator digunakan sebagai koreksi.

▢ Tekstur tanah

Cara kerja untuk penetapan tekstur tanah dalam 3 fraksi pasir dengan ukuran 2 mm hingga 0,05 mm dengan pengayakan basah, pemipetan fraksi debu dan liat ukuran 0,05-0 mm (pemipetan I) dan pemipetan fraksi liat dengan ukuran partikel 0,002-0 mm (pemipetan IV).

Fraksi pasir merupakan fraksi tanah yang mempunyai ukuran antara 2 mm hingga 0,05 mm. Fraksi debu didefinisikan sebagai fraksi tanah yang mempunyai ukuran partikel antara 0,05 mm hingga 0,002 mm, sedangkan fraksi liat mempunyai ukuran partikel 0,002 hingga 0 mm). Setelah diketahui nilai masing-masing fraksi tanah, tekstur tanah dapat dilihat pada segitiga klasifikasi tekstur tanah.

▣ Kadar karbon organik tanah (Allison, 1971)

Contoh tanah halus sebanyak 250 mg dengan ukuran partikel <0,5 mm dalam labu ukur berukuran 150x25 mm yang telah berisi 500 mg $K_2Cr_2O_7$ halus. Bila kadar C-organik lebih dari 10 persen, maka diambil 100 mg tanah dan 600 mg $K_2Cr_2O_7$. Dengan sebuah gelas ukur dimasukkan 10 ml H_2SO_4 pekat sedemikian hingga bahan yang melekat didinding tabung tercuci. Dipanaskan di atas nyala rendah (2-3 cm), diaduk dengan termometer $350^\circ C$ hingga suhu dalam tabung mencapai $175^\circ C$ (waktu 90 detik). Bila suhu turun sampai $100^\circ C$, isi tabung dibilas ke dalam labu erlenmeyer 300 ml. Isi kurang lebih 150 ml.

Setelah ditambah 5 ml H_3PO_4 85 persen dan 3 tetes difenilamin, dititrasi dengan Amoniumferosulfat 0,2 N hingga warna berubah dari biru menjadi hijau. Larutan blangko dibuat dari 200 mg $K_2Cr_2O_7$.

$$\begin{aligned} \text{C-organik} &= (\text{ml contoh} - \text{ml blangko}) \times N \text{ KMnO}_4 \times 3 \\ \text{Bahan organik (\%)} &= 1,724 \times \% \text{ C-organik} \end{aligned}$$

▣ Nitrogen total (makro Kjeldahl)

Sebanyak 1 g bahan tanah halus <0,5 mm dimasukkan kedalam labu Kjeldahl 100 ml, kemudian ditambah dengan 1 g garam campuran selenium dan 3 ml asam sulfat pekat. Selanjutnya dipanaskan dengan alat destruksi, mula-mula dengan nyala kecil selama 15 menit, kemudian api dibesarkan hingga larutan berwarna jernih.

Pemanasan dilanjutkan selama 15 menit, selanjutnya didinginkan. Setelah dingin ditambah dengan 10 ml air suling dan dipindahkan kedalam labu penyulingan. Diencerkan dengan air suling sampai volume mencapai 100

ml, ditambah setengah sendok batu didih dan 20 ml NaOH 30 persen. Selanjutnya dilakukan penyulingan, distilat ditampung dengan erlenmeyer yang mengandung 15 ml asam Borak 1 persen dan 3 tetes penunjuk campuran. Penyulingan dihentikan setelah 10 menit, dihitung sejak tetesan pertama. Distilat dititrasi dengan larutan asam sulfat 0,05 N sampai warna mulai menjadi merah.

$$N \text{ total (\%)} = (\text{ml contoh} - \text{ml blangko}) \times \underline{N} \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1,4$$

❑ Fosfor (Olsen, 1953)

Tanah halus (< 2 mm) sebanyak 2,5 gram dimasukkan ke dalam botol kocok. Kemudian ditambahkan dengan 50 ml larutan 0,5 M NaHCO₃ pH 8,5, dikocok selama 2 jam. Disaring dengan kertas saring dan filtrat dtampung dalam erlenmeyer 100 ml.

Sebanyak 5 ml ekstrak NaHCO₃ 0,5 M pH 8,5 ke dalam erlenmeyer 50 ml. Untuk kurva standar dipipet masing-masing 5 ml larutan standar P₂O₅ ke dalam erlenmeyer 50 ml. Ke dalam erlenmeyer ditambahkan dengan 20 ml pereaksi campuran fosfat dan dibiarkan selama 30 menit. Kemudian diukur dengan kolorimeter dengan menggunakan larutan standar dan larutan contoh. Persen transmitansi (T) dibaca pada skala kolorimeter dengan panjang gelombang 693 nm.

❑ Kation basa Na⁺, K⁺ dan Ca²⁺ (Sudjadi *et al.*, 1971)

Ekstrak tanah dalam pelarut amonium asetat dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, diencerkan dengan air bebas ion sampai tanda batas. Larutan

tersebut dipergunakan untuk pengukuran Na^+ , K^+ dan Ca^{2+} . Konsentrasi ketiga basa tersebut diukur dengan *flame photometer* (fotometer nyala) dengan menggunakan gas pembakar asetilen. Kadar dalam filtrat diketahui dengan cara kalibrasi larutan standar yang telah dibuat dengan konsentrasi antara 0 sampai 0,25 mili equivalen. Kadar dalam tanah dikalikan faktor pengenceran dan kalibrasi bobor kering pada pengeringan suhu 105°C . Kadar larutan standar yang digunakan dengan konsentrasi antara 2,0 hingga 25 ppm untuk K^+ dan 5 hingga 50 ppm untuk kation Ca^{2+} .

▣ Kadar kation Mg^{2+} (Sudjadi et al., 1971)

Ekstrak tanah dalam pelarut HCl 25 persen, ditambahkan larutan LaCl_3 yang mengandung 2.000 ppm Lanthanum, selanjutnya dikocok. Diukur pada spektrofotometer serapan atom (AAS) pada panjang gelombang 285,2 nm, dan menggunakan larutan standar sebagai pembanding. Kadar larutan standar yang digunakan dengan konsentrasi antara 2,5 hingga 25 ppm Mg^{2+} .

▣ Kadar nutrisi mikro tersedia (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) pada tanah

• Ekstraksi (Marten, 1956)

Contoh tanah pada tabung sentrifus diekstrak dengan menggunakan HCl 0,1 N untuk tanah asam, untuk tanah basa ditambahkan DTPA-TEA. Tabung ditutup dengan plastik dan selanjutnya dilakukan pengocokan selama 5 menit, tutup tabung dibuka dan dilakukan pemusingan pada kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Cairan jernih disaring dan dimasukkan kedalam labu ukur, kemudian residu ditambah HCl 0,1 N dan diekstrak lagi sebanyak 2

kali. Tampungannya filtrat yang berjumlah 100 ml pada labu ukur selanjutnya dilakukan pengukuran kadar logam dengan spektrofotometer serapan atom

• **Peneraan kadar (AAS)**

Filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengukuran dengan menggunakan AAS, dengan kondisi panjang gelombang 248,2 nm untuk Fe^{2+} , 213,4 nm untuk Zn^{2+} , pada 279,5 nm untuk Mn^{2+} , pada 324,7 nm untuk Cu^{2+} dan pada 396,2 nm untuk kation Al^{3+} . Kadar kation logam dalam contoh dapat ditentukan dengan cara kalibrasi pada kurva standar. Konsentrasi larutan standar yang digunakan dengan kadar 0,5-10 ppm untuk kation Al^{3+} , 0,5-5 ppm untuk Zn^{2+} dan Cu^{2+} , 5-50 ppm untuk Mn^{2+} dan 1-10 untuk Fe^{2+} . Larutan standar yang digunakan seperti pada pengukuran kadar kation logam pada daun.

▢ **Kapasitas tukar kation (Sudjadi *et al.*, 1971)**

Contoh tanah dalam tabung diaduk dengan etanol 80 persen, selanjutnya disentrifusi dan didekantasi. Kertas saring yang mengandung sedikit tanah dimasukkan kedalam labu labu destilasi, dengan penambahan air suling. Ditambahkan 3 g serbuk MgO dan segera disambung dengan kondensor untuk dilakukan destilasi. Destilat ditampung dengan asam sulfat 0,1 N dan ditetesi dengan indikator campuran. Setelah destilat mencapai 200 ml, dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna. Selain perlakuan contoh juga dibuat blangko dengan perlakuan yang sama tetapi tanpa contoh tanah.

$$\text{KTK} = (\text{ml. Blangko} - \text{ml contoh}) \times \text{N NaOH} \times 20$$

dalam satuan miliequivalen/100 g

▣ **Kejenuhan basa (Sudjadi *et al.*, 1971)**

Kejenuhan basa merupakan persentase jumlah antara kation Na^+ , K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+} dibandingkan dengan kapasitas tukar kation (KTK) dikalikan dengan seratus persen.

$$\text{Kejenuhan basa} = \frac{\text{Total Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{++} \text{ dan Mg}^{++}}{\text{KTK}} \times 100 \%$$

▣ **Kadar air (Sudarmadji *et al.*, 1985)**

Menimbang bahan sebanyak 1 hingga 5 gram bahan kedalam botol timbang yang telah diketahui bobotnya. Selanjutnya bahan dikeringkan pada oven suhu $100-105^\circ \text{C}$ selama 5 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya. Bahan dikeringkan lagi selama 30 menit, didinginkan dan ditimbang lagi. Perlakuan ini diulang sampai tercapai bobot konstan dengan ketelitian 0,2 mg. Selisih antara bobot contoh basah dan kering merupakan bobot air pada bahan.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100 \%$$

▣ **pH tanah (Sudjadi, *et al.*, 1971)**

Contoh tanah hasil preparasi sebanyak 0,9-1 g dimasukkan dalam botol kocok, masing-masing contoh disedjakan 2 botol. Masing-masing diperlakukan dengan air suling dan larutan KCl 1 N. Botol dikocok dengan

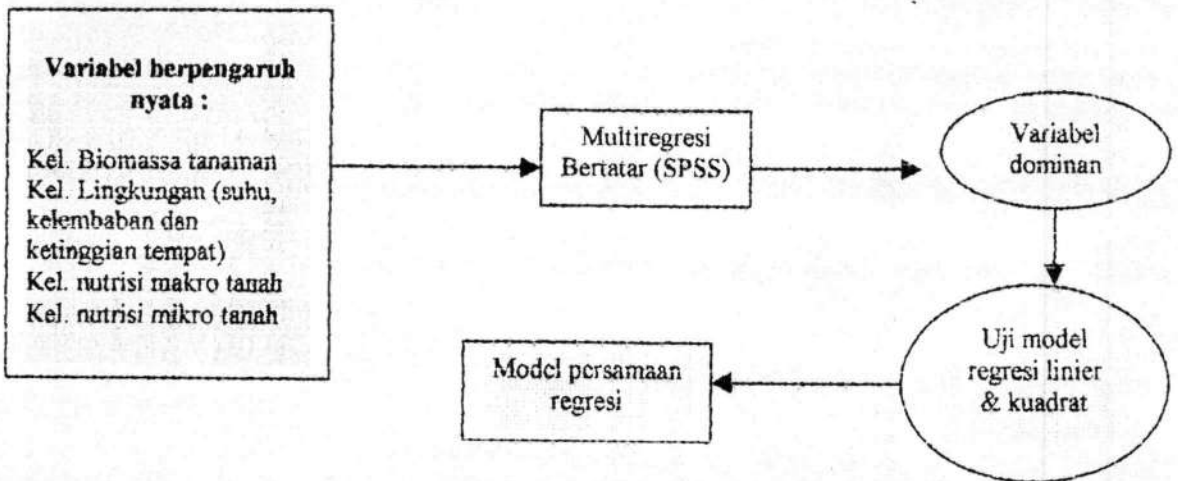
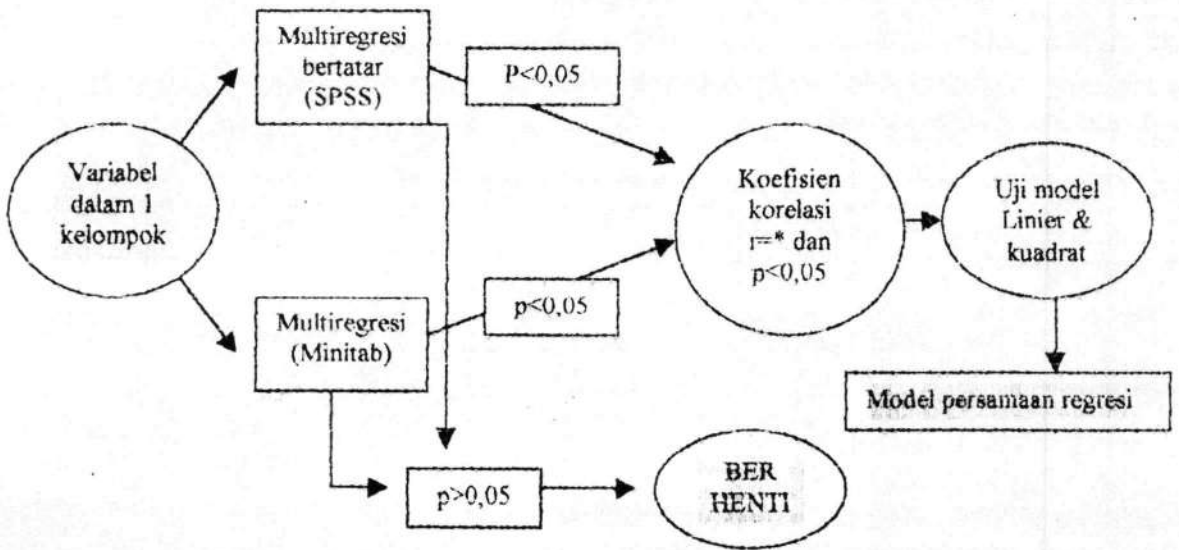
mesin pengocok selama 2 jam dan setelah pengocokan dibiarkan semalam, keesokan harinya dikocok lagi dan diukur pH-nya dengan ,menggunakan pH meter.

4.1.8. Analisis data

Data yang diperoleh baik variabel bebas maupun variabel terikat, selanjutnya dilakukan analisis multiregresi dengan metoda Regresi Bertatar (*Stepwise Regression*) menggunakan program SPSS, serta analisis multiregresi dengan program Minitab. Dalam analisis regresi tersebut digunakan dua tahapan, tahap pertama bertujuan untuk mengetahui variabel yang berpengaruh terhadap kandungan diosgenin pada masing-masing kelompok variabel bebas. Variabel bebas dibagi menjadi 4 kelompok yaitu lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat); kelompok biomassa tanaman (luas daun, bobot kering daun, bk batang, bk rimpang, bk akar dan total biomassa); kelompok nutrisi makro (C, N, P, nisbah C/N, serta kation basa K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}); kelompok nutrisi mikro (kation Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) serta nilai KTK, kejenuhan basa dan jumlah basa). Variabel-variabel yang berpengaruh nyata ($p < 0,05$) dan sangat nyata ($p < 0,01$) pada uji Regresi Bertatar (SPSS *release 7.5 for Windows*) dan uji regresi (Minitab *release 8.0 for Windows*), di lakukan pengujian koefisien korelasi, jika mempunyai korelasi nyata atau sangat nyata dilanjutkan dengan uji model regresi linier dan kuadrat.

Tahap kedua bertujuan untuk mengetahui variabel yang dominan pengaruhnya terhadap kandungan diosgenin dari semua variabel bebas. Variabel-variabel pada masing-masing kelompok variabel yang mempunyai

pengaruh nyata dan sangat nyata dengan diosgenin dan total diosgenin, dilakukan analisis Regresi Bertatar dengan program SPSS. Setelah ditemukan variabel yang paling dominan pengaruhnya, dilanjutkan dengan analisis model persamaan regresi linier dan kuadrat Model yang diambil adalah yang mempunyai nilai $p < 0,05$ dan nilai R^2 tertinggi. Diagram alir pengolahan data secara statistik seperti pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Kerangka operasional analisis statistik pada penelitian tahap I

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

4.2.1. Rancangan percobaan

Percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan diulang 10 kali. Perlakuan terdiri dari 7 taraf kadar Cu^{2+} (dalam bentuk $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) yang digunakan sebagai elisitor dalam media tanah dalam pot :

$$a_1 = 0 \text{ ppm (tanpa penambahan } \text{Cu}^{2+}\text{)}$$

$$a_2 = 4 \text{ ppm}$$

$$a_3 = 28 \text{ ppm}$$

$$a_4 = 65 \text{ ppm}$$

$$a_5 = 115 \text{ ppm}$$

$$a_6 = 170 \text{ ppm}$$

$$a_7 = 230 \text{ ppm}$$

Konsentrasi 4 ppm menggunakan dasar kadar Cu^{2+} terendah pada tanah dan 28 ppm merupakan kadar Cu^{2+} tertinggi tanah, sedangkan kadar 65 hingga 230 ppm digunakan sebagai level untuk mengetahui batas penambahan maksimal yang dapat ditolerir oleh tanaman *Costus speciosus* (tanaman tidak mengalami kematian).

4.2.2. Besarnya contoh

Jumlah contoh merupakan banyaknya ulangan yang digunakan untuk tiap perlakuan yaitu sebanyak 10 tanaman. Masing-masing ulangan tanaman

Costus speciosus ditanam dalam pot, yang berisi media tanah sebanyak 3 kg. Total tanaman yang ditanam dalam pot sebanyak 70.

4.2.3. Variabel penelitian

Variabel bebas yang diamati adalah kadar tembaga yang ditambahkan dalam media tanah, variabel terkontrol meliputi luas daun, luas daun spesifik, biomassa tanaman (bobot kering daun, bobot batang, bobot kering rimpang, bobot kering akar dan total biomassa), kadar diosgenin pada rimpang dan total diosgenin yang menunjukkan produktivitas tanaman *Costus speciosus*.

4.2.4. Bahan penelitian

Bahan percobaan berupa rimpang *Costus speciosus* dengan diameter antara 1,5-2 cm diperoleh dari Desa Sepanjang, Kec. Turen, Kab. Malang, gambaran ukuran rimpang yang digunakan seperti pada Gambar 4.5.

4.2.5. Alat dan instrumen penelitian

Peralatan penelitian dan peralatan analisis yang digunakan pada penelitian 2 seperti yang digunakan pada penelitian tahap 1.

4.2.6. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian eksperimental di rumah kaca dilakukan di Balai Latihan Instruktur Pertanian (BLIP) Wonojati, Singosari, Malang, sedangkan laboratorium yang digunakan untuk keperluan analisis seperti pada penelitian 1. Waktu penelitian dimulai pada bulan Juli 1996 sampai dengan bulan Mei 1997, kerangka operasional penelitian seperti pada Gambar 4.6.

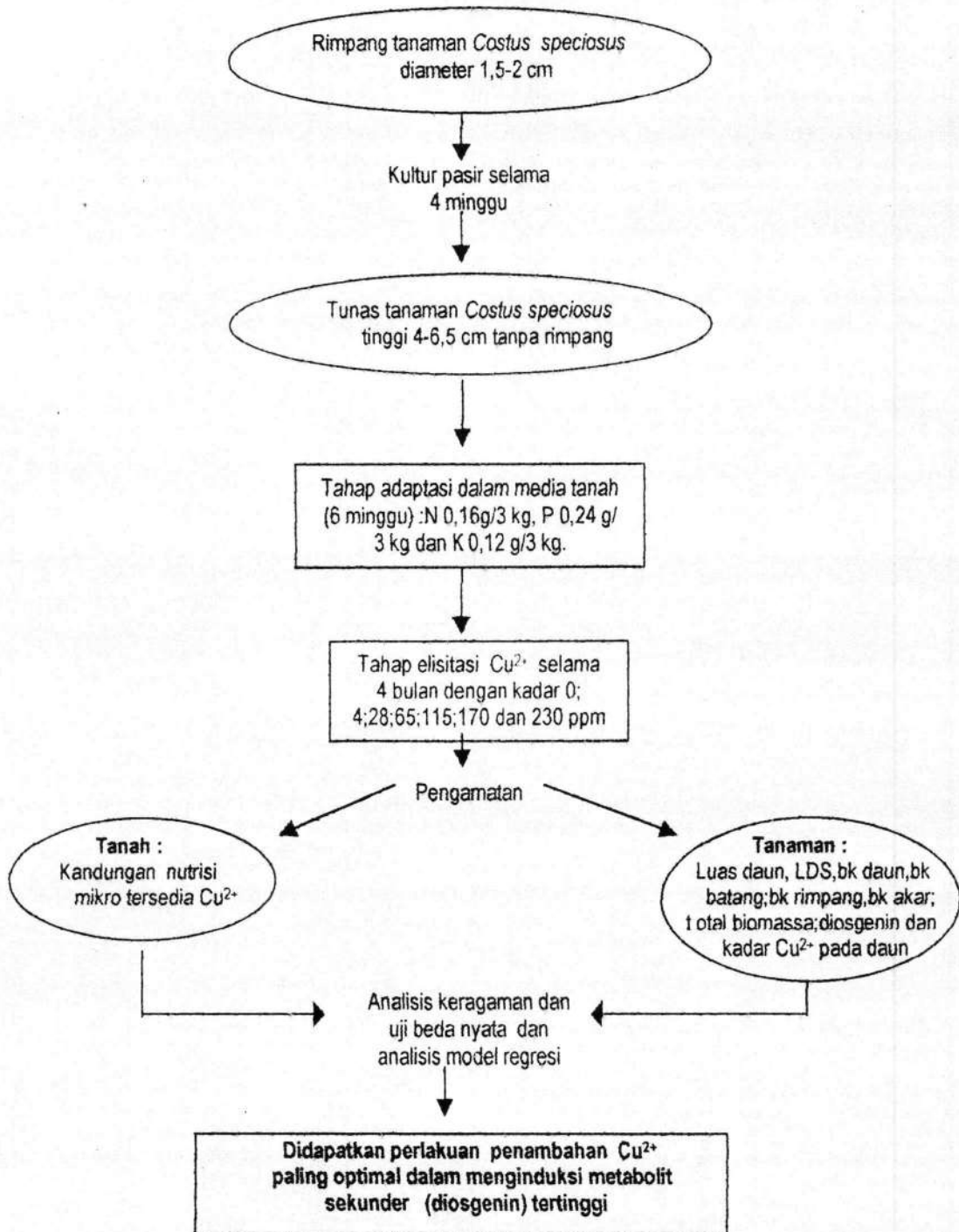


Gambar 4.5. Rimpang tanaman *Costus speciosus* yang digunakan sebagai bibit dalam percobaan elisitasi Cu^{2+}

4.2.7. Prosedur pengambilan data

a. Pengadaan contoh

Rimpang tanaman *Costus speciosus* yang mempunyai mata tunas dipotong sepanjang 2 cm, selanjutnya ditanam dalam kultur pasir dengan ketebalan 5 cm. Disiram setiap hari dengan air sumur (tanpa pemupukan) selama 4 minggu, tunas yang tumbuh diambil secara hati-hati agar akar serabut tidak rusak. Bagian rimpang dibuang dengan cara memotong sehingga yang melekat pada tunas hanya kulit rimpang tempat melekat akar serabut.



Gambar 4.6. Kerangka operasional studi pengaruh kadar Cu^{2+} yang ditambahkan dalam media tanah terhadap kandungan Diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus*

Tunas ditanam pada pot *polybag* yang berisi tanah kebun BLIP Wonojati dan pupuk kandang dengan perbandingan 4:1 b/b, selanjutnya dilakukan penyiraman. Penyiraman pertama dilakukan dengan air hingga jenuh sampai tanah memadat, penyiraman selanjutnya dilakukan dengan volume kapasitas lapang. Kondisi tersebut dipertahankan sampai 6 minggu, dengan interval penyiraman 3 hari sekali. Setiap 2 minggu diberi pupuk dasar NPK dalam bentuk Urea, TSP dan KCl dengan takaran 150 kg/ha N, 200 kg/ha P dan 100 kg/ha K. Untuk pot yang digunakan dengan ukuran 3 kg tanah kering diperlukan masing-masing 0,16 g N, 0,24 P dan 0,12 K. Pembesaran tanaman dilakukan dalam pot hingga tanaman bertunas atau selama 6 minggu.

b. Elisitasi Nutrisi Cu^{2+}

Membuat larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi Cu^{2+} sesuai perlakuan yaitu 4, 28, 65, 115, 170 dan 230 ppm dari bobot tanah kering dalam pot (masing-masing pot 3 kg dan ulangan 10 sehingga total tanah tiap perlakuan 30 kg). Senyawa kuprisulfat anhidrat dilarutkan dengan air bebas mineral sebanyak 10 liter, selanjutnya digunakan untuk penyiraman sesuai dengan perlakuan. Penyiraman dilakukan 4 hari sekali dengan volume larutan untuk penyiraman sebatas pada kapasitas lapang.

Untuk menjaga agar semua larutan kuprisulfat yang disiramkan tidak mengalami kehilangan (merembes atau menetes ke bawah pot), di bawah pot diberi wadah penampung tetesan. Setelah larutan kuprisulfat habis, penyiraman selanjutnya sampai 4 bulan menggunakan air sumur. Untuk membersihkan tetesan kuprisulfat pada tampungan bawah pot, wadah dibersihkan dengan air sumur dan selanjutnya disiramkan lagi pada pot yang

bersangkutan. Setelah dilakukan elisitasi selama 16 minggu, tanaman dipanen. Gambaran tanaman yang telah dipanen seperti pada Gambar 4.7.

4.2.8. Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis keragaman dengan menggunakan program Minitab, jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji beda BNT dan model persamaan regresi linier dan kuadrat. Pemilihan model persamaan regresi hanya dilakukan pada tingkat penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, hal tersebut dengan pertimbangan penambahan Cu^{2+} mulai 115 ppm telah menyebabkan tanaman mengalami gangguan fisiologis, sehingga elisitasi Cu^{2+} di atas 115 ppm lebih dari 4 bulan akan menyebabkan tanaman mengalami kematian. Model yang dipilih adalah yang mempunyai nilai $p < 0,05$ dan nilai R^2 tertinggi.



Gambar 4.7. Tanaman *Costus speciosus* yang telah mengalami elisitasi dengan nutrisi mikro Cu^{2+} selama 4 bulan

BAB V. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL

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

5.1.1. Karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami

a. Biomassa tanaman

Karakteristik tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami tersebut memiliki nilai rerata luas daun antara 806,66 cm²/rumpun hingga 4661,95 cm²/rumpun, bobot kering daun 3,85 g/rumpun hingga 27,08 g/rumpun, bobot kering batang 19,54 g/rumpun hingga 83,24 g/rumpun, bobot kering rimpang 15,47 g/rumpun hingga 47,40 g/rumpun, bobot kering akar 1,20 g/rumpun hingga 6,14 g/rumpun, total biomassa tanaman 52,67 g/rumpun hingga 132,48 g/rumpun, 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.. Rincian karakteristik tanaman yang diamati disajikan pada Tabel 5.1 dan Tabel 5.2, serta Gambar 5.1.

Hasil analisis multiregresi variabel biomassa tanaman menunjukkan terdapat pengaruh yang nyata ($p=0,028$ pada Lampiran 6) terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami. Diantara variabel biomassa tanaman tersebut, ternyata hanya bobot kering daun yang berpengaruh nyata ($p=0,028$ pada Lampiran 6), hal tersebut diperkuat oleh hasil analisis keragaman parsial pada Lampiran 7 (berpengaruh sangat nyata $p=0,011$). Model hubungan negatif antara bobot kering daun dengan kadar diosgenin pada rimpang *Costus speciosus*, nyata pada multiregresi linier ($p=0,028$ dan $R^2=0,166$ seperti pada Lampiran 8), dengan persamaan multiregresi $Y = 0,5694 - 0,0107 X$

Tabel 5.1. Luas daun, bobot kering daun, batang dan rimpang tanaman *Costus speciosus* alami

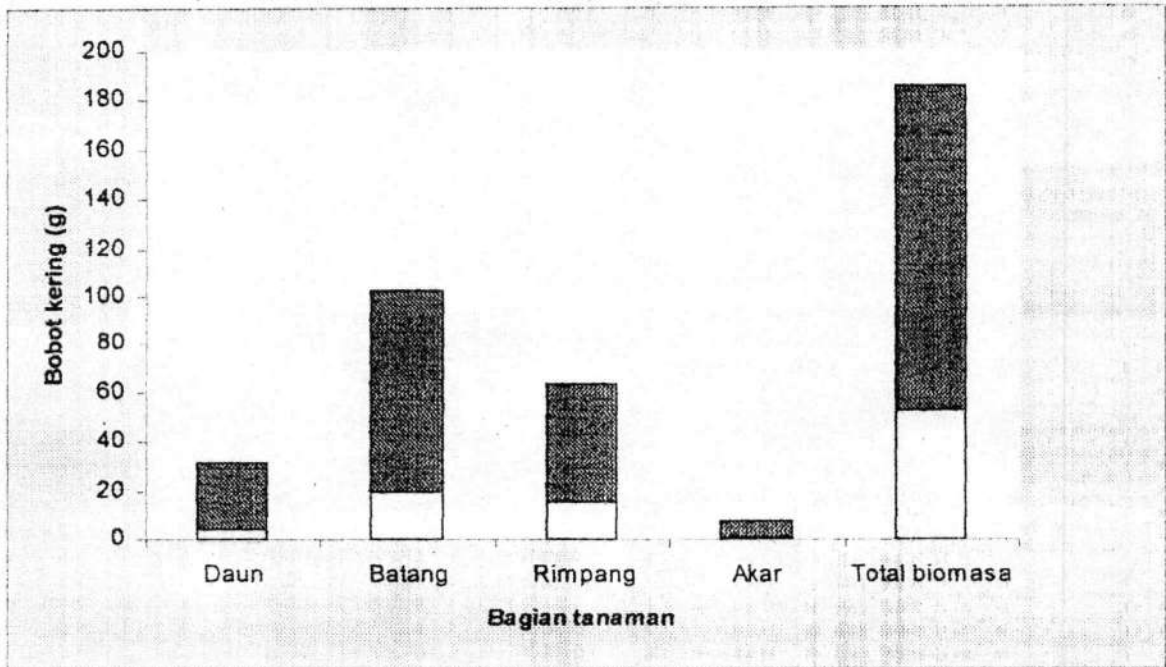
Nomer lokasi	Luas daun (cm ² /rumpun)	Bobot kering daun (g/rumpun)	Bobot kering batang (g/rumpun)	Bobot kering rimpang (g/rumpun)
01	1409,74 ± 175,32	8,01 ± 4,55	29,14 ± 7,07	23,57 ± 5,52
02	2233,31 ± 1877,07	3,85 ± 2,46	29,61 ± 6,50	22,17 ± 6,75
03	2224,03 ± 743,14	10,74 ± 5,26	22,96 ± 11,15	21,05 ± 13,16
04	1319,77 ± 565,24	6,84 ± 2,75	27,93 ± 5,04	15,47 ± 8,28
05	1629,01 ± 886,89	8,80 ± 7,24	25,50 ± 10,38	20,54 ± 5,54
06	1717,42 ± 185,55	11,33 ± 8,38	29,09 ± 26,12	28,38 ± 6,29
07	2178,94 ± 53,87	7,60 ± 5,60	19,54 ± 7,57	28,29 ± 22,22
08	2806,29 ± 2149,37	10,43 ± 5,72	39,44 ± 10,06	29,44 ± 11,70
09	2548,59 ± 1611,99	14,80 ± 14,71	48,57 ± 34,53	31,69 ± 16,67
10	2628,85 ± 706,64	13,13 ± 7,13	33,00 ± 15,43	26,08 ± 20,08
11	2519,67 ± 588,68	10,13 ± 4,06	56,99 ± 10,38	47,40 ± 19,08
12	2338,96 ± 470,02	13,56 ± 7,53	38,14 ± 10,23	24,56 ± 6,88
13	3018,62 ± 959,04	14,32 ± 5,13	40,27 ± 15,93	31,49 ± 6,86
14	1716,25 ± 1582,04	10,07 ± 6,37	54,45 ± 23,71	30,92 ± 4,82
15	863,805 ± 511,76	14,90 ± 2,77	48,78 ± 26,20	36,94 ± 28,10
16	1358,73 ± 1021,54	7,34 ± 5,33	40,70 ± 32,68	28,97 ± 26,32
17	806,66 ± 483,08	8,95 ± 5,84	23,70 ± 15,81	42,33 ± 29,75
18	2837,77 ± 587,51	11,85 ± 8,45	39,50 ± 31,04	22,94 ± 15,01
19	1566,57 ± 397,39	12,64 ± 7,04	53,74 ± 11,45	31,82 ± 8,83
20	1089,30 ± 157,66	6,51 ± 4,66	31,32 ± 17,29	25,91 ± 8,12
21	3174,17 ± 894,67	18,15 ± 8,87	25,18 ± 17,32	25,04 ± 1,59
22	3129,52 ± 2621,39	18,62 ± 14,75	57,36 ± 33,91	17,38 ± 6,90
23	2788,24 ± 1683,76	27,08 ± 26,28	83,24 ± 55,24	21,59 ± 16,39
24	2847,16 ± 2757,26	13,36 ± 11,18	40,24 ± 24,92	19,31 ± 12,92
25	2303,21 ± 1856,36	24,70 ± 22,09	27,96 ± 11,47	41,38 ± 17,83
26	2436,44 ± 1224,93	11,46 ± 10,77	42,81 ± 21,24	22,62 ± 6,45
27	2116,09 ± 552,82	14,34 ± 8,72	33,19 ± 9,12	23,37 ± 10,91
28	2759,26 ± 87,27	14,81 ± 12,53	36,69 ± 17,79	19,73 ± 3,32
29	2665,42 ± 123,06	17,93 ± 13,75	46,91 ± 38,57	23,73 ± 13,53
30	2347,84 ± 1312,51	10,40 ± 5,41	52,86 ± 37,88	23,40 ± 12,49
31	4661,95 ± 357,39	16,80 ± 10,61	36,44 ± 25,60	29,51 ± 15,06

Keterangan : Nilai rerata dari 3 ulangan

Tabel 5.2. Bobot kering akar, total biomassa, kandungan diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Nomer lokasi	Bobot kering akar (g/rumpun)	Total biomassa (g/rumpun)	Kadar diosgenin (mg/g)	Total diosgenin (mg/rumpun)
01	3,85 ± 1,94	64,57 ± 15,68	0,55 ± 0,29	13,14 ± 7,40
02	3,52 ± 2,72	59,15 ± 5,52	0,34 ± 0,21	8,62 ± 5,87
03	2,92 ± 0,71	57,67 ± 22,88	0,75 ± 0,20	17,90 ± 12,44
04	2,43 ± 1,51	52,67 ± 17,20	0,40 ± 0,20	6,52 ± 4,96
05	2,19 ± 0,84	57,03 ± 20,66	0,48 ± 0,27	10,49 ± 7,71
06	4,18 ± 1,13	72,98 ± 26,07	0,44 ± 0,26	10,26 ± 6,55
07	2,22 ± 1,09	57,65 ± 27,62	0,63 ± 0,44	24,52 ± 22,85
08	3,99 ± 1,28	83,30 ± 12,65	0,41 ± 0,21	12,14 ± 8,59
09	2,91 ± 1,40	87,97 ± 65,09	0,35 ± 0,21	13,36 ± 9,78
10	3,06 ± 1,70	75,27 ± 34,94	0,44 ± 0,02	11,28 ± 6,95
11	4,63 ± 2,43	119,15 ± 24,52	0,49 ± 0,19	20,38 ± 2,46
12	2,92 ± 1,20	79,18 ± 21,45	0,69 ± 0,07	17,12 ± 5,10
13	6,14 ± 0,61	92,22 ± 16,35	0,24 ± 0,12	8,22 ± 5,23
14	3,60 ± 1,12	90,04 ± 30,93	0,49 ± 0,27	14,97 ± 8,83
15	2,34 ± 1,86	102,96 ± 63,00	0,43 ± 0,18	19,99 ± 16,53
16	2,53 ± 2,14	79,54 ± 61,45	0,55 ± 0,14	12,74 ± 8,59
17	3,42 ± 2,46	78,40 ± 41,02	0,27 ± 0,25	12,52 ± 12,32
18	1,20 ± 0,82	75,49 ± 54,94	0,39 ± 0,16	10,40 ± 8,71
19	5,30 ± 3,02	103,46 ± 29,04	0,32 ± 0,31	8,50 ± 6,60
20	2,80 ± 0,06	66,56 ± 28,50	0,74 ± 0,44	21,47 ± 15,25
21	1,93 ± 1,01	70,30 ± 24,73	0,38 ± 0,15	11,38 ± 4,30
22	1,24 ± 0,93	94,62 ± 54,12	0,37 ± 0,08	3,87 ± 3,31
23	1,08 ± 0,88	132,99 ± 90,93	0,33 ± 0,23	5,06 ± 1,54
24	1,47 ± 0,94	74,38 ± 47,50	0,37 ± 0,23	4,90 ± 2,58
25	1,89 ± 1,45	95,93 ± 49,00	0,34 ± 0,29	18,18 ± 14,42
26	1,68 ± 1,14	78,57 ± 67,42	0,45 ± 0,20	6,30 ± 4,34
27	1,24 ± 0,83	72,14 ± 36,21	0,31 ± 0,15	7,85 ± 5,85
28	1,51 ± 0,98	72,74 ± 34,07	0,31 ± 0,16	6,59 ± 3,97
29	2,00 ± 1,55	90,57 ± 62,16	0,24 ± 0,20	7,75 ± 2,48
30	1,90 ± 1,73	88,56 ± 54,94	0,43 ± 0,24	12,58 ± 8,89
31	1,79 ± 0,60	84,54 ± 47,69	0,50 ± 0,13	13,99 ± 5,94

Keterangan : Nilai rerata dari 3 ulangan



Gambar 5.1. Grafik histogram kisaran biomassa tanaman *Costus speciosus* alami

b. Kadar nutrisi mikro daun

Kandungan nutrisi mikro Al^{3+} pada daun tanaman *Costus speciosus* berkisar antara 15,3 ppm hingga 84,1 ppm, Fe^{2+} antara 50,8 ppm hingga 395,3 ppm, Mn^{2+} antara 8,1 ppm hingga 95,7 ppm, Zn^{2+} antara 27,2 ppm hingga 91,8 ppm, serta Cu^{2+} antara 11,1 ppm hingga 42,2 ppm. Rincian kadar kelima nutrisi mikro tersebut dalam daun tanaman *Costus speciosus* disajikan pada Tabel 5.3 dan Gambar 5.2.

Berdasarkan hasil analisis multiregresi menunjukkan bahwa nutrisi mikro pada daun (kation Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tidak berpengaruh nyata dengan kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami. ($p=0,704$ pada Lampiran 14 dan $p=0,693$ pada Lampiran 15). Pengaruh tidak nyata tersebut diperkuat dengan nilai korelasi pada Lampiran

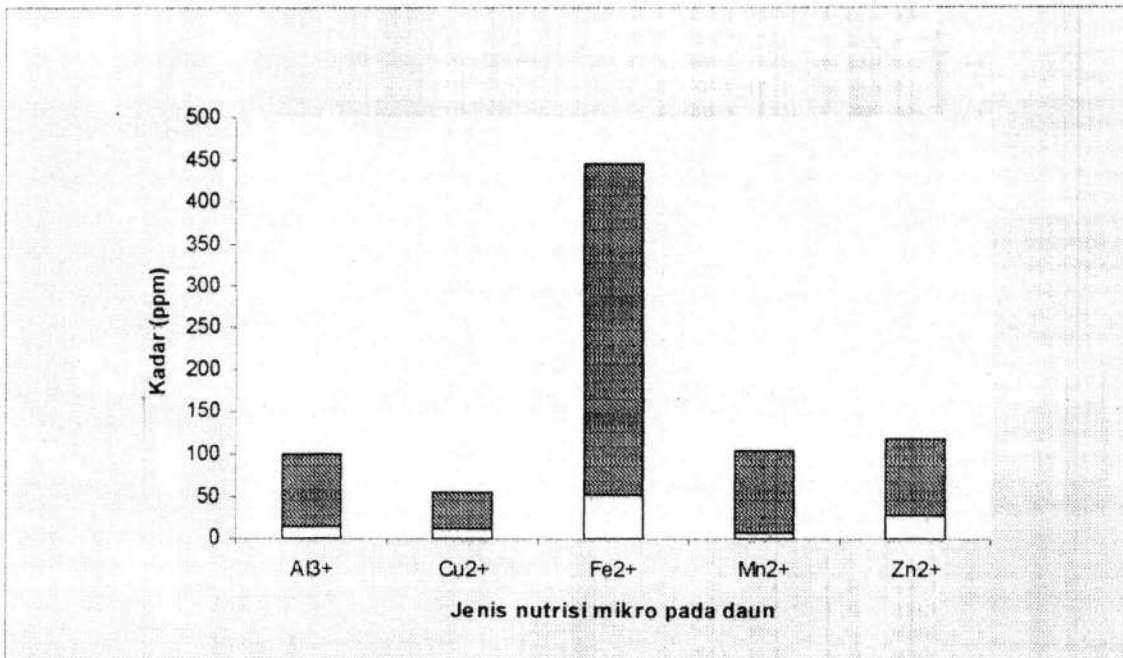
9, tidak ada satupun variabel nutrisi mikro pada daun yang mempunyai korelasi nyata dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus*.

Tabel 5.3. Kadar nutrisi mikro daun (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tanaman *Costus speciosus* alami

Nomer lokasi	Al^{3+} (ppm)	Fe^{2+} (ppm)	Mn^{2+} (ppm)	Zn^{2+} (ppm)	Cu^{2+} (ppm)
01	49,7 ± 6,3	101,2 ± 3,6	13,7 ± 0,2	38,9 ± 1,0	22,8 ± 6,4
02	44,9 ± 3,1	65,2 ± 6,6	8,1 ± 3,0	33,9 ± 5,3	15,7 ± 3,9
03	61,4 ± 7,1	107,1 ± 21,5	21,7 ± 6,0	37,6 ± 3,2	11,1 ± 2,2
04	66,7 ± 0,6	72,9 ± 2,4	110,7 ± 4,4	40,4 ± 0,6	13,9 ± 2,0
05	78,1 ± 2,0	72,9 ± 2,1	106,5 ± 2,3	56,6 ± 1,2	25,4 ± 6,1
06	73,7 ± 1,3	50,8 ± 2,1	110,6 ± 2,2	31,6 ± 1,3	24,9 ± 1,7
07	45,9 ± 1,3	53,2 ± 2,4	195,7 ± 2,3	57,1 ± 2,4	31,7 ± 0,9
08	80,9 ± 2,6	178,7 ± 8,9	42,1 ± 2,5	41,1 ± 2,8	39,2 ± 0,9
09	46,7 ± 1,7	108,7 ± 2,7	17,2 ± 2,5	56,6 ± 2,3	33,5 ± 2,4
10	84,1 ± 0,7	69,7 ± 4,5	29,2 ± 1,1	72,9 ± 1,2	18,7 ± 8,4
11	45,4 ± 0,4	56,4 ± 1,8	10,6 ± 2,6	72,8 ± 1,5	41,5 ± 0,9
12	31,4 ± 0,9	130,3 ± 5,9	8,7 ± 2,9	72,3 ± 1,9	38,9 ± 1,1
13	46,9 ± 1,2	109,6 ± 12,3	29,9 ± 1,3	26,7 ± 2,6	38,9 ± 0,1
14	38,3 ± 5,9	79,2 ± 0,8	60,1 ± 1,8	27,2 ± 1,3	30,2 ± 1,5
15	53,6 ± 2,1	74,6 ± 3,9	86,9 ± 3,8	58,2 ± 0,3	35,8 ± 4,7
16	53,4 ± 4,6	139,7 ± 9,9	16,8 ± 1,0	52,6 ± 2,1	15,4 ± 9,9
17	55,5 ± 1,6	135,1 ± 8,9	12,2 ± 0,6	70,2 ± 0,8	21,1 ± 0,9
18	55,7 ± 3,2	128,4 ± 13,3	149,6 ± 1,9	63,1 ± 18,9	12,8 ± 0,3
19	65,8 ± 3,6	395,3 ± 13,8	8,2 ± 2,9	34,9 ± 1,5	23,7 ± 0,6
20	66,2 ± 1,6	172,2 ± 14,9	24,2 ± 4,2	37,3 ± 1,5	40,2 ± 1,2
21	85,7 ± 5,9	243,1 ± 7,3	129,3 ± 1,2	91,8 ± 2,8	27,9 ± 1,6
22	44,7 ± 1,2	201,6 ± 2,8	10,6 ± 2,6	30,8 ± 1,7	28,8 ± 1,0
23	45,9 ± 2,3	172,5 ± 10,2	10,7 ± 1,6	46,0 ± 1,6	35,2 ± 2,4
24	35,8 ± 1,4	116,7 ± 5,2	13,1 ± 1,9	47,6 ± 6,7	18,8 ± 7,7
25	43,1 ± 1,0	243,1 ± 12,0	28,2 ± 2,9	73,1 ± 2,5	15,8 ± 1,6
26	20,8 ± 2,4	184,5 ± 3,6	12,2 ± 1,1	74,1 ± 9,9	19,9 ± 0,8
27	15,3 ± 1,5	180,0 ± 9,4	44,5 ± 2,3	40,6 ± 1,1	42,2 ± 5,2
28	26,1 ± 3,3	154,3 ± 3,2	60,5 ± 0,4	37,0 ± 0,7	37,3 ± 1,2
29	35,1 ± 2,2	102,4 ± 6,9	44,1 ± 1,5	30,1 ± 0,6	10,9 ± 0,3
30	19,7 ± 0,7	154,9 ± 14,9	18,1 ± 2,2	48,1 ± 0,3	33,9 ± 1,7
31	43,7 ± 0,5	56,2 ± 1,8	78,2 ± 2,1	43,1 ± 0,9	24,8 ± 2,3

Keterangan : Nilai rerata dari 3 ulangan

Nilai korelasi kadar diosgenin dengan masing-masing nutrisi mikro daun adalah Al^{3+} ($r=0,165$ dan $p=0,376$), Cu^{2+} ($r=0,055$ dan $p=0,77$), Fe^{2+} ($r=-0,233$ dan $p=0,207$), Mn^{2+} ($r=0,144$ dan $p=0,54$) serta Zn^{2+} ($r=0,188$ dan $p=0,527$).



Gambar 5.2. Grafik histogram kisaran kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) pada daun *Costus speciosus* alami

5.1.2. Lingkungan tumbuh *Costus speciosus* Alami

Kondisi lingkungan tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami dengan kisaran suhu $24,5^{\circ}\text{C}$ hingga 30°C , kelembaban relatif antara 42 persen hingga 64 persen dan pada ketinggian 100 m hingga 2.838 m dari permukaan air laut seperti disajikan pada Lampiran 1.

Hasil analisis multiregresi pada Lampiran 19 dan 20, menunjukkan bahwa tidak satupun variabel lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat) yang berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin ($p=0,326$). Hal tersebut diperkuat oleh analisis korelasi (Lampiran 9), tidak ada korelasi nyata antara kadar diosgenin dengan variabel lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat) (kelembaban dengan kadar diosgenin $r=-0,391$ dan $p=0,124$; suhu dengan kadar diosgenin $r=-0,134$ dan $p=0,471$; tinggi tempat dengan kadar diosgenin $r=0,061$ dan $p=0,746$).

5.1.3. Karakteristik tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami

Jenis tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh alami terdiri dari 16 jenis, terdiri dari : asosiasi andosol & latosol kelabu, regosol coklat, regosol coklat kekelabuan, mediteran coklat kemerahan, asosiasi andosol coklat & regosol coklat, asosiasi latosol coklat & regosol kelabu, asosiasi andosol coklat kekuningan & regosol kekuningan, aluvial kelabu tua, asosiasi andosol kelabu & regosol kelabu, *brown forest soil*, kompleks litosol dan renzino, asosiasi andosol coklat & Glei hummy, aluvial kelabu, kompleks litosol-mediteran dan renzino dan terakhir adalah kompleks litosol.

Kelas tekstur tanah terdiri dari 9 macam yaitu lempung, liat, lempung berdebu, lempung berliat, lempung berliat berpasir, lempung erpasir, lempung berliat berpasir, pasir berlempung dan liat berdebu (Lampiran 2).

Tabel 5.4. Kandungan bahan organik tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami

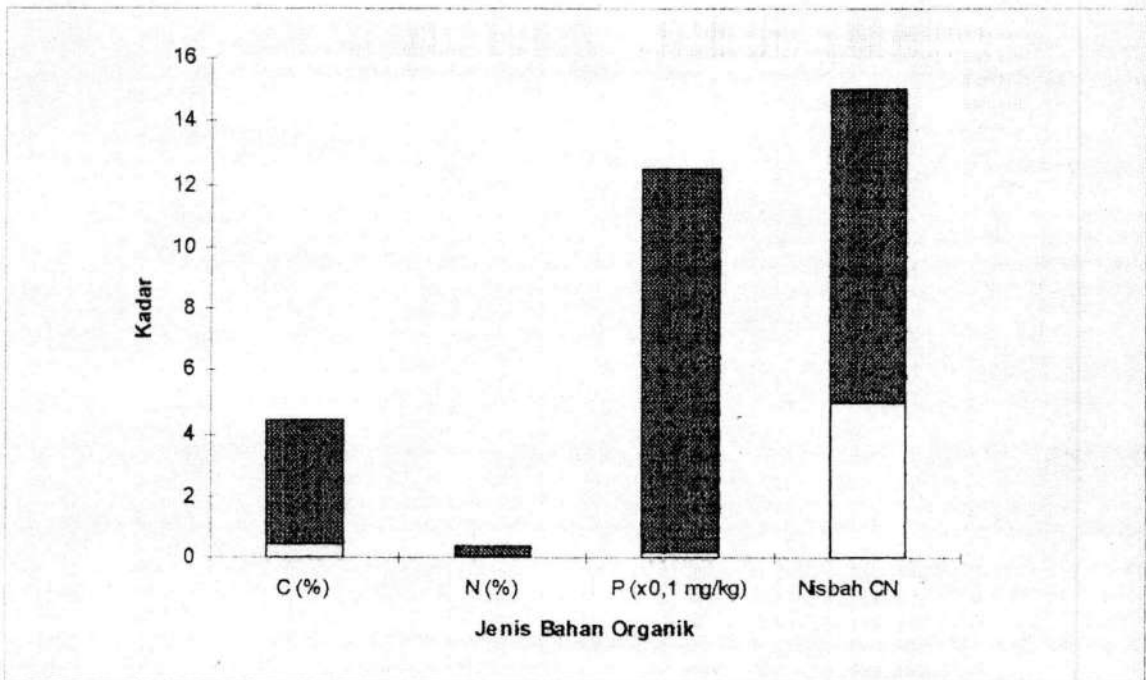
Nomer lokasi	C-organik total (%)	Nitrogen Total (%)	Nisbah C/N	P tersedia (ppm)
01	1,27 ± 0,10	0,11 ± 0,07	11 ± 4	13 ± 7
02	4,42 ± 0,23	0,47 ± 0,12	9 ± 5	15 ± 5
03	4,14 ± 1,02	0,40 ± 0,09	11 ± 2	46 ± 9
04	1,93 ± 0,40	0,21 ± 0,02	9 ± 2	4 ± 2
05	2,79 ± 0,13	0,24 ± 0,04	11 ± 4	8 ± 3
06	3,15 ± 0,28	1,28 ± 0,04	11 ± 3	70 ± 14
07	2,11 ± 0,19	0,17 ± 0,07	12 ± 2	6 ± 2
08	1,87 ± 0,08	0,17 ± 0,03	11 ± 1	17 ± 9
09	0,64 ± 0,17	0,08 ± 0,04	8 ± 1	125 ± 11
10	1,66 ± 0,12	0,17 ± 0,05	10 ± 2	9 ± 3
11	2,29 ± 0,28	0,18 ± 0,04	13 ± 3	25 ± 8
12	0,42 ± 0,10	0,08 ± 0,01	5 ± 1	32 ± 9
13	0,50 ± 0,14	0,10 ± 0,01	5 ± 2	10 ± 4
14	2,97 ± 0,38	0,23 ± 0,10	13 ± 4	18 ± 4
15	3,96 ± 1,02	0,38 ± 0,08	10 ± 4	5 ± 1
16	0,43 ± 0,14	0,07 ± 0,01	6 ± 2	13 ± 2
17	1,33 ± 0,27	0,16 ± 0,03	8 ± 2	25 ± 6
18	2,59 ± 0,42	0,22 ± 0,04	12 ± 4	12 ± 5
19	1,03 ± 0,30	0,11 ± 0,01	9 ± 4	21 ± 4
20	0,26 ± 0,11	0,14 ± 0,06	7 ± 1	6 ± 2
21	1,91 ± 0,22	0,20 ± 0,08	9 ± 1	6 ± 2
22	1,79 ± 0,42	0,14 ± 0,09	13 ± 2	26 ± 10
23	1,95 ± 0,42	0,14 ± 0,03	14 ± 2	27 ± 5
24	1,48 ± 0,21	0,14 ± 0,11	11 ± 4	2 ± 1
25	2,49 ± 0,18	0,17 ± 0,07	15 ± 3	13 ± 8
26	3,35 ± 0,28	0,25 ± 0,04	13 ± 4	38 ± 15
27	2,03 ± 0,72	0,17 ± 0,04	12 ± 2	20 ± 9
28	1,25 ± 0,32	0,11 ± 0,02	11 ± 1	27 ± 11
29	1,17 ± 0,41	0,15 ± 0,08	8 ± 1	36 ± 7
30	0,78 ± 0,32	0,08 ± 0,04	10 ± 4	35 ± 9
31	1,33 ± 0,57	0,09 ± 0,03	15 ± 5	36 ± 10

Keterangan : nilai rerata dari 3 ulangan

a. Nutrisi makro

Kadar bahan organik tanah bervariasi sebagai berikut, karbon organik berkisar antara 0,43 persen hingga 4,42 persen, N total antara 0,04 persen

hingga 0,40 persen, C/N ratio terendah 5 dan tertinggi 15, P tersedia antara 2 mg/kg hingga 125 mg/kg, seperti disajikan pada Tabel 5.4 dan Gambar 5.3. Sedangkan kandungan kation K^+ tersedia berkisar antara 0,29 me/100g hingga 4,46 me/100 g, Ca^{2+} tersedia antara 4,63 me/100 g hingga 22,50 me/100g, dan Mg^{2+} tersedia antara 0,15 me/100 g hingga tertinggi 6,66 me/100 g seperti pada Tabel 5.5 dan Gambar 5.4.



Gambar 5.3. Grafik histogram kisaran kadar bahan organik (C-organik, N, P dan nisbah C/N) tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami⁸⁾

Keterangan : *). Satuan C-organik dan N (dalam %), P (dalam mg/kg atau ppm) dan nisbah C/N tanpa satuan.

**). Skala gambar untuk kadar P dikalikan 0,1.

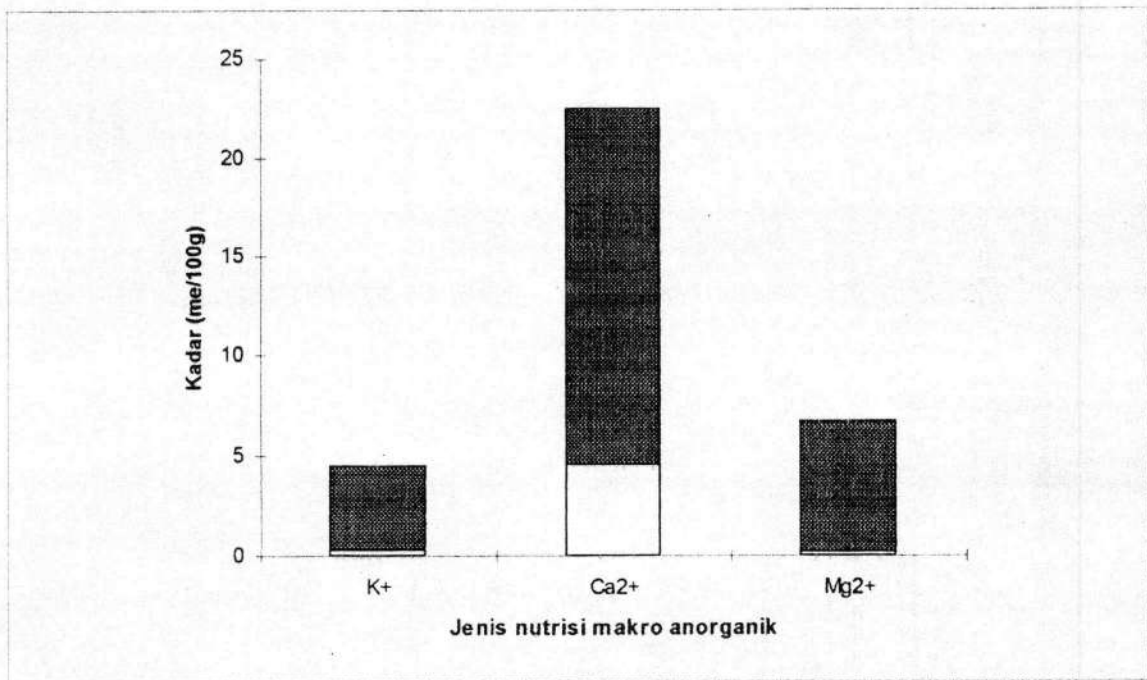
Tabel 5.5. Kadar nutrisi makro anorganik (K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}) tersedia tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami.

Nomer lokasi	K^+ tersedia (me/100g)	Ca^{2+} tersedia (me/100g)	Mg^{2+} tersedia (me/100g)
01	1,27 ± 0,56	8,15 ± 1,20	1,63 ± 0,03
02	3,41 ± 0,08	10,14 ± 2,47	2,61 ± 0,41
03	2,45 ± 0,27	11,75 ± 2,04	2,35 ± 0,32
04	4,00 ± 0,32	7,50 ± 3,58	1,70 ± 0,07
05	3,74 ± 0,14	8,66 ± 0,98	2,16 ± 0,92
06	2,17 ± 0,56	6,50 ± 0,42	0,50 ± 0,42
07	2,72 ± 0,78	7,33 ± 1,12	1,79 ± 0,33
08	3,01 ± 1,02	10,71 ± 2,56	2,96 ± 0,05
09	4,46 ± 0,97	8,54 ± 1,27	0,32 ± 0,03
10	2,53 ± 0,56	8,91 ± 0,12	1,62 ± 0,42
11	2,78 ± 0,21	9,90 ± 1,72	2,50 ± 0,35
12	1,23 ± 0,14	6,00 ± 2,03	2,84 ± 0,42
13	1,37 ± 0,26	5,71 ± 0,98	3,55 ± 0,35
14	4,17 ± 0,03	11,66 ± 2,76	6,66 ± 0,78
15	2,61 ± 1,03	10,83 ± 0,50	4,16 ± 0,35
16	1,29 ± 0,68	4,63 ± 1,70	1,54 ± 0,82
17	2,92 ± 0,13	9,06 ± 0,56	0,16 ± 0,03
18	2,66 ± 0,34	11,58 ± 0,82	2,13 ± 0,64
19	2,15 ± 0,57	9,24 ± 1,03	5,77 ± 0,05
20	1,77 ± 1,01	4,63 ± 0,42	0,77 ± 0,72
21	2,58 ± 0,56	8,24 ± 1,59	2,14 ± 1,56
22	2,97 ± 0,32	17,85 ± 4,78	1,80 ± 0,48
23	1,72 ± 0,48	14,55 ± 0,59	0,15 ± 0,06
24	1,96 ± 0,03	17,85 ± 3,27	2,85 ± 0,83
25	2,35 ± 0,08	22,50 ± 2,03	0,45 ± 0,04
26	3,13 ± 0,48	9,15 ± 1,27	3,45 ± 0,64
27	3,29 ± 0,56	16,35 ± 4,96	5,55 ± 0,25
28	0,29 ± 0,10	13,65 ± 5,72	0,60 ± 0,56
29	3,13 ± 0,82	20,70 ± 0,60	0,30 ± 0,08
30	1,88 ± 0,03	10,65 ± 2,81	3,00 ± 0,27
31	1,88 ± 0,49	15,75 ± 1,72	0,30 ± 0,03

Keterangan : Nilai rerata dari 3 ulangan.

Hasil analisis multiregresi menunjukkan bahwa kadar diosgenin dipengaruhi nyata oleh nutrisi makro dalam tanah ($p=0,015$ pada Lampiran 26). Analisis keragaman parsial menunjukkan, kadar Ca^{2+} tersedia berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin ($p=0,015$ Lampiran 26), dan

sangat nyata ($p=0,006$ Lampiran 27). Hal tersebut diperkuat oleh nilai koefisien korelasi pada Lampiran 9 bahwa kadar Ca^{2+} tersedia pada tanah mempunyai korelasi nyata ($r=0,435$ dan $p=0,015$) dengan kadar diosgenin. Hubungan negatif antara kadar Ca^{2+} tersedia pada tanah dengan kadar diosgenin pada rimpang berupa multiregresi kuadrat ($p=0,045$ dan $R^2=0,198$), dengan persamaan $Y = 0,6534 - 0,0275 X + 0,0006 X^2$ (Lampiran 28).



Gambar 5.4. Grafik histogram kisaran kadar nutrisi makro anorganik (K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+}) tersedia tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami

b. Nutrisi mikro

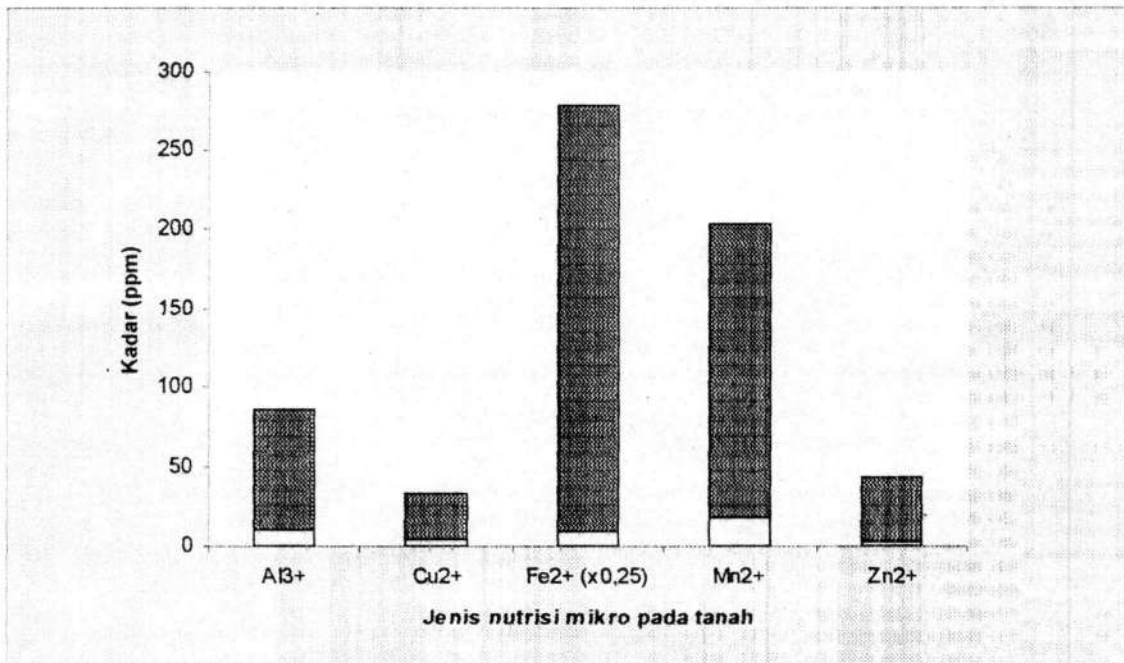
Kandungan nutrisi mikro tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami adalah sebagai berikut : kadar kation Al^{3+} tersedia pada tanah berkisar antara

10,7 ppm hingga 74,6 ppm, Fe^{2+} antara 37,4 ppm hingga 1075,0 ppm, Mn^{2+} antara 18,3 ppm hingga 184,5 ppm, Zn^{2+} antara 2,9 ppm hingga 40,7 ppm dan Cu^{2+} antara 3,9 ppm hingga 28,8 ppm, rincian kadar kelima nutrisi mikro tersedia dalam tanah disajikan pada Tabel 5.6 dan Gambar 5.5.

Tabel 5.6. Kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tersedia pada tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami

Nomer lokasi	Al^{3+} tersedia (ppm)	Fe^{2+} tersedia (ppm)	Mn^{2+} tersedia (ppm)	Zn^{2+} tersedia (ppm)	Cu^{2+} tersedia (ppm)
01	16,2 ± 0,1	168,1 ± 11,6	26,4 ± 1,3	3,3 ± 1,1	18,5 ± 0,5
02	53,5 ± 1,4	120,6 ± 14,6	87,4 ± 0,2	28,9 ± 11,3	9,3 ± 0,7
03	74,6 ± 16,5	135,8 ± 20,0	109,9 ± 1,9	13,1 ± 1,1	8,6 ± 0,1
04	33,9 ± 0,5	114,1 ± 10,7	36,1 ± 1,4	8,4 ± 0,5	11,8 ± 0,3
05	19,8 ± 2,1	80,5 ± 6,7	44,4 ± 1,9	7,4 ± 0,3	27,8 ± 0,6
06	51,0 ± 1,5	143,5 ± 15,5	58,2 ± 1,6	24,9 ± 2,3	8,6 ± 0,2
07	34,9 ± 1,1	110,2 ± 13,3	110,4 ± 4,6	9,9 ± 1,6	22,2 ± 1,1
08	43,9 ± 0,6	252,2 ± 25,2	133,1 ± 5,4	36,6 ± 1,8	14,5 ± 3,2
09	18,8 ± 1,4	222,1 ± 18,3	45,5 ± 2,3	13,4 ± 1,9	27,8 ± 0,9
10	21,6 ± 1,4	94,5 ± 4,7	98,4 ± 2,6	8,9 ± 0,6	10,3 ± 0,9
11	26,6 ± 0,6	124,9 ± 11,0	84,8 ± 13,6	15,7 ± 1,8	26,2 ± 1,3
12	29,0 ± 0,6	278,3 ± 21,4	50,1 ± 2,7	4,8 ± 1,1	21,2 ± 1,0
13	43,9 ± 0,6	374,1 ± 29,3	55,2 ± 2,9	4,2 ± 0,4	12,2 ± 1,0
14	62,0 ± 3,5	130,2 ± 14,6	95,1 ± 3,5	16,6 ± 2,4	18,0 ± 2,3
15	47,4 ± 1,3	135,5 ± 12,4	47,9 ± 1,2	15,6 ± 0,9	7,4 ± 0,3
16	51,1 ± 1,1	301,1 ± 28,8	98,8 ± 0,7	4,9 ± 0,5	28,8 ± 0,9
17	25,6 ± 1,4	113,4 ± 14,4	50,6 ± 1,9	11,9 ± 0,6	8,9 ± 1,4
18	50,2 ± 1,6	131,0 ± 20,7	98,0 ± 1,4	7,8 ± 0,9	8,4 ± 0,4
19	14,8 ± 1,4	1075,8 ± 133,4	117,8 ± 2,9	15,2 ± 1,2	14,2 ± 2,3
20	52,3 ± 0,9	77,1 ± 4,2	18,3 ± 1,5	2,9 ± 0,8	27,6 ± 0,3
21	66,1 ± 15,8	77,5 ± 9,5	45,9 ± 1,5	8,7 ± 0,6	19,8 ± 0,7
22	10,7 ± 1,5	255,1 ± 25,0	105,4 ± 6,8	8,7 ± 0,5	12,7 ± 0,5
23	44,2 ± 0,9	271,6 ± 26,4	184,5 ± 24,4	13,7 ± 1,0	16,6 ± 0,5
24	25,1 ± 0,8	50,6 ± 1,8	73,7 ± 1,4	19,4 ± 0,8	7,4 ± 0,4
25	24,2 ± 0,2	63,6 ± 8,5	91,6 ± 1,7	8,4 ± 0,4	6,9 ± 0,7
26	37,2 ± 1,9	37,4 ± 4,3	37,1 ± 1,4	30,5 ± 0,5	13,9 ± 0,6
27	60,6 ± 0,9	339,8 ± 42,1	87,0 ± 1,1	40,7 ± 1,9	3,9 ± 1,4
28	40,2 ± 0,4	315,1 ± 34,8	89,6 ± 2,4	9,9 ± 0,4	5,1 ± 1,3
29	26,9 ± 1,3	77,3 ± 11,6	42,9 ± 15,3	4,3 ± 0,1	6,9 ± 0,9
30	37,6 ± 1,3	880,6 ± 118,1	35,8 ± 2,9	27,8 ± 1,0	28,8 ± 9,1
31	35,8 ± 0,6	880,6 ± 74,0	257,1 ± 2,2	19,2 ± 1,0	23,5 ± 0,4

Keterangan : nilai rerata dari 3 ulangan



Gambar 5.5. Grafik histogram kisaran kadar nutrisi mikro (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+}) tersedia tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami

Keterangan : *) Skala gambar untuk kadar Fe^{2+} dikalikan 0,25.

pH tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami mempunyai nilai antara 6,1 hingga 7,9 (dalam pelarut air) dan pada pelarut KCl antara 4,5 hingga 6,9, kapasitas tukar kation pada tanah berkisar antara 8,76 me/100 g hingga 34,26 me/100g, jumlah basa antara 7,36 me/100 g hingga 27,04 me/100g, dan kejenuhan basa antara 59 persen hingga 100 persen seperti disajikan pada Tabel 5.7 .

Tabel 5.7. Kapasitas tukar kation, jumlah basa, kejenuhan basa dan pH tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami*

Nomer lokasi	KTK (me/100g)	Jumlah basa (me/100g)	Kejenuhan basa (%)	pH (pelarut air)	pH (pelarut KCl)
01	16,23 ± 2,51	11,95 ± 1,86	73,63 ± 4,29	6,6 ± 0,2	5,0 ± 0,1
02	26,05 ± 0,48	19,18 ± 2,79	73,01 ± 5,72	6,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1
03	18,94 ± 2,67	18,87 ± 2,68	99,63 ± 11,2	7,1 ± 0,2	5,7 ± 0,1
04	16,97 ± 2,10	16,92 ± 0,59	99,71 ± 8,21	6,5 ± 0,3	4,5 ± 0,1
05	21,46 ± 0,93	18,40 ± 2,51	86,74 ± 7,80	6,2 ± 0,2	4,6 ± 0,1
06	14,07 ± 2,70	11,12 ± 1,02	79,03 ± 10,23	6,1 ± 0,1	4,9 ± 0,1
07	22,13 ± 1,85	14,25 ± 2,56	64,39 ± 14,31	6,8 ± 0,1	5,3 ± 0,1
08	16,85 ± 4,53	19,97 ± 3,46	118,52 ± 13,28	6,9 ± 0,1	5,7 ± 0,2
09	16,06 ± 0,72	18,03 ± 2,56	112,27 ± 11,25	6,9 ± 0,2	5,6 ± 0,1
10	20,43 ± 6,51	20,45 ± 1,56	100,09 ± 6,73	6,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1
11	23,23 ± 4,28	17,77 ± 2,72	76,50 ± 9,28	7,2 ± 0,3	6,1 ± 0,2
12	12,55 ± 4,08	11,91 ± 2,13	94,90 ± 5,82	6,8 ± 0,2	5,4 ± 0,1
13	12,31 ± 3,91	11,20 ± 0,37	90,98 ± 6,21	7,1 ± 0,1	5,8 ± 0,1
14	28,33 ± 4,85	26,08 ± 3,59	92,06 ± 8,94	7,3 ± 0,2	5,9 ± 0,1
15	20,58 ± 3,12	19,39 ± 2,70	94,22 ± 6,90	6,9 ± 0,2	5,0 ± 0,1
16	10,25 ± 0,46	7,95 ± 0,72	77,56 ± 2,12	6,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1
17	15,39 ± 3,28	14,37 ± 4,58	93,37 ± 4,25	6,7 ± 0,3	5,0 ± 0,1
18	24,21 ± 0,45	17,56 ± 0,03	72,53 ± 1,28	6,7 ± 0,3	5,0 ± 0,1
19	23,88 ± 4,75	17,57 ± 1,25	65,20 ± 4,85	7,1 ± 0,3	6,1 ± 0,2
20	10,26 ± 0,18	7,36 ± 1,56	71,73 ± 2,95	6,6 ± 0,1	5,3 ± 0,1
21	18,76 ± 4,92	15,76 ± 1,79	84,00 ± 4,62	6,3 ± 0,1	4,9 ± 0,1
22	21,31 ± 2,75	24,28 ± 5,26	113,94 ± 10,46	7,9 ± 0,2	6,9 ± 0,2
23	21,12 ± 0,56	17,11 ± 4,58	81,01 ± 5,54	7,9 ± 0,1	6,8 ± 0,2
24	34,26 ± 7,59	23,49 ± 0,72	68,56 ± 3,46	7,3 ± 0,3	6,2 ± 0,1
25	19,12 ± 1,56	26,55 ± 4,37	138,60 ± 1,86	7,9 ± 0,1	6,9 ± 0,1
26	29,08 ± 0,27	18,41 ± 0,40	63,31 ± 1,46	6,3 ± 0,1	5,3 ± 0,1
27	33,86 ± 5,69	27,04 ± 3,12	79,86 ± 7,62	7,4 ± 0,2	6,3 ± 0,1
28	25,10 ± 3,28	14,85 ± 0,98	59,16 ± 4,56	7,5 ± 0,1	6,2 ± 0,1
29	14,14 ± 0,56	26,99 ± 1,72	190,88 ± 23,85	7,6 ± 0,1	6,9 ± 0,1
30	24,90 ± 1,13	16,32 ± 0,56	66,54 ± 7,56	7,0 ± 0,1	6,0 ± 0,1
31	18,76 ± 1,19	19,32 ± 0,74	102,98 ± 13,25	7,6 ± 0,1	6,9 ± 0,1

Keterangan* : a. Satu me/100 g setara dengan 1 mg H⁺/100 g, atau 23 mg Na⁺/100 g atau setara dengan 20 mg Ca²⁺/100g
b. Nilai rerata dari 3 ulangan

Hasil analisis multiregresi menunjukkan nutrisi mikro tersedia pada tanah berpengaruh sangat nyata ($p=0,003$ pada Lampiran 33) terhadap total diosgenin. Analisis keragaman parsial menunjukkan Cu²⁺ tersedia tanah

berpengaruh (sangat nyata $p=0,002$ pada Lampiran 33 dan nyata $p=0,02$ Lampiran 34), dan Al^{3+} tersedia berpengaruh nyata ($p=0,031$ Lampiran 33). Akan tetapi berdasarkan nilai koefisien korelasi pada Lampiran 10, hanya kadar Cu^{2+} tersedia tanah yang mempunyai korelasi sangat nyata ($r=0,477$ dan $p=0,007$) dengan kadar diosgenin, sedangkan Al^{3+} tidak nyata ($r=0,257$ dan $p=0,162$).

Hubungan positif antara kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah dengan kadar diosgenin nyata pada multiregresi kuadratik ($p=0,021$ dan $R^2=0,238$), dengan persamaan $Y = 0,2662 + 0,0146 X - 0,0002 X^2$ seperti pada Lampiran 35.

5.1.4. Variabel dominan yang berpengaruh terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin

Hasil analisis multiregresi variabel berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin yaitu bobot kering daun, kadar Ca^{2+} dan Cu^{2+} tersedia tanah, terdapat pengaruh sangat nyata ($p=0,007$) seperti pada Lampiran 46. Analisis keragaman parsial menunjukkan variabel yang dominan berpengaruh terhadap kadar diosgenin adalah Cu^{2+} tersedia tanah ($p=0,007$) pada Lampiran 46 dan 47. Diperkuat oleh hasil analisis multimultiregresi variabel yang berkorelasi nyata dengan kadar diosgenin yaitu bobot kering daun ($r=-0,395$ dan $p=0,028$), Ca^{2+} tersedia pada tanah ($r=-0,435$ dan $p=0,015$) serta Cu^{2+} tersedia tanah ($r=0,477$ dan $p=0,007$) dan jumlah basa ($r=-0,417$ dan $p=0,020$), hasil analisis keragaman parsial menunjukkan hanya Cu^{2+} tersedia tanah yang berpengaruh sangat nyata ($0,007$ Lampiran 47).

Hubungan positif antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami berupa multiregresi kuadratik

($p=0,021$ dan $R^2=0,238$), dengan persamaan $Y = 0,2662 + 0,0146 X - 0,0002 X^2$ (Lampiran 35).

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

5.2.1. Kandungan Cu^{2+} tersedia pada tanah dan kadar Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus*

Hasil analisis keragaman pada Lampiran 51, terdapat perbedaan sangat nyata ($p=0,000$) antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan tingkat 0-230 ppm terhadap kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah. Selanjutnya pada Tabel 5.8 dan Gambar 5.6 terlihat bahwa penambahan Cu^{2+} pada tanah akan menaikkan kadar Cu^{2+} tersedia tanah, Cu^{2+} tersedia tanah terendah sebesar 8,8 ppm pada kontrol dan tertinggi sebesar 137,5 ppm pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm.

Tabel 5.8. Kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah dan kadar Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan

Penambahan Cu^{2+} pada tanah	Kadar Cu^{2+} tersedia tanah (ppm)	Kadar Cu^{2+} daun (ppm)
0 ppm	8,8 ± 0,7 a	9,8 ± 0,4 a
4 ppm	9,0 ± 0,4 a	14,8 ± 0,6 a
28 ppm	13,2 ± 1,3 ab	36,9 ± 0,3 c
65 ppm	25,2 ± 0,8 b	31,1 ± 1,2 bc
115 ppm	53,6 ± 2,4 c	28,4 ± 0,9 b
170 ppm	110,2 ± 3,8 d	27,3 ± 0,6 b
230 ppm	137,5 ± 2,7 e	27,3 ± 0,5 b

Keterangan : Angka pada kolom sama yang didampingi oleh notasi (huruf) beda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Pada kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) kadar Cu^{2+} tersedia tanah sebesar 8,8 ppm yang tidak berbeda nyata dengan penambahan 4 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 9,0 ppm) dan penambahan Cu^{2+} 28 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 13,2 ppm). Akan tetapi berbeda nyata dengan penambahan Cu^{2+} 65 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 25,2 ppm), dan penambahan Cu^{2+} 65 ppm berbeda nyata dengan penambahan 115 ppm, 170 ppm dan 230 ppm. Kadar Cu^{2+} tersedia tanah pada penambahan Cu^{2+} 115 ppm sebesar 53,6 ppm, pada penambahan Cu^{2+} 170 ppm sebesar 110,2 dan pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 137,5 ppm.

Pada penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, hubungan positif antara penambahan Cu^{2+} kadar 0-115 ppm dengan kadar Cu^{2+} tersedia tanah nyata pada regresi kuadrat ($p=0,000$ dan $R^2=0,989$) berupa persamaan $Y = 8,7705 + 0,07544 X + 0,00273174 X^2$ (Lampiran 52).

Analisis serupa terhadap kadar nutrisi mikro Cu^{2+} daun (Lampiran 52), terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p=0,000$) antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan kadar Cu^{2+} daun *Costus speciosus*. Hasil pengamatan kadar Cu^{2+} daun setelah tanah mengalami penambahan Cu^{2+} dalam bentuk $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, menunjukkan bahwa kenaikan kadar Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah mengakibatkan kenaikan kadar Cu^{2+} pada daun. Cu^{2+} pada daun tertinggi sebesar 36,9 ppm terdapat pada penambahan Cu^{2+} 28 ppm dan terendah pada kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) yaitu sebesar 9,8 ppm. Rincian kadar Cu^{2+} pada daun disajikan pada Tabel 5.8.

Tanpa penambahan Cu^{2+} pada tanah (kontrol) kadar Cu^{2+} daun 9,8 ppm yang tidak berbeda nyata dengan penambahan Cu^{2+} 4 ppm yaitu sebesar 14,8 ppm, akan tetapi berbeda nyata dengan penambahan 28 ppm ke atas. Penambahan Cu^{2+} 28 ppm mengakibatkan kadar Cu^{2+} daun 36,9 ppm yang

tidak berbeda nyata dengan penambahan 65 ppm yaitu sebesar 31,1 ppm. Akan tetapi berbeda nyata dengan penambahan 115 ppm, 170 ppm dan 230 ppm, masing-masing kupri daun sebesar 28,4 ppm, 27,3 ppm dan 27,3 ppm.

Dengan menggunakan pedoman kadar Cu^{2+} pada daun tanaman, terlihat bahwa kenaikan Cu^{2+} sebagai *elisor* mempunyai batas optimal antara 28 ppm sampai dengan 65 ppm. Pada rentang tingkat tersebut kadar Cu^{2+} daun mencapai nilai tertinggi yaitu 36,9 ppm. Di atas tingkat tersebut penggunaan *elisor* nutrisi mikro Cu^{2+} justru menurunkan kadar Cu^{2+} daun, pada penambahan 65 ppm (Cu^{2+} daun sebesar 31,1 ppm), pada penambahan 115 ppm (Cu^{2+} daun sebesar 28,4 ppm), pada penambahan 170 ppm (Cu^{2+} daun sebesar 27,3 ppm) dan pada penambahan 230 ppm (Cu^{2+} sebesar 27,3 ppm).

Perilaku hubungan positif antara penambahan Cu^{2+} pada tanah tingkat 0 hingga 115 ppm terhadap kadar Cu^{2+} daun nyata pada regresi kuadrat ($p=0,000$ dan $R^2=0,772$), dengan persamaan $Y = 12,734 + 0,70767 X - 0,0050803 X^2$ (Lampiran 54).

5.2.2. Luas daun dan luas daun spesifik (LDS)

Hasil analisis keragaman menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata (0,001) antara tingkat penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan luas daun seperti disajikan pada Lampiran 55. Luas daun terendah terdapat pada perlakuan kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) sebesar 1.308,12 $\text{cm}^2/\text{rumpun}$, yang berbeda nyata dengan perlakuan lain (tingkat penambahan Cu^{2+} mulai dari 4 ppm hingga 230 ppm), dan tertinggi pada penggunaan Cu^{2+} 28 ppm sebagai induser yaitu sebesar 1.924,13 $\text{cm}^2/\text{rumpun}$. Pada perlakuan Cu^{2+} 65

ppm luas daun 1.665,08 cm²/rumpun dan pada penambahan Cu²⁺ 115 ppm luas daun sebesar 1.786,99 cm²/rumpun.

Hal tersebut menunjukkan adanya penambahan Cu²⁺ dalam tanah menyebabkan kenaikan luas daun tanaman *Costus speciosus*. Karakteristik daun akibat perbedaan tingkat penambahan Cu²⁺ pada tanah disajikan pada Tabel 5.9. Hubungan positif antara penambahan Cu²⁺ tingkat 0-115 ppm pada tanah dengan luas daun nyata pada regresi kuadrat ($p=0,028$ dan $R^2=0,141$), dengan persamaan $Y = 1478,40 + 9,900 X - 0,06610 X^2$ seperti pada Lampiran 56.

Analisis serupa pada Lampiran 57, menunjukkan bahwa kadar Cu²⁺ yang ditambahkan pada tanah berpengaruh sangat nyata ($p=0,005$) terhadap luas daun spesifik (LDS) tanaman *Costus speciosus*. Nilai luas daun spesifik (LDS), semakin besar dengan semakin besarnya kadar Cu²⁺ yang ditambahkan pada tanah.

Tabel 5.9. Luas daun dan luas daun spesifik tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu²⁺ selama 4 bulan

Penambahan Cu ²⁺ pada tanah	Luas daun (cm ² /rumpun)	Luas daun spesifik (cm ² /g)
0 ppm	1308,12 ± 269,39 a	806,15 ± 116,57 a
4 ppm	1602,52 ± 285,56 b	1003,71 ± 145,50 b
28 ppm	1924,13 ± 464,28 c	1087,08 ± 131,51 b
65 ppm	1665,98 ± 262,14 b	1076,47 ± 211,80 b
115 ppm	1786,99 ± 284,14 bc	1133,78 ± 421,69 b
170 ppm	1810,44 ± 366,98 bc	1074,64 ± 158,48 b
230 ppm	1897,05 ± 231,54 c	1025,07 ± 166,43 b

Keterangan : Angka pada kolom sama yang didampingi oleh notasi (huruf) beda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Pada kontrol (tanpa penambahan Cu²⁺) nilai LDS terendah yaitu sebesar 806,15 ± 116,57 cm²/g dan tertinggi pada penambahan Cu²⁺ 115 ppm yaitu

sebesar $1133,78 \pm \text{cm}^2/\text{g}$, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin besar nilai LDS semakin tipis daun tanaman. Hubungan positif antara penambahan Cu^{2+} tingkat 0-115 ppm pada tanah dengan luas daun spesifik (LDS) nyata pada regresi kuadrat ($p=0,003$ dan $R^2=0,216$), dengan persamaan $Y = 889,51 + 3,988 X - 0,031634 X^2$, disajikan pada Lampiran 58.

5.2.3. Biomassa tanaman

Pada Lampiran 59, menunjukkan bahwa perlakuan penambahan Cu^{2+} 0-230 ppm pada tanah berpengaruh nyata ($p=0,024$) terhadap bobot kering daun. Bobot kering daun terendah sebesar 1,60 g/rumpun dihasilkan pada perlakuan Cu^{2+} 4 ppm, yang tidak berbeda nyata dengan kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+} pada tanah) sebesar 1,61 g/rumpun, perlakuan Cu^{2+} 65 ppm, 115 ppm dan 170 ppm. Akan tetapi berbeda nyata dengan perlakuan Cu^{2+} 230 ppm yang menghasilkan bobot kering daun tertinggi sebesar 1,88 g/rumpun. Pada tingkat penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, pengaruh Cu^{2+} yang ditambahkan tersebut tidak nyata linier ($p=0,729$) dan tak nyata kuadrat ($p=0,439$) terhadap bobot kering daun (Lampiran 60).

Hasil analisis keragaman seperti pada Lampiran 61, menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p=0,001$), antara perlakuan penambahan Cu^{2+} tingkat 0-230 ppm pada tanah terhadap bobot kering batang tanaman *Costus speciosus*. Nilai rerata bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi seperti pada Tabel 5.10. Pada penambahan Cu^{2+} sebesar 4 ppm dan 28 ppm tidak berbeda nyata dengan kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+} pada tanah), akan tetapi berbeda nyata dengan penambahan Cu^{2+} 65 hingga 230 ppm.

Bobot kering batang terendah pada perlakuan kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) yaitu sebesar 1,89 g/rumpun yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan Cu^{2+} 4 ppm (bk batang 1,93 g) dan Cu^{2+} 28 ppm (bk. batang 1,98 g/rumpun). Pada penambahan Cu^{2+} 65 ppm (bk batang 2,90 g/rumpun) tidak berbeda nyata dengan penambahan Cu^{2+} 115 ppm (bk batang 2,33 g/rumpun), tetapi berbeda nyata dengan penambahan Cu^{2+} 170 ppm (bk batang 2,35 g/rumpun) dan penambahan Cu^{2+} 230 ppm (bk batang 2,71 g/rumpun).

Tabel 5.10. Biomassa tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan

Penambahan Cu^{2+} pada tanah	Bobot kering daun (g/rumpun)	Bobot kering batang (g/rumpun)	Bobot kering Rimpang (g/rumpun)	Bobot kering Akar (g/rumpun)	Total biomassa (g/rumpun)
0 ppm	1,61 ± 0,15 a	1,89 ± 0,36 a	0,86 ± 0,23 ab	0,62 ± 0,19	4,97 ± 0,69 a
4 ppm	1,60 ± 0,22 a	1,93 ± 0,22 a	0,80 ± 0,15 ab	0,54 ± 0,13	4,88 ± 0,45 a
28 ppm	1,77 ± 0,34 ab	1,98 ± 0,45 ab	0,81 ± 0,30 ab	0,67 ± 0,12	5,97 ± 1,03 b
65 ppm	1,60 ± 0,23 a	2,90 ± 0,63 c	0,73 ± 0,15 a	0,58 ± 0,12	4,89 ± 1,21 a
115 ppm	1,63 ± 0,37 a	2,33 ± 0,41 b	0,84 ± 0,18 ab	0,55 ± 0,11	5,35 ± 0,94 ab
170 ppm	1,68 ± 0,22 a	2,35 ± 0,38 b	0,95 ± 0,16 b	0,61 ± 0,14	5,54 ± 0,77 ab
230 ppm	1,88 ± 0,32 b	2,71 ± 0,50 c	1,12 ± 0,28 b	0,69 ± 0,14	6,40 ± 1,06 b

Keterangan : Angka pada kolom sama yang didampingi oleh notasi (huruf) beda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5 %

Pada tingkat penambahan 0-115 ppm, hubungan positif antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan bobot kering batang nyata pada regresi linier ($p=0,048$ dan $R^2=0,179$), dengan persamaan $Y = 1,9568 + 0,002960 X$ disajikan pada Lampiran 62.

Analisis keragaman terhadap bobot kering rimpang pada Lampiran 63, terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p=0,001$) antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan bobot kering rimpang tanaman *Costus speciosus*. Bobot kering

rimpang tanaman *Costus speciosus* meningkat dengan semakin tingginya kadar Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah. Bobot kering rimpang terendah pada perlakuan penambahan Cu^{2+} 65 ppm yaitu sebesar 0,73 g dan tertinggi pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 1,12 g.

Bobot kering rimpang pada perlakuan penambahan Cu^{2+} 65 ppm berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan bobot kering rimpang pada kontrol tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan Cu^{2+} 4 ppm, 28 ppm, 115 ppm, 170 ppm dan 230 ppm. Nilai bobot kering rimpang pada kontrol sebesar 0,86 g/ rumpun, pada penambahan Cu^{2+} 4 ppm sebesar 0,80 g/ rumpun, pada penambahan Cu^{2+} 28 ppm 0,81 g/rumpun, pada penambahan tembaga 115 ppm sebesar 0,84/rumpun, pada penambahan Cu^{2+} 170 ppm sebesar 0,95 g/ rumpun dan pada 230 ppm sebesar 1,12 g/ rumpun.

Akan tetapi pada penambahan Cu^{2+} tingkat 0-115 ppm, hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan bobot kering rimpang tidak menunjukkan pola yang nyata pada regresi linier ($p=0,866$) dan kuadrat ($p=0,720$) seperti pada Lampiran 63. Kenaikan kadar Cu^{2+} yang ditambahkan dalam media tanah dari 0 hingga 230 ppm, tidak menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap bobot kering akar tanaman *Costus speciosus* seperti pada Lampiran 64. Bobot kering akar terendah dihasilkan pada perlakuan elisitasi (penambahan) Cu^{2+} 4 ppm yaitu sebesar 0,54 g/rumpun dan tertinggi pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 0,69 g/rumpun.

Total biomassa tanaman *Costus speciosus* dipengaruhi sangat nyata ($p=0,003$) oleh kadar Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah pada kadar penambahan 0 hingga 230 ppm (Lampiran 67). Total biomassa tanaman terendah terjadi perlakuan elisitasi Cu^{2+} 4 ppm yaitu sebesar 4,88 g/rumpun yang tidak berbeda nyata dengan kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) sebesar

4,97 g/rumpun dan Cu^{2+} 65 ppm sebesar 4,89 g/rumpun. Ketiga nilai total biomassa tanaman tersebut berbeda nyata dengan keempat perlakuan lain, nilai total biomassa pada perlakuan Cu^{2+} 28 ppm sebesar 5,97 g/rumpun, pada Cu^{2+} 115 ppm sebesar 5,35 g/rumpun, pada perlakuan Cu^{2+} 115 ppm sebesar 5,35 g/rumpun, Cu^{2+} 170 ppm sebesar 5,54 g/rumpun dan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 6,40 g/rumpun.

Pada tingkat 0-115 ppm, hubungan antara Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah dengan total biomassa tanaman tidak menunjukkan pola yang nyata pada regresi linier ($p=0,517$) dan kuadrat ($p=0,775$) seperti pada Lampiran 68.

5.2.4. Kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang.

Hasil analisis keragaman seperti pada Lampiran 69, menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p=0,000$) akibat perbedaan kadar Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0 hingga 230 ppm) terhadap kadar diosgenin rimpang, akan tetapi tidak nyata ($p=0,141$) terhadap total diosgenin seperti pada Lampiran 71. Nilai rerata kadar diosgenin rimpang dan total diosgenin (produktivitas tanaman) disajikan pada Tabel 5.11.

Terlihat bahwa peningkatan Cu^{2+} pada tanah sampai pada kadar 115 ppm menaikkan kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus*. Kadar diosgenin rimpang terendah pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 0,47 mg/g, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan Cu^{2+} 170 ppm yaitu sebesar 0,54 mg/g. Kadar diosgenin tertinggi pada perlakuan Cu^{2+} 28 ppm sebesar 0,84 mg/g yang berbeda nyata dengan semua perlakuan yang lain.

Tabel 5.11. Kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan

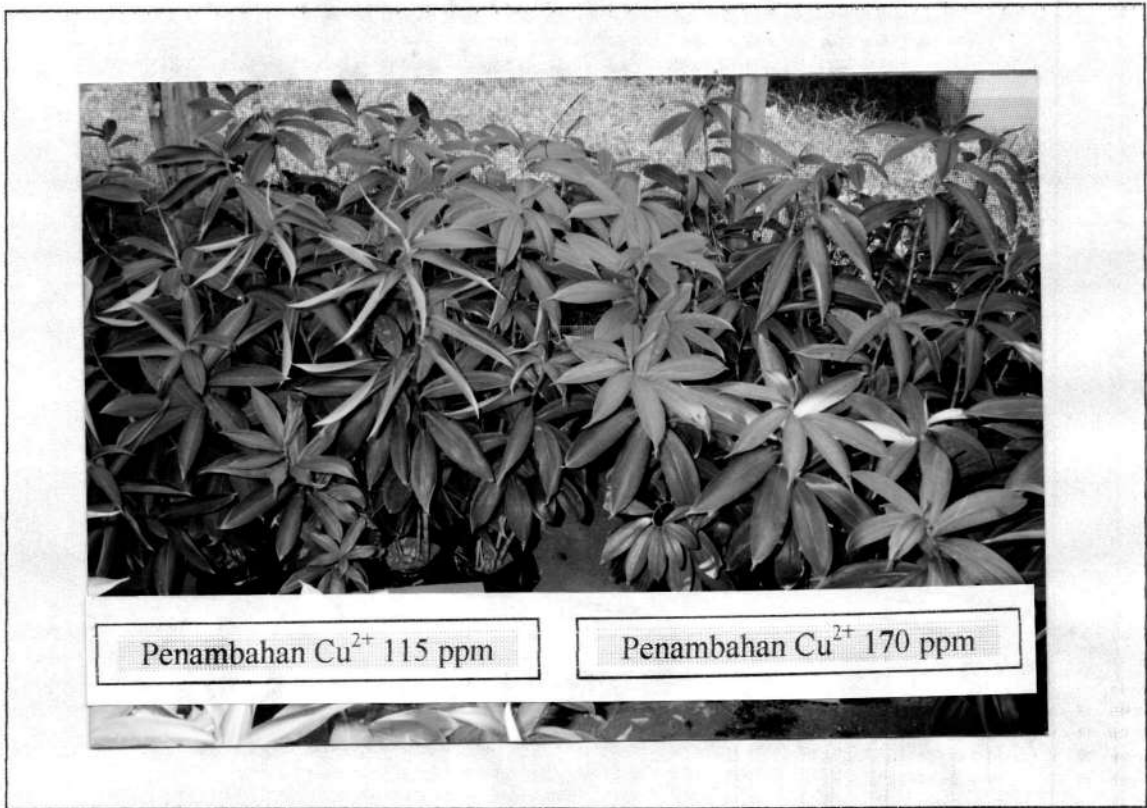
Penambahan Cu^{2+} pada tanah	Kadar Diosgenin (mg/g)	Total Diosgenin (mg/rumpun)
0 ppm	0,66 \pm 0,04 c	0,57 \pm 0,14
4 ppm	0,76 \pm 0,04 d	0,61 \pm 0,11
28 ppm	0,84 \pm 0,06 e	0,69 \pm 2,68
65 ppm	0,73 \pm 0,08 d	0,61 \pm 0,09
115 ppm	0,69 \pm 0,14 cd	0,58 \pm 0,19
170 ppm	0,54 \pm 0,07 b	0,49 \pm 0,07
230 ppm	0,47 \pm 0,09 a	0,53 \pm 0,16

Keterangan : Angka pada kolom sama yang didampingi oleh notasi (huruf) beda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5 %.

Pada kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+} pada tanah) kadar diosgenin umbi sebesar 0,66 mg/g, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan Cu^{2+} 4 ppm sebesar 0,76 mg/g, Cu^{2+} 65 ppm sebesar 0,73 mg/g dan pada Cu^{2+} 115 ppm kadar diosgenin rimpang justru menurun sebesar 0,69 mg/g. Pada perlakuan penambahan Cu^{2+} 115 ppm tersebut tanaman telah mengalami gejala gangguan, yaitu pada daun agak pucat dan mulai menggulung seperti pada Gambar 5.6.

Pada tingkat penambahan 0-115 ppm, hubungan positif antara penambahan Cu^{2+} tanah terhadap kadar diosgenin nyata pada regresi kuadrat ($p=0,014$ dan $R^2=0,167$), dengan persamaan regresi $Y = 0,70153 + 0,003122 X - 0,00002934 X^2$ disajikan pada Lampiran 70.

Total diosgenin tanaman tidak dipengaruhi secara nyata akibat kenaikan Cu^{2+} yang ditambahkan dalam media tanah selama elisitasi 4 bulan, total diosgenin terendah pada penambahan Cu^{2+} 170 ppm sebesar 0,49 mg/rumpun dan tertinggi pada penambahan Cu^{2+} 28 ppm yaitu sebesar 0,69 mg/ rumpun .



Gambar 5.6 Tanaman *Costus speciosus* yang mengalami gejala gangguan pada daun setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} selama 4 bulan

BAB VI. PEMBAHASAN

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

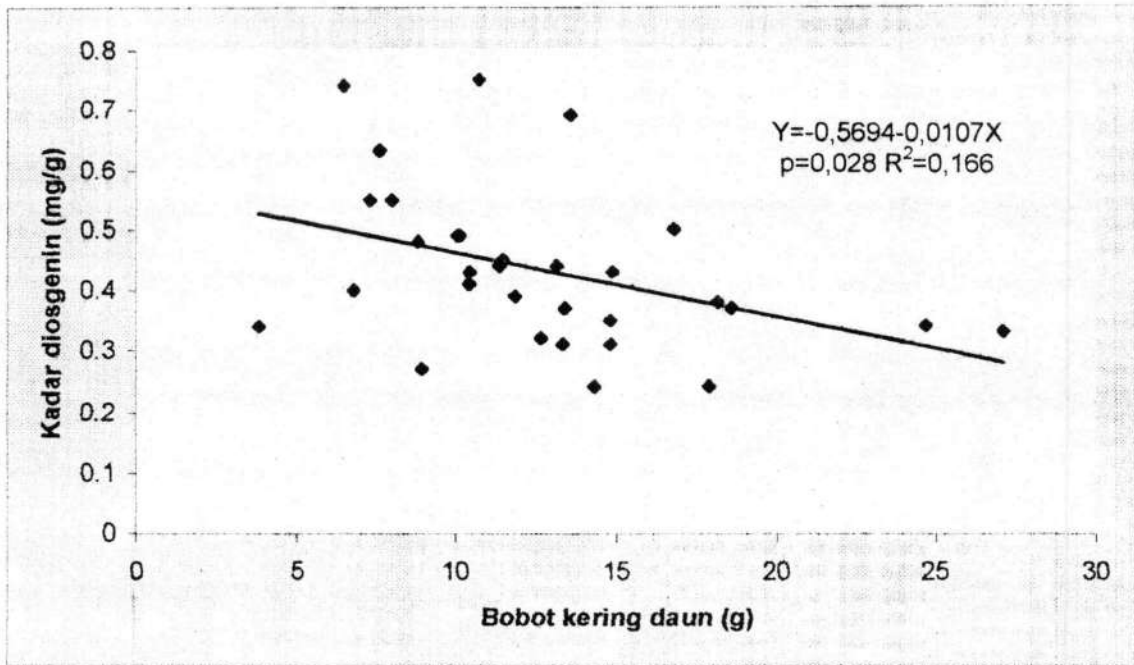
6.1.1. Karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami

a. Biomassa tanaman

Karakteristik tanaman *Costus speciosus* yang diperoleh memiliki nilai luas daun berkisar antara 806,66 cm²/rumpun hingga 5303,21 cm²/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

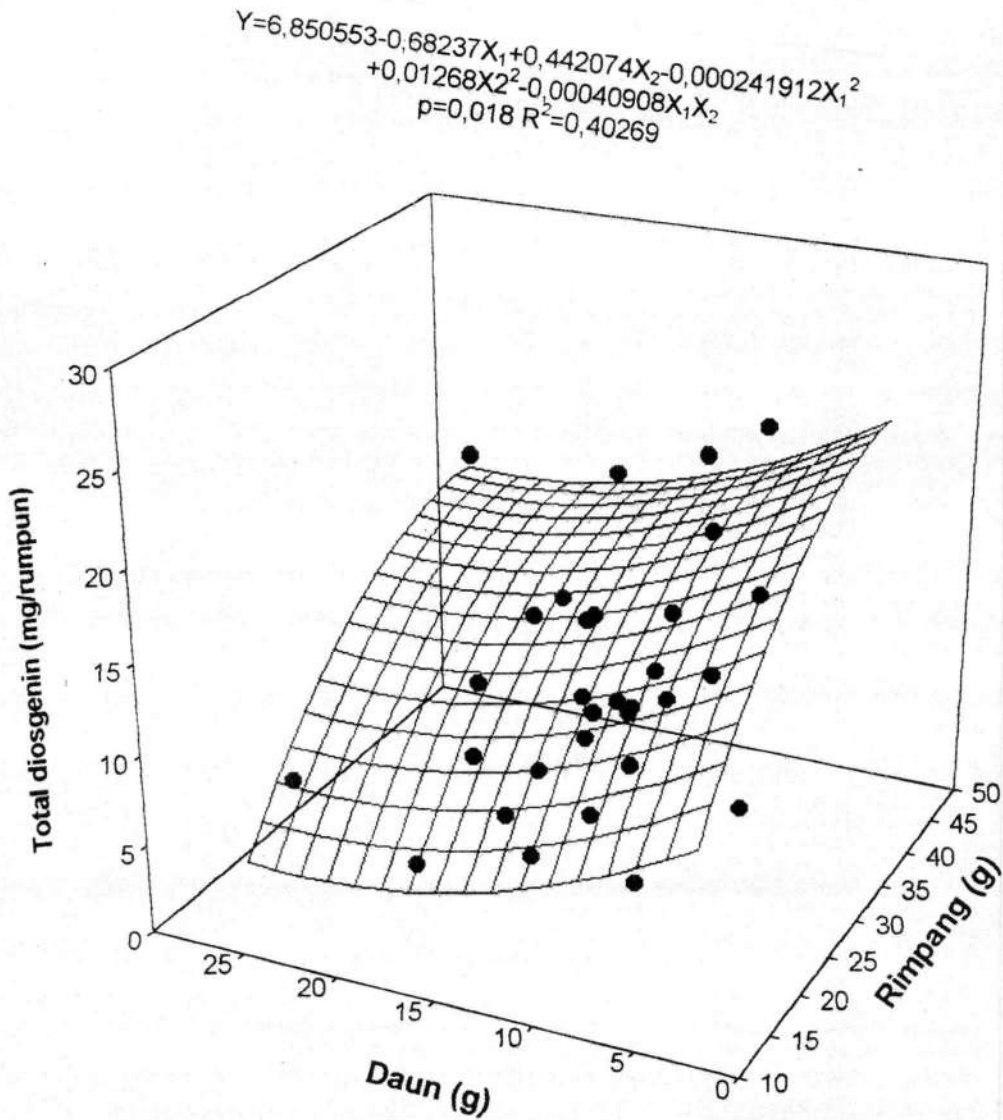
Semakin besar bobot kering daun menyebabkan semakin rendah kandungan diosgenin rimpang. Bobot kering daun merupakan salah satu indikator untuk mengetahui pertumbuhan tanaman. Karena bobot kering daun ditentukan oleh luas permukaan dan ketebalan daun, maka makin tinggi bobot kering berarti makin besar 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 eksek 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 speciosus*, 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 indeks 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.

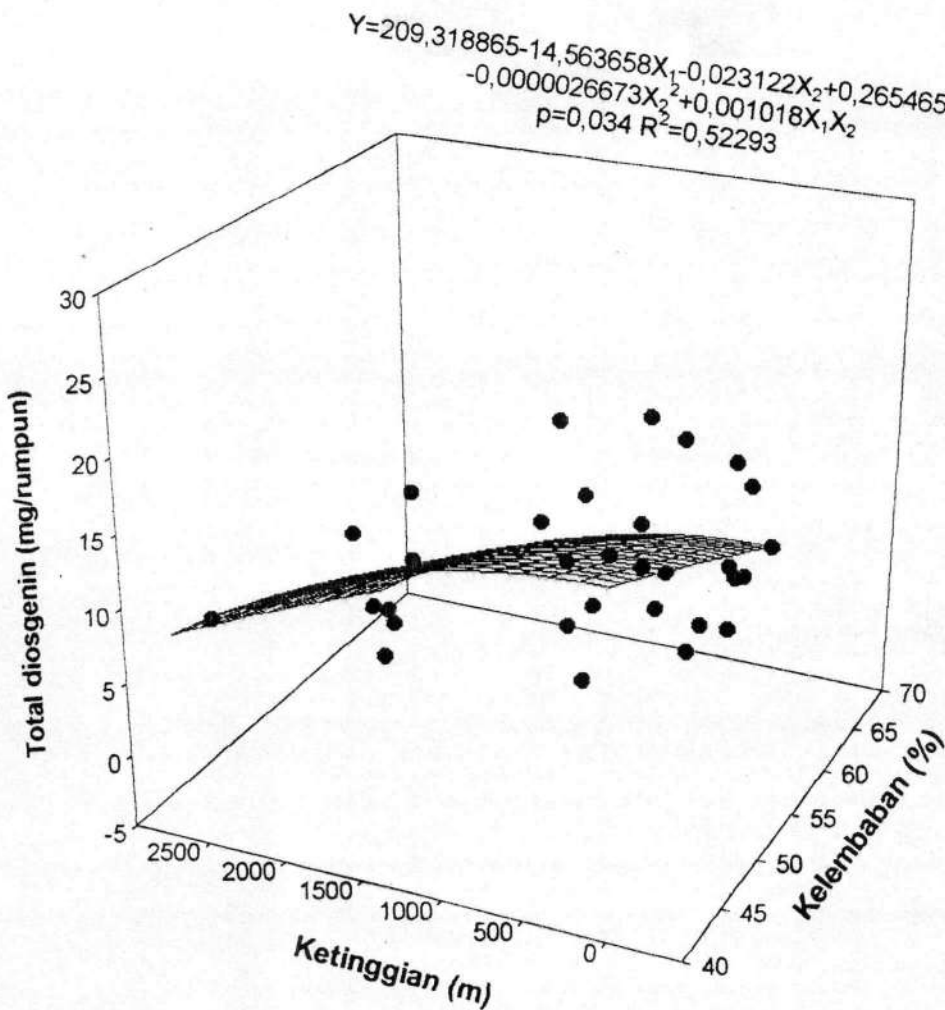
Suhu mikro tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* berkisar antara 24,5° C hingga 32° C. Suhu mikro akan berpengaruh terhadap kecepatan metabolisme tanaman. Pada suhu yang rendah akan menurunkan aktivitas metabolisme dan fungsi fisiologis tanaman (Alberdi dan Corcuera, 1991), sehingga dengan adanya 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.

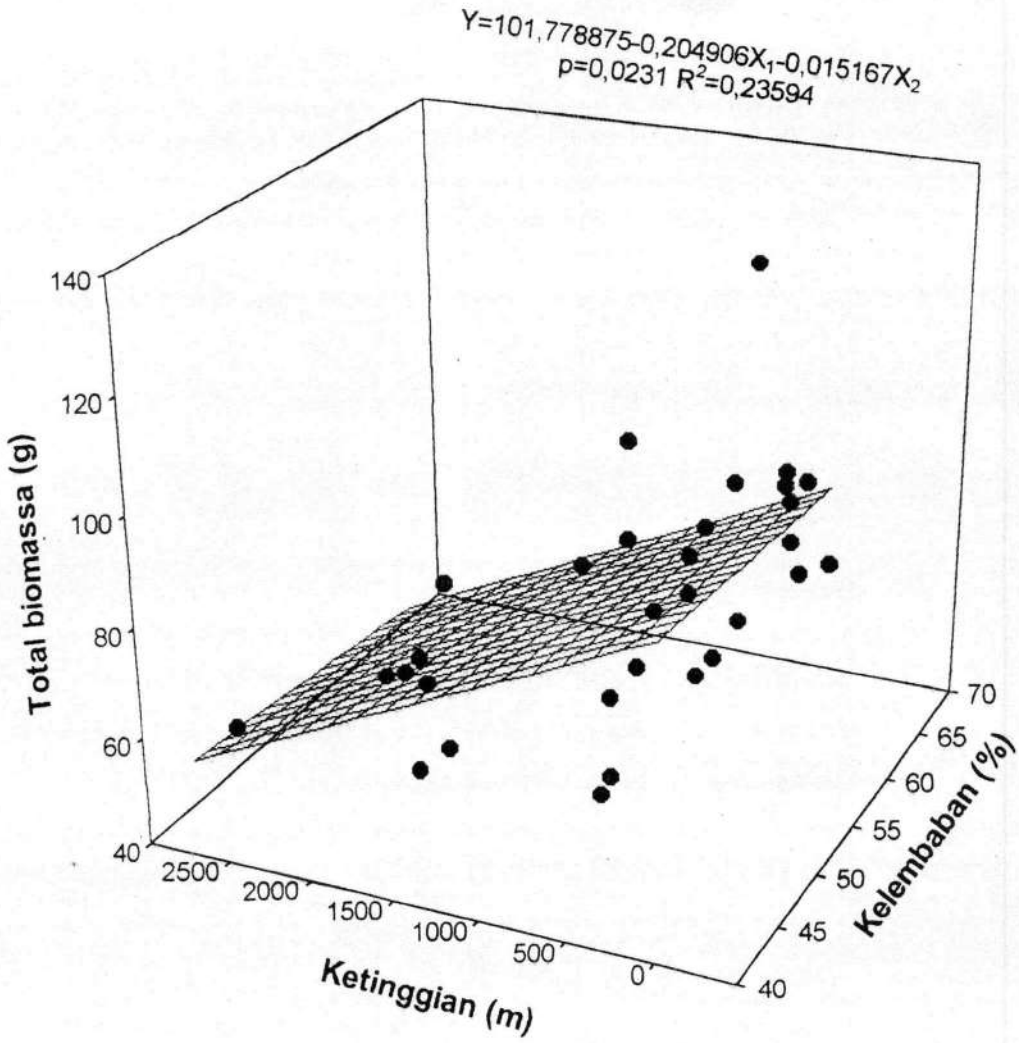
Tingginya kecepatan pertumbuhan tanaman *Costus speciosus* akibat meningkatnya kelembaban diperkuat oleh Lampiran 24, Kelembaban dan ketinggian tempat berpengaruh nyata ($p=0,0231$) terhadap total biomassa

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, penambahan N_2 atmosfer oleh bakteri *Rhizobium* bersimbiose dengan *Leguminosae*, penambahan 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*.

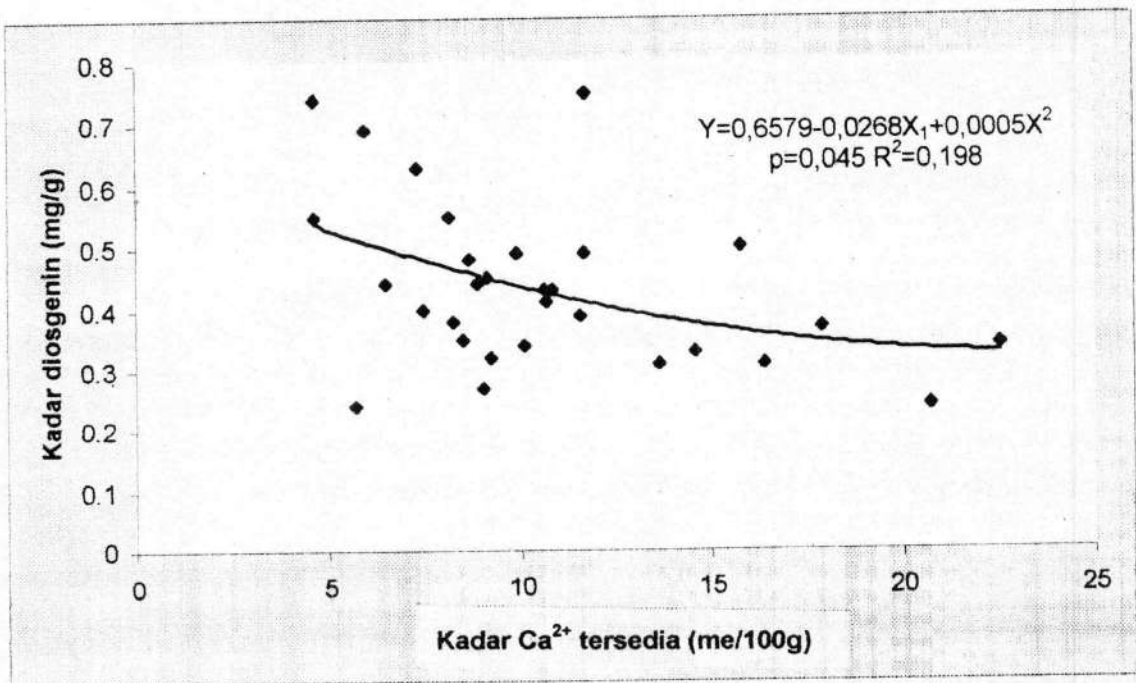
Kandungan P tersedia tanah berkisar antara 4 ppm hingga 125 ppm, fosfor merupakan unsur kedua setelah nitrogen sebagai nutrisi yang penting bagi pertumbuhan tanaman. Dalam tanaman fosfor berperan pada proses pembungaan, perkembangan akar dan ketahanan terhadap serangan penyakit. Menurut Landon (1984) 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, Ca^{2+} tersedia berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin pada rimpang *Costus speciosus*. Hubungan antara kadar 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 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.

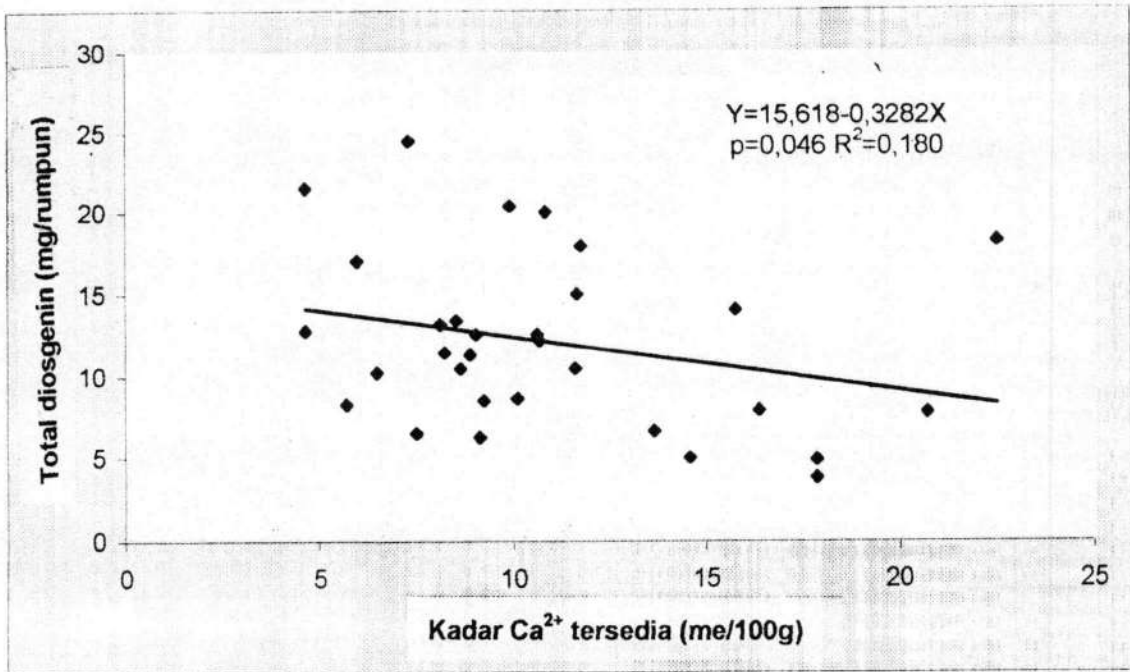
Perilaku tersebut sesuai dengan pernyataan Indrayanto *et al.* (1996), yang menyatakan bahwa ion Ca^{2+} menghambat pembentukan hekogenin pada tanaman *Agave amaniensis* Trel-Nowell. Semakin tinggi kadar Ca^{2+} pada tanah akan menyebabkan penurunan kadar diosgenin dan total diosgenin, perubahan tersebut disebabkan semakin tinggi kadar Ca^{2+} semakin rendah kadar Cu^{2+} yang dapat diserap oleh akar tanaman *Costus speciosus*. Rendahnya 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^{2+} 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^{2+} pada tanah tidak berpengaruh nyata ($p=0,2572$) terhadap kadar Cu^{2+} pada daun tanaman *Costus speciosus* alami. Tidak nyatanya pengaruh akibat kenaikan Ca^{2+} tanah terhadap status Cu^{2+} daun tersebut disebabkan daun bukan merupakan indek peracunan kation

logam 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 Cu^{2+} pada tanaman berbeda.



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

Peran Ca^{2+} terhadap kadar diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* telah pula diteliti oleh Emiliawati (1994), hasil percobaan menunjukkan bahwa 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 Ca^{2+} pada tanah cenderung menurunkan kadar diosgenin pada rimpang.

b. Nutrisi mikro

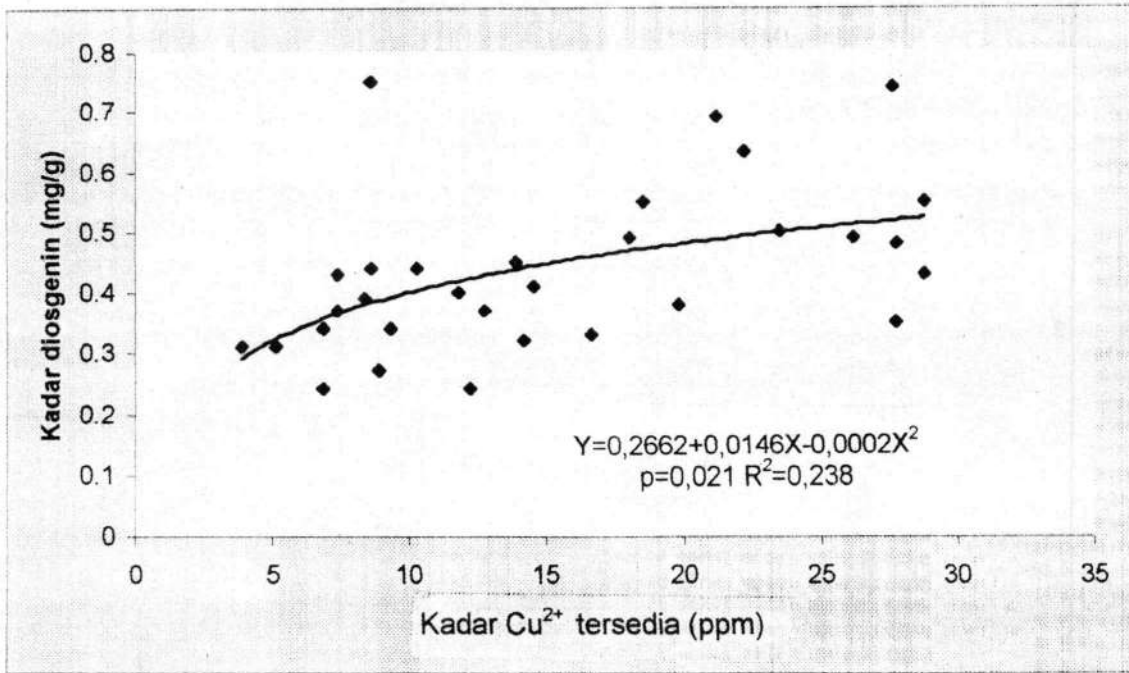
Kondisi nutrisi mikro dalam tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* berada pada tingkat kekurangan hingga berlebihan. Pada Tabel 5.6, nilai rerata kadar kation Al^{3+} tersedia pada tanah yang ditumbuhi oleh tanaman *Costus speciosus* alami berkisar antara 10,7 ppm hingga 74,6 ppm, Fe^{2+} 37,4 ppm hingga 1075,0 ppm, Mn^{2+} 18,3 ppm hingga 184,5 ppm, Zn^{2+} 9 ppm hingga 40,7 ppm dan 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 Cu^{2+} tersedia dalam tanah dengan kadar diosgenin (Lampiran 35) rimpang *Costus speciosus* alami berupa persamaan

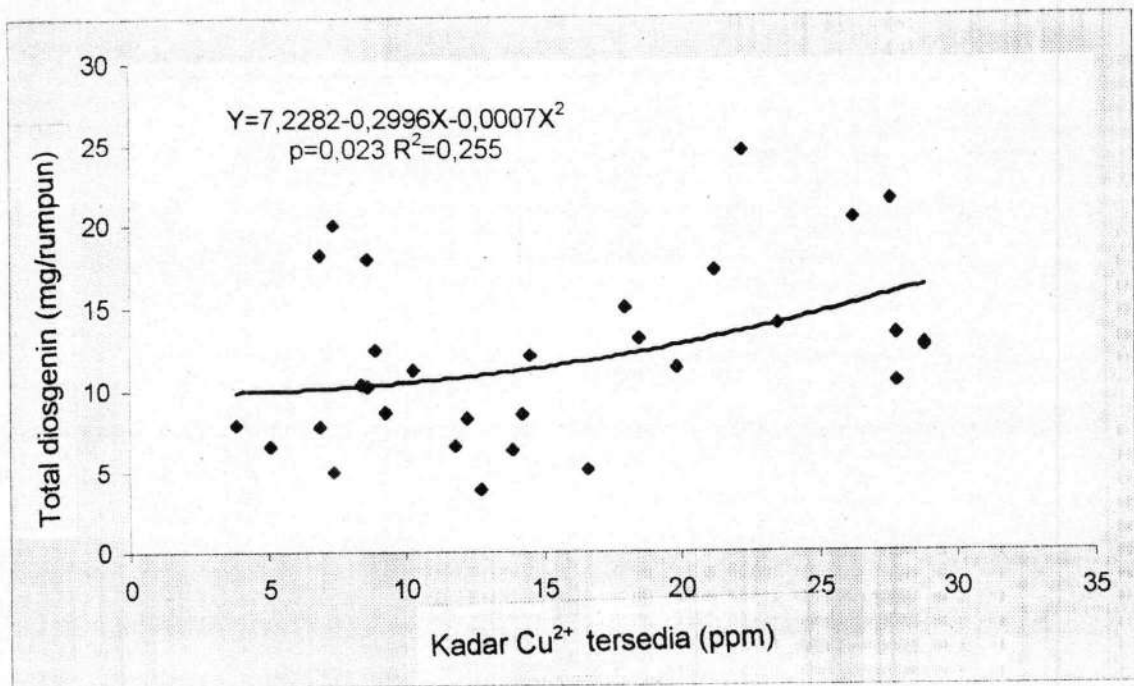
regresi $Y = 0,2662 + 0,0146 X - 0,0002 X^2$ ($p=0,021$ dan $R^2=0,238$) seperti pada Gambar 6.7, sedangkan hubungan antara Cu^{2+} tersedia tanah dengan total diosgenin (Lampiran 38) berupa persamaan $Y = 7,2282 - 0,2996 X - 0,0007 X^2$ ($p=0,023$ dan $R^2=0,255$) seperti pada Gambar 6.8.



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

Semakin besar kadar 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 Cu^{2+} dalam memacu terbentuknya diosgenin tersebut

adalah sebagai berikut, pada jumlah rendah peran Cu^{2+} sebagai kofaktor enzim oksidase dalam metabolisme metabolit sekunder, semakin besar Cu^{2+} yang terserap semakin meningkat aktivitas enzim oksidase. Beberapa senyawa yang dipacu oleh enzim oksidase antara lain perubahan senyawa hidroksimetil 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 Cu^{2+} tersedia tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Pada kadar yang lebih tinggi lagi peningkatan 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 metabolisme sekunder masih tinggi sehingga kadar diosgenin masih meningkat. Pada konsentrasi 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 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 Cu^{2+} tersedia yang berpengaruh nyata terhadap pembentukan diosgenin, hal tersebut disebabkan fitotoksisitas Cu^{2+} lebih besar dibandingkan Al^{3+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan 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.

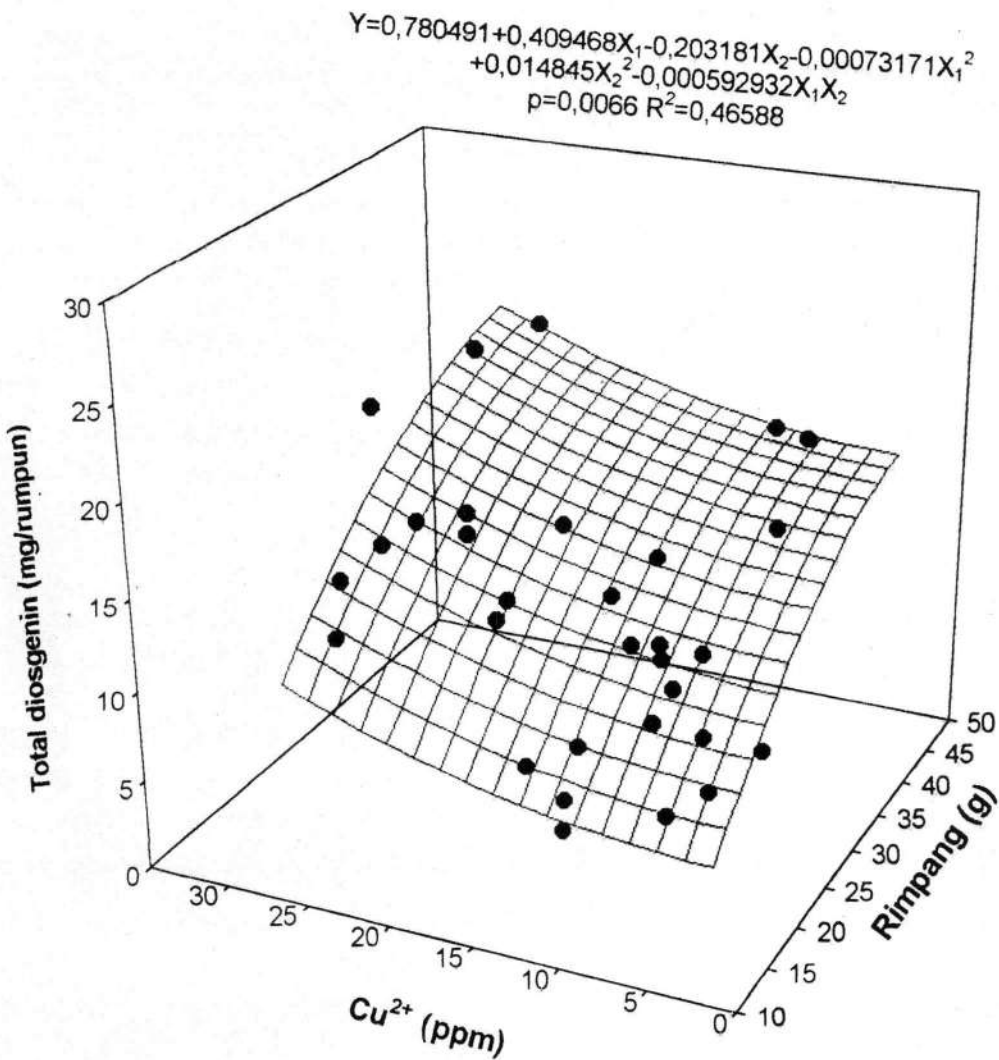
Akumulasi logam berat pada tanaman melalui 3 mekanisme. Pertama adalah molekul pengkhelat-logam (disebut *phytosiderophore*) disekresi ke akar untuk membentuk khelat, dengan cara melarutkan logam yang telah terkhelat oleh tanah kemudian setelah larut diikat olehnya. Sebagai contoh dari *phytosiderophore* 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 terkelat 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 Cu^{2+} tersedia pada tanah, perubahan kadar diosgenin akibat kenaikan kadar 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 Cu^{2+} tersedia tanah, akan menyebabkan kenaikan diosgenin pada rimpang, kenaikan tersebut disebabkan oleh peran 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.

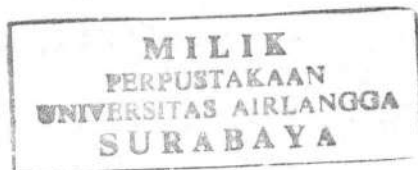
Bila dihubungkan dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami, bobot kering rimpang dan kadar kation Cu^{2+} tersedia pada tanah merupakan variabel dominan yang berpengaruh sangat nyata terhadap total diosgenin pada rimpang *Costus speciosus* (Lampiran 36 dan 37). Hubungan antara variabel bobot kering rimpang dan kadar 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^{2+} tersedia tanah dan bobot kering rimpang dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

X_1X_2 ($p=0,0066$ dan $R^2=0,46588$ Lampiran 49), X_1 bk rimpang dan X_2 kadar Cu^{2+} tersedia tanah seperti disajikan pada Gambar 6.9.

Semakin meningkat bobot kering rimpang dan semakin meningkat kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah menyebabkan semakin besar total diosgenin



pada rimpang tanaman *Costus speciosus* alami. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah akan menyebabkan semakin besar 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 Cu^{2+} tersedia pada tanah.

Jika ditinjau nilai koefisien korelasi antara kadar Cu^{2+} tersedia tanah dengan kadar diosgenin yaitu sebesar 0,477 ($p=0,007$), antara 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 Cu^{2+} , hal tersebut ditunjukkan oleh rendahnya nilai R^2 .

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

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

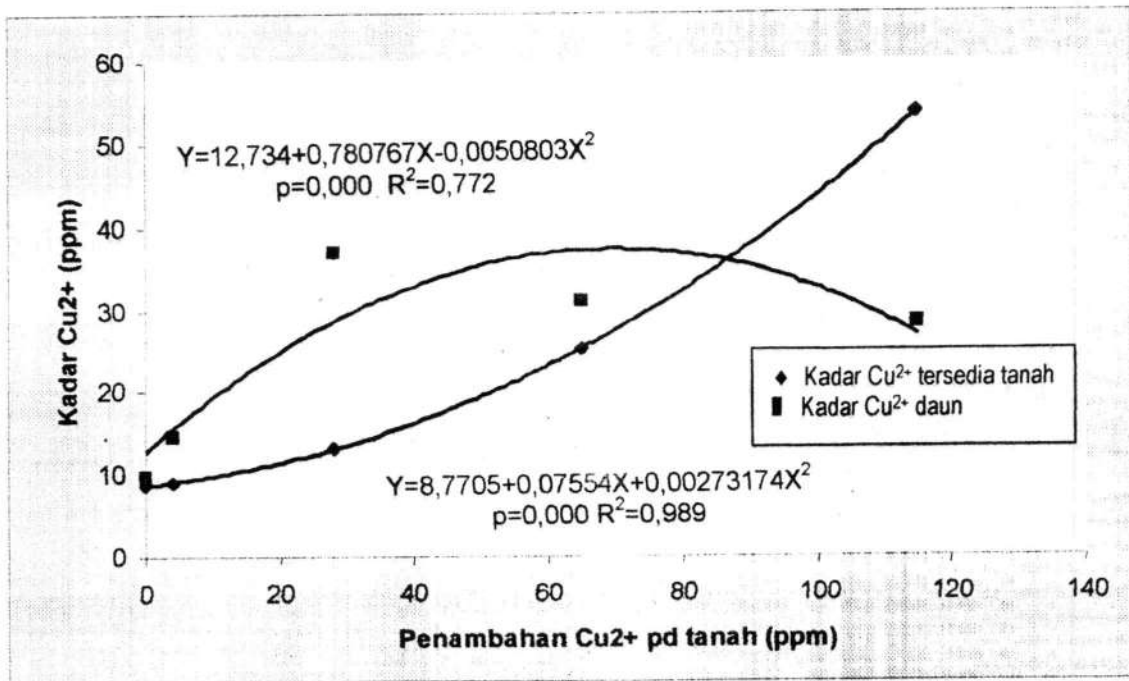
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan Cu^{2+} pada tanah sebesar 115 ppm telah mengakibatkan gangguan fisiologis tanaman *Costus speciosus*, yang ditandai dengan menggulunga tepi daun dan warna hijau keputihan. Bila pemberian Cu^{2+} 115 ppm ke atas dan waktu elisitasi melebihi 4 bulan diduga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

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

Penambahan Cu^{2+} pada tanah menaikkan kandungan Cu^{2+} tersedia pada tanah dan kadar 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 Cu^{2+} yang ditambahkan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar 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 Cu^{2+}) kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah 8,8 ppm, akan tetapi pada penambahan Cu^{2+} 4 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 9,0 ppm) dan pada penambahan Cu^{2+} 28 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 13,2 ppm), penambahan 115 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 53,6 ppm) dan pada penambahan 230 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 137,5 ppm).

Pada rentang penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, hubungan positif antara Cu^{2+} yang ditambahkan dengan kadar 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 Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah dengan Cu^{2+} tersedia tanah. Hal tersebut disebabkan sebagian 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 Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan kadar Cu^{2+} tersedia tanah dan kadar Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi selama 4 bulan

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

ppm. Hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah konsentrasi 0-115 ppm dengan kadar 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)

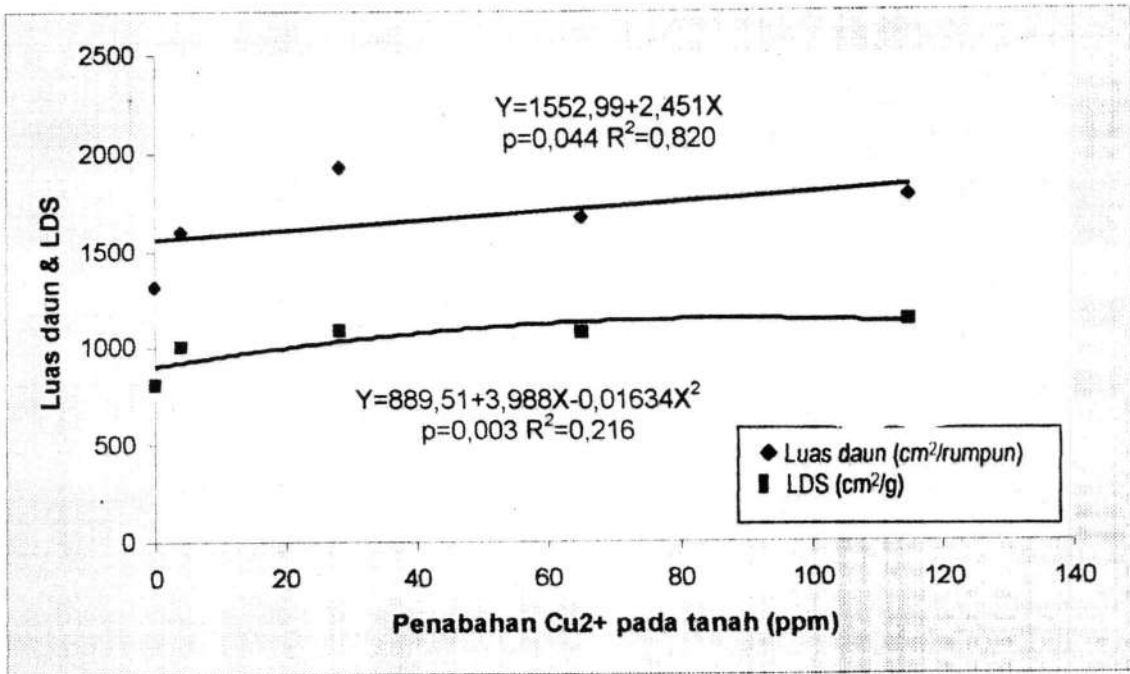
Penambahan Cu^{2+} pada tanah akan menyebabkan kenaikan kadar Cu^{2+} pada daun hingga terbesar pada penambahan Cu^{2+} sebesar 65 ppm, di atas 65 ppm peningkatan konsentrasi Cu^{2+} pada tanah justru menyebabkan kadar Cu^{2+} pada daun menurun. Terjadinya penurunan kadar Cu^{2+} daun pada tingkat penambahan Cu^{2+} tanah sebesar 65 ppm tersebut diduga disebabkan tingkat keracunan akar semakin besar sehingga Cu^{2+} yang dapat terserap tanaman semakin kecil. Pada penambahan 115 ppm, level pemberian Cu^{2+} diduga telah menyebabkan tingkat keracunan tanaman yang serius sehingga penyerapan logam 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 Cu^{2+} diatas 115 ppm yaitu 170 ppm dan 230 ppm, kadar Cu^{2+} daun semakin rendah masing-masing sebesar 27,4 ppm dan 27,3 ppm. Semakin besar tingkat keracunan akan menyebabkan Cu^{2+} yang terserap oleh tanaman semakin kecil. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Chapman (1966) dan Jones (1972) yang menyatakan kadar Cu^{2+} di atas 20 ppm akan menyebabkan tanaman mengalami keracunan/ekses.

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

6.2.2. Luas daun dan luas daun spesifik (LDS)

Penambahan Cu^{2+} pada tanah berpengaruh sangat nyata terhadap luas daun tanaman *Costus speciosus*, semakin meningkat kadar Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah semakin meningkat pula luas daun. Pada Tabel 5.9 terlihat bahwa pada kontrol luas daun 1308,12 cm^2 /rumpun dan pada penambahan Cu^{2+} 115 ppm sebesar 1786,99 cm^2 /rumpun, dan pada 230 ppm sebesar 1897,05 cm^2 /rumpun. Pada penambahan Cu^{2+} 0-115 ppm, pola hubungan positif antara penambahan 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 Cu^{2+} sebesar 65-80 ppm, di atas konsentrasi tersebut cenderung menurun.



Gambar 6.11. Hubungan antara kadar 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 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 Cu^{2+} pada tanah, pada kontrol LDS sebesar 806,15 cm²/g, pada penambahan Cu^{2+} 115 ppm sebesar 1133,78 cm²/g dan 230 ppm sebesar 1025,07 cm²/g. Pada tingkat penambahan 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_2 yang lebih tinggi dibandingkan daun yang tipis. Namun demikian bila dihubungkan dengan total biomassa tanaman, terlihat bahwa kenaikan penambahan Cu^{2+} cenderung menaikkan total biomassa tanaman seperti juga pada LDS. Hal tersebut menunjukkan semakin besar penambahan Cu^{2+} 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 pegang 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^{2+} pada tanah menyebabkan luas daun spesifik (LDS) terus meningkat sampai pada perlakuan penambahan Cu^{2+} 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^{2+} pada tanah lebih besar dari 115 ppm menyebabkan keracunan tanaman mulai serius, sehingga pembentukan stomata berkurang, sehingga proses respirasi mulai terganggu.

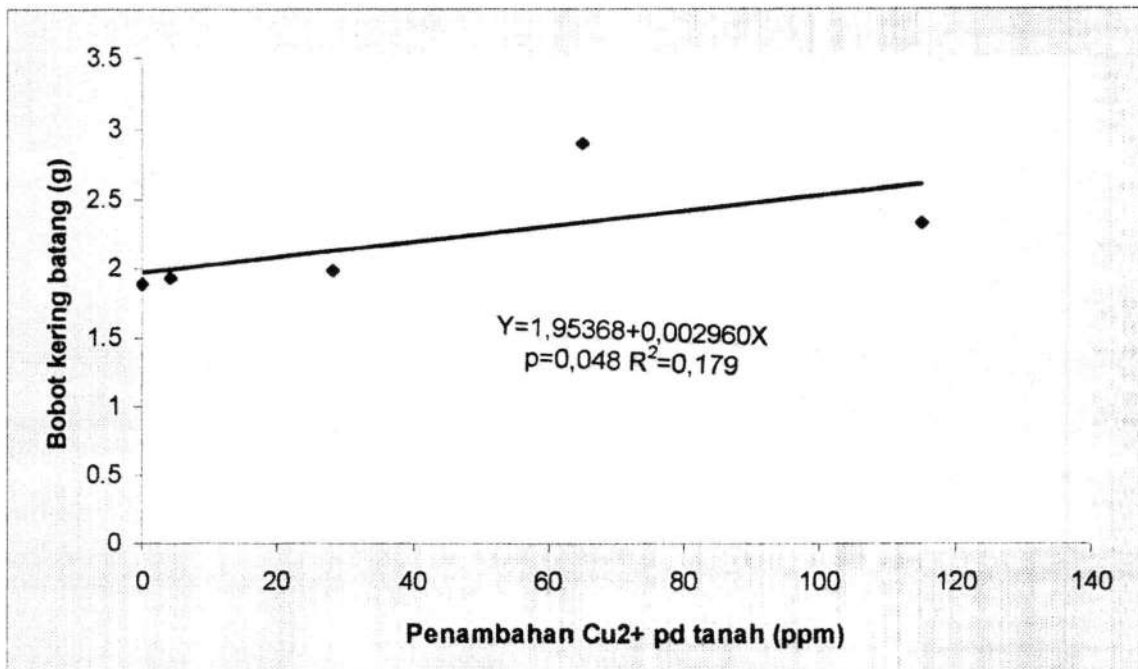
6.2.3. Biomassa tanaman

Penambahan 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 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 Cu^{2+} 115 ppm sebesar 1,63 g/rumpun dan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 1,88 g/rumpun. Bobot kering batang pada kontrol 1,89 g/rumpun, Cu^{2+} 115 ppm sebesar 2,33g/rumpun dan pada penambahan Cu^{2+} 230 ppm sebesar 2,71 g/rumpun, begitu juga untuk bobot kering rimpang dan total biomassa meningkat dengan meningkatnya penambahan Cu^{2+} pada tanah. Akan tetapi pada penambahan 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 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 Cu^{2+} pada tanah.

Berdasarkan Tabel 5.10 kenaikan kadar 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 Cu^{2+} pada daun dengan pertumbuhan tanaman *Solanum khasianum*.

Lebih lanjut Gunarto (1992) juga menyatakan bahwa penambahan 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 Cu^{2+} akan meningkatkan produksi biji jagung.



Gambar 6.12. Hubungan antara kadar 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

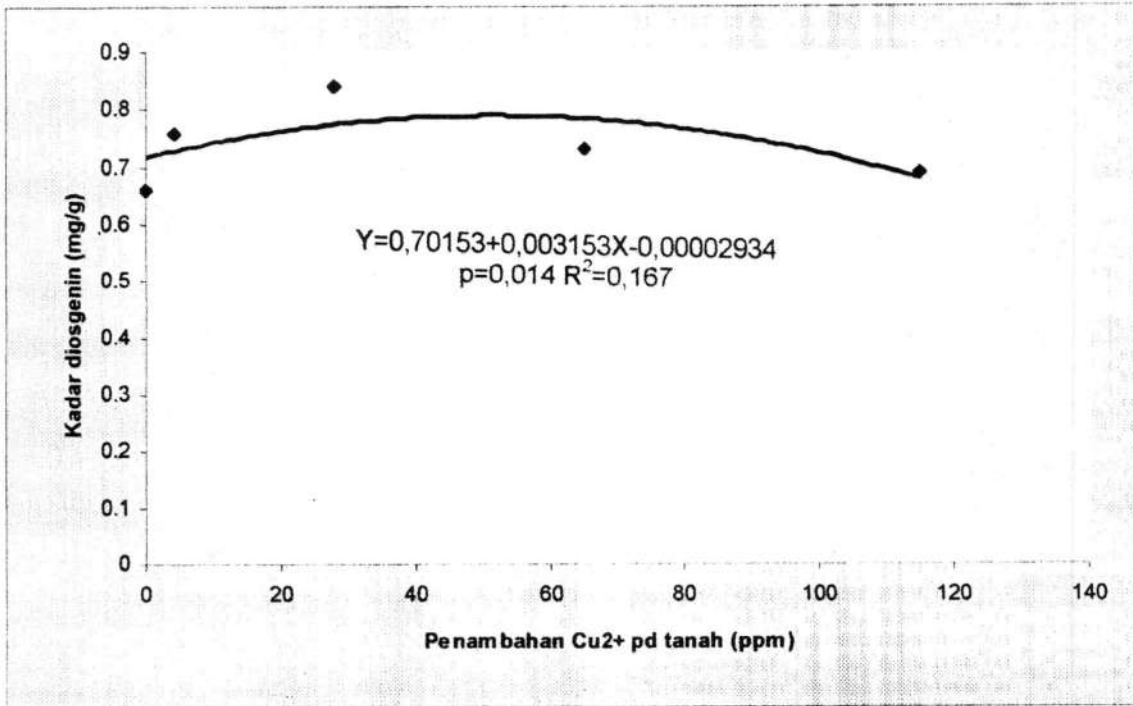
kering tanaman meningkat. Terjadinya kenaikan biomassa tanaman akibat kenaikan Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian Alva, Graham dan Tucker (1993), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kenaikan kadar Cu^{2+} pada tanah menyebabkan rendahnya bobot kering akar 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 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 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 Cu^{2+} pada tanah, hubungan antara penambahan 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 Cu^{2+} yang ditambahkan pada tanah (0-115 ppm) dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

Terlihat bahwa penambahan 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 Cu^{2+}) sebesar 0,66 mg/g, pada penambahan Cu^{2+} 4 ppm kadar diosgenin meningkat menjadi 0,76

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

Adanya elisitasi Cu^{2+} akan menaikkan kadar diosgenin rimpang, kadar diosgenin tertinggi tercapai pada penambahan Cu^{2+} antara 40 hingga 60 ppm, dan pada penambahan Cu^{2+} 65 ppm ke atas kadar diosgenin telah menurun. Bila dihubungkan dengan kadar Cu^{2+} daun pada Gambar 6.9 terlihat bahwa kadar Cu^{2+} daun tertinggi pada perlakuan penambahan Cu^{2+} 60-70 ppm, maka dapat dipastikan bahwa penambahan 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 Cu^{2+} pada tanah. Oleh sebab itu selain terjadinya penurunan kadar diosgenin pada rimpang, pada penambahan 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 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 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 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 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 Cu^{2+} menyebabkan kenaikan luas daun dan total bobot kering tanaman. Pada kontrol (tanpa penambahan Cu^{2+}) total bobot kering tanaman sebesar 4,97 g/rumpun, penambahan Cu^{2+} 29 ppm sebesar 5,97 g/rumpun dan penambahan 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 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 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 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 Cu^{2+} tersedia dalam media tanah menyebabkan kenaikan kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* yang tumbuh. Pada penambahan Cu^{2+} 40-60 ppm kadar diosgenin tertinggi, sedangkan pada penambahan Cu^{2+} 115 ppm merupakan ambang batas toleransi, pada kondisi tersebut kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah sekitar 50 ppm. Karena pada kondisi tersebut tanaman telah mulai mengalami gangguan metabolisme sehingga daun mulai kepuatan (kloropil mengalami kerusakan) dan tepi daun mulai menggulung. Dari hasil tersebut terlihat bahwa batas kritis kandungan Cu^{2+} tersedia dalam tanah untuk kehidupan tanaman *Costus speciosus* adalah sekitar 50 ppm.

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

Hubungan antara kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah terhadap karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami dan pengaruh penambahan 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 Cu^{2+} tersedia tanah dengan karakteristik tanaman *Costus speciosus* alami (penelitian 1), serta 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 I (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 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 Cu^{2+} berpengaruh nyata terhadap luas daun dan biomassa tanaman bk batang.

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

Bahan organik seperti halnya asam humat dengan adanya kation 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 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 Cu^{2+} tersedia dalam tanah menyebabkan kenaikan kadar diosgenin, dan sampai pada kadar Cu^{2+} tersedia tanah tertinggi yaitu 28 ppm, kadar diosgenin belum mengalami penurunan walaupun hubungannya berupa regresi kudrat. Pada Gambar 6.13, kenaikan penambahan Cu^{2+} pada tanah menyebabkan kadar diosgenin rimpang semakin meningkat, akan tetapi pada penambahan Cu^{2+} 60 ppm, mulai terjadi penurunan kadar diosgenin walaupun penambahan Cu^{2+} semakin besar.

Bila dilihat pada Gambar 6.9, pada penambahan Cu^{2+} 60 ppm menyebabkan kadar Cu^{2+} tersedia tanah sekitar 25 ppm mendekati kadar Cu^{2+} tersedia tertinggi pada tanah tempat tumbuh *Costus speciosus* alami. Walaupun kadar 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 Cu^{2+} tanah sekitar 25 ppm kadar diosgeninnya hanya sekitar 0,55 mg/g. Rendahnya pengaruh 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 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 Cu^{2+} yang ditambahkan sama dan mengetahui mekanisme ikatan antara 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 Cu^{2+} yang sama diharapkan untuk mengetahui kadar optimal elisitasi 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 Cu^{2+} terhadap tanaman, dengan diketahuinya mekanisme pengikatan antara 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 Cu^{2+} .

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

1. Bobot kering daun berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami, semakin tinggi bobot kering daun semakin rendah kadar diosgenin. Sedangkan yang berpengaruh nyata terhadap total diosgenin adalah bobot kering daun dan rimpang, semakin tinggi bobot kering daun semakin rendah total diosgenin, akan tetapi semakin tinggi bobot kering semakin besar total diosgenin.
2. Di antara variabel lingkungan (suhu, kelembaban dan ketinggian tempat) tidak satupun yang berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami. Akan tetapi ketinggian tempat dan kelembaban relatif mikro berpengaruh nyata terhadap total diosgenin, semakin tinggi ketinggian tempat dan kelembaban semakin rendah total diosgenin dengan mengikuti pola regresi kuadrat.
3. Variabel nutrisi makro dalam tanah yang berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami adalah kadar Ca^{2+} , semakin tinggi kadar Ca^{2+} dalam tanah menyebabkan semakin rendah kadar diosgenin dan total diosgenin dengan mengikuti pola regresi kuadrat.
4. Variabel nutrisi mikro dalam tanah yang berpengaruh nyata dengan kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami adalah kadar Cu^{2+} tersedia, semakin meningkat kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah semakin meningkat kadar diosgenin (mengikuti pola regresi linier) dan total diosgenin pada rimpang (mengikuti pola regresi kuadrat).

5. Diantara variabel-variabel yang diteliti, kadar Cu^{2+} tersedia pada tanah merupakan variabel dominan yang berpengaruh terhadap kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami .
6. Semakin meningkat penambahan Cu^{2+} pada tanah semakin besar kadar diosgenin, penambahan optimal sebesar 40-60 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 34-38 ppm) dengan kadar diosgenin rimpang antara 0,75-0,80 mg/g, dan pada penambahan Cu^{2+} 115 ppm (Cu^{2+} tersedia tanah 50 ppm) merupakan batas kritis toleransi tanaman *Costus speciosus* terhadap keracunan logam Cu^{2+} . Tidak terdapat pengaruh yang nyata antara penambahan Cu^{2+} pada tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* selama periode elisitasi 4 bulan.

7.2. Saran

Untuk mendapatkan hasil diosgenin yang maksimal pada rimpang tanaman *Costus speciosus* diajukan beberapa saran sebagai berikut :

1. Diperlukan penelitian dengan waktu elisitasi yang lebih lama dari 4 bulan yaitu antara 4 bulan hingga 2 tahun.
2. Penggunaan Cu^{2+} sebagai elisitor pada tanaman *Costus speciosus* maksimal sebesar 60 ppm, dengan taraf kadar Cu^{2+} lebih banyak dan rentangnya sama.
3. Diperlukan penelitian lanjutan studi biomolekuler tentang mekanisme perilaku Cu^{2+} pada tanaman yang dielisitasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, SA, 1986. Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Terbuka. Karunia. Jakarta.
- Alberdi, M and LJ Corcuera, 1991. Cold Acclimation in Plants. **Phytochem.** 30(10) : 3177-3184.
- Allison, LE, WB Ballen and CD Moodie, 1965. Total Carbon. *Dalam* : Sudjadi, M; IM Widjik dan M Soleh, 1971. Penuntun Analisa Tanah. Bagian Kesuburan Tanah. Lembaga Penelitian Tanah. Bogor.
- Andrijany, VS, 1988. Efek Simultan Ion-ion Logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} dan Co^{2+} Terhadap Akumulasi Sapogenin Steroid dan Pertumbuhan Kalus *Agave amaninensis* Trel-Nowell. **Tesis**. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Anonymous, 1985. Dasar-dasar Ilmu Tanah. Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- _____, 1991. Kimia Tanah. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- _____, 1993. **Biochemical Pathways**. Ed. : Gerhard M. Boehringer Mannheim. Germany.
- Alva, AK, JH Graham and DPH Tucker, 1993. Role of Calcium in Amelioration of Copper Phytotoxicity for *Citrus*. **Soil Science** 155(3): 211-384.
- Backer, CA and RCB van den Brink, 1968. **Flora of Java** (Spermatophytes Only). Vol. III. Wolters-Noordhoff. NV. Groningen, The Netherlands.
- Bidwell, RGS, 1979. **Plant Physiology**. Second edition. Mac Millan Publishing Co. Inc. New York.
- Borner, J and JE Varner, 1976. **Plant Biochemistry**. Third edition. Academic Press. New York.

- Burden, RS, DTCoke and GACarter, 1989. Inhibitor of Sterol Biosynthesis and Growth in Plants and Fungi. **Phytochem.** 28(7) : 1791-1804.
- Burke, JJ and MJ Oliver, 1993. Optimal Thermal Environments for Plant Metabolic Processes (*Cucumis sativus* L.). **Plant Physiol.** 102 : 295-1804.
- Chapman, HD, 1966. **Diagnosis Criteria for Plants and Soils.** Eurasia Publish. House (p) Ltd. Ram Nagar, New Delhi.
- Crocomo, OJ, E. Aquarone and OR Gottlieb, 1981. Biosynthesis of Secondary Products in Vitro *In* : **Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture.** Edited by Thorpe, TA. Academic Press. New York.
- Croteau, R, F Karp, KC Waschal, DM Satterwhite, DC Hyatt and CB Scotland, 1991. Biochemical Characterization of a Spearmint Mutant that Resembles Peppermint in Monoterpene Content. **Plant Physiol.** 96 : 744-752.
- Curry, KJ, 1987. Initiation of Terpenoid Synthesis in Osmophores of *Stanhopea anfracta* (*Orchidaceae*): A Phytochemical Study. **Amer. J. Bot.** 74(9) : 1332-1338.
- DeMan, JM, 1976. **Principles of Food Chemistry.** The AVI Publishing Co. Inc. New York.
- Emma, ST, 1989. Pengaruh Beberapa Komponen Media Murashige & Skoog Yang Dimodifikasi Terhadap Kandungan Steroida Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Tesis.** Fakultas Pascasarjana, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Emiliawati, S, 1994. Pengaruh Ion Ca(II) Terhadap Kandungan Diosgenin Pada Kultur Tunas *Costus speciosus* (Koen) Sm. **Skripsi.** Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.

- Fathiyah, 1996. Pengaruh Kadar Ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} Pada Biomassa Terhadap Pertumbuhan dan Pembentukan Sapogenin Steroid Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Fessenden, RJ and JS Fessenden, 1992. Kimia Organik. *Penerjemah* : A.H. Pudjaatmaka. Edisi ketiga. Erlangga. Jakarta.
- Firck, HA and T. Verwijst, 1993. Plant Viability as a Function of Temperature Stress. The Richard Function Applied to Data from Freezing Tests of Growing Shoots. **Plant Physiol.** 103 : 125-130.
- Gardner, FP, RB Fearce and RL Mitchell, 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. *Penerjemah* : Herawati Susilo dan Subiyanto. UI Press. Jakarta.
- Giner, JL and C Djerassi, 1991. Biosynthesis of 24- Methylene- 25- Methylcholesterol in *Phaseolus vulgaris*. **Phytochem.** 30(3) : 811-814.
- Greenberg, AE., LS. Clesceri and AD. Eaton, 1993. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. **Americans Official of Analytical Chemist.**
- Greene, RM, RJ Geider, Z Kolber and PG Falkowski, 1992. Iron-induced Changes in Light Harvesting and Phytochemical Energy Conversion Processes in Eukaryotic Marine Algae. **Plant. Physiol.** 100 : 565-575.
- Gunarto, L, 1992. Tanggapan Tanaman Jagung Terhadap Pemberian N, P, K dan Unsur Mikro di Regosol-Meliana, Timor Timur. **Agrivita** 15 (2) : 65-69.
- Haughan, PA, RS. Burden, JR Lenton and LJ Goad, 1989. Inhibition of Celery Cell Growth and Sterol Biosynthesis by the Enantiomers of Paclbutrazol. **Phytochem.** 28 (3) : 781-787.
- Holden, MA, PR Holden and MM Yeoman, 1988. Elicitation of Cell Culture. *In* : **Manipulating Secondary Metabolism in Culture**. Edited by : Robin, RJ. and MJS. Rhides. Cambridge University Press.

- Huang, LS and C Grundwals, 1989. Mevalonate Incorporation Into *Alfalfa* Sterol. **Phytochem.** 28 (2) : 465-468.
- Indrayanto, G, 1994. Pengaruh Beberapa Sumber Karbon Terhadap Kecepatan Pertumbuhan dan Produktivitas Relatif Hekogenin Kultur Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Majalah Farmasi Airlangga.** Surabaya.
- _____, L Rahayu, A Rahman dan PE Noeraini, 1993. Effect of Calcium, Strontium and Magnesium Ions on the Formation of Phytosterols in Callus Cultures of *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Planta Med.** 59 : 97-98.
- _____, G, 1994. Metoda Validasi Pada Analisis Kimia. Dalam : Pensahihan Analisa KCKT dan Densitometer KLT. **Prosiding Pendidikan Berkelanjutan Apoteker** Nomer 7 Fakultas Farmasi-Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia. Surabaya.
- _____, W Utami and A Syahrani, 1996, *Agave amaniensis* Trel & Nowell; In Vitro Cultures and Production of Phytosteroids. Ed. Bajaj, YPS. Medicinal and Aromatic Plants IX, **Biotechnology in Agriculture and Forestry** 37:1-14. Springer-Verlag, Berlin Heidenberg.
- Issac, RA and JD Kerber, 1971. Atomic Absorption and Flame Photometry : Techniques and Uses in Soil, Plant and Water Analysis. *Dalam* : Sudjadi, M; IM Widjik dan M Soleh, 1971. Penuntun Analisa Tanah. Bagian Kesuburan Tanah. Lembaga Penelitian Tanah. Bogor.
- Januwati, M, 1985. Adaptasi *Costus/Solanum* Terhadap Lingkungan di Daerah Jawa Barat. *Dalam* : **Makalah Seminar Nasional Produksi Bahan Baku Dasar Kontrasepsi Oral.** Kimia Farma. Jakarta.
- Johnes, Jr, JB, 1972. Plant Tissue Analysis for Micronutrients. *In* : **Micronutrients in Agriculture** Editor : Mortveddt, JJ. and PM. Giordano and WL. Lindsay. Soil Science Society Amer. Publish. Madison, Winconsin.

- Kadkade, PG and C Rolsz, 1977. Steroidal Alkaloids of *Solanum accule-atissium*. **Phytochem.** 16 (7) : 1128.
- Kamaludin, M and J Grace, 1992. Photoinhibition and Light Acclimation in Seedling of *Bischofia javanica*, a Tropical Forest Tree from Asia. **Annals of Botany** 69 : 47-52.
- Khalil, IA and EI Mercer, 1990. Effect of Some Sterol-Biosynthesis-Inhibiting Fungicides on the Biosynthesis of Poliiisoprenoide Compounds in Winter Wheat Seedling. **Phytochem.** 29 (2) : 417-424.
- Kusmawati, NEAK, 1994. Pengaruh Cu (II) dan Ion Co (II) Terhadap Kandungan Sapogenin Steroid Kalus *Agave amaniensis* Trel- Nowell Pada Media MS Yang Dimodifikasi Tanpa Ion Ca. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Last, PJ and KMR Bean, 1991. Controlling Manganese Deficiency in Sugar beet with Foliar Sprays. **Journ. Of. Agric. Sci.** 116 : 351-358.
- Lubis, I dan S Sastrapradja, 1980. Penelitian Kandungan Diosgenin Pada *Costus*. Dalam : **Perkembangan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat**. Edisi khusus No. 1. Balai Penelitian Rempah dan Obat. Bogor.
- Mattoo, AK, RA Mehta and JE Baker, 1992. Copper-Induced Ethylene Biosynthesis in Terrestrial (*Nicotiana tabacum* and Aquatic (*Spirodela oligorrhiza*) Higher Plants. **Phytochem.** 31(2) : 405-409.
- Midmore, DJ and RK Prance, 1992. Growth Responses of Two *Solanum* Species to Contrasting Temperature and Irradiance Levels : Relation to Photosynthesis, Dark Respiration and Chlorophyll Fluorescence. **Annals of Botany** 97 : 76-81.
- Mulyati, RS, 1988. Pengaruh Pemberian Boron dan Tembaga Melalui Daun Terhadap Pertumbuhan, Produksi dan Kandungan Solasodin *Solanum khasianum* Clarke. **Tesis**. Program Pasca sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Nakanishi, K, T. Goto, S Ito, S Natori and S Nozoe, 1974. **Natural Product Chemistry**. Vol. 1. Kodansha Academic Press Inc. Tokyo, New York, London.
- Nishi, A, 1994. Effect of Elicitors on the Production of Secondary Metabolites. *In* : **Advances in Plant Biotechnology**. Ed. Ryu, DDY. And S. Furusaki. Elsevier Publish. Co. Inc. Tokyo.
- Noeraini, PE, 1992. Pengaruh Ion Kalsium Terhadap Kandungan Fito-steroid Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Univer-sitas Airlangga. Surabaya.
- Nuliyantini, D, 1989. Pengaruh Sumber Nitrogen Terhadap Kecepatan Per-tumbuhan dan Profil Kandungan Steroid Kalus *Solanum indicum* L. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ojeniyi, SO, and GO Kayode, 1993. Response of Maize to Copper and Sulphur in Tropical Region. **Journ. Of Agric. Sci.** 120 : 295-299.
- Olsen, SR, CV Cole, FS Wabatabe and LA Dean, 1954. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. *Dalam* : Sudjadi, M; IM Widjik dan M Soleh, 1971. Penuntun Analisa Tanah. Bagian Kesuburan Tanah. Lembaga Penelitian Tanah. Bogor.
- Paczkowski, C, J Zimowski, D Krawczyk and ZA Wojciechowski, 1990. Steroid-Specific Glucosyl-transferases in *Asparagus plumosus* Shoots. **Phytochem.** 29(3) : 63-70.
- Patterson, GW, S Hugly and D Harrison, 1993. Sterol and Phytyl Ester of *Arabidopsis thaliana* Under Normal and Chilling Temperatures. **Phytochem.** 33 (6) : 1381-1383.
- Pecsok, RL, LD Shield, T Chairn and IG McMillan, 1976. **Modern Method of Chemical Analysis**. Second edition. John Wiley and Sons. New York.

- Pich, A; G Scholz and UW Stephan, 1994. Iron-dependent Changes of Heavy Metals, Nicotinamine and Citrate in Different Plant Organs and in Xylem Exudate of Two Tomato Genotypes. Nicotinamine as possible copper translocator.
- Polle, A.; K. Chakrabarti, S Chakrabarti, F Seifert, P Schramel and H Rennenberg, 1991. Antioxidants and Manganese Deficiency in Needles of Norway Spruce (*Picea abies*) Trees. **Plant Physiol.** 99 : 1084-1089.
- Prave, P; U. Faust, W Sittig and DA Sukatsch, 1987. **Basic Biotechnology.** A Student Guide. Translator : BJ. Hazzard. CH, Weinheim. Federal Republic of Germany.
- Raskin, H; PBAN Kumar, S Dushenkov and DE Salt, 1991. Bioconcentration of Heavy Metals by Plants. Review Article. **Current Opinion in Biotechnology** 5 : 2895-2901
- Robinson, T, 1964. **The Organic Constituents of Higher Plants.** Burgess Publishing. Miniapolis.
- Samino, S; S Yitnosumarto dan M Soedaryanto, 1993. Pengaruh Pemberian Triakontanol dan Auksin Serta Interaksinya Terhadap Kandungan Solasodin Buah (*Solanum khasianum* Clarke). **Jurnal Universitas Brawijaya** 5 (1) : 29-34.
- Santosa, Budi, 1984. Konsep dan Prosedur Analisa Tanaman. Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Santosa, Beny, 1992. Pengaruh Pemberian Boron Terhadap Produksi Kacang Tanah (*Arachis hypogaeae* L.) Pada Tanah Mediteran (Alfisol) Jawa Timur. **Skripsi.** Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Shetty, K and OF Curtis, 1995. Biotechnology of Plant Secondary Metabolites and their Applications in Food. **Prosiding Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional.** Kantor Menteri Negara Urusan Pangan RI. Jakarta.

- Sillanpaa, M, 1972. Trace Elements in Soils and Agriculture. Food and Agriculture. Organization of the United Nation. **FAO Soil Bull.** No. 17.
- daSilva, JJE and RJP Williams, 1991. **The Biological Chemistry of the Elements.** The Inorganic Chemistry of Life. Clarendon Press. Oxford.
- Sitompul, SM and B Guritno, 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Stefanov, K; Y Markovska, G Kimenov and S Popov, 1992. Lipid and Sterol Changes in Leaves of *Herbelea rhodopensis* and *Ramonda serbica* at Transition from Biosis into Anabiosis and Vice Versa Caused by Water Stress **Phytochem.** 31 (7) : 2309-2314.
- Stefanov, K; I Popov, B Nikolova-Damyanova, G Kimenov and S Popov, 1992. Lipid and Sterol Changes in *Phaseolus vulgaris* Caused by Lead ions. **Phytochem.** 31(11) : 3745-3738.
- Stefanov, K; I Popov, E Kamburova, T Pancheva, G Kimenov, L Kuleva and S Popov, 1993. Lipid and Sterol Changes in *Zea mays* Caused by Lead Ions. **Phytochem.** 33 (1) : 47-51.
- Stevenson, FG, 1994. **Humus Chemistry.** John Willey and Sons. London, New York, Sidney, Toronto.
- Sudarmadji, S; B Haryono dan Suhardi, 1985. Penuntun Analisis Kimia Hasil Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Sudiarto, 1984. Kemungkinan Pembudidayaan Tanaman Penghasil Diosgenin dan Solasodin di Indonesia. **Makalah Seminar Nasional II Bahan Baku Kontrasepsi Pil.** Badan Penelitian Tanaman Industri. Bogor.
- Sudjadi, M; IM Widjik dan M Soleh, 1971. Penuntun Analisa Tanah. Bagian Kesuburan Tanah. Lembaga Penelitian Tanah. Bogor.

- Sumadi, 1991. Catatan Untuk Analisis Runut Guna Mengendalikan Cemaran dan Kontaminan Kimia. **Majalah Kimia Indonesia** 3 (1) : 1-7.
- Sunarlin, E, 1989. Pengaruh Sumber P Terhadap Kecepatan Tumbuh dan Profil Kandungan Steroid *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sumarno, 1985. Analisis dan Uji Tanah. Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Supanji, 1984. Pengaruh Pupuk N dan K Terhadap Produksi Bobotkering Umbi dan kadar Pati Tanaman Uwi (*Dioscorea alata* L.) pada Tanah Kambisol Humik Desa Sumber kembar, Dampit, Malang. **Skripsi**. Fakultas Pertanian, Univ. Brawijaya. Malang.
- Supriyanto, A, 1991. Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Kecepatan Pertumbuhan dan Kandungan Steroid Kalus *Dioscorea pentaphylla*. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Susilowati, E, 1983. Pengaruh Penambahan Ca, Mg, Cu dan Zn Terhadap Produksi Tanaman Kentang Vareetas Desire Yang Dipupuk NPK Pada Sandosol Sumber Brantas. **Skripsi**. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyono, B Sugianto dan PR Wikandari, 1997. Kapasitas Penukaran Kation Pb dan Cd Dalam Air Oleh Asam Humat *Tletong*. **Laporan hasil penelitian**. Proyek Litmud Ditjen Dikti Depdikbud- IKIP Surabaya.
- Suyono, PR. Wikandari dan Suherman, 1997. Isolasi dan Karakterisasi Asam Humat Lumpur Limbah Domestik. **Laporan hasil penelitian**. Proyek Litmud, Ditjen Dikti (Depdikbud)-IKIP Surabaya.
- Syekhfani, 1985. Hubungan Cu, Zn dan Unsur Lain Dengan Penyakit Kalimati Pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Tegalan di Manyingsal, Subang, Jawa Barat. **Disertasi**. Program Pascasarjana IPB. Bogor.

- Syekhfani, 1998. Dasar-dasar Ilmu Tanah. Program Pascasarjana, Universitas Brawijaya, Malang.
- _____, 1998. Hara-Air-Tanah-Tanaman. Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Tarigan, P, 1980. Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid Pada Tumbuhan di Indonesia (Dalam usaha mencari bahan baku steroid). **Disertasi**. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Tedder, JM; A Nechvatal, AW Murray and J Carnduff, 1972. **Basic organic Chemistry**. John Wiley and sons. London, New York, Sidney, Toronto.
- Trease, GE and WC Evans, 1985. **Pharmacognosy**. Twelf edition. ELBS. Eastbourne.
- Treshow, 1961. **Environment and Plant Response**. McGraw-Hill Publication in the Agriculture Science.
- Uritani, I, 1975. Physiology of Cu and Zn. *In* : **Significance of Minor Elements of Plant Physiology**. Editor : Okajima, H., I. Uritani and HK. Huang. Food and Fertilizer Technology Center ASPAC. Taipei, Taiwan.
- Van Steenis, 1978. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. PT. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Van Loon, JC., 1980. **Analytical Atomic Absorption Spectroscopy**. Selected Methods. Academic Press. New York.
- Weber, MB; H Schat and WMTB Van der Maarel, 1991. The Effect of Copper Toxicity on the Contents of Nitrogen Compounds in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. **Plant and Soils** 133 : 101-109.
- Worokarti, 1991. Pengaruh P Terhadap Kandungan Hekogenin Pada Kalus *Agave amaniensis Trel-Nowell*. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.

Zancani, M; G Nagy, A Vianello and F Macri., 1985. Copper-inhibited NADH-dependent Peroxidase Activity of Purified *Soya bean* Plasma Membranes. **Phytochem.** 40(2): 367-371.

Zubadia, B, 1991. Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Steroid Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Skripsi.** Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.

Zuraidah, 1994. Pengaruh Ion Mg Terhadap Pembentukan Sapogenin Steroid Kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell. **Skripsi.** Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.

Lampiran 1. Kondisi lokasi pengambilan contoh tanaman *Costus speciosus* alami

No. Lokasi	Kode botani	Nama desa, kecamatan dan kabupaten	Ketinggian tempat	Suhu (° C)	Kelembaban relatif (%)	Keadaan lingkungan
01	95C-M1	Kromengan, Ngadirejo, Gunung Kawi, Malang	2.000 m	29	48	Di bawah naungan
02	95C-M2	Ketindan, Wonosari, Lawang, Malang	1.500 m	27	43	Di bawah naungan
03	95C-M3	Kebobang, Wonosari, Lawang, Malang	1.500 m	30	46	Di bawah naungan
04	95C-M4	Ngebyongan, Gunung Kawi, Ngajum, Malang	2.838 m	29	46	Di bawah naungan
05	95C-M5	Panderejo, Wagir, Malang	600 m	30	47	Di bawah naungan
06	95C-P1	Gerbo, Nongkojajaar, Pasuruan	1.500 m	29	44	Di bawah naungan
07	05C-P2	Lebakharjo, Purwodadi, Pasuruan	550 m	29,5	45	Di bawah naungan
08	95C-M6	Sukun, Kepanjen, Malang	400 m	30	52	Di bawah naungan
09	95C-M7	Sumberagung, Ngantang, Malang	1.500 m	27	46	Di bawah naungan
10	95C-M8	Watugede, Singosari, Malang	700 m	30	54	Di bawah naungan
11	95C-M9	Talok, Turen, Malang	400 m	28	45	Di bawah naungan
12	95C-B1	Karangan, Beru, Wlingi, Blitar	400 m	30	43	Di bawah naungan
13	95C-B2	Bence, Garum, Blitar	400 m	29	54	Di bawah naungan
14	95C-B3	Brongkos, Kesamben, Blitar	400 m	29	52	Di bawah naungan
15	95C-M10	Bululawang, Pakisaji, Malang	500 m	30	42	Di bawah naungan
16	95C-B4	Togokan, Srengan, Blitar	400 m	24,5	46	Di bawah naungan
17	95C-M11	Tlekung, Junrejo, Batu, Malang	1.500 m	28	42	Di bawah naungan
18	95C-M12	Ngroto, Pujon, Malang	1.600 m	26	45	Di bawah naungan
19	95C-M13	Sepanjang, Gondanglegi, Malang	400 m	28	45	Di bawah naungan

20	95C-K1	Sumberejo, Kandat, Kediri	400 m	20,5	53	Di bawah naungan
21	95C-P3	Purwosari, Purwosari, Pasuruan	300 m	29	53	Di bawah naungan
22	95C-M-14	Tempursari, Bantur, Malang	200 m	29	60	Di bawah naungan
23	95C-M15	Rejosari, Bantur, Malang	300 m	29	58	Di bawah naungan
24	95C-M16	Srignonco, Bantur, Malang	350 m	30	55	Di bawah naungan
25	95C-M17	Kedung Salam, Donomulyo, Malang	375 m	28	57	Di bawah naungan
26	95C-M18	Gedangan, Sumbermanjing Wetan, Malang	250 m	28	62	Di bawah naungan
27	95C-M19	Sendang Biru, Sumbermanjing Wetan, Malang	100 m	28,5	64	Di bawah naungan
28	95C-M20	Sitiarjo, Sumbermanjing Wetan, Malang	200 m	27,5	62	Di bawah naungan
29	95C-M21	Segaran, Sumbermanjing Wetan, Malang	250 m	27	61	Di bawah naungan
30	95C-M22	Tamban, Sumbermanjing Wetan, Malang	200 m	28	63	Di bawah naungan
31	95C-M23	Salamrejo, Sumbermanjing Kulon, Malang	300 m	28	63	Di bawah naungan

Lampiran 2. Karakteristik fisis tanah tempat tumbuh tanaman *Costus speciosus* alami

No lokasi	Kode botani	Jenis tanah	Pasir (%)	Debu (%)	Liat (%)	Kelas tekstur tanah
01	95C-M1	Asosiasi andosol dan latosol kelabu	21	52	27	Lempung berdebu
02	95C-M2	Mediteran coklat kemerahan	22	54	24	Lempung berdebu
03	95C-M3	Asosiasi andosol coklat dan regosol coklat	17	59	24	Lempung berdebu
04	95C-M4	Asosiasi andosol kelabu dan regosol kelabu	13	47	40	Lempung liat berdebu
05	95C-M5	Asosiasi latosol coklat dan regosol kelabu	18	55	27	Lempung berdebu
06	95C-P1	As. Andosol coklat kekuningan dan regosol cokl. kuning	9	49	42	Liat berdebu
07	05C-P2	Mediteran coklat kemerahan	12	57	31	Lempung liat berdebu
08	95C-M6	Aluvial kelabu	21	44	35	Lempung berliat
09	95C-M7	Asosiasi andosol kelabu dan regosol kelabu	54	21	25	Lempung liat berpasir
10	95C-M8	Brown forest soil	14	52	34	Lempung liat berdebu
11	95C-M9	Regosol coklat	34	38	29	Lempung berliat
12	95C-B1	Aluvial kelabu tua	53	32	15	Lempung berpasir
13	95C-B2	Regosol coklat kekelabuan	65	21	15	Lempung berpasir
14	95C-B3	Mediteran coklat kemerahan	29	43	28	Lempung
15	95C-M10	Regosol coklat	28	49	23	Lempung berdebu
16	95C-B4	Komplek litosol dan renzino	66	24	10	Lempung berpasir
17	95C-M11	Asosiasi andosol coklat dan Gley hummy	22	42	36	Lempung berliat
18	95C-M12	Asosiasi andosol coklat dan Gley hummy	29	47	24	Lempung berdebu
19	95C-M13	Regosol coklat	55	26	17	Lempung berpasir

20	95C-K1	Regosol coklat kekelabuan	80	12	6	Pasir berlempung
21	95C-P3	Mediteran coklat kemerahan	20	49	31	Lempung liat berdebu
22	95C-M-14	Aluvial kelabu	18	45	38	Lempung liat berdebu
23	95C-M15	Komplek litosol, mediteran dan renzino	18	43	39	Lempung liat berdebu
24	95C-M16	Mediteran coklat kemerahan	6	30	64	Liat
25	95C-M17	Mediteran coklat kemerahan	25	37	37	Lempung berliat
26	95C-M18	Komplek litosol, mediteran dan renzino	13	49	38	Lempung liat berdebu
27	95C-M19	Aluvial kelabu	11	39	50	Liat
28	95C-M20	Komplek litosol	10	43	47	Liat berdebu
29	95C-M21	Komplek litosol, mediteran dan renzino	32	46	23	Lempung
30	95C-M22	Komplek litosol	16	49	35	Lempung liat berdebu
31	95C-M23	Komplek litosol	52	32	35	Lempung liat berdebu

Lampiran 3. Persamaan regresi larutan standar diosgenin pada percobaan tahap 1.

No plat KLT	Persamaan regresi linear	Nilai r	Nilai p
01	$Y = 13258,17 + 15291,45 X$	0,963	0,009
02	$Y = 12678,16 + 51864,60 X$	0,972	0,005
03	$Y = 1176,109 + 38570,64 X$	0,976	0,024
04	$Y = 11242,62 + 5798,171 X$	0,974	0,026
05	$Y = 5807,385 + 21910,93 X$	0,990	0,000
06	$Y = 9086,351 + 28171,63 X$	0,985	0,000
07	$Y = 7580,333 + 28746 X$	0,988	0,002
08	$Y = 3619,958 + 31481,92 X$	0,984	0,002
09	$Y = 7189,008 + 37093,84 X$	0,966	0,034
10	$Y = -3844,222 + 94922,58 X$	0,994	0,001
11	$Y = 7030,437 + 21382,77 X$	0,998	0,000
12	$Y = 747,994 + 10675,55 X$	0,999	0,000
13	$Y = 1277,054 + 17079,08 X$	1,000	0,000
14	$Y = -11,240 + 8004,610 X$	0,997	0,000
15	$Y = 837,975 + 13351,46 X$	1,000	0,000
16	$Y = -462,268 + 15328,77 X$	0,996	0,000
17	$Y = -534,349 + 19491,15 X$	1,000	0,000
18	$Y = -431,773 + 10585,14 X$	0,998	0,000
19	$Y = 2648,982 + 13459,68 X$	0,989	0,001
20	$Y = -91,686 + 2120,232 X$	1,000	0,000
21	$Y = 23,317 + 4088,171 X$	0,999	0,000
22	$Y = 3187,616 + 6658,786 X$	0,996	0,000
23	$Y = 3338,601 + 16489,22 X$	0,995	0,000
24	$Y = 1144,967 + 24775,85 X$	0,999	0,000
25	$Y = 426,674 + 32549,69 X$	0,997	0,000
26	$Y = 12000,27 + 21506,09 X$	0,987	0,013
27	$Y = 2755,404 + 13773,88 X$	0,954	0,012
28	$Y = 5560,210 + 26092,89 X$	0,992	0,001
29	$Y = 13205,68 + 34854,43 X$	0,994	0,000
30	$Y = -940,739 + 22793,59 X$	0,996	0,000
31	$Y = 1850,945 + 26399,23 X$	0,992	0,000
32	$Y = 3265,498 + 21555,90 X$	0,993	0,000
33	$Y = 986,484 + 10602,09 X$	0,995	0,000
34	$Y = -1120,023 + 15467,88 X$	0,997	0,000
35	$Y = -137,963 + 14917,49 X$	1,000	0,000
36	$Y = -1461,270 + 19492,12 X$	0,981	0,001
37	$Y = 660,204 + 12774,32 X$	0,991	0,000

38	$Y = 631,550 + 9263,575 X$	0,993	0,000
39	$Y = 1389,169 + 14288,03 X$	0,995	0,000
40	$Y = 398,907 + 25522,66 X$	0,999	0,000
41	$Y = 1393,718 + 13886,06 X$	0,998	0,000
42	$Y = -1092,462 + 11907,88 X$	0,981	0,001
43	$Y = 2746,654 + 15719,95 X$	0,997	0,000
44	$Y = 6855,196 + 3708,628 X$	0,998	0,000
45	$Y = 1607,339 + 12271,74 X$	0,999	0,000
46	$Y = 5627,681 + 17141 X$	0,998	0,000
47	$Y = 2964,681 + 17372,48 X$	1,000	0,000
48	$Y = 5332,044 + 9913,00 X$	0,963	0,008
49	$Y = 6403,478 + 10384,48 X$	0,975	0,005
50	$Y = 2725,975 + 15032,48 X$	0,976	0,004
51	$Y = 2976,535 + 15271,00 X$	0,982	0,003
52	$Y = 4941,037 + 21361,89 X$	0,986	0,002
53	$Y = 4832,063 + 16342,81 X$	0,998	0,000
54	$Y = 3453,962 + 20587,30 X$	0,999	0,000

Lampiran 4. Persamaan regresi larutan standar diosgenin pada percobaan tahap 2.

No plat KLT	Persamaan regresi linear	Nilai r	Nilai p
01	$Y = 2324,063 + 11053,923 X$	0,998	0,000
01	$Y = 735,211 + 35635,176 X$	1,000	0,000
03	$Y = -105,401 + 22082,074 X$	1,000	0,000
04	$Y = 1347,087 + 9189,709 X$	0,995	0,000
05	$Y = 10668,101 + 18011,404 X$	0,973	0,005
06	$Y = 2378,776 + 1786,172 X$	0,951	0,004
07	$Y = 2799,018 + 27841,517 X$	0,994	0,001
08	$Y = 1529,124 + 24718,471 X$	0,992	0,000
09	$Y = 4439,752 + 31840,24 X$	0,994	0,000
10	$Y = 2450,424 + 35372,769 X$	0,999	0,000
11	$Y = 4347,320 + 24844,462 X$	0,997	0,000
12	$Y = 845,418 + 23951,057 X$	0,993	0,003
13	$Y = 3552,027 + 36369,069 X$	0,999	0,000
14	$Y = 2136,566 + 36764,222 X$	0,999	0,000
15	$Y = 5372,074 + 19714,398 X$	0,995	0,001
16	$Y = 1776,343 + 25705,230 X$	0,999	0,000
17	$Y = 2894,749 + 28556,068 X$	0,999	0,000
18	$Y = 4418,708 + 25477,877 X$	0,996	0,000
19	$Y = 2964,374 + 17372,476 X$	0,999	0,000
20	$Y = 5333,153 + 9912,104 X$	0,963	0,008
21	$Y = 6403,478 + 10384,476 X$	0,975	0,005
22	$Y = 2726,692 + 15032,293 X$	0,976	0,004
23	$Y = 3669,332 + 22210,423 X$	0,986	0,002
24	$Y = 5536,079 + 17047,684 X$	0,981	0,003
25	$Y = 4806,272 + 19804,971 X$	0,982	0,003
26	$Y = 3386,941 + 13571,453 X$	0,996	0,000
27	$Y = 3829,047 + 10977,628 X$	0,996	0,000
28	$Y = 1693,579 + 14113,923 X$	0,993	0,000
29	$Y = 2691,800 + 19214,268 X$	0,997	0,000
30	$Y = 1728,540 + 37626,183 X$	1,000	0,000
31	$Y = 4214,299 + 18953,64 X$	1,000	0,000
32	$Y = 437,4307 + 24696,12 X$	0,999	0,000
33	$Y = 907,112 + 9706,366 X$	0,997	0,000
34	$Y = 2370,499 + 19470,667 X$	0,991	0,001
35	$Y = 2677,141 + 20672,126 X$	0,997	0,000
36	$Y = 1583,793 + 12290,463 X$	0,999	0,000
37	$Y = 1387,709 + 18840,872 X$	0,997	0,000

Lampiran 5. Nilai kritis uji selisih taraf 5 dan 1 % untuk sampel Normal

Banyaknya ulangan (n)	Nilai kritis	
	5 %	1 %
3	1,15	1,15
4	1,46	1,49
5	1,67	1,75
6	1,82	1,94
7	1,94	2,10
8	2,03	2,22
9	2,11	2,32
10	2,18	2,41

Sumber : Barnett dan Lewis,(1984) dalam Grenberg, Cleseri dan Eaton (1993)

Lampiran 6. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel biomasa tanaman *Costus speciosus* alami terhadap kadar diosgenin rimpang (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Daun	Regresi	1	0,08234	0,08234	5,352*	0,028
	Galat	29	0,446	0,01536		
	Total	30	0,528			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	0.566	0.061		9.282	0.000
Daun	1.035E-02	0.004	-0.395	-2.313	0.028

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Batang	-0,116	-0,595	0,556	-0.112	0.788
Akar	-0,177	-0,959	0,346	-0.178	0.860
Rimpang	-0,067	-0,385	0,703	-0.073	0.996
Total biomassa	-0,126	-0,594	0,557	-0.112	0.657

Lampiran 7. Analisis multiregresi kelompok variabel biomasa tanaman terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	6	0,17416	0,02903	1,97	0,111
Galat	24	0,35434	0,01476		
Total	30	0,52849			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	0,5831	0,1334	4,37	0,000
Luas daun	0,00001432	0,00003268	0,44	0,665
Daun (bk)	-0,020779	0,007571	-2,74	0,011
Batang (bk)	-0,004187	0,004345	-0,96	0,345
Rimpang (bk)	-0,001688	0,005068	-0,33	0,742
Akar (bk)	-0,03857	0,02474	-1,56	0,132
Total biomasa	0,004758	0,004302	1,11	0,280

Lampiran 8. Koefisien persamaan regresi hubungan bobot kering daun dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R ²
Linier	0,5694	-0,0107		0,028	0,166
Kuadrat	0,6106	-0,0172	0,0002	0,088	0,165

Lampiran 9. Nilai korelasi antara variabel biomasa tanaman, iklim dan nutrisi tanah dengan kadar diosgenin dan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Variabel	Kadar diosgenin		Total diosgenin	
	Nilai korelasi	Nilai p	Nilai korelasi	Nilai p
Luas daun	-0,185	0,318	-0,225	0,224
Bobot kering daun	-0,395*	0,028	-0,263	0,153
Bobot kering batang	-0,273	0,137	-0,117	0,531
Bobot kering rimpang	-0,092	0,622	0,599**	0,000
Bobot kering akar	-0,004	0,981	0,281	0,125
Total biomasa	-0,314	0,085	0,098	0,602
Kelembaban mikro	-0,391	0,124	-0,395*	0,028
Suhu mikro	-0,134	0,471	-0,166	0,373
Ketinggian tempat	0,061	0,746	-0,106	0,569
Al ³⁺ daun	0,165	0,376	0,146	0,433
Cu ²⁺ daun	0,055	0,770	0,252	0,171
Fe ²⁺ daun	-0,233	0,207	-0,210	0,256
Mn ²⁺ daun	0,144	0,540	0,041	0,828
Zn ²⁺ daun	0,118	0,527	0,316	0,083
C ⁴⁺ -organik tanah	0,049	0,794	0,032	0,863
N ³⁻ tanah	0,016	0,930	0,018	0,923
Nisbah C/N	-0,050	0,790	0,027	0,887
P ⁵⁺ tanah	-0,064	0,733	-0,006	0,973
K ⁺ tanah	-0,175	0,348	-0,098	0,599
Ca ²⁺ tanah	-0,435*	0,015	-0,361*	0,046
Mg ²⁺ tanah	-0,002	0,993	0,031	0,868
Al ³⁺ tanah	0,257	0,162	0,132	0,480
Cu ²⁺ tanah	0,477**	0,007	0,485**	0,006
Fe ²⁺ tanah	-0,121	0,516	-0,171	0,704
Mn ²⁺ tanah	0,010	0,958	0,080	0,664
Zn ²⁺ tanah	-0,205	0,269	-0,138	0,458
KTK	-0,254	0,168	-0,288	0,117
Kejenuhan basa	-0,258	0,161	-0,138	0,459
Jumlah basa	-0,417*	0,020	-0,324	0,076
pH	-0,304	0,096	-0,158	0,396

Lampiran 10. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel biomasa tanaman *Costus speciosus* alami terhadap total diosgenin rimpang (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Rimpang	Regresi	1	205,734	205,734	16,186**	0,000
	Residu	29	368,805	12,711		
	Total	30	574,340			
Konstanta Rimpang Daun	Regresi	2	258,334	129,167	11,445**	0,000
	Residu	28	316,006	11,286		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konsanta Rimpang	2.008	2.476		0.811	0.424
	0.356	0.089	0.599	4.023	0.000
Konstanta Rimpang Daun	5.018	2.718		1.846	0.075
	0.368	0.084	0.618	4.401	0.000
	-0.262	0.121	-0.303	-2.159	0.040

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Batng	-0,141	-0,943	0,354	-0,175	0,998
Akar	-0,303	-2,159	0,040	-0,378	0,996
Daun	-0,001	0,004	0,997	0,001	0,780
Total biomasa	-0,221	-1,342	0,190	-0,241	0,792
Batanag	-0,002	-0,013	0,990	-0,002	0,783
Akar	-0,198	-1,115	0,275	-0,210	0,615
Total biomasa	-0,014	-0,068	0,946	-0,013	0,482

Lampiran 11. Analisis multiregresi kelompok variabel biomasa tanaman terhadap total diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	6	316,10	52,68	4,90**	0,002
Galat	24	258,24	10,76		
Total	30	574,34			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	3,736	3,601	1,04	0,310
Luas daun	0,0006357	0,0008821	0,72	0,478
Daun (bk)	0,5599	0,2044	-2,74	0,011
Batang (bk)	-0,0498	0,1173	-0,42	0,675
Rimpang (bk)	0,4043	0,1368	2,95	0,007
Akar (BK)	-1,1225	0,6678	-1,68	0,106
Total biomasa	0,0911	0,1161	0,78	0,441

Lampiran 12. Koefisien model persamaan regresi hubungan antara bobot kering rimpang dan daun terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	3	328,4871	109,4957	5,83756	0,003
Galat	27	506,44185	18,75711		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,39343$; R^2 (adj) = 0,32603

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Bk Daun	-0,286377	0,156657	-1,828	0,079
Bk Rimpang	0,426335	0,111313	3,830	0,001
Daun x Rimpang	-6,37207E-04	0,001363	-0,468	0,644
Konstanta	4,472784	3,506523	1,276	0,213

a. Regresi kuadrat**Analisis keragaman**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	6	336.216	67.2432	3.37084	0,0183
Galat	24	498.71294	19.94852		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,40269$; R^2 (adj) = 0,28323

Analisis keragaman parsial

t-rasio	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Daun	-0,68237	0,693203	-9,984	0,3344
Daun ²	0,01268	0,022126	0,573	0,5717
DaunxRimpang	-4,0908E-04	0,001645	-0,246563	0,8056
Rimpang	0,442074	0,120913	0,616238	0,0012
Rimpang ²	-2,41912E-04	7,4227E-04	-0,065330	0,7472
Konstanta	6,850553	5,536167		0,2274

Lampiran 13. Nilai korelasi variabel biomasa tanaman *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Nilai koefisien korelasi (r)

Variabel	Luas daun	Daun (bk)	Batang (bk)	Rimpang (bk)	Akar (bk)	Total biomasa
Luas daun	-	0,493**	0,192	-0,185	-0,250	-0,145
Daun	0,493**	-	0,461**	0,065	0,374**	0,585**
Batang	0,192	0,461**	-	0,039	-0,064	0,828**
Rimpang	-0,185	0,065	0,039	-	0,469**	0,456**
Akar	-0,250	0,374*	-0,064	0,469**	-	0,144
Total biomasa	-0,145	0,585**	0,828**	0,456**	0,144	-

Nilai p antar variabel biomasa tanaman

Variabel	Luas daun	Daun (bk)	Batang (bk)	Rimpang (bk)	Akar (bk)	Total biomasa
Luas daun	-	0,005	0,300	0,319	0,174	0,463
Daun	0,005	-	0,009	0,728	0,038	0,001
Batang	0,300	0,009	-	0,834	-0,731	0,000
Rimpang	0,319	0,728	0,823	-	0,008	0,010
Akar	0,174	0,038	0,731	0,008	-	0,441
Total biomasa	0,463	0,001	0,000	0,010	0,441	-

Lampiran 14. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro pada daun terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta, Al ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ²⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺	1. Regresi	3	0,05619	0,01124	0,595	0,704
	Residu	27	0,472	0,01889		
	Total	30	0,528			

Lampiran 15. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro pada daun dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	5	0,05752	0,01150	0,61	0,693
Galat	25	0,47097	0,01884		
Total	30	0,52849			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	0,3525	0,1303	2,70	0,012
Al ²⁺	0,001260	0,001401	0,90	0,377
Fe ²⁺	-0,0004581	0,0003630	-1,26	0,219
Mn ²⁺	-0,0000536	0,0005644	-0,09	0,925
Zn ²⁺	0,000891	0,001506	0,59	0,560
Cu ²⁺	0,001417	0,002595	0,55	0,590

Lampiran 16. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro pada daun tanaman *Costus speciosus* alami terhadap total diosgenin rimpang (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta,	Regresi	5	157,573	31,515	1,890	0,132
Al ³⁺ , Cu ²⁺ ,	Residu	25	416,766	16,671		
Fe ²⁺ , Mn ²⁺ ,	Total	30	574,340			
Zn ²⁺						

Lampiran 17. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro daun terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	5	166,45	33,29	2,04	0,107
Galat	25	407,89	16,32		
Total	30	574,34			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	3,845	3,835	1,00	0,326
Al ²⁺	0,05368	0,04122	1,30	0,205
Fe ²⁺	-0,01762	0,01068	-1,65	0,112
Mn ²⁺	-0,01230	0,01661	-0,74	0,466
Zn ²⁺	0,08530	0,04432	1,92	0,066
Cu ²⁺	0,14123	0,07637	1,85	0,076

Lampiran 18. Regresi linier hubungan antara Cu dan Ca²⁺ tanah dengan biomasa dan kandungan Cu tanaman jeruk mandarin Cleopatra

Variabel	Intersep (a)	Standar deviasi	Slop (b)	Standar deviasi	Nilai R ²
Bobot pucuk vs Cu tanah	6,61	0,51	-0,036	0,011	0,266**
Bobot akar vs Cu tanah	7,66	0,57	-0,057	0,012	0,417**
Cu daun vs Cu tanah	7,14	1,08	0,057	0,023	0,169*
Cu akar vs Cu tanah	-3,81	0,61	8,224	0,351	0,883**
Cu daun vs Fe daun	14,13	2,32	-0,105	0,046	0,149*
Cu akar vs Fe akar (#)	7,14	0,85	-0,192	0,084	0,147*
Bobot pucuk vs Cu daun	6,97	0,54	-0,006	0,001	0,314**
Bobot pucuk vs Cu akar	8,30	0,57	-0,010	0,001	0,521**
Bobot akar vs Cu akar					
Bobot pucuk Ca ²⁺ tanah (#)	6,50	0,93	0,003	0,001	0,126*
Bobot akar vs Ca ²⁺ tanah					

Sumber : Alva, Graham dan Tucker (1993)

Keterangan : * nyata (p=0,05) dan ** sangat nyata (p=0,01), # tidak nyata (p>0,05).

Jumlah ulangan 32.

Lampiran 19. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel iklim terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta, tinggi tempat, suhu, kelembaban	Regresi	3	0,06252	0,02084	1,207	0,326
	Residu	27	0,46598	0,01726		
	Total	30	0,52849			

Lampiran 20. Analisis multiregresi kelompok variabel iklim terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat bebas	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	3	0,06252	0,02084	1,21	0,326
Galat	27	0,46598	0,01726		
Total	30	0,52849			

Koefisien persamaan regresi

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	0,0938	0,4214	2,60	0,015
Suhu	-0,01064	0,01237	-0,86	0,397
Kelembaban	-0,006532	0,003813	-1,71	0,098
Tinggi tempat	-0,00002930	0,00004381	-0,67	0,509

Lampiran 21. Analisis multiregresi bertatar variabel iklim terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Kelembaban	Regresi	1	89,690	89,6904	5,367*	0,028
	Galat	29	484,649	16,712		
	Total	30	574,340			
Konstanta, kelembaban, tinggi tempat	Regresi	2	182,538	91,269	6,523**	0,005
	Galat	28	391,802	13,993		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	1.094	0.421		2.595	0.015
Kelembaban	6.532E-03	0.004	-0.377	-1.713	0.098
Suhu	1.064E-02	0.012	-0.156	-0.861	0.397
Tinggi tempat	2.930E-05	0.000	-0.147	-0.669	0.509

Lampiran 22. Analisis multiregresi hubungan antara kelompok variabel iklim dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	3	204,43	68,14	4,97**	0,007
Galat	27	369,91	13,70		
Total	30	574,34			

Koefisien regresi

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	46,66	11,87	3,93	0,001
Suhu	-0,4405	0,3485	-1,26	0,217
Kelembaban	-0,3926	0,1074	-3,65	0,001
Tinggi tempat	-0,003213	0,001234	-2,60	0,015

Lampiran 23. Koefisien regresi hubungan antara kelembaban relatif lingkungan dan ketinggian tempat tumbuh tanaman terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

a. Regresi linier**Analisis keragaman total**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	3	122,01578	40,67193	1,54036	0,2268
Galat	27	712,91317	26,40419		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,14614$; R^2 (adj) = 0,05127

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Kelembaban	-0,723478	0,516047	-1,402	0,1723
Tinggi tempat	-0,029981	0,014607	-2,052	0,0499
Kelembab. x Tinggi	0,001035	0,00050379	2,054	0,0498
Konstanta	33,342606	14,689307	2,270	0,0314

b. Regresi kuadrat**Analisis keragaman**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	5	304,93852	60,98770	2,87683	0,0347
Galat	25	529,99043	21,19962		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,52293$; R^2 (adj) = 0,37773

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Kelembaban	-14,563658	6,51953	-2,234	0,0347
Kelembaban ²	0,265465	0,124825	2,127	0,0435
Kelembaban.xTinggi	0,001018	4,6051E-04	2,210	0,0365
Tinggi tempat	-0,023122	0,013309	-1,737	0,0946
Tinggi tempat ²	-2,6673E-06	1,2808E-06	-2,082	0,0477
Konstanta	209,318865	84,56259	2,475	0,0204

Lampiran 24. Analisis multiregresi hubungan antara variabel kelembaban dan ketinggian tempat dengan total biomasa tanaman *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	2	2599,10760	1299,55380	4,32313	0,0231
Galat	28	8416,92744	300,60455		
Total	30	11016,03504			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Ketinggian	-0,015167	0,005814	-0,526489	-2,609	0,014
Kelembaban	-0,204906	0,527976	-0,078329	-0,388	0,700
Konstanta	101,778875	29,946572		3,399	0,002

Lampiran 25. Koefisien regresi hubungan antara kelembaban relatif lingkungan dan ketinggian tempat tumbuh tanaman terhadap total biomasa *Costus speciosus* alami

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	2599,10760	1299,55380	4,32313	0,0231
Galat	28	8416,92744	300,60455		
Total	30	11006,0340			

Nilai $R^2 = 0,23594$; R^2 (adj) = 0,18136

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Kelembaban	-0,204906	0,527976	-0,388	0,700
Tinggi tempat	-0,015167	0,005814	-2,609	0,014
Konstanta	101,778875	29,946572	3,399	0,002

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	5	2815,45686	563,09137	1,71662	0,1676
Galat	25	8200,57818	328,02313		
Total	30	11052,034			

Nilai $R^2 = 0,25558$; R^2 (adj) = 0,10669

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Kelembaban	-6,407333	13,73803	-0,466	0,645
Kelembaban ²	0,051887	0,123837	0,419	0,678
Kelembaban.xTinggi	0,001967	0,002926	0,672	0,507
Tinggi tempat	-0,113588	0,134243	-0,846	0,405
Tinggi tempat ²	2,93361E-06	7,9477E-06	0,369	0,715
Konstanta	281,370908	371,083001	0,759	0,455

Lampiran 26. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Ca ²⁺	Regresi	1	0,09980	0,09980	6,751*	0,015
	Residu	29	0,429	0,01478		
	Total	30	0,528			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta Ca ²⁺	0,574	0,058	-0,435	9,928	0,000
	1,272E-02	0,005		-2,598	0,015

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
C	0,121	0,710	0,484	0,133	0,975
Rasio C/N	0,311	1,542	0,134	0,280	0,658
K ⁺	-0,138	-0,820	0,419	-0,153	0,993
Mg ²⁺	-0,042	-0,245	0,808	-0,046	0,992
N ³⁻	-0,041	-0,239	0,813	-0,045	0,983
P ⁵⁺	-0,071	-0,417	0,680	-0,079	1,000

Lampiran 27. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	7	0,17326	0,02475	1,60	0,185
Galat	23	0,35523	0,01544		
Total	30	0,52849			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	0,5669	0,1147	4,94	0,000
C	0,03983	0,03633	1,10	0,284
N	-0,1742	0,1543	-1,13	0,271
P	0,000385	0,001151	0,33	0,741
K ⁺	-0,03707	0,02956	-1,25	0,222
Nisbah C/N	0,01320	0,01225	1,08	0,293
Ca ²⁺	-0,019381	0,006447	-3,01	0,006
Mg ²⁺	-0,00600	0,01520	-0,39	0,697

Lampiran 28. Koefisien persamaan regresi hubungan Ca²⁺ tanah dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosu* alami (program SPSS)

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R ²
Linier	0,5737	-0,0127		0,015	0,189
Kuadrat	0,6519	-0,0268	0,0005	0,045	0,198

Lampiran 29. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi makro pada tanah terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Ca ²⁺	Regresi	1	74,796	74,796	4,342*	0,046
	Residu	29	499,543	17,226		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	15,434	1,973	-0,361	7,824	0,000
Ca ²⁺	-0,348	0,167		-2,084	0,046

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B In	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
C	0,092	0,520	0,607	0,098	0,975
Rasio C/N	0,361	1,752	0,091	0,314	0,658
K ⁺	-0,068	-0,386	0,703	-0,073	0,993
Mg ²⁺	-0,002	-0,012	0,991	-0,002	0,992
N	-0,029	-0,166	0,870	-0,031	0,983
P	-0,012	-0,069	0,946	-0,013	1,000

Lampiran 30. Analisis multiregresi kelompok nutrisi makro pada tanah terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	7	142,13	20,30	1,08	0,407
Galat	23	432,21	18,79		
Total	30	574,34			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	12,949	4,002	3,24	0,004
C	0,585	1,267	0,46	0,649
N	-3,970	5,384	-0,74	0,468
P	0,01685	0,04015	0,42	0,679
K ⁺	-0,765	1,031	-0,74	0,466
Nisbah C/N	0,6162	0,4275	1,44	0,163
Ca ²⁺	-0,5910	0,2249	-2,63	0,015
Mg ²⁺	-0,0148	0,5300	-0,03	0,978

Lampiran 31. Koefisien persamaan regresi hubungan Ca^{2+} tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R ²
Linier	15,6180	-0,3282		0,046	0,180
Kuadrat	19,8016	-1,1369	0,0305	0,091	0,157

Lampiran 32. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Ca^{2+} tanah dengan Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	130,24946	130,24947	1,33575	0,2572
Residu	29	2823008,04967	97,51035		
Total	30	3008,04967			

Lampiran 33. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro pada tanah terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Cu^{2+}	Regresi	1	0,120	0,120	8,536**	0,007
	Residu	29	0,408	0,01408		
	Total	30	0,528			
Konstanta Cu^{2+} Al^{3+}	Regresi	2	0,184	0,09180	7,452**	0,003
	Residu	28	0,345	0,01232		
	Total	30	0,528			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	0,310	0,048		6,487	0,000
Cu ²⁺	8,286E-03	0,003	0,477	2,922	0,007
Konstanta	0,185	0,071		2,599	0,015
Cu ²⁺	9,358E-03	0,003	0,539	3,473	0,002
Al ³⁺	2,868E-03		0,352	2,269	0,031

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Fe ²⁺	-0,247	-1,502	0,144	-0,273	0,945
Al ³⁺	0,352	2,269	0,031	0,394	0,969
Basa	-0,271	-1,561	0,130	-0,283	0,844
Kejenuhan basa	-0,170	-1,019	0,317	-0,189	0,960
KTK	-0,139	-0,816	0,421	-0,152	0,932
Mn ²⁺	-0,004	-0,025	0,980	-0,005	0,999
Zn ²⁺	-0,125	-0,745	0,462	-0,139	0,969
Fe ²⁺	-0,209	-1,344	0,190	-0,250	0,933
Basa	-0,205	-1,222	0,232	-0,229	0,812
Kejenuhan basa	-0,088	-0,539	0,594	-0,103	0,902
KTK	-0,144	-0,907	0,372	-0,172	0,932
Mn ²⁺	-0,025	-0,161	0,873	-0,031	0,966
Zn ²⁺	-0,230	-1,464	0,155	-0,271	0,905

Lampiran 34. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro tanah terhadap kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	9	0,25159	0,02795	2,12	0,075
Galat	21	0,27691	0,01319		
Total	30	0,52849			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	0,6833	0,4586	1,49	0,151
Al ³⁺	0,002273	0,001502	1,51	0,145
Fe ²⁺	-0,0001343	0,0001110	-1,21	0,240
Mn ²⁺	0,0003248	0,0004335	0,75	0,462
Zn ²⁺	-0,001842	0,003045	-0,60	0,552
Cu ²⁺	0,008015	0,003179	2,52	0,020
KTK	-0,01262	0,01765	-0,71	0,483
Jumlah basa	0,01251	0,02174	0,58	0,571
Kejenuhan basa	-0,003176	0,003764	-0,84	0,408
PH	-0,01512	0,05818	-0,26	0,798

Lampiran 35. Koefisien persamaan regresi hubungan Cu²⁺ tanah dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R ²
Linier	0,3098	0,0083		0,007	0,227
Kuadrat	0,2662	0,0146	-0,0002	0,021	0,238

Lampiran 36. Analisis multiregresi bertatar kelompok variabel nutrisi mikro pada tanah terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Cu ²⁺	Regresi	1	134,931	134,931	8,905**	0,006
	Residu	29	439,409	15,152		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	7,444	1,567		4,751	0,000
Cu ²⁺	0,278	0,093	0,485	2,984	0,006

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Fe ²⁺	-0,196	-1,178	0,249	-0,217	0,945
Al ³⁺	0,224	1,376	0,180	0,252	0,969
Basa	-0,157	-0,883	0,385	-0,165	0,844
Kejenuhan basa	-0,043	-0,255	0,800	-0,048	0,960
KTK	-0,173	-1,028	0,313	-0,191	0,932
Mn ²⁺	0,066	0,398	0,694	0,075	0,999
Zn ²⁺	-0,055	-0,326	0,747	-0,062	0,969

Lampiran 37. Analisis multiregresi kelompok variabel nutrisi mikro tanah terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program Minitab)

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	Nilai p
Regresi	9	249,75	27,75	1,80	0,129
Galat	21	324,59	15,46		
Total	30	574,34			

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar deviasi	t- rasio	Nilai p
Konstanta	19,74	15,70	1,26	0,222
Al ³⁺	0,02894	0,05142	0,56	0,580
Fe ²⁺	-0,005751	0,003801	-1,51	0,145
Mn ²⁺	0,00854	0,01484	0,58	0,571
Zn ²⁺	0,0533	0,1043	0,51	0,615
Cu ²⁺	0,2723	0,1088	2,50	0,021
KTK	-0,9961	0,6043	-1,65	0,114
Jumlah basa	0,9664	0,7443	1,30	0,208
Kejenuhan basa	-0,2009	0,1289	-1,56	0,134
PH	1,115	1,992	0,56	0,581

Lampiran 38. Koefisien persamaan regresi hubungan Cu²⁺ tanah dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R ²
Linier	7,4442	0,2776		0,006	0,235
Kuadrat	7,2282	0,2996	-0,0007	0,023	0,255

Lampiran 39. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu²⁺ tanah dengan luas daun tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	727,36073	727,36073	0,00109	0,9738
Residu	29	19289205,08937	665145,00308		
Total	30	19289932,44			

Lampiran 40. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tanah dengan bobot kering daun tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	102,08819	102,08819	4,11573	0,0518
Residu	29	719,32749	24,80440		
Total	30	821,41568			

Lampiran 41. Koefisien persamaan regresi hubungan Cu^{2+} tanah dengan bobot kering daun *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Model	b0	b1	b2	Nilai p	Nilai R^2
Linier	77,3533	0,1920		0,669	0,006
Kuadrat	67,7802	1,6339	-0,0423	0,768	0,019

Lampiran 42. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tanah dengan bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	112,82739	112,82739	0,63556	0,4132
Residu	29	5148,23651	177,52539		
Total	30	5261,0639			

Lampiran 43. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tanah dengan bobot kering rimpang tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	23,67828	23,67828	0,43002	0,5171
Residu	29	1596,83451	55,06326		
Total	30	1620,51279			

Lampiran 44. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tanah dengan bobot kering akar tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	0,46356	0,46356	0,29005	0,5943
Residu	29	46,34819	1,59821		
Total	30	46,81175			

Lampiran 45. Analisis keragaman regresi hubungan antara kadar Cu^{2+} tanah dengan total biomasa tanaman *Costus speciosus* alami (SPSS)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Regresi	1	70,33635	70,33635	0,18635	0,6692
Residu	29	10945,69869	377,43789		
Total	30	11016,06219			

Lampiran 46. Analisis multiregresi bertatar variabel berpengaruh nyata terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Cu ²⁺	Regresi	1	0,120	0,120	8,536**	0,007
	Residu	29	0,408	0,01408		
	Total	30	0,528			
Konstanta Cu ²⁺ Al ³⁺	Regresi	2	0,184	0,09180	7,452**	0,003
	Residu	28	0,345	0,01232		
	Total	30	0,528			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta Cu ²⁺	0,310	0,048		6,487	0,000
	8,286E-03	0,003	0,477	2,922	0,007
Konstanta Cu ²⁺ Al ³⁺	0,185	0,071		2,599	0,015
	9,258E-03	0,003	0,539	3,473	0,002
	2,868E-03	0,001	0,352	2,269	0,031

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B In	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Al ³⁺	0,352	2,269	0,031	0,394	0,969
Ca ²⁺	-0,271	-1,548	0,133	-0,281	0,799
Daun	-0,305	-1,905	0,067	-0,339	0,952
Ca ²⁺	-0,181	-1,018	0,318	-0,192	0,753
Daun	-0,250	-1,620	0,117	-0,298	0,923

Lampiran 47. Analisis multiregresi bertatar variabel berkorelasi nyata dengan kadar diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Cu ²⁺	Regresi	1	0,120	0,120	8,536**	0,007
	Residu	29	0,408	0,01418		
	Total	30	0,528			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta Cu ²⁺	0,310	0,048		6,487	0,000
	8,286E-03	0,003	0,477	2,922	0,007

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B In	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Ca ²⁺	-0,276	-1,548	0,133	-0,281	0,799
Jumlah basa	-0,271	-1,561	0,130	-0,283	0,844

Lampiran 48. Analisis multiregresi bertatar variabel berpengaruh nyata terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Rimpang	Regresi	1	205,734	205,734	16,186**	0,000
	Residu	29	368,605	12,711		
	Total	30	574,340			
Konstanta Rimpang Cu ²⁺	Regresi	2	306,186	153,093	15,596**	0,000
	Residu	28	268,153	9,577		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	2,008	2,476		0,811	0,424
Rimpang (bk)	0,356	0,089	0,599	4,023	0,000
Konstanta	0,843	2,322		0,363	0,719
Rimpang (bk)	0,327	0,077	0,550	4,229	0,000
Cu ²⁺	0,241	0,074	0,421	3,239	0,003

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Cu ²⁺	-0,421	3,239	0,003	0,522	0,987
Kelembaban	-0,234	-1,531	0,137	-0,278	0,906
Tinggi tempat	-0,024	-0,156	0,877	-0,030	0,981
Daun (bk)	-0,303	-2,159	0,040	-0,378	0,996
Ca ²⁺	-0,331	-2,395	0,024	-0,412	0,997
Kelembaban	-0,208	-1,567	0,129	-0,289	0,903
Tinggi tempat	0,022	0,165	0,870	0,032	0,969
Daun (bk)	-0,219	-1,703	0,100	-0,311	0,944
Ca ²⁺	-0,180	-1,256	0,220	-0,235	0,799

Lampiran 49. Analisis multiregresi bertatar variabel berkorelasi nyata dengan total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami (program SPSS)

Analisis keragaman total

Variabel yang masuk	Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F hitung	Nilai p
Konstanta Rimpang	Regresi	1	205,734	205,734	16,186**	0,000
	Residu	29	368,605	12,711		
	Total	30	574,340			
Konstanta Rimpang Cu ²⁺	Regresi	2	306,186	153,093	15,986**	0,000
	Residu	28	268,153	9,577		
	Total	30	574,340			

Analisis keragaman parsial

Variabel yang masuk	Koefisien	Standar deviasi	Beta	Nilai t	Nilai p
Konstanta	2,008	2,476		0,811	0,424
Rimpang	0,356	0,089	0,599	4,023	0,000
Konstanta	-0,843	2,322		-0,363	0,719
Rimpang	0,327	0,077	0,550	4,229	0,000
Cu ²⁺	0,241	0,074	0,421	3,239	0,003

Variabel yang dikeluarkan

Variabel	B ln	Nilai t	Nilai p	Korelasi parsial	Toleransi
Cu ²⁺	0,421	3,239	0,003	0,522	0,987
Ca ²⁺	-0,331	-2,395	0,024	-0,412	0,997
Ca ²⁺	-0,180	-1,256	0,220	-2,235	0,799

Lampiran 50. Koefisien model persamaan regresi hubungan antara bobot kering rimpang dan Cu²⁺ tanah terhadap total diosgenin rimpang *Costus speciosus* alami

a. Regresi linier**Analisis keragaman total**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	352,98755	176,49377	10,25400	0,001
Galat	28	481,94140	17,21219		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,42278$; R^2 (adj) = 0,38155

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Cu ²⁺	0,222249	0,095692	2,323	0,028
Rimpang (bk)	0,371290	0,103762	3,578	0,001
Konstanta	-1,417978	3,094918	-0,458	0,650

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	5	380,93694	76,18739	4,19541	0,0066
Galat	25	453,99201	18,15968		
Total	30				

Nilai $R^2 = 0,46588$; R^2 (adj) = 0,30332

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Cu^{2+}	-0,203181	0,572929	-0,355	0,728
$Cu^{2+} \wedge 2$	0,014845	0,017472	0,850	0,4036
$Cu^{2+} \times$ Rimpang	-5,92932E-04	8,3456E-04	-0,710	0,4840
Rimpang	0,409468	0,113825	3,597	0,0014
Rimpang ²	-7,31371E-04	6,6577E-04	-1,099	0,2824
Kontanta	0,780491	4,946741	0,158	0,8759

Lampiran 51. Analisis keragaman kadar Cu^{2+} tanah substrat tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	166263,0	27710,5	16300,3**	0,000
Galat	63	108,7	266,33		
Total	69	166371,6	1,7		

Lampiran 52. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap kadar Cu^{2+} tanah setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	13606	13606	916,17**	0,000
Galat	48	713	15		
Total	49	14319			

Nilai $R^2 = 0,95$; R^2 (adj) = 0,949

Analisis kergaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	5,6881	0,7651	7,43	0,000
Cu^{2+}	0,38330	0,01266	30,27	0,000

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	14287.7	7143.9	10621,29**	0,000
Galat	47	31.6	0.7		
Total	49	14319.3			

Nilai $R^2 = 0,989$; R^2 (adj) = 0,967

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	8,7705	0,1894	46,30	0,000
Cu^{2+}	0,07544	0,01004	7,51	0,000
$\text{Cu}^{2+ \wedge 2}$	0,00273174	0,00008583	31,83	0,000

Lampiran 53. Analisis keragaman kadar Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	5369,217	894,869	4084,98**	0,000
Galat	63	13,801	304,8926		
Total	69	5383,018	0,219		

Lampiran 54. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap kadar Cu^{2+} daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	1691,2	1691,2	22,85	0,000
Galat	48	3552,3	74,0		
Total	49	5243,4			

Nilai $R^2 = 0,323$; R^2 (adj) = 0,308

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	18,466	1,708	10,81	0,000
Cu^{2+}	0,13513	0,02827	4,78	0,000

b. Regresi kuadrat**Analisis keragaman total**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	4047,3	2023,7	79,52	0,000
Galat	47	1196,1	25,4		
Total	49	5243,4			

Nilai $R^2 = 0,772$; R^2 (adj) = 0,762

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	12,734	1,165	10,93	0,000
Cu^{2+}	0,70767	0,06177	11,46	0,000
Cu^{2+^2}	-0,0050803	0,000528	-9,62	0,000

Lampiran 55. Analisis keragaman luas daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	2731127	455188	4,51**	0,001
Galat	63	6351692	387765,7		
Total	69	9082819	100821		

Lampiran 55. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada level konsentrasi 0-115 ppm terhadap luas daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	556162	556162	4,28*	0,044
Galat	48	6240990	130021		
Total	49	6797151			

Nilai $R^2 = 0,820$; R^2 (adj) = 0,630

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1552,99	71,58	21,69	0,000
Cu^{2+}	2,451	1,175	2,07	0,044

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	955021	477511	3,84*	0,028
Galat	47	5842131	124301		
Total	49	679152			

Nilai $R^2 = 0,141$; R^2 (adj) = 0,104

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1478,40	81,44	18,15	0,000
Cu^{2+}	9,900	4,317	2,29	0,026
$\text{Cu}^{2+\wedge 2}$	-0,06610	0,03690	-1,79	0,080

Lampiran 57. Analisis keragaman luas daun spesifik (LDS) tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	658526	109754	3,46*	0,005
Galat	63	1998426	55627		
Total	69	2656952	31721		

Lampiran 58. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap LDS tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	426782	42682	12,3	0,001
Galat	48	1664852	34684		
Total	49	2091634			

Nilai $R^2 = 0,204$; R^2 (adj) = 0,187

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	907,95	36,97	24,56	0,000
Cu^{2+}	2,1467	0,612	3,51	0,001

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	451159	225579	6,46	0,003
Galat	47	1640475	34904		
Total	49	2091634			

Nilai $R^2 = 0,216$; R^2 (adj) = 0,182

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	889,51	43,16	20,61	0,000
Cu^{2+}	3,988	2,288	1,74	0,088
Cu^{2+^2}	-0,01634	0,01955	-0,84	0,408

Lampiran 59. Analisis keragaman bobot kering daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	1,3735	0,2289	32,64**	0,024
Galat	63	5,4573	0,2851		
Total	69	6,8308	0,0866		

Lampiran 60. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering daun tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,0129	0,0129	0,12	0,729
Galat	48	5,0998	0,1062		
Total	49	5,1128			

Nilai $R^2 = 0,03$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1,69964	0,06471	26,27	0,000
Cu^{2+}	-0,000374	0,001071	-0,35	0,729

b. Rregresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,1760	0,0880	0,84	0,439
Galat	47	4,9368	0,1050		
Total	49	5,1128			

Nilai $R^2 = 0,034$; R^2 (adj) = 0,000%

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1,65195	0,07486	22,07	0,000
Cu^{2+}	0,004389	0,003968	1,11	0,274
$\text{Cu}^{2+\wedge 2}$	-0,00004226	0,00003392	-1,25	0,219

Lampiran 61. Analisis keragaman bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	5,085	0,847	4,36**	0,001
Galat	63	12,244	0,299		
Total	69	17,329	0,194		

Lampiran 62. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering batang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,8116	0,8116	4,11*	0,048
Galat	48	9,4705	0,1973		
Total	49	10,2822			

Nilai $R^2 = 0,179$; R^2 (adj) = 0,130

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1,95368	0,08818	22,16	0,000
Cu^{2+}	0,002960	0,001460	2,03	0,048

b. Rregresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,8117	0,4058	2,01	0,145
Galat	47	9,4705	0,2015		
Total	49	10,2822			

Nilai $R^2 = 0,079$; R^2 (adj) = 0,040

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	1,9528	0,1037	18,83	0,000
Cu ²⁺	0,003045	0,005496	0,55	0,582
Cu ²⁺ ²	-0,00000075	0,00004698	-0,02	0,987

Lampiran 63. Analisis keragaman bobot kering rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu²⁺ 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	0,8138	0,1356	3,03**	0,011
Galat	63	2,8205	0,00521		
Total	69	3,6343	0,0448		

Lampiran 64. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu²⁺ pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,00147	0,00147	0,03	0,866
Galat	48	2,45665	0,05118		
Total	49	2,45812			

Nilai $R^2 = 0,01$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,80579	0,04491	17,94	0,000
Cu ²⁺	0,0001261	0,0007434	0,17	0,866

b. Regresi kuadrat**Analisis keragaman total**

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,03413	0,01706	0,33	0,720
Galat	47	2,42399	0,05157		
Total	49	2,45812			

Nilai $R^2 = 0,014$; R^2 (adj) = 0,00

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,82713	0,05246	15,77	0,000
Cu ²⁺	-0,002005	0,002781	-0,72	0,474
Cu ²⁺ ²	0,00001891	0,00002377	0,80	0,430

Lampiran 65. Analisis keragaman bobot kering akar tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu²⁺ 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	0,1847	0,0308	1,59	0,166
Galat	63	1,2229	0,0292		
Total	69	1,4076	0,0194		

Lampiran 66. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap bobot kering akar tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,01570	0,01570	0,79	0,378
Galat	48	0,95346	0,01986		
Total	49	0,96917			

Nilai $R^2 = 0,016$; R^2 (adj) = 0,000%

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,60826	0,02788	21,74	0,000
Cu^{2+}	-0,0004118	0,0004631	-0,89	0,378

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,03252	0,01626	0,82	0,448
Galat	47	0,93665	0,01993		
Total	49	0,96917			

Nilai $R^2 = 0,034$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,59295	0,03261	18,18	0,000
Cu^{2+}	0,001118	0,001728	0,65	0,521
Cu^{2+^2}	-0,00001357	0,00001477	-0,92	0,363

Lampiran 67. Analisis keragaman total biomasa tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	18,353	3,059	3,69**	0,003
Galat	63	52,240	1,5149		
Total	69	70,593	0,829		

Lampiran 68. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap total biomasa tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,3695	0,3695	0,43	0,517
Galat	48	41,6435	0,8676		
Total	49	42,0130			

Nilai $R^2 = 0,009$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	5,0768	0,1849	27,46	0,000
Cu^{2+}	0,001997	0,003061	0,65	0,517

b. Rregresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,4530	0,2265	0,26	0,775
Galat	47	41,5600	0,8843		
Total	49	42,0130			

Nilai $R^2 = 0,011$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	5,0427	0,2172	23,22	0,000
Cu^{2+}	0,00541	0,01151	0,47	0,641
Cu^{2+^2}	-0,00003025	0,00009842	-0,31	0,760

Lampiran 69. Analisis keragaman kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	0,15386	0,15386	22,28**	0,000
Galat	63	0,43511	0,0255		
Total	69	1,32829	0,00691		

Lampiran 70. Analisis regresi hubungan antara penambahan Cu^{2+} pada tanah pada konsentrasi 0-115 ppm terhadap kadar diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi 4 bulan

a. Regresi linier

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	1	0,00317	0,00317	0,31	0,579
Galat	48	0,48792	0,01016		
Total	49	0,49109			

Nilai $R^2 = 0,006$; R^2 (adj) = 0,000

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,73465	0,02002	36,70	0,000
Cu^{2+}	-0,0001850	0,0003313	-0,56	0,579

b. Regresi kuadrat

Analisis keragaman total

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	Nilai F	Nilai p
Regresi	2	0,081784	0,040892	4,70	0,014
Galat	47	0,409304	0,008709		
Total	49	0,491088			

Nilai $R^2 = 0,167$; R^2 (adj) = 0,131

Analisis keragaman parsial

Prediktor	Koefisien	Standar dev.	t-rasio	Nilai p
Konstanta	0,70153	0,02156	32,54	0,000
Cu^{2+}	0,003122	0,001143	2,73	0,009
$\text{Cu}^{2+ \wedge 2}$	-0,00002934	0,00000977	-3,00	0,004

Lampiran 71. Analisis keragaman total diosgenin rimpang tanaman *Costus speciosus* setelah mengalami elisitasi Cu^{2+} 0-230 ppm selama 4 bulan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	p
Perlakuan	6	0,2587	0,0431	1,68	0,141
Galat	63	1,6182	0,0153		
Total	69	1,8769	0,0257		

PEMERINTAH PROPINSI DAERAH TK. I JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN DAERAH BALAI MATERIA MEDICA

Jalan Lahor 87 Telp.593396 Batu (65313)

KOTATIF - BATU

: 073/823.A/115.21/1995

: Determinasi tanaman.

Mencukupi permintaan bantuan determinasi contoh tanaman
yang dikirim oleh :

N a m a : Ir. Susinggih Wijana MS.

S t a t u s : Mahasiswa Program S₃ Universitas Airlangga

N I M : 099311500 D

Maka bersama ini kami terangkan sebagai berikut :

Contoh tanaman tersebut adalah tanaman

P a c i n g (*Costus speciosus* (Koenig) Smith)

Batu, 11 Juni 1995

Dinas Kesehatan Daerah Prop. Dati I Jatim

Balai Materia Medica Batu

K e B a l a

Dinas Kesehatan Daerah
Balai Materia Medica
BATU MALANG

JAWA IR. BATU SUPRAPTO

Nip. 510 104 171

