

**KANDUNGAN KARBOHIDRAT DAN POLA PITA ISOZIM PADA  
VARIETAS LOKAL UBI KELAPA (*Dioscorea alata*)  
DI KABUPATEN KARANGANYAR**

TESIS

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan  
Guna Memperoleh Gelar Magister Sains  
Program Studi Biosains



Oleh :  
Sentot Budoyo  
S. 900208021

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2010**

Content of Carbohydrate and Isozyme Banding Pattern  
of Local Variety Water Yam (*Dioscorea alata*)  
at Karanganyar Regency

Sentot Budoyo, Sutarno and Sunarto  
Master of Bioscience, Post Graduate Program  
Sebelas Maret University Surakarta

**ABSTRACT**

Water Yam (*D. alata*) is one of potential tuber crops as a source of non-rice food and beneficial for health. The research aims to test the content of carbohydrate and isozyme banding pattern of Local Variety Water Yam (*D. alata*) local variety at Karanganyar Regency.

The samples was randomly took from three part of district in Karanganyar regency, that are Gondangrejo distric, Karanganyar district and Jatipuro districts. The carbohydrate content from the seven Water Yam (*D. alata*) local varieties were analyzed descriptively using *carbohydrate by different* method. The data of banding pattern isozyme was analyzed using numerical *Taxonomy and Multivariate Analyst System* (NTSYS). The matrix data was calculated based on DICE coefficient. The clusterization was conducted by UPGMA (*Unweight Pair of Group Method With Arithmetic*).

The research results show that the carbohydrate content in seven local varieties of *D. alata* from the lowest are local variety "bangkulit" 12,41 %, "beras" 15,44 %, "ireng" 16,77%, "alas" 18,865, "legi" 19,17%, "ulo" 27,065 and "cicing" 37,86%. The analysis of isozyme banding pattern shows esterase enzyme expresses 10 bands and every variety has different banding pattern on the farthest similarity range 0,53 was separated in to one ungroup individual (variety bangkulit) and one bid group (variety ireng, ulo, i beras, legi, cicing and alas) and one big group (variety ireng, ulo, beras, and legi). Shikimate dehydrogenese enzyme expresses 8 bands and every variety has different banding pattern. On the farthest 0,55 similarity range was separated into 2 groups, the first group (variety bangkulit, legi, beras and alas) and the second group (variety ulo and cicing). On 0,71 similarity range was separated into one big group (variety bangkulit, legi, ireng and beras) and three ungroup individual (variety alas, ulo and cicing). Both of the enzyme (esterase and shikimate dehydrogenese) show different banding pattern from each variety, shows that there is a genetics varieties between variety from the seven Ubi Kelapa (*D. alata*) local variety.

Keywords: Ubi Kelapa (*D. alata*), carbohydrate and Isozyme.

## KANDUNGAN KARBOHIDRAT DAN POLA PITA ISOZIM PADA VARIETAS LOKAL UBI KELAPA (*Dioscorea alata*) DI KABUPATEN KARANGANYAR

Sentot Budoyo, Sutarno dan Sunarto  
Program Studi Magister Biosains, PPS-UNS Surakarta.

### ABSTRAK

Ubi Kelapa (*Dioscorea alata*) merupakan salah satu jenis umbi-umbian potensial sebagai bahan pangan karbohidrat non beras dan bermanfaat untuk kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan karbohidrat dan pola pita isozim pada varietas lokal Ubi Kelapa (*D. alata*) di kabupaten Karanganyar.

Pengambilan sampel secara acak di tiga kecamatan kabupaten Karanganyar, meliputi kecamatan Gondangrejo, kecamatan Karanganyar dan kecamatan Jatipuro. Kandungan karbohidrat dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa (*D. alata*) dianalisis secara deskriptif dengan metode *Carbohydrate by Diffent*. Data pola pita isozim dianalisis menggunakan program *Numerical Taxonomy and Multivariate Analys System* (NTSYS). Data matrik dihitung berdasarkan koefisien DICE. Klusterisasi (pengelompokan) dilakukan dengan UPGMA (*Unweight Pair of Group Method With Arithmetic*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan karbohidrat tujuh varietas lokal Ubi Kelapa (*D. alata*) dari yang terendah adalah varietas lokal "bangkulit" 12,41%, "beras" 15,44%, "ireng" 16,77%, "alas" 18,86%, "legi" 19,17%, "ulo" 27,06% dan "cicing" 37,86%. Analisis pola pita isozim menunjukkan enzim Esterase mengekspresikan 10 pita dan tiap varietas memiliki pola pita yang berbeda. Berdasarkan enzim Esterase pada jarak kemiripan terjauh 0,53 terpisah menjadi satu individu tak berkelompok (varietas bangkulit) dan satu kelompok besar (varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas). Pada jarak kemiripan 0,72 terpisah menjadi tiga individu tak berkelompok (varietas bangkulit, varietas cicing, varietas alas) dan satu kelompok besar (varietas ireng, varietas ulo, varietas beras dan varietas legi). Enzim Shikimate dehydrogenase mengekspresikan 8 pita dan tiap varietas memiliki pola pita yang berbeda. Berdasarkan enzim Shikimate dehydrogenase pada jarak kemiripan terjauh 0,55 terpisah menjadi dua kelompok. Kelompok satu (varietas bangkulit, varietas legi, varietas ireng, varietas beras dan varietas alas), kelompok dua (varietas ulo dan varietas cicing). Pada jarak kemiripan 0,71 terpisah menjadi satu kelompok besar (varietas bangkulit, varietas legi, varietas ireng dan varietas beras) dan tiga individu tak berkelompok (varietas alas, varietas ulo dan varietas cicing). Kedua enzim (Esterase dan Shikimate dehydrogenase) menunjukkan pola pita yang berbeda dari masing-masing varietas, yang menunjukkan bahwa terdapat keragaman genetik antar varietas dari ke tujuh varietas lokal Ubi Kelapa (*D. alata*).

Kata kunci: Ubi Kelapa (*D. alata*), Karbohidrat dan Isozim.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Sumber daya alam hayati dari jenis tumbuh-tumbuhan yang ada di Indonesia sangat melimpah, sebagai sumber plasma nutfah yang dapat digunakan untuk pemenuhan berbagai kebutuhan hidup, utamanya kebutuhan pangan. Berbagai jenis tanaman baik yang telah dibudidayakan ataupun tumbuh liar telah dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan gizi maupun dimanfaatkan untuk kebutuhan yang lain di masyarakat.

Di negara-negara berkembang lebih kurang 80 % energi makanan berasal dari karbohidrat, sedangkan di negara maju rata-rata 50 %. Hal ini menunjukkan bahwa masyarakat di negara berkembang memiliki ketergantungan sangat besar pada tumbuh-tumbuhan untuk pemenuhan energi. Karbohidrat merupakan sumber kalori utama bagi hampir seluruh penduduk dunia, khususnya di negara berkembang. Selain sebagai sumber energi, karbohidrat berfungsi untuk : memperbaiki sistem pencernaan dengan adanya serat makanan (dietary fiber), mencegah timbulnya ketosis (pemecahan protein tubuh yang berlebihan), berguna dalam metabolisme protein dan lemak dan untuk menentukan karakteristik bahan makanan misalnya rasa, warna dan tekstur (Winarno, 2004).

Penyediaan bahan pangan sumber karbohidrat sampai saat ini sangat bergantung pada beras. Perlu disadari bahwa ada kalanya terjadi penurunan hasil panen padi karena berbagai sebab, misalnya adanya serangan hama dan penyakit, kekeringan atau yang terus terjadi sekarang adalah makin menurunnya lahan pertanian yang produktif menjadi kawasan industri dan pemukiman penduduk. Oleh karena itu perlu dilakukan tindakan untuk memperkuat ketahanan pangan dengan tetap

mengusahakan peningkatan produksi beras domestik seiring dengan upaya pengembangan bahan pangan sumber karbohidrat non beras (Suryana, 2003).

Umbi–umbian merupakan alternatif yang dapat dijadikan sumber bahan pangan yang mengandung karbohidrat, mempunyai potensi strategis sebagai salah satu cadangan bahan pangan di waktu mendatang, tetapi peranan umbi–umbian dalam konsumsi pangan terasa makin menurun seiring dengan pola konsumsi masyarakat yang terfokus pada beras (Sri Widodo dkk, 1996).

Umbi–umbian sebagai salah satu sumber karbohidrat cukup potensial dan strategis sebagai cadangan makanan non beras di masa mendatang. Tetapi sampai saat ini pemanfaatannya terasa menurun seiring dengan pola makan masyarakat yang lebih mengutamakan beras. Ketergantungan terhadap bahan pangan beras dapat diperlonggar jika ada kemauan dan kemampuan masyarakat dan pemerintah untuk tidak hanya bergantung pada beras. Diperlukan keuletan dan kreatifitas untuk mengolah bahan non beras menjadi produk yang menarik dan berkualitas atau justru lebih tinggi dari beras. Umbi – umbian dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan komplemen beras (Hendroatmojo, 1999).

Penyeragaman pangan dalam wujud beras, selain mengabaikan kearifan tradisional dan masyarakat lokal, dapat menyebabkan kerawanan pangan ditingkat petani serta terancamnya keanekaragaman hayati. Jika terjadi hilangnya suatu varietas lokal maka hilang juga pengetahuan yang mengikutinya (Francis dkk, 2005). Oleh karena itu perlu ada usaha untuk melestarikan sumber-sumber keanekaragaman hayati.

Untuk mendukung program pemerintah dalam rangka tetap terciptanya ketahanan pangan nasional, maka perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan pemanfaatan sumber–sumber bahan pangan non beras dari umbi–umbian. Tanaman umbi–umbian yang sudah dimanfaatkan untuk bahan pangan antara lain Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*), Ubi Kayu (*Mannihot esculenta*). Kedua jenis ini mendapat prioritas

dalam pengembangan budidayanya. Sehingga kedua jenis umbi tersebut dikelompokkan dalam umbi–umbian mayor. Kelompok yang lain adalah umbian–umbian minor, misalnya : Talas (*Colocasia esculenta*), Garut (*Marantha arundinacea*), Ganyong (*Canna edulis*), Suweg (*Amorphophallus companulatus*), gembili (*Dioscorea esculenta*), Ubi Kelapa (*Dioscorea alata*) dan umbi–umbian lain belum mendapat perhatian serius. Meskipun tidak mendapat prioritas sebagai sumber bahan pangan, namun umbi–umbian tersebut mempunyai potensi sebagai sumber karbohidrat, tetapi karena sifat budidayanya hanya merupakan usaha tani sampingan dan adanya usaha untuk terus mengembangkan jenis tanaman baru yang lebih kompetitif, maka keberadaannya dilapangan semakin tersisih.

Ubi Kelapa merupakan salah satu jenis *Dioscorea* yang paling digemari karena rasanya yang enak dan dapat dijadikan tepung untuk diolah menjadi berbagai produk makanan olahan untuk mengurangi kejemuhan. Ubi kelapa lebih memerlukan kondisi tanah yang gembur dan tidak banyak memerlukan air, tidak seperti pada budidaya tanaman pangan lainnya yang memerlukan kondisi tanah dan lingkungan khusus agar dapat tumbuh dan hasil yang baik. (Balitbang Deptan, 2005). Masyarakat pedesaan yang masih melestarikan Ubi Kelapa pada umumnya menanam diantara pepohonan baik di sawah atau di kebun pekarangan. Tanaman Ubi Kelapa dapat tumbuh di tanah yang kurang zat hara. Sehingga sangat disayangkan jika lahan yang masih sela atau lahan tidak produktif dibiarkan, karena dapat ditanami jenis tertentu seperti halnya Ubi Kelapa.

Permasalahan yang dihadapi dalam pemanfaatan tanaman umbi–umbian sebagai sumber pangan komplemen beras antara lain : budaya ketergantungan terhadap satu jenis makanan pokok (beras), kurangnya informasi tentang kandungan zat makanan dalam umbi–umbian, keterbatasan informasi tentang sifat–sifat unggul dan relatif tahan terhadap hama dan penyakit. Oleh karena itu pemuliaan tanaman

mempunyai peran yang sangat penting dan perlu dilakukan sebagai bagian dari pelestarian keanekaragaman hayati.

Keberhasilan program pemuliaan tanaman dipengaruhi ketersediaan plasma nutfah yang mencukupi baik jumlah maupun keragaman genetiknya. Koleksi tanaman perlu dilakukan agar suatu varietas tidak punah dan menjadi sumber genetik dalam menciptakan atau merakit varietas unggul yang baru (Basuki, 1995 dalam Edi Purwanto 2002).

Pemuliaan suatu tanaman memerlukan data yang berkaitan dengan tanaman yang bersangkutan, antara lain data tentang morfologi, kandungan zat makanan, senyawa kimiawi atau data molekulernya. Morfologi suatu tanaman pada umumnya meliputi bagian akar, batang, daun, bunga biji dan bagian lain sebagai bentuk modifikasinya. Kandungan zat makanan dapat dilakukan pengujian terhadap organ-organ tanaman misalnya biji, buah dan umbi. Sedangkan penggunaan data molekulernya dapat dengan penanda isozim. Penggunaan penanda isozim sudah banyak diterapkan dalam penelitian tanaman dan memiliki kelebihan antara lain : bersifat stabil karena tidak dipengaruhi lingkungan, lebih cepat dan akurat karena tidak menunggu sampai tanaman berproduksi dan biaya relatif terjangkau jika dibanding dengan penggunaan penanda DNA (Cahyarini dkk, 2004).

Isozim adalah enzim yang merupakan produk langsung dari gen yang memiliki molekul aktif dan struktur kimia berbeda tetapi mengkatalis reaksi kimia yang sama. Enzim ini merupakan protein biokatalisator untuk proses – proses fisiologis yang pengadaan dan pengaturannya dikendalikan secara genetik. Isozim dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari keragaman individu dalam satu populasi, klasifikasi jenis tanaman, identifikasi kultivar dan hibridnya, penanda ketahanan terhadap penyakit tertentu (Na'im, 1996). Dengan digunakannya penanda isozim dapat untuk mengetahui seberapa kedekatan genetik dari keragaman suatu organisme.

Keragaman genetik tidak hanya pada keragaman plasma nutfah secara fisik, tetapi juga sejauh mana keragaman genetik diperlukan untuk perakitan varietas yang diinginkan melalui pemuliaan tanaman.

Kabupaten Karanganyar merupakan bagian dari Propinsi Jawa Tengah, berada di sebelah barat Gunung Lawu. Letak geografisnya antara 110° 40' s/d 110° 70' Bujur Timur dan 7° 28' s/d 7° 46' Lintang Selatan. Ketinggian rata – rata 511 dpl, curah hujan rata- rata dalam setahun sebesar 2.101 mm, beriklim tropis dengan suhu rata – rata 22 °C s/d 31 °C (Bappeda-BPS Kabupaten Karanganyar)

Kabupaten Karanganyar memiliki potensi dibidang industri, pertanian dan pariwisata. Tenaga kerja 2/3 bekerja disektor pertanian, tetapi potensi bidang pertanian belum dikelola secara optimal. Demikian pula belum ada dukungan yang signifikan dari sektor pendidikan yang terkait dengan sektor pertanian. Program pembangunan sektor pertanian belum terarah dan cenderung tidak terpola secara baik (Taufik Mulyadi, 2007).

Berdasarkan data dinas pertanian propinsi Jawa Tengah untuk kabupaten Karanganyar, produktivitas tanaman pangan yang dimuat hanya dari kelompok biji-bijian (padi, jagung, kacang-kacangan) dan kelompok umbi mayor yaitu ubi kayu dan ubi jalar. Kedua jenis umbi ini telah dibudidayakan secara luas dan menjadi tanaman komoditas perdagangan. Data dinas pertanian tidak memuat tentang produktivitas umbi-umbian minor (<http://www.karanganyarkab.go.id>). Umbi-umbian merupakan sumber karbohidrat penting setelah beras dan kelompok biji-bijian yang lain, tetapi sampai saat ini umbi-umbian yang populer dikembangkan hanyalah ubi kayu dan ubi jalar. Umbi-umbian minor mempunyai jenis dan jumlah yang sangat beragam namun belum dimanfaatkan secara optimal (Titi C. dkk, 2004).

Di kabupaten Karanganyar dapat ditemukan beberapa jenis tanaman dari kelompok umbi-umbian minor. Dari jenis *Dioscorea* antara lain Gadung (*D. hispida*), Ubi Kelapa (*D. alata*), Gembili (*D. esculenta*), dan Gembolo (*D. bulbifera*) *D.*

*alata* memiliki varietas yang lebih banyak dari *Dioscorea* yang lain. Walaupun jenis tanaman tersebut masih dapat ditemukan tetapi keberadaannya semakin tersisihkan dan bahkan dibiarkan tumbuh liar. Padahal umbi-umbian memiliki potensi yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan manusia. Di daerah yang memiliki potensi umbi-umbian sangat cocok untuk dikembangkan agroindustri berbasis tepung umbi-umbian. Ini diharapkan dapat meningkatkan pendapatan petani, membuka peluang kerja dan tumbuh berkembangnya usaha produk berbasis tepung. Teknologi ini hemat air sehingga sangat cocok dikembangkan di daerah marginal (Sri Widowati dan Nurnina, 2004).

Penggalian informasi tentang tanaman tersebut perlu dilakukan antara lain tentang keragaman, budidaya, kandungan zat, diversifikasi manfaat dan data morfologi bahkan data molekulernya. Dengan demikian keberadaan umbi-umbian *Dioscorea* dapat lebih ditingkatkan pemanfaatannya.

## **B. Rumusan Masalah**

Dalam penelitian ini rumusan masalah sebagai berikut :

1. Berapakah kandungan karbohidrat pada varietas lokal Ubi Kelapa yaitu varietas bangkulit, varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas di kabupaten Karanganyar ?
2. Bagaimanakah pola pita isozim varietas lokal Ubi Kelapa yaitu varietas bangkulit, varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas di kabupaten Karanganyar ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Kandungan karbohidrat pada varietas lokal Ubi Kelapa yaitu varietas bangkulit, varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas di kabupaten Karanganyar.
2. Pola pita isozim varietas lokal Ubi Kelapa yaitu varietas bangkulit, varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas di kabupaten Karanganyar.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. Memberi informasi tentang kandungan karbohidrat pada beberapa varietas lokal Ubi Kelapa.
2. Memberi informasi tentang pola pita isozim pada varietas lokal Ubi Kelapa.
3. Memberi informasi tentang varietas Ubi Kelapa yang potensial sebagai sumber karbohidrat komplemen beras.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Taksonomi Ubi Kelapa

Ubi Kelapa (*Dioscorea alata*) merupakan tumbuhan yang menghasilkan umbi, hidup semusim dan merambat. Taksonomi *D. alata* sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Liliales
Familia	: Dioscoreaceae
Genus	: Dioscorea
Spesies	: <i>Dioscorea alata</i> (Tjitrosoepomo, 2002)

Ubi Kelapa (*D. alata*) memiliki nama lain *D. atropurpurea* Roxb., *D. globosa* Roxb, *D. vulgaris* Miquel. Juga beberapa nama daerah antara lain : Uwi (Jawa), Huwi (Sunda), Obi (Madura), Ubi (Sumatera / Melayu), Same (Sulawesi Selatan), Lutu (Kepulauan Maluku) (Heyne, 1988). Tumbuhan *D. alata* dalam bahasa Inggris disebut Greater Yam, Water Yam dan Ten-Months-Yam. Di Indonesia dikenal dengan nama Ubi Kelapa. Sedangkan masyarakat Kalimantan menyebutnya Ubi Alabio (Balitbang Deptan, 2005).

Tujuh Spesies *Dioscorea* terdapat di Indonesia yaitu *D. hispida*, *D. pentaphylla*, *D. esculenta*, *D. bulbifera*, *D. keduensis*, *D. alata*, dan *D. numularia* (Backer 1968). Ubi Kelapa memiliki varietas lokal yang lebih banyak dari spesies lainnya. Telah dilakukan penelitian tentang keragaman morfologi tujuh varietas lokal Ubi Kelapa di Bantul dan Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta (Purnomo dkk, 2007). Nama varietas lokal Ubi Kelapa didasarkan pada karakter yang tampak pada umbi

dalam hal bentuk, besar dan warna umbi (Steenis, 2003). Tumbuhan ini termasuk dalam kelompok tanaman umbi-umbian sebagai sumber karbohidrat yang potensial.

### **B. Morfologi Ubi Kelapa**

Diskripsi Ubi Kelapa sebagai berikut : tumbuhan semusim, membelit ke kanan , panjang batang mencapai 10 meter, tidak berduri tetapi ada yang berbintik di bagian dasar, batang bersudut empat bersayap nyata, warna hijau atau keunguan, sering kali ada umbi di ketiak daun. Daun tunggal, bertulang daun melengkung, 7 – 9 tulang daun, warna daun hijau atau keunguan, helaian daun bulat telur dengan pangkal berbentuk jantung dan ujung meruncing panjang, bertulang daun melengkung, sistem perakaran serabut. Bunga berbentuk bulir, bunga jantan bulir rapat, bunga betina bulir tidak rapat, perbungaan bulan Mei – Juni, biji pipih membulat sekelilingnya bersayap. Umbi di bawah tanah memiliki bentuk dan ukuran bervariasi, kulit umbi coklat sampai hitam, daging putih, krem atau keunguan (Steenis, 2003).

### **C. Distribusi dan Budidaya Ubi Kelapa**

Ubi Kelapa berasal dari Asia kemudian menyebar ke Asia Tenggara, India, Semenanjung Malaya dan Kepulauan Pasifik. Tanaman ini tumbuh baik mulai dari dataran rendah hingga ke ketinggian 800 m dpl, tetapi juga dapat tumbuh pada ketinggian 2700 m dpl (Balitbang Deptan, 2005).

Dalam hal budidayanya, tanaman ini diperbanyak dengan potongan umbi yang bermata tunas. Tanah digemburkan sebaik mungkin, cabang- cabang batang yang tumbuh disisi batang induk dikurangi karena dapat mengkuruskan umbi. Panen dapat dilakukan setelah 7-9 bulan setelah tanam, ditandai dengan menguningnya daun yang berarti umbi telah masak (Heyne, 1998). Masyarakat pada umumnya menanam pada awal musim hujan.

Ubi Kelapa dapat tumbuh baik dengan hasil umbi yang maksimal jika ditanam pada tanah yang gembur dan tidak terendam air. Tanah yang padat menghalangi proses perkembangan umbinya. Hal ini sesuai dengan penelitian (Sri Widodo dkk, 1996) bahwa cara tanam dengan membuat lubang tanam atau digemburkan memberi hasil yang lebih tinggi daripada cara tanam cangkul setempat yaitu sebesar 24,4 % - 35,6 %. Dapat ditanam secara monokultur atau tumpang sari. Pada daerah yang kurang baik untuk tanaman padi, penanaman *D. alata* dilakukan secara monokultur, seperti yang telah dikembangkan oleh Balai Penelitian Pertanian Lahan Rawa di Kalimantan Selatan. (Balitbang Deptan, 2005). Sedangkan di daerah yang cocok untuk tanaman padi seperti di Jawa umumnya secara tumpang sari.

#### **D. Manfaat Ubi Kelapa**

Ubi kelapa merupakan salah satu jenis *Dioscorea* yang paling digemari karena rasanya yang enak. Ubi kelapa dapat menjadi bahan makanan yang aman bagi penderita diabetes karena kadar gula rendah tetapi terdapat kandungan karbohidrat. Dari umbi ini umumnya dikonsumsi dengan cara direbus, dikukus atau digoreng. Tetapi dapat juga dilakukan diversifikasi menjadi berbagai produk makanan olahan dengan lebih dulu dibuat menjadi tepung. Pengolahan menjadi tepung tidak memerlukan proses yang rumit, bahkan dapat secara tradisional. Ubi diparut kemudian direndam dengan air kapur untuk memisahkan parutan dari getahnya, dikeringkan dan menjadi tepung uwi. Rasa tepungnya tawar sehingga mudah divariasikan. Dari tepung uwi dapat dibuat aneka kue dan mie. Sedangkan getahnya dapat dipakai sebagai pestisida yang ramah lingkungan (Zainal Arifin, 2008).

Produk setengah jadi dapat dikomersialkan dalam bentuk chip kering atau tepung. Nilai rendemennya menentukan nilai tambah usaha agroindustri chip kering dan

tepung yang dihasilkan. Perbandingan chip kering dan tepung ubi kelapa adalah 12,02 % dan 11,80 %, ini lebih rendah dari ubi jalar tetapi lebih tinggi dari gadung (*Dioscorea hispida*). Dapat untuk substitusi tepung terigu sebagai bahan pembuatan kue hingga 20 % (Suismono, 2008). Pada jenis *Dioscorea* lain yaitu *D. hispida*, *D. esculenta* dan *D. bulbifera* telah menjadi bagian dari makanan pokok masyarakat adat Talang Mamak Taman Nasional Bukit Tiga Jambi (Mangasa Siagian dan Fransiska Murti, 2004)

Dalam perkembangannya, pemanfaatan umbi *Dioscorea* tidak hanya berkaitan dengan produk olahan menjadi berbagai bahan makanan. Salah satu jenis lokal yaitu varietas ungu dengan umbi berwarna ungu dimanfaatkan masyarakat untuk obat thypus. Umbinya dapat diekstrak untuk mendapatkan senyawa diosgenin yaitu sejenis senyawa saponin yang merupakan prekursor dalam sintesis hormon steroid sebagai bahan baku kontrasepsi (Suismono, 2008). Juga senyawa yang dihasilkan dapat memicu tersedianya DHEA dalam tubuh. DHEA (Dehydroepiandrosterone) yaitu bahan baku hormon seperti androgen, testoteron, progesteron dan estrogen dan jenis hormon yang lain.

Pada umbi-umbian minor lain telah dikembangkan menjadi produk yang inovatif. Ganyong (*Canna edulis*) telah dilakukan penelitian untuk diolah menjadi Bioetanol dengan lebih dulu dikonversi menjadi pati ganyong (Lily Surayya, 2008). Umbi talas (*Colocasia esculenta*) juga dapat menghasilkan Bioetanol. Sebanyak 8,7 kg tepung *Colocasia esculenta* dapat menghasilkan 1006 ml etanol (Endah Retno dkk, 2008). Sementara Nurul Izzati dkk, 2006, melaporkan bahwa rendemen Bioetanol yang dihasilkan dari ubi jalar dengan kondisi optimum adalah 136 ml/kg ubi jalar.

## E. Karbohidrat

Karbohidrat adalah senyawa yang mengandung unsur C, H dan O. Terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan yaitu kira – kira 75 %, disamping itu bagian yang padat dari tanam-tanaman juga tersusun dari zat ini. Dinamakan karbohidrat karena senyawa ini sebagai hidrat dan karbon, dalam senyawa tersebut perbandingan antara H dan O sering 2 berbanding 1 (Hamidjojo, 2005)

Karbohidrat merupakan sumber kalori utama bagi sebagian besar penduduk dunia, khususnya bagi penduduk negara berkembang. Jumlah kalori yang dihasilkan dari 1 gram karbohidrat sebanyak 4 kkal. Jika dibanding dengan protein dan lemak, karbohidrat adalah sumber kalori yang murah. Karbohidrat menghasilkan serat (dietary fiber) yang berguna untuk pencernaan, berperan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalkan rasa, warna dan tekstur. Di dalam tubuh karbohidrat berfungsi mencegah timbulnya ketosis (pemecahan protein yang berlebihan), kehilangan mineral dan membantu metabolisme lemak dan protein. Cara yang mudah dan murah untuk mendapatkan karbohidrat adalah dengan mengekstraknya dari bahan-bahan nabati sumber karbohidrat yaitu sereal atau umbi-umbian. (Winarno, 2004).

Untuk mengetahui kandungan karbohidrat dari sebagian jenis bahan makanan dapat dilihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Daftar kadar karbohidrat beberapa umbi - umbian

Bahan makanan	Karbohidrat (%)
1. Cintel	73,0
2. Gadung	23,3
3. Ganyong	22,6
4. Gembili	22,4
5. Jagung putih	63,6
6. Suweg	15,7
7. Tales	23,7
8. Ubi jalar putih	27,9
9. Ubi jalar merah	27,9
10. Uwi	19,8

Sumber : Kam Nio, 1995

Karbohidrat dapat dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan jumlah unit gula dan dengan sifat-sifatnya terhadap zat penghidrolisis, yaitu :

1. Gula sederhana (Monosakarida) ; yaitu senyawa yang mengandung enam atau lima atom karbon. Monosakarida tidak terhidrolisis menjadi lebih sederhana lagi, tetapi hasil dari hidrolisis dari tiga golongan yang lain. Monosakarida merupakan senyawa yang tidak berwarna, mempunyai rasa manis dan berbentuk kristal dan larut dalam air. Salah satu jenis monosakarida yang penting adalah glukosa atau gula yang memiliki enam atom karbon, dengan rumus kimia yaitu  $C_6H_{12}O_6$ . Glukosa merupakan monosakarida yang paling umum dan senyawa organik yang paling banyak terdapat di alam.
2. Oligosakarida ; yaitu senyawa yang berisi dua atau lebih gula sederhana yang dihubungkan oleh pembentukan asetal antara gugus aldehid atau keton dengan gugus hidroksil. Jika dua gula sederhana digabung akan menjadi disakarida, tiga gula sederhana digabung menjadi trisakarida. Ikatan penghubung bersama – sama gula ini disebut glikosida. Senyawa ini juga larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol dan tidak larut dalam eter. Ikatan glikosida dapat terhidrolisis oleh asam encer menghasilkan komponen monosakarida. Disakarida yang banyak terdapat di alam adalah sukrosa, laktosa dan maltosa.
3. Polisakarida ; yaitu senyawa yang terdiri atas banyak ikatan gula sederhana yang dihubungkan dalam ikatan glikosida. Polisakarida meliputi : pati, selulosa dan dekstrin, merupakan substansi yang amorph yang sebagian tidak larut dalam air dan tidak berasa (Hamidjojo, 2005).

Kebanyakan karbohidrat yang ditemukan di alam terdapat sebagai polisakarida. Beberapa polisakarida berfungsi sebagai bentuk penyimpan monosakarida.

Polisakarida yang penting di alam adalah pati. Pada tumbuhan banyak terdapat pada golongan umbi–umbian dan biji–bijian.

## F. Isozim

Penggunaan penanda biokimia yang dikenal dengan nama isozim telah digunakan secara luas sejak beberapa dekade yang lalu. Analisis isozim digunakan untuk melakukan investigasi genetik bagi sejumlah besar organisme mulai dari lalat buah, tanaman liar, tanaman budidaya hingga manusia. Isozim merupakan enzim yang memiliki bentuk berbeda tetapi memiliki fungsi identik. Enzim adalah protein yang memiliki fungsi dalam pengendalian seluruh reaksi kimia. Enzim juga mempunyai sifat mampu meningkatkan kecepatan reaksi kimia tanpa ikut bereaksi (Na'iem, 2000). Isozim atau allozim adalah suatu enzim yang mempunyai bentuk molekul berbeda–beda tetapi mempunyai aktifitas katalitik yang sama dari suatu jaringan atau organ. (Suranto, 2000).

Isozim adalah berbagai bentuk molekuler suatu jenis enzim dari jaringan suatu organisme yang mempunyai daya katalis sama. Produksi isozim dikontrol oleh gen yang berbeda dalam mengontrol suatu aktivitas metabolisme. Isozim dapat dideteksi dan diisolasi, sehingga dapat digunakan sebagai markah biokimia untuk membedakan mahluk hidup (Buang Abdullah, 2001).

Di dalam satu spesies, jaringan yang sama atau dalam sel yang sama terdapat banyak enzim dengan lebih dari satu bentuk molekul. Pada kasus seperti ini bentuk enzim yang berbeda mengkatalis reaksi yang sama, enzim – enzim tersebut berbeda dalam sifat kinetiknya dan dalam komposisi atau sekuen asam amino. Enzim – enzim tersebut dapat dibedakan dan dipisahkan dengan prosedur yang sesuai. Bentuk enzim yang bervariasi disebut isoenzim atau isozim (Lehninger, 1990).

Penggunaan data isozim merupakan salah satu pendekatan untuk mengetahui jarak genetik dan hubungan kekerabatan makhluk hidup. Isozim memiliki beberapa karakteristik dan keuntungan (Brown dan Weir, 1983; Pasteur *et al.*, 1988; dan Bar, 1992 dalam Hadiati, 2002 ) antara lain : 1) produk dari alel yang berbeda bergerak pada posisi yang berbeda dalam gel, 2) alel yang berbeda biasanya diwariskan secara kodominan , bebas dari epistasis, sehingga individu homozigot dapat dibedakan dari heterozigot, 3) seringkali posisi pita merupakan produk dari suatu lokus sehingga memungkinkan untuk mendeteksi jumlah gen yang mengkode suatu enzim dengan menganalisis pola pita dari enzim tersebut, 4) peralatan dan bahan yang digunakan relatif tidak mahal, 5) jumlah sampel yang banyak dapat dianalisis dalam waktu singkat, 6) dapat dilakukan pada fase bibit sehingga menghemat waktu, tempat dan biaya. Menurut Na'iem (2000), penggunaan data isozim memiliki beberapa keuntungan antara lain : 1) isozim tidak dipengaruhi oleh lingkungan, 2) isozim dapat diidentifikasi dengan materi dari berbagai jaringan tanaman, 3) isozim dapat digunakan mendeteksi adanya mutan secara lebih akurat dibanding berdasarkan kenampakan morfologis.

Isozim dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari keragaman individu dalam satu populasi, klasifikasi jenis tanaman, identifikasi kultivar atau hibridnya (Na'iem, 1996). Penggunaan data genetik atau isozim telah dilakukan untuk pemuliaan tanaman maupun hewan. Penggunaan data isozim terhadap tanaman antara lain telah dilakukan untuk mengkarakterisasi dan pengelompokkan sebelas spesies *Ranunculus* sp (Suranto, 2001), mengidentifikasi keragaman Plasma Nutfah jeruk besar (Edi Purwanto dkk, 2002), mengidentifikasi keragaman genetik varietas kedelai lokal (Cahyarini, 2004). Sedangkan penggunaan data isozim terhadap hewan telah dilakukan oleh Wigati dkk (2002) dalam penelitiannya untuk mengetahui variasi genetik pada spesies ikan Anggoli.

Alat yang digunakan untuk memisahkan molekul enzim dalam suatu campuran adalah elektroforesis. Alat ini bekerja di bawah pengaruh medan listrik. Molekul terlarut dalam medan listrik bergerak dengan kecepatan yang ditentukan oleh rasio muatan dan massa. Elektroforesis dengan gel akrilamid dapat digunakan untuk pemisahan, identifikasi dan pemurnian protein (Sudjadi, 2008). Teknik elektroforesis dengan gel akrilamid dapat untuk memisahkan protein (enzim) tanaman yang kemudian dianalisis dengan ke dalam pola pita yang dapat dilihat melalui pewarnaan atau staining (Suranto, 2002).

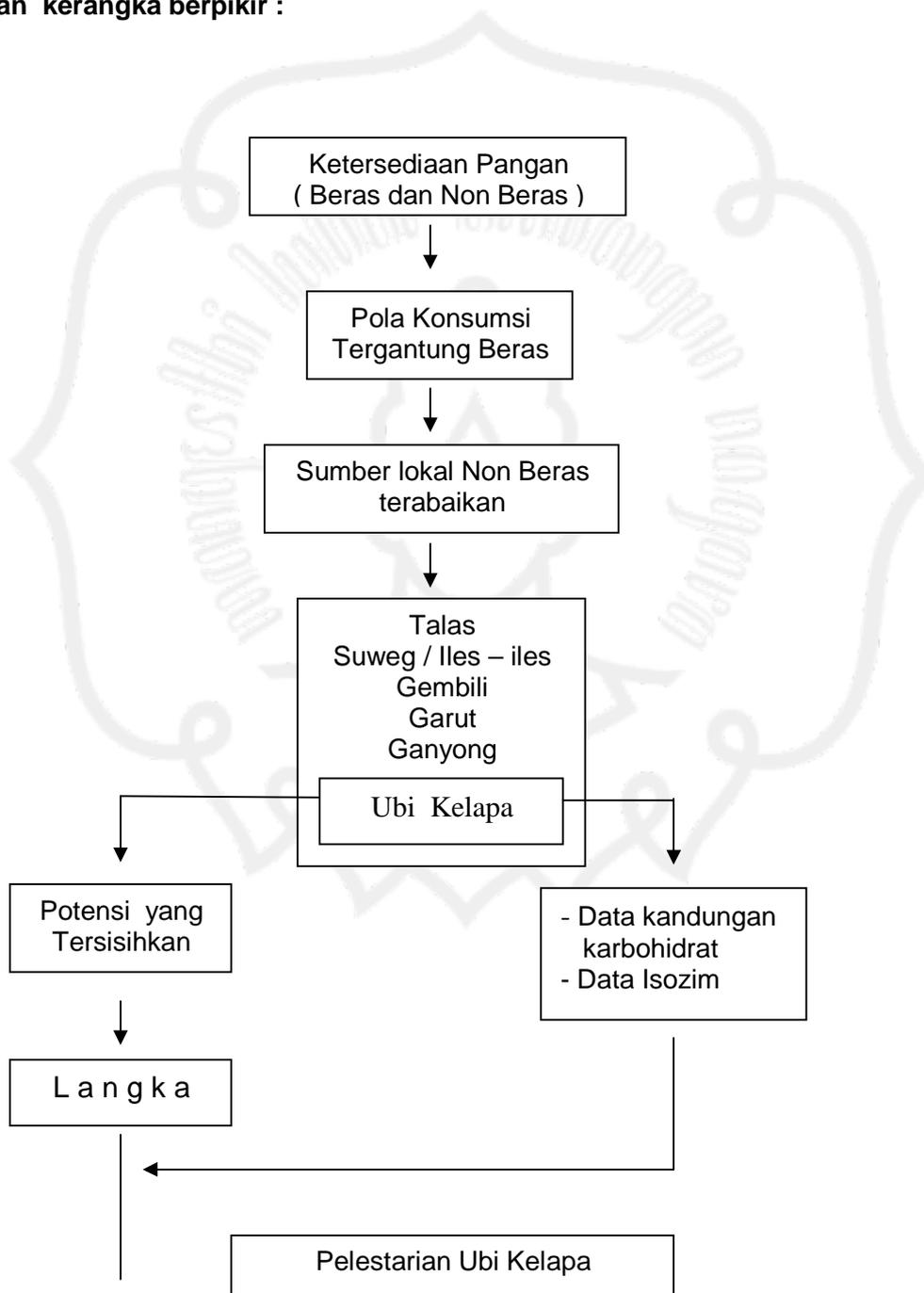
Elektroferesis merupakan proses dimana molekul enzim yang telah teraliri listrik bergerak melalui suatu medan listrik. Perbedaan ion-ion pada molekul enzim menyebabkan perbedaan kecepatan migrasi. Perbedaan kecepatan migrasi digunakan untuk memisahkan campuran ion. Migrasi partikel bermuatan pada medan listrik tergantung pada : 1) sifat partikel/molekul, 2) besar kecilnya medan listrik, 3) larutan penyangga (buffer). Fungsi larutan buffer adalah untuk mempertahankan pH medium penyangga dan sebagai elektrolit yang dapat dilalui aliran listrik (Na'iem, 2000).

## **G. KERANGKA PEMIKIRAN**

Dampak dari kebijaksanaan pembangunan bidang pertanian untuk tercukupinya produksi beras telah menyebabkan kecenderungan di masyarakat terhadap pola konsumsi bahan pangan yang hanya bersumber pada beras. Hal ini berlanjut pada semakin tersisihnya sumber-sumber pangan dari kelompok umbi-umbian, khususnya umbi-umbian minor sebagai sumber pangan tradisional / lokal. Jika tidak ada kearifan untuk tetap memanfaatkannya sebagai bahan pangan komplemen beras, maka dimungkinkan tanaman umbi-umbian lokal akan tersisihkan dan dapat menjadi langka,

menunggu waktu untuk punah. Perlu dilakukan pemuliaan terhadap tanaman Ubi Kelapa agar dapat menjadi salah satu sumber pangan komplementer dan terpelihara sebagai salah satu sumber keragaman hayati. Untuk itu perlu penggalian informasi tanaman ini baik keragaman, klasifikasi, kandungan zat, pemanfaatannya atau data kimia / genetiknya.

**Bagan kerangka berpikir :**





Gambar 1. Bagan Kerangka Berpikir



### **BAB III**

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan bulan Pebruari – Juli 2009. Pengambilan sampel tanaman secara acak di tiga wilayah kecamatan di kabupaten Karanganyar yaitu kecamatan Gondangrejo, kecamatan Karanganyar dan kecamatan Jatipuro. Peta wilayah pengambilan sampel dapat dilihat pada lampiran 7. Pengujian kandungan karbohidrat di Laboratorium Pangan dan Gizi Fakultas Pertanian UNS. Pengujian Isozim di Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Kehutanan UGM Yogyakarta.

### **B. Bahan dan Alat**

#### **1. Bahan**

Bahan tanaman yang digunakan adalah tujuh varietas lokal Ubi Kelapa yaitu varietas bangkulit, varietas ungu, varietas ulo, varietas legi, varietas beras, varietas cicing dan varietas alas. Nama varietas lokal tersebut diberikan oleh masyarakat di wilayah pengambilan sampel berdasarkan karakter umbinya. Uji kandungan karbohidrat terhadap umbi yang sudah tua. Uji pola pita isozim terhadap daun muda tanaman Ubi Kelapa, ini bertujuan untuk memudahkan dalam proses ekstraksi.

#### **2. Bahan dan alat kimia percobaan**

a. Bahan kimia untuk uji kandungan zat makanan :

- 1) Uji protein :  $H_2SO_4$ , campuran selen,  $ScO_2$ , alkohol 95%, NaOH 45%,  $H_3BO_3$  4 %,  
inkator campuran (MR dan BCG), Hcl 0,1 M, butir Zn
- 2) Uji lemak : Etanol, Hcl, dietyl eter, petrolium eter 40 - 60%, amoniak,  $NH_4OH$   
0,880

b. Alat untuk uji kandungan zat makanan :

- 1) Uji protein : tabung Kjeddhal, destilator, labu destilasi, erlenmeyer, gelas ukur, Buret.
- 2) Uji lemak : Penangas air dan uap , labu lemak, timble, oven, neraca analitik
- 3) Uji kadar air : eksikator, oven, neraca analitik
- 4) Uji kadar abu : krus porselin, muffle, neraca analitik.

c. Bahan kimia untuk uji pola pita isozim :

Bahan kimia yang digunakan adalah buffer ekstrak, gel poliakrilamid, buffer elektroda, pewarna Esterase (EST) dan pewarna Shikimate dehydrogenase (ShDH).

d. Alat elektroforesis :

Alat yang digunakan untuk pelaksanaan elektroforesis adalah mortal, cawan porselen, bak kristal es, Freezer, sentrifuge, ependorf, mikropipet, neraca analitik, pipet volumetrik, gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, magnetik Stirrer, pompa vakum, stepper, electroforesis power supply, alat electroforesis tipe vertikal, sisir sampel, temperatur sirkulator, pemotong gel, nampan plastik, penunjuk waktu

### **C. Tata Laksana Penelitian.**

#### **1. Pengujian kadar karbohidrat**

Untuk mengetahui kadar karbohidrat lebih dulu dilakukan pengujian kadar protein, lemak, kadar air dan kadar abu (Sudarmaji dkk, 2007). Setelah diketahui masing-masing, maka kadungan karbohidrat ditentukan dengan metode *Carbohydrate by different* yaitu 100 % - kadar protein, lemak, air dan abu.

a. Pengujian kadar protein

- 1). Menimbang 1 gr bahan yang telah dihaluskan dan kering dimasukkan ke dalam labu Kjeldhal, kemudian menambahkan 7,5 gr  $K_2S_2O_4$ , 0,35 gr HgO dan 15 ml  $H_2SO_4$
- 2) Memanaskan labu Kjeldhal dalam almari asam sampai berhenti berasap. Pemanasan diteruskan sampai mendidih dan cairan menjadi jernih. Pemanasan diteruskan sampai sekitar satu jam. Pemanasan dihentikan dan dibiarkan dingin.
- 3). Menambahkan 100 ml akuades dan beberapa butir Zn, 15 ml larutan  $K_2SO_4$  % dan 50 ml NaOH 50 %.
- 4). Memasang labu Kjeldhal pada alat distilasi, memanaskan perlahan sampai cairan bercampur kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih.
- 5). Distilat ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml larutan HCl 0,1N dan 5 tetes indikator metil merah. Distilasi dilakukan sampai distilat tertampung sebanyak 75 ml.
- 6). Distilat dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berwarna kuning.
- 7). Membuat larutan Blanko dengan cara mengganti bahan dengan akuades kemudian dilakukan destruksi, distilasi dan titrasi.

Penghitungan kadar protein :

$$\% \text{ protein} = \frac{(\text{ml NaOH Blanko} - \text{ml NaOH sampel})}{\text{gr sampel} \times 1000} \times 100 \times 14,008$$

b. Pengujian kadar lemak

- 1). Menimbang 2 gr bahan yang telah dihaluskan dan kering. Mencampur dengan pasir yang telah dipijarkan sebanyak 8 gr kemudian dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi Soxhlet dalam Thimble.
- 2). Mengalirkan air pendingin melalui kondensor

- 3). Memasang tabung ekstraksi pada alat distilasi dengan pelarut petroleum ether selama 4 jam. Residu dalam tabung ekstraksi diaduk, ekstraksi dilanjutkan lagi selama 2 jam.
- 4). Petroleum ether yang telah mengandung ekstrak lemak dipindah ke botol timbang dan diketahui beratnya, diuapkan dengan penangas air sampai agak pekat, dilanjutkan dengan pengeringan dengan oven 100 °C sampai berat konstan. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak

c. Pengujian kadar air

- 1). Menimbang 2 gr bahan yang telah dihaluskan dan kering dalam botol timbang.
- 2). Mengeringkan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 3-5 jam, kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.
- 3). Mengeringkan lagi dalam oven pada suhu sama selama 30 menit, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan kurang dari 0,2 mg). Pengurangan berat merupakan banyaknya kadar air dalam bahan.

d. Pengujian kadar abu

- 1). Menimbang 2 gr bahan dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
- 2). Dipijarkan dalam muffle bersuhu antara 500 – 600 °C sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan.
- 3). Didinginkan dalam eksikator, setelah dingin ditimbang beratnya.
- 4). Penimbangan dilakukan beberapa kali hingga diperoleh berat konstan.

## 2. Pengujian pola pita isozim

Pengujian isozim : (merujuk pada Na'iem, 1991 dan Seido, 1993)

- a. Penyediaan sampel.

Daun muda dari tiap sampel tanaman ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 100 mg.

b. Ekstraksi sampel

Sampel dihancurkan dalam cawan porselen dengan mortar, dicampur dengan 1 ml buffer ekstrak yang telah dipersiapkan sebelumnya. Sampel yang telah diekstrak dimasukkan ke ependorf kemudian disentrifuge dengan kecepatan 15.000 rpm selama 20 menit. Diambil supernatan dengan alat injeksi (stepper) lalu disimpan dalam almari pendingin. Bahan pembuatan buffer ekstrak seperti dalam tabel berikut :

Tabel 2. Bahan pembuatan ekstrak buffer

No	Nama Bahan	Jumlah
1.	1M Tris-Hcl, pH 7,5	100 mM
2.	Sukrosa	7 %
3.	Merkaptoethanol 0,1 %	14 mM

Sumber : Na'iem ( 1991 ) dan Sheido ( 1993 )

c. Pembuatan gel polyacrilamide.

Gel polyacrilamide terdiri dua bagian yaitu running gel dibagian bawah dengan konsentrasi 7,5 % dan spacer gel dibagian atas dengan konsentrasi 3,75 %. Bahan dan komposisi yang digunakan untuk pembuatan gel polyacrilamide seperti pada tabel berikut:

Tabel 3. Larutan utama untuk menyiapkan gel polyacrylamide

Larutan	Bahan Kimia	Jumlah	Penggunaan
Running gel			
A	Trizma base 1N Hydrochoric acid TEMED Air suling hingga larutan 500 ml	91,25 g 120 ml 0,575 ml	25 ml

B	Acrylamide N,N Methylenebisacrylamide Air suling hingga larutan 500 ml	150 g 4 g	25 ml
C	Amonium persulfate Air suling hingga larutan 500 ml	700 mg	50 ml
Spacer gel			
D	Trizma base 1N Hydrochloric acid TEMED Air suling hingga larutan 500 ml	14,95 g 120 ml 1,15 ml	10 ml
E	Acrylamide N,N Methylenebisacrylamide Air suling hingga larutan 500 ml	37,5 g 6,25 g	20 ml
F	Riboflavin Air suling hingga larutan 500 ml	20 mg	10 ml

Sumber : Na'iem ( 1991 ) dan Sheido ( 1993 )

### Running gel

Untuk membuat running gel diperlukan larutan A, B dan C dengan perbandingan 1 : 1 : 2. Ketiga larutan dicampur dan diletakkan di atas magnetic stirrer kemudian divakum selama 20 menit. Setelah homogen campuran larutan ini dimasukkan ke dalam glass elektroforesis. Untuk satu plat kaca elektroforesis memerlukan sekitar 15 ml larutan. Agar gel menjadi padat memerlukan waktu sekitar 1 jam dan disinari dengan lampu. Spacer gel dibuat dengan mencampur larutan D, E dan F dengan perbandingan 1 : 2 : 1. Ketiga larutan dicampur dan diletakkan di atas magnetic stirrer kemudian divakum selama 20 menit. Setelah homogen campuran larutan ini dimasukkan ke dalam glass elektroforesis tepat di atas running gel. Sampel comb kemudian dipasang pada spacer gel dan dilepas setelah spacer gel padat. Sebelum sumuran / lubang pada spacer gel diisi dengan supernatan, lubang tersebut dibilas dengan larutan bromophenol blue (20 mg bromophenol blue dilarutkan dalam 1 liter air suling) sampai 3 kali. Pada bilasan terakhir larutan tersebut disisakan setengahnya untuk digunakan sebagai indikator pada saat proses running.

#### d. Proses elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan alat elektroforesis lengkap dengan power supply. Setelah gel dipasang pada alat elektroforesis, larutan supernatan diisikan dalam lubang sampel sebanyak 10 mikroliter dengan menggunakan alat injeksi (stepper). Selanjutnya bak elektroforesis diisi dengan running buffer hingga penuh kemudian bak penutup dipasang kembali. Proses elektroforesis dilakukan dengan menggunakan arus listrik sebesar 100 mili Ampere. Proses elektroforesis dihentikan setelah kedudukan bromophenol blue berada 0,5 – 1 cm di atas dasar running gel. Proses ini berlangsung selama 180 menit sampai 200 menit.

Pembuatan running buffer seperti pada tabel berikut :

Tabel 4. Komposisi larutan Stock buffer dan Running buffer

Larutan	Bahan Kimia	Jumlah
Stock buffer	Trizma base Glycine Air suling hingga larutan 500	6 g 28,8 g
Running buffer	Stock buffer Air suling hingga larutan 500 ml	250 ml

Sumber : Na'iem (1991) dan Sheido (1993)

#### e. Proses staining

Staining merupakan proses pewarnaan gel yang telah melalui elektroforesis. Gel elektroforesis dilepaskan dari plat kaca dengan sendok pipih dan pisau kater. Gel dipotong pada bagian antara running gel dan spacer gel. Bagian running gel diletakkan pada baki plastik dan direndam dengan larutan staining sesuai sistem enzim Esterase dan Shikimate dehidrogenase. Selama proses perendaman dalam larutan staining, digerak-gerakkan dengan alat

penggerak elektrik yaitu orbital shaker. Lama perendaman tergantung larutan staining yang digunakan. Bahan pembuatan staining buffer esterase dan shikimate dehydrogenase seperti tabel berikut :

Tabel 5 Komposisi larutan buffer staining

Larutan	Bahan Kimia	Jumlah
esterase	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	7,8 g
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,42 g
	Air suling sampai larutan 500 ml	
Shikimate dehydrogenase	Trimase HCl	2,22 g
	Trmase Base	1,33 g
	Air suling hingga larutan 500 ml	

Sumber : Na'iem (1991) dan Sheido (1993)

#### f. Pengamatan gel

Setelah proses staining dan terlihat berkas pola pita pada gel, kemudian dilakukan proses fiksasi dengan larutan ethanol dan akuades. Fiksasi dilakukan untuk menghentikan reaksi kimia yang terjadi pada gel. Kemudian dilakukan pengeringan gel dengan menggunakan kertas kaca, bertujuan agar gel tidak cepat rusak. Dilanjutkan pengamatan pita isozim.

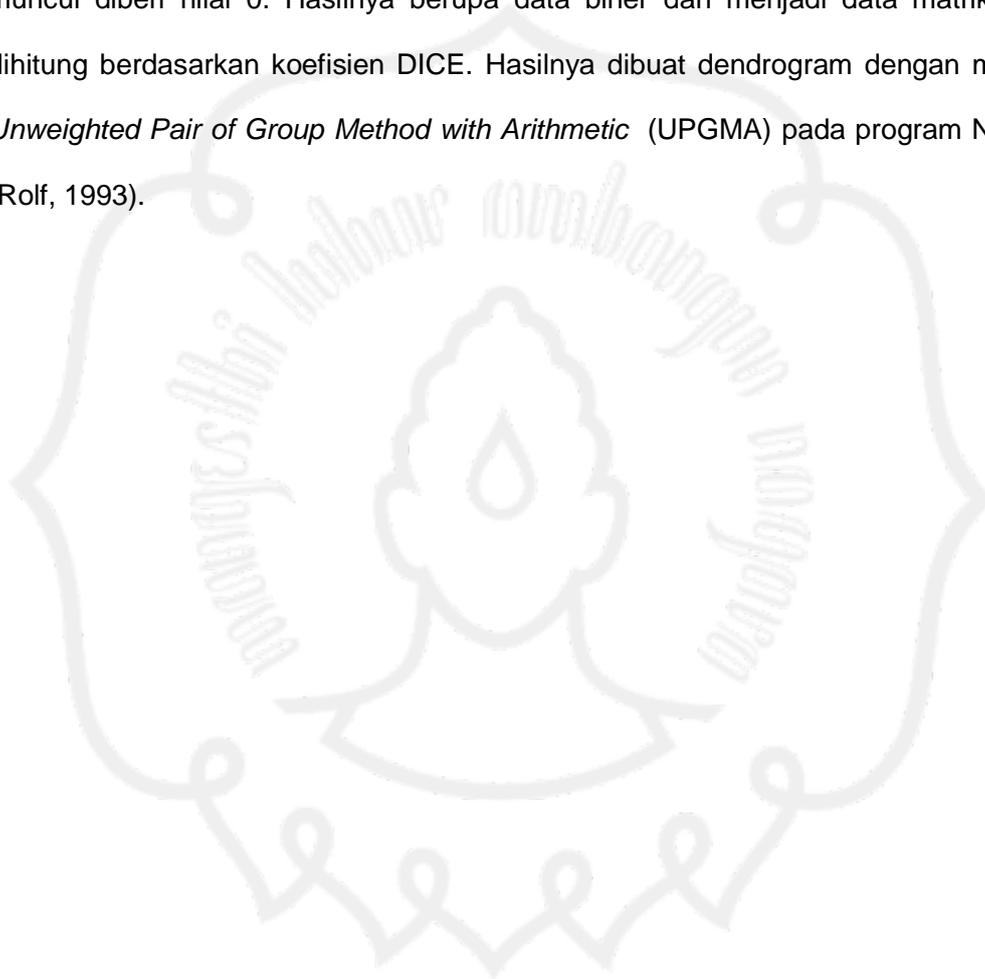
#### g. Pembuatan dendrogram

Hasil pengamatan pola pita yang telah diinterpretasikan dalam bentuk zimogram kemudian diubah menjadi data biner. Dari data biner ini selanjutnya dibuat dendrogram.

### D. Analisis Data

1. Data uji kandungan karbohidrat dianalisis secara diskriptif kualitatif untuk mengetahui kandungan karbohidrat dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa.

2. Data pola pita isozim dianalisis kualitatif berdasarkan muncul tidaknya pita pada gel elektroforesis dan secara kuantitatif berdasarkan tebal tipisnya pola pita. Keragaman pola pita berdasarkan nilai  $R_f$  (Relative value the bromophenol blue front) yang merupakan nilai pergerakan relatif dari perbandingan jarak migrasi enzim terhadap jarak migrasi loading dye. Pita yang muncul diberi nilai 1 dan yang tidak muncul diberi nilai 0. Hasilnya berupa data biner dan menjadi data matrik yang dihitung berdasarkan koefisien DICE. Hasilnya dibuat dendrogram dengan metode *Unweighted Pair of Group Method with Arithmetic* (UPGMA) pada program NTSYS (Rolf, 1993).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian dapat disampaikan hasilnya tentang kandungan karbohidrat dan pola pita isozim dari tujuh varietas lokal tanaman Ubi Kelapa yang terdapat di kabupaten Karanganyar. Varietas lokal Ubi Kelapa yang digunakan dalam penelitian ini adalah varietas bangkulit, varietas ungu, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas. Ke tujuh varietas lokal ini memiliki perbedaan fenotif umbinya baik bentuk maupun daging umbinya, hal ini dapat dilihat pada lampiran 2 dan lampiran 3.

#### A. Kandungan Karbohidrat Ubi Kelapa

Pengujian kandungan karbohidrat dilakukan terhadap umbi yang sudah tua, ditandai dengan daun sudah menguning. Untuk mengetahui kandungan karbohidrat dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa dilakukan analisis dengan menggunakan perhitungan *Carbohydrate by Difference* (Kam Nio, 1992). Dari metode ini dapat pula diketahui kandungan zat yang lain yaitu protein, lemak, air dan abu. Perhitungan ini dilakukan dengan menghitung selisih dari 100 % dikurangi prosentase protein, lemak, air dan abu. Hasil yang diperoleh merupakan prosentase karbohidrat dalam bahan makanan yang diteliti.

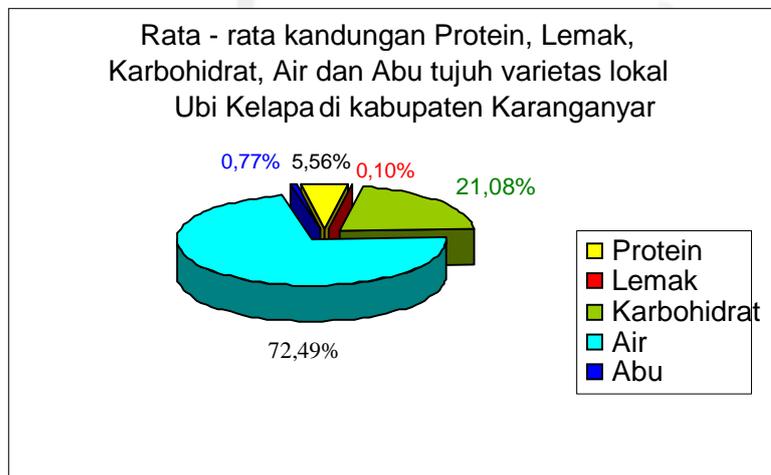
Hasil analisis kandungan karbohidrat dengan metode *Carbohydrate by Difference* terhadap tujuh varietas lokal Ubi Kelapa di kabupaten Karanganyar terdapat dalam tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji kandungan protein, lemak, karbohidrat, air dan abu pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa di kabupaten Karanganyar.

Varietas	Protein	Lemak	Karbohidrat	Air	Abu	Total
Uwi	%	%	%	%	%	%

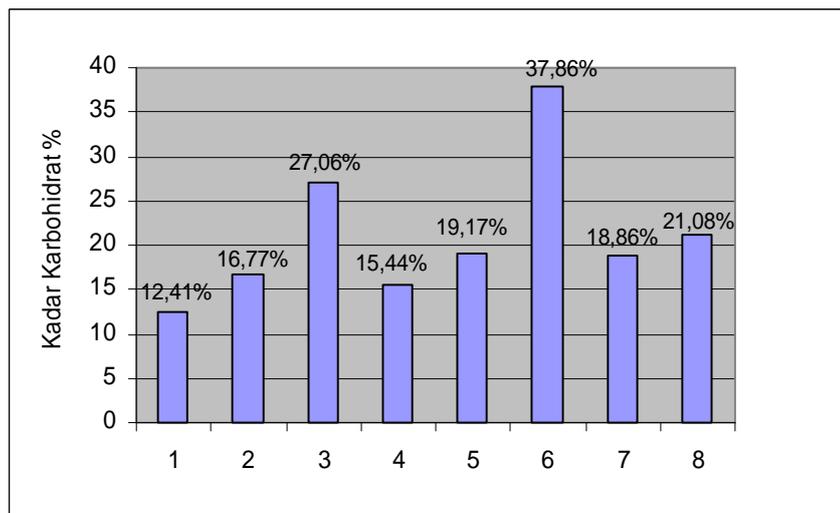
Uwi Bangkulit	7.84	0.11	12.41	78.77	0.87	100
Uwi Ireng	7.60	0.07	16.77	74.66	0.90	100
Uwi Ulo	3.92	0.05	27.06	68.19	0.78	100
Uwi Beras	5.90	0.28	15.44	77.57	0.81	100
Uwi Legi	4.61	0.02	19.17	75.48	0.72	100
Uwi Cicing	4.31	0.08	37.86	57.17	0.58	100
Uwi Alas	4.71	0.09	18.86	75.62	0.72	100
Rata-rata	5.56	0.10	21.08	72.49	0.77	

Data hasil rata-rata analisis kandungan zat yang terkandung dalam Ubi Kelapa dapat dibuat diagram pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji rata-rata kandungan protein, lemak, karbohidrat, air dan abu pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapadi kabupaten Karanganyar.

Berdasarkan hasil analisis kandungan karbohidrat tujuh varietas lokal Ubi Kelapa diketahui bahwa tujuh varietas lokal tersebut memiliki prosentase kandungan karbohidrat yang berbeda. Data tentang kandungan karbohidrat dapat dibuat histogram pada gambar 3.



Gambar 3. Histogram hasil uji kandungan karbohidrat pada tujuh varietas lokal Kelapa di kabupaten Karanganyar.

Ubi

Keterangan :

- |                       |                    |
|-----------------------|--------------------|
| 1. Varietas bangkulit | 5. Varietas legi   |
| 2. Varietas lieng     | 6. Varietas cicing |
| 3. Varietas ulo       | 7. Varietas alas   |
| 4. Varietas beras     | 8. Kadar rata-rata |

Prosentase karbohidrat dari yang terkecil terdapat pada varietas bangkulit sebesar 12,41 %, varietas beras 15,44 %, varietas ungu 16,77 %, varietas alas 18,66 %, varietas legi 19,17 %, varietas ulo 27,06 % dan varietas cicing 37,86 %. Sedangkan rata-rata kandungan karbohidratnya sebesar 21,08. Kandungan karbohidrat tersebut dapat dibandingkan dengan kandungan karbohidrat pada *D. hispida* 18 %, *D. esculenta* 26 % dan *D. bulbifera* 27 %. Ketiga Dioscorea tersebut menjadi makanan pokok masyarakat pedalaman suku Talang Mamak Jambi (Mangasa Siagian dan Francisca Murti, 2004). Sehingga kandungan karbohidrat hasil penelitian pada *D. alata* ini tidak terlalu berbeda dengan jenis Dioscorea yang lain. Data tersebut juga dapat dibandingkan dengan kandungan karbohidrat beberapa umbi-umbian minor pada analisis bahan makanan dari Kam Nio, 1992, seperti pada tabel 7.

Tabel 7. Kandungan karbohidrat beberapa umbi-umbian.

Bahan makanan	Karbohidrat Rata-rata (%)
11. Gadung	23,3
12. Ganyong	22,6
13. Gembili	22,4
14. Suweg	15,7
15. Tales	23,7
16. Ubi jalar putih	27,9
17. Ubi jalar merah	27,9
18. Ubi kelapa	19,8

Sumber : Kam Nio, 1992

Hasil analisis kandungan karbohidrat Ubi Kelapa di kabupaten Karanganyar menunjukkan hasil rata – rata sebesar 21,08 %, Sedangkan data penghitungan analisis bahan makanan (Kam Nio, 1992) kandungan karbohidrat sebesar sebesar 19,8 %. Ini berarti sedikit lebih tinggi atau dapat dikatakan hampir sama. Sedangkan dibanding dengan umbi – umbian minor lain yang masih dalam satu marga yaitu Gadung (*D. hispida*) 23,3 % dan Gembili (*D. esculenta*) 22,4 % yang berarti rata – rata kandungan karbohidrat dalam Ubi Kelapa (*D. alata*) yang diteliti sedikit di bawah kedua jenis umbi tersebut. Tetapi masih lebih tinggi dibanding kandungan karbohidrat Suweg (*Amorphophallus companulatus*) yaitu 15,7 %.

Dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa yang analisis, terdapat satu varietas yang memiliki kandungan karbohidrat tertinggi yaitu varietas cicing dengan kadar karbohidrat 37,86 %. Kadar karbohidrat cicing sebesar 37,86 % ini lebih tinggi jika dibanding dengan kadar rata-rata karbohidrat pada Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) 27,9 % yang termasuk dalam kelompok umbi–umbian mayor. Dengan kandungan karbohidrat sebesar 37,86 % maka Ubi Kelapa varietas cicing memiliki potensi untuk dikembangkan dan dibudidayakan sebagai salah satu alternatif sumber pangan non beras dari kelompok umbi–umbian minor.

Dengan diketahuinya kadar karbohidrat dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa, hal ini dapat memberi informasi kepada masyarakat dalam membudidayakan varietas Ubi Kelapa yang potensial sebagai sumber karbohidrat. Masyarakat yang masih

membudidayakan tanaman Ubi Kelapa justru banyak menanam Ubi Kelapa varietas beras dan varietasi bangkulit yang kadar karbohidratnya lebih rendah. Ini dimungkinkan karena ketidaktahuan tentang kandungan zat karbohidrat dalam umbi tanaman Ubi Kelapa. Oleh karena itu dengan diketahui bahwa varietas cicing lebih tinggi kandungan karbohidratnya, maka diharapkan varietas uwi ini dapat lebih dibudidayakan dan dikembangkan. Umbi Ubi Kelapa selain sebagai alternatif sumber pangan non beras, juga dapat menjadi solusi aman sebagai makanan bagi penderita Diabetes Mellitus (Zainal Arifin, 2008).

Keberadaan umbi Ubi Kelapa yang ada di wilayah penelitian pada kenyataannya masih kurang pemanfaatannya sebagai bahan makanan. Dengan mendasarkan pada hal yang terkait dengan tanaman Ubi Kelapa yaitu :

1. kandungan karbohidratnya yang dapat sebagai sumber bahan makanan dengan berbagai alternative produk olahan (Suismono, 2008),
2. Sangat dimungkinkan sebagai bahan untuk diolah menjadi produk selain makanan, misalnya untuk bahan pembuatan bioetanol, seperti umbi minor lainnya (Nurul Izzati dan Rosita Y., 2006),
3. Budidayanya sangat mudah, karena dapat tumbuh baik pada kondisi tanah yang porus, miskin hara dan tidak banyak membutuhkan air (Balitbang Deptan, 2005).

### **B. Pola isozim Ubi Kelapa**

Isozim merupakan bentuk ekspresi enzim yang mempunyai fungsi katalitik sama namun tingkat isoelektrisitasnya berbeda-beda, muatan listrik serta berat molekulnya juga berbeda-beda (Prabang S. dan Endang S., 2008). Penggunaan pola pita isozim dengan elektroforesis sudah banyak digunakan untuk mendapatkan data tentang variasi genetik. Enzim atau protein dapat digunakan untuk menunjukkan variasi kualitatif ataupun kuantitatif. Variasi terjadi dari peran gen yang mengarahkan pembentukan enzim, sehingga variasi enzim dapat menggambarkan variasi gen (Rahayu, 2006).

Isozim sebagai produk yang merupakan ekspresi gen tertentu yang dapat dijadikan parameter penduga keragaman genetik suatu organisme. Keragaman sangat diperlukan oleh suatu spesies untuk menjaga kemampuan berkembang biak dan beradaptasi terhadap perubahan lingkungan dan ketahanan terhadap penyakit, maka spesies membutuhkan cadangan genetik yang bervariasi agar mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang selalu berubah (Abulias, 2008).

Pelaksanaan ekstraksi sampel dalam penelitian ini mengalami kendala yaitu adanya lendir dari sampel pada saat penggerusan. Menurut Ballen *et al.*, (2004) bahwa ekstraksi suatu jaringan tanaman yang menghasilkan lendir sulit dilakukan, yang ditandai ekstrak yang lengket dan kental. Pada pengamatan hasil elektroforesis kendalanya yaitu tipisnya pola pita isozim dan tidak jernihnya gel hasil elektroforesis. Untuk mengatasi hal itu maka pengamatan pola pita isozim hasil elektroforesis dilakukan dengan penyinaran lampu di bawahnya untuk memudahkan menginterpretasinya.

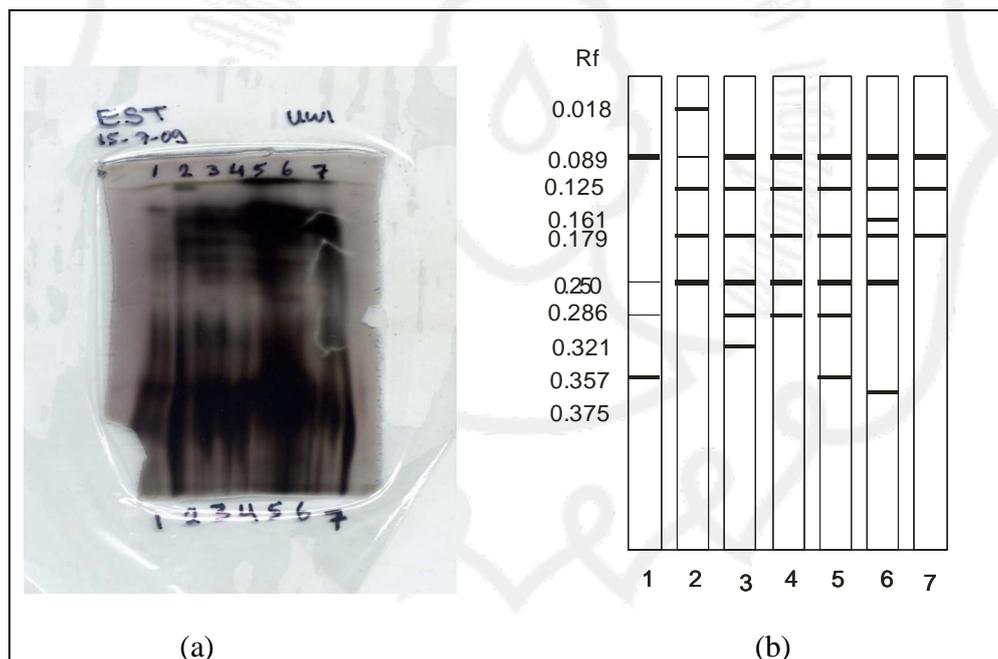
### **1. Enzim Esterase**

Penggunaan penanda molekuler dengan isozim dan penanda DNA merupakan teknik yang efektif untuk melakukan analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Kedua penanda tersebut mempunyai prinsip dan interpretasi genetik yang sama. Perbedaannya terlihat pada pita polimorfisme. Pada isozim berupa protein atau ekspresi gen, pada marka DNA berupa fragmen DNA (Asins *et al.*, 1995 dalam Ahmad Yunus, 2007).

Esterase pada tanaman merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester pada asam organik, asam organik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut (Subronto, 1986, dalam Cahyarini, 2004). Isozim pada sel terdapat dalam sitosol, organel atau keduanya. Isozim yang terdapat pada sitosol misalnya alkohol dehidrogenase dan esterase ( Weeden dan Wendel, 1989 dalam Febria dkk, 2001).

Penggunaan isozim esterase telah banyak digunakan dalam berbagai penelitian tumbuhan atau hewan. Penggunaan isozim pada hewan telah dilakukan antara lain untuk mengetahui variasi genetik spesies ikan Anggoli (Wigati, dkk 2002), variasi genetik Udang Putih (Edy Sulistiyono., dkk 2004), karakterisasi genetik ikan Batak (Deny Supriharti, 2005), variasi pola pita isozim nyamuk Anopheles (Ruben Darmawan, dkk 2005). Penggunaan isozim esterase pada kerabat dekat *Dioscorea alata* yaitu *D. bulbifera* menunjukkan bahwa *D. bulbifera* di Bengkulu menghasilkan 3 pola pita isozim esterase (Tesri Maideliza, 2007).

Hasil elektroforesis enzim esterase pada tujuh varietas lokal tanaman Ubi Kelapa divisualisasikan dalam bentuk zimogram terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. (a). Foto pita isozim esterase (b). Zimogram isozim esterase pada varietas lokal Ubi Kelapa

Keterangan :

Rf : Jarak migrasi

- 1 Varietas bangkulit
- 2 Varietas ireng
- 3 Varietas ulo

- 4. Varietas beras
- 5. Varietas legi
- 6. Varietas cicing

- 7. Varietas alas

Berdasarkan gambar 4, gambar foto hasil elektroforesis tidak tampak jelas. Pengamatan pita hasil elektroforesis dilakukan dengan penyinaran lampu di bawahnya, sehingga interpretasi pita ke dalam zimogram dapat dilakukan. Dari zimogram pada gambar 4 terlihat bahwa ke tujuh varietas lokal Ubi Kelapa memiliki pola pita yang masing-masing berbeda sehingga ada 7 pola pita. Migrasi enzim terdekat pada Rf 0.018 dan terjauh pada Rf 0.375. Enzim esterase ini mengekspresikan 10 pita pada Rf 0.018, 0.089, 0.125, 0.161, 0.179, 0.250, 0.286, 0.321, 0.357 dan 0.375.

Pita yang muncul pada Rf 0.089 dimiliki oleh tujuh varietas lokal Ubi Kelapa. Pita pada Rf 0.125 dan 0.179 dimiliki sampel nomor 2, 3, 4, 5, 6 dan 7. Pita pada Rf 0.250 dimiliki sampel nomor 1, 2, 3, 4, 5 dan 6. Pita pada Rf 0.286 dimiliki sampel nomor 1, 3, 4 dan 5. Pita pada Rf 0.357 dimiliki sampel nomor 1 dan 5. Sedangkan pita yang hanya dimiliki satu sampel dan tidak muncul pada sampel lain yaitu pita pada Rf 0.018 pada sampel 2, Rf 0,161 pada sampel 6, Rf 0.321 pada sampel 3 dan Rf 0.375 pada sampel 6.

Pita isozim yang muncul pada satu sampel dan tidak muncul pada sampel lain, ini berkaitan dengan sifat kualitatif dari enzim tersebut. Sifat kualitatif hampir tidak dipengaruhi faktor lingkungan, sehingga sifat kualitatif lebih diutamakan karena berhubungan dengan ada tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu yang mencerminkan ada tidaknya asam amino penyusun enzim yang merupakan produk gen itu sendiri, sedangkan sifat kuantitatifnya berhubungan dengan ketebalan pita yang muncul (Bailey, 1983 dalam Cahyarini, 2004).

Perbedaan tebal tipisnya pita yang terbentuk disebabkan oleh perbedaan jumlah molekul-molekul enzim yang termigrasi. Pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita karena berat molekulnya, semakin besar berat molekul tidak dapat berpisah dengan baik sehingga terbentuk pita yang tebal. Migrasi dari molekul yang memiliki kekuatan

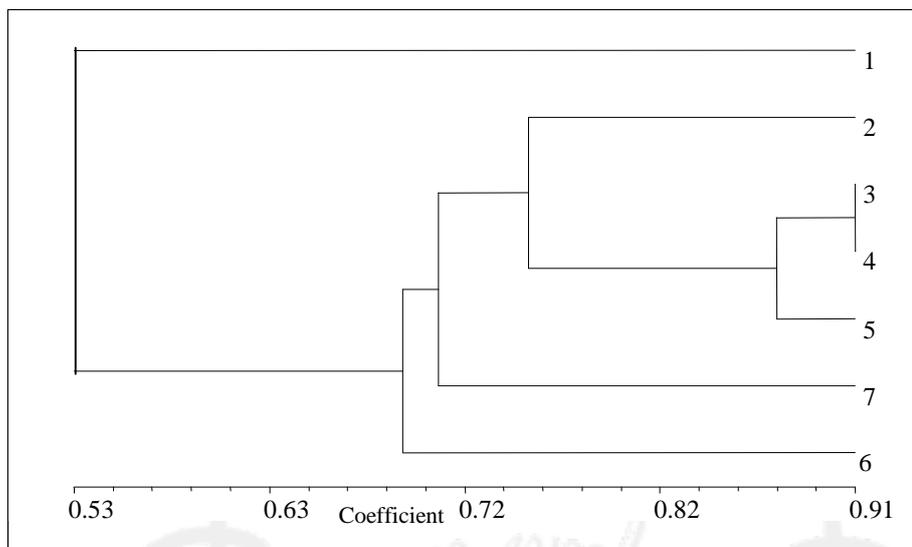
ionik besar akan termigrasi lebih jauh dari yang berkekuatan ionik rendah (Cahyarini, 2004).

Keragaman pola pita yang muncul pada varietas lokal Ubi Kelapa dimungkinkan ada keterkaitan dengan sifat-sifat spesifik dari tiap varietas tersebut. Berdasarkan penelitian Nandariyah (2007) tentang identifikasi keragaman genetik kultivar salak Jawa, disebutkan bahwa kultivar salak manggala memiliki pita spesifik yang tidak dimiliki kultivar lain dapat dihubungkan dengan ciri khas pada kultivar ini yaitu sifat ujung daun melengkung dan warna kulit buah lurik yang tidak dimiliki kultivar lain.

Sifat spesifik pada tanaman Ubi Kelapa terlihat pada fenotif umbinya. Ketujuh varietas lokal Ubi Kelapa memiliki fenotif umbi yang berbeda-beda yaitu bentuk, warna dan tekstur serat daging umbi, serta kandungan karbohidratnya. Perbedaan kandungan karbohidrat pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa erat kaitannya dengan faktor genetik, hal ini dapat dilihat dari perbedaan pola pitanya. Terdapat kecenderungan bahwa varietas yang memiliki kandungan karbohidrat lebih tinggi, varietas tersebut memiliki pita yang lebih banyak. Ini menunjukkan bahwa faktor genetik sangat mempengaruhi perbedaan kandungan karbohidrat pada ketujuh varietas lokal Ubi Kelapa.

Data pola pita isozim yang telah diperoleh digunakan untuk menganalisis kemiripan antar varietas. Pola pita isozim tersebut diterjemahkan menjadi data biner yaitu nilai 1 (satu) jika muncul pita pada jarak migrasi yang sama dan nilai 0 (nol) jika tidak muncul pita antar varietas yang diuji. Data biner isozim esterase penelitian ini terlihat pada lampiran 6.

Data biner tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan klusterisasi metode *Unweight Pair of Group Method with Arithmetic* (UPGMA) untuk dibuat menjadi dendrogram, sehingga dapat ditentukan hubungan kekerabatan antar varietas yang diteliti. Pembuatan dendrogram dengan metode UPGMA melalui fungsi SIMQUAL dan SHAN pada program NTSYS. Dendrogram yang dihasilkan terlihat pada gambar 5.



Gambar 5. Dendrogram tujuh varietas lokal Ubi Kelapa berdasarkan keragaman pola pita isozim esterase

Keterangan :

- |                       |                    |                  |
|-----------------------|--------------------|------------------|
| 1. Varietas bangkulit | 4. Varietas beras  | 7. Varietas alas |
| 2. Varietas ireng     | 5. Varietas legi   |                  |
| 3. Varietas ulo       | 6. Varietas cicing |                  |

Dari gambar 5 diketahui bahwa keragaman genetik berdasarkan jarak kemiripan genetik antar varietas yang diteliti menunjukkan kemiripan genetik terjauh pada 0,53 dan jarak kemiripan genetik terdekat pada 0.91. Menurut penelitian Hadipoentyanti dkk., (2001) jika jarak kemiripan mencapai 1,00 atau 100% menunjukkan bahwa tidak terdapat jarak genetik antara individu yang satu dengan lainnya, sehingga dapat dikatakan bahwa individu-individu tersebut adalah sama. Sedangkan menurut Cahyarini, (2004) bahwa jarak kemiripan genetik dikatakan jauh jika jarak genetik kurang dari 6.00 atau 60 % dan sebaliknya.

Pada jarak kemiripan 0,53 varietas yang diuji terbagi menjadi 1 kelompok besar varietas dan 1 varietas tunggal tak berkelompok. Bagian yang membentuk kelompok tersebut terdiri enam varietas lokal yaitu varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas alas dan varietas cicing. Sedangkan varietas yang tak berkelompok adalah varietas bangkulit. Pada jarak kemiripan 0,72 terbagi ke dalam

satu kelompok besar dan 3 varietas tunggal tak berkelompok. Kelompok tersebut terdiri dari varietas ireng, varietas ulo, varietas beras dan varietas legi. Sedangkan varietas tunggal tak mengelompok masing-masing adalah varietas bangkulit, varietas alas dan varietas cicing. Pada jarak kemiripan terdekat 0,91 terdapat 2 varietas lokal yang kemiripan genetik sama yaitu varietas ulo dan varietas beras.

Dari dendrogram ke tujuh varietas lokal Ubi Kelapa dengan penanda isozim esterase, menyatu pada jarak kemiripan terjauh 0,53 yang membagi menjadi dua bagian atau kelompok. Ini berarti bahwa kedua kelompok yang menyatu pada jarak kemiripan 0,53 memiliki kemiripan genetik jauh. Kelompok 1 yang hanya terdiri dari satu varietas lokal yaitu varietas bangkulit, varietas ini memiliki kemiripan genetik jauh dibanding varietas pada kelompok lainnya. Pada kelompok 2 yang terdiri enam varietas lokal yaitu varietas ireng, varietas ulo, varietas beras, varietas legi, varietas cicing dan varietas alas, keenam varietas ini memiliki kemiripan genetik dekat karena menyatu pada jarak kemiripan lebih dari 60 %.

Varietas-varietas tersebut meskipun secara fenotif memiliki perbedaan tetapi diantara varietas tersebut memiliki kemiripan genetik dekat. Kedekatan genetik atau kekerabatan antar varietas tersebut bermanfaat sebagai informasi untuk pelestarian dan pemuliaan tanaman.

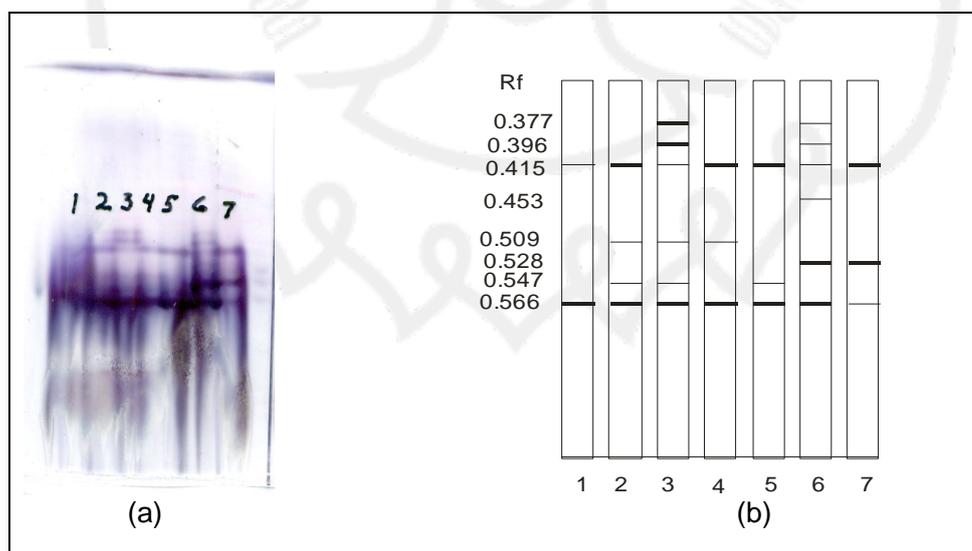
## **2. Enzim Shikimate dehydrogenase (ShDH)**

Penggunaan analisis isozim dengan enzim Shikimate dehydrogenase telah digunakan pada beberapa penelitian antara lain penelitian variabilitas genetik tanaman manggis Sumatera Barat. Disebutkan bahwa tanaman manggis di Sumatera Barat mempunyai variabilitas fenotif yang luas terutama untuk karakter panjang daun, bobot buah dan total padatan terlarut, tetapi berdasarkan analisis isozim menunjukkan hasil bahwa tanaman manggis di Sumatera Barat memiliki variabilitas genetik yang sempit

(Ellina Mansyah, 1999). Pada penelitian variasi genetik *Pinus merkusii*, dinyatakan bahwa tanaman Pinus dalam populasi alam Aceh memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan Pinus dalam hutan tanaman di Jawa (Kartikawati, 1999) dan keragaman pola isozim tanaman nanas, dinyatakan bahwa dari 30 sampel menunjukkan ada tiga pola pita isozim shikimate dehydrogenase (Sri Hadiyati, 2002).

Isozim merupakan produk langsung dari gen yang terekspresi dalam bentuk enzim. Oleh sebab itu jika terdapat variasi pola pita isozim berarti sampel yang diuji berbeda secara genetik atau memiliki variabilitas yang luas. Variabilitas yang luas menggambarkan adanya variabilitas secara genetik pada tanaman yang diamati. Variabilitas yang sempit menggambarkan tidak terdapatnya variabilitas secara genetik antar tanaman yang diamati (Moore dan Cellin, 1983 dalam Sriyono, 2006)

Hasil elektroforesis enzim Shikimate dehydrogenase pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa divisualisasikan dalam bentuk zimogram pola pita isozim Shikimate dehydrogenase terlihat pada gambar 6.



Gambar 6. (a). Foto isozim Shikimate dehydrogenase (b). Zimogram enzim Shikimate dehydrogenase pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa

Keterangan :

Rf : Jarak migrasi

1. Varietas bangkulit

4. Varietas beras

7. Varietas alas

2. Varietas ireng

5. Varietas legi

3. Varietas ulo

6. Varietas cicing

Berdasarkan gambar 6 terlihat bahwa dari tujuh varietas lokal Ubi Kelapa memiliki pola pita yang masing – masing berbeda sehingga ada 7 pola pita. Migrasi enzim terdekat pada Rf 0.377 dan terjauh pada Rf 0.566 Enzim Shikimate dehydrogenase ini mengekspresikan 8 pita pada Rf 0.377, 0.396, 0.415, 0.453, 0.509, 0.528, 0.547 dan 0.566. Migrasi enzim pada Rf 0.377 dan 0.396 muncul pada varietas nomer 3 dan 6. Enzim pada Rf 0.415 dan 0.566 muncul pada semua varietas. Enzim pada Rf 0.509 muncul pada varietas nomer 2, 3 dan 4. Enzim pada Rf 0.528 muncul pada varietas nomer 6 dan 7. Enzim pada Rf 0.547 muncul pada varietas 2, 3 dan 5. Pita yang hanya muncul sekali pada Rf 0.453 pada varietas nomer 6.

Varietas lokal Ubi Kelapa memiliki pola pita yang masing–masing berbeda sehingga ada 7 pola pita. Perbedaan pola pita ini disebabkan karena sifat spesifik dari enzim. Menurut Lehninger (1990) disebutkan bahwa dalam spesies yang sama atau bahkan dalam sel yang sama banyak terdapat enzim dengan lebih dari satu bentuk molekul yang mengkatalis reaksi yang sama, tetapi enzim-enzim tersebut berbeda sifat-sifat kinetiknya dan berbeda komposisi asam aminonya, sehingga dapat dipisahkan dengan metode elektroforesis. Hal yang sama juga disebutkan menurut Na'iem (2000) bahwa komposisi asam amino enzim yang berbeda-beda menyebabkan perbedaan pula dalam muatan ion, ukuran molekul dan konfigurasi. Sehingga menghasilkan kecepatan gerak yang tidak sama dari molekul enzim jika dikondisikan dalam medan listrik dan medium gel semi porus. Hal ini menyebabkan pola berkas/pita (banding pattern) yang berbeda.

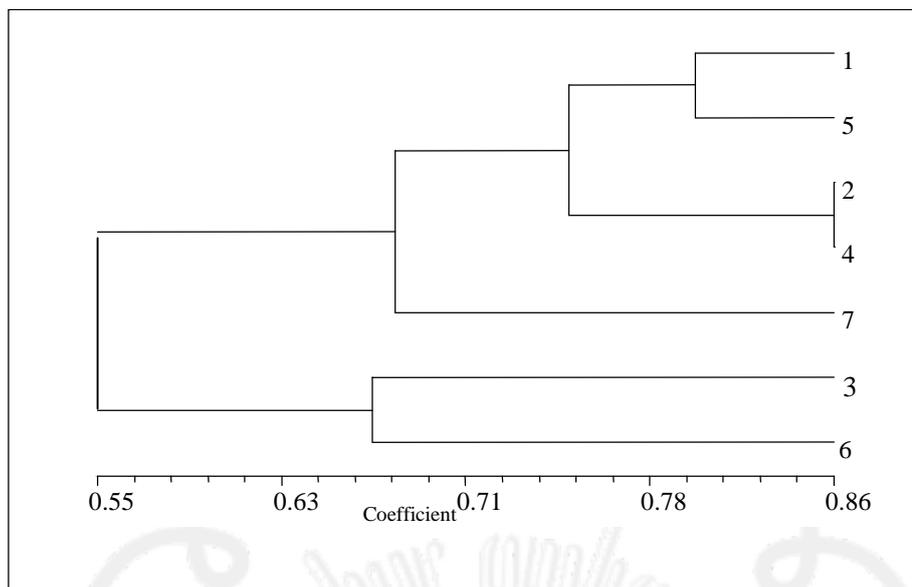
Dalam tubuh suatu organisme terjadinya perbedaan antara isozim sering karena adanya lebih dari satu gen yang mengkode tiap isozim. Sehingga pentingnya suatu

organisme mempunyai isozim berbeda yang mengkatalis reaksi yang sama, adalah perbedaan respon isozim terhadap faktor lingkungan. Jika faktor lingkungan berubah maka isozim yang paling aktif akan melaksanakan fungsinya dan membantu organisme untuk bertahan hidup.

Perbedaan pola pita Ubi Kelapa menunjukkan bahwa tujuh varietas lokal Ubi Kelapa tersebut memiliki variabilitas genetik yang luas atau berbeda secara genetik. Ini menunjukkan bahwa perbedaan fenotif tentang kandungan karbohidrat yang ada pada Ubi Kelapa disebabkan oleh faktor genetik. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Moore dan Collin, 1983 dalam Ellina Mansyah, 1999, disebutkan bahwa jika tidak terdapat variasi pola pita yang dihasilkan berarti populasi yang diuji tidak berbeda secara genetik atau memiliki variabilitas genetik sempit. Variabilitas yang sempit menggambarkan tidak adanya variabilitas secara genetik antar tanaman. Jika terjadi variabilitas fenotif yang luas untuk berbagai karakter pada tanaman, misalnya panjang daun, bobot buah dan total padatan terlarut, maka hal tersebut disebabkan oleh faktor lingkungan, walaupun secara genetiknya seragam.

Berdasarkan data pola pita isozim Shikimate dehydrogenase yang telah diperoleh digunakan untuk menganalisis kemiripan antar varietas. Pola pita isozim tersebut diterjemahkan menjadi data biner yaitu nilai 1 (satu) jika muncul pita pada jarak migrasi yang sama dan nilai 0 (nol) jika tidak muncul pita antar varietas yang diuji. Data biner isozim Shikimate dehydrogenase pada penelitian ini terlihat pada lampiran 6.

Data biner tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan klusterisasi metode *Unweight Pair of Group Method with Arithmetic* (UPGMA) untuk dibuat menjadi dendrogram, sehingga dapat ditentukan hubungan kekerabatan antar varietas dari sampel. Pembuatan dendrogram dengan metode UPGMA melalui fungsi SIMQUAL dan SHAN pada program NTSYS. Dendrogram yang dihasilkan terlihat pada gambar 7.



Gambar 7. Dendrogram tujuh varietas lokal Ubi Kelapa berdasarkan keragaman pola pita isozim Shikimate dehydrogenase

Keterangan :

- |                       |                    |                  |
|-----------------------|--------------------|------------------|
| 1. Varietas bangkulit | 4. Varietas beras  | 7. Varietas alas |
| 2. Varietas ireng     | 5. Varietas legi   |                  |
| 3. Varietas ulo       | 6. Varietas cicing |                  |

Dari gambar 7 diketahui bahwa keragaman genetik berdasarkan jarak kemiripan genetik antar varietas yang diteliti menunjukkan bahwa kemiripan genetik terjauh pada 0.55 dan jarak kemiripan genetik terdekat pada 0.86. Pada jarak kemiripan terdekat 0.86 ada dua varietas yang menyatu yaitu varietas ireng dan varietas legi. Pada kemiripan terjauh 0.55 tujuh varietas terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok 1 terdiri dari varietas bangkulit, varietas beras, varietas ireng, varietas legi dan varietas alas. Kelompok 2 terdiri varietas ulo dan varietas cicing. Ini berarti kedua kelompok tersebut memiliki kemiripan jauh karena jarak kemiripan dibawah 60 %. Seperti diungkapkan Cahyarini (2004) bahwa jarak kemiripan

genetik dikatakan jauh jika jarak genetik kurang dari 6.00 atau 60 %. Pada jarak kemiripan 0,71 terbagi menjadi 1 kelompok besar varietas dan 3 varietas tak berkelompok. Pada bagian yang mengelompok terdiri dari empat varietas yaitu varietas bangkulit, varietas beras, varietas ireng dan varietas legi. Varietas yang tidak

mengelompok adalah varietas alas, varietas ulo dan varietas cicing. Berdasarkan penggunaan isozim Shikimate dehydrogenase, varietas – varietas tersebut memiliki kemiripan genetik dekat karena jarak kemiripan lebih dari 60 %.

Varietas Ubi Kelapa secara fenotif memiliki perbedaan, terutama berdasarkan karakter kandungan karbohidratnya, hal ini terkait dengan variabilitas genetiknya yang tinggi. Meskipun secara fenotif varietas Ubi Kelapa memiliki perbedaan kandungan karbohidratnya tetapi berdasarkan analisis dengan isozim Esterase dan Shikimate dehydrogenase menunjukkan bahwa di antara varietas-varietas tersebut ada yang memiliki kemiripan genetik dekat. Kedekatan genetik atau kekerabatan antar varietas tersebut bermanfaat sebagai informasi untuk pelestarian dan pemuliaan tanaman Ubi kelapa. Menurut Novarianto (1999) bahwa program pemuliaan tanaman dalam rangka perbaikan bahan tanaman sangat tergantung pada sumber keanekaragaman genetik. Keragaman genetik tidak hanya mengenai koleksi plasma nutfah secara fisik, tetapi juga penilaian sejauh mana keragaman genetik itu diperlukan untuk kegiatan manipulasi genetika ke arah perakitan varietas yang diinginkan.

Pembudidayaan dan peningkatan pemanfaatan Ubi Kelapa perlu untuk dilakukan mengingat tanaman ini sebagai salah satu sumber karbohidrat dari kelompok umbi-umbian. Diversifikasi manfaat juga dapat dilakukan dari umbi tanaman ini. Ubi Kelapa dapat menjadi makanan yang aman bagi penderita kencing manis, senyawa metabolitnya bermanfaat untuk kesehatan, dapat dikembangkan menjadi bahan pembuatan bioetanol seperti pada umbi-umbian lain. Dan yang lebih penting bahwa Ubi Kelapa dengan berbagai varietas lokal merupakan bagian dari keanekaragaman hayati. Jika terjadi hilangnya suatu varietas lokal tanaman maka hilang pula pengetahuan yang mengikutinya (Francis dkk, 2005).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ada keragaman kandungan karbohidrat pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa. Kandungan karbohidrat berkisar 12,41 % - 37,86 %. Kandungan terendah sebesar 12,41 % pada varietas uwi bangkulit dan tertinggi sebesar 37,86 % pada varietas uwi cicing.
2. a. Ada variasi pola pita isozim pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa berdasarkan isozim esterase. Pergerakan pita isozim esterase menghasilkan 10 pita yang terletak antara Rf 0,018 sampai Rf 0,375. Ketujuh varietas lokal Ubi Kelapa memiliki pola pita yang berbeda, sehingga ada 7 pola pita isozim esterase.  
b. Ada variasi pola pita isozim pada tujuh varietas lokal Ubi Kelapa berdasarkan isozim Shikimate dehydrogenase. Pergerakan pita isozim Shikimate dehydrogenase menghasilkan 8 pita yang terletak antara Rf 0,377 sampai Rf 0,566. Ketujuh varietas lokal Ubi Kelapa memiliki pola pita yang berbeda, sehingga ada 7 pola pita isozim Shikimate dehydrogenase

#### **B. Saran**

Penelitian tentang tanaman Ubi Kelapa perlu ditindak lanjuti, antara lain :

1. Ubi Kelapa varietas cicing dengan kandungan karbohidrat 37,86 % merupakan varietas potensial untuk dikembangkan sebagai sumber karbohidrat non beras.
2. Penelitian tentang keragaman varietas karena masih ada varietas lain yang belum diteliti.
3. Penelitian dengan menggunakan isozim yang lebi banyak atau penanda molekuler lain agar memberi hasil yang lebih akurat.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abulias Najmi. 2008. *Studi Awal Keragaman Genetik Ikan Betutu (Oxyleofris Sp) di Waduk Penjalin Menggunakan Lima Macam Isozim*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II 2008 Universitas Lampung. ISBN : 978-979.
- Ahmad Yunus. 2007. *Identifikasi Keragaman Jarak Pagar (Jatropha curcas) di Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Isozim*. Biodiversitas 8(2): 249-252
- Backer C. A. and R. C. Bakhuizen van den Brink Jr. 1968. *Flora of Java*. Wolters-Noordhoff. NV Graningen The Netherlands. P : 154 -157.
- Balen, Biljana, Marijana dan Ivana Zadro. 2004. *Esterase Activity and Isoenzymes in Relation to Morphogenesis in Mammillaria gracillis. Tissue Culture. Acta Bot Croat.* 63 (2) : 83 – 91.
- Balitbang Pertanian Departemen Pertanian, 2005. *Mengenal Plasma Nutfah Tanaman Pangan*. ([http : //biogen.litbang.deptan.go.id./mengenal\\_plasmanutfah](http://biogen.litbang.deptan.go.id./mengenal_plasmanutfah) ).
- Buang Abdullah. 2001. *The Use of Isozymes as Bio Chemical Marker in Rice Research*. Agro Bio. 4 (2) : 39 – 44.
- Cahyarini R.D, Ahmad Yunus, Edi Purwanto, 2004. *Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim*. Agrosains. 6(2) : 96 – 104.
- Deny Supriharti. 2005. *Karakterisasi Genetik dan Klasifikasi Isozim Esterase pada Tiga Spesies Ikan Batak ( Neollissochillus Sp )*. Laporan Penelitian. Universitas Sumatera Utara.
- Edi Purwanto , Sukaya, Setianto A,Santoso H. 2002. *Identifikasi Berdasarkan Penanda Isozim Terhadap Plasma Nutfah Jeruk Besar ( Citrus maxima Merr ) di Blera Jawa Tengah*. BioSMART. 4 (2) : 44 – 47.
- Ellina Mansyah, J. Anwarudisyah, Lukitariati dan A. Susiloadi. 1999. *Variabilitas Manggis Melalui Analisis Isozim dan Keterkaitannya dengan Variabilitas Fenotik*. J. Zuriat. 10 (1) : 1 – 9.
- Endah Retno, Eny Kriswiyanti dan Adrian Nur. 2008. *Bioetanol Fuel Grade dari Tepung Talas (Colocasia esculenta)*. [http://journal discoveryindonesian. comp](http://journal.discoveryindonesian.com).
- Febria Cahya I., Lita Soetopo, Sudjindro dan Arifin Noor Sugiharto. 2001. *Keragaman Genetik Plasma Nutfah Kenaf ( Hibiscus cannabinum L. ) dan Beberapa Spesies Yang Sekerabat Berdasarkan Analisis Isozim*. Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat Malang.
- Hadiati S., Murdiningsih H.K., Baihaki A., Restini N. 2002. *Variasi Pola Pita dan Hubungan Kekerbatan Nanas Berdasarkan Analisis Isozim*. Zuriat. 13 ( 2) h: 65 – 72.

- Hadipoentyanti, E., Ratna Dewi dan L. Solihat. 2001. *Variabilitas Genetik Berbagai Varietas Abaka ( Musa textiles Nee ) dan Kerabat Liar Melalui Analisis RAPD*. Zuriat. 12 ( 2 ) : 91 – 103.
- Hamodjojo, H.S. 2005. *Kimia Organik*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. h : 42 – 53.
- Hendroatmojo K.H. 1999. *Identifikasi Kendala dan Konsideran Dalam Pemberdayaan Bahan Pangan Komplemen Beras*. Balitkabi Malang.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid I. Balitbang Kehutanan Dephut.1988. h : 542 – 544.
- Kam Nio Oey. 1992. *Daftar Analisis Bahan Makanan*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kartikawati, N. K. Dan M. Na'iem. 1999. *Studi Variasi Hutan Alam dan Hutan Tanaman Pinus dengan Menggunakan Teknik Isozim*. J. Agrosains . 12 (1) : 71 – 80.
- Lenhninger, A.L. 1990. *Dasar-dasar Biokimia* ( Diterjemahkan oleh Maggy Thenawijaya ) Jilid 1. Jakarta : Airlangga.
- Lily Surayya dan Dede Sukandar. 2008. *Konversi Pati Ganyong ( Canna edulis ) Menjadi Bioetanol*. Biodiversitas. 9 ( 2 ) : 112 – 116.
- Mangasa Siagian dan Fransiska Murti, 2004. *Pemanfaatan Tumbuhan Pangan Masyarakat Talang Mamak Taman Nasional Bukit Tiga Jambi*. Pusat Penelitian Biologi . LIPI.
- Na'im, M. 1996. *Pengenalan Analisis Isozim dan Pemanfaatannya dalam Budidaya Tanaman* . UGM. Yogyakarta
- Na'iem, M. 2000. *Aplikasi Isozim Sebagai Penanda Molekuler untuk Program Konservasi dan Pemuliaan Pohon*. Lokakarya ITTO. Yogyakarta.
- Nandariyah, Soemartono, Artama dan Taryono. 2007. *Keragaman Kultivar Salak ( Salacca zalacca ) di Jawa Berdasarkan Penanda RAPD*. Agrosains 6 (2) : 70 – 76.
- Novarianto., H., Hartana, F. Rumawas, Guhardja dan Nasution. 2008. *Studi Keterpautan Pola Pita Isozim dengan Karakter Kuantitatif pada Bibit Kelapa*. J. Zuriat 10 (1) : 49 – 53.
- Nurul Izzati dan Rosita Yusnidar. 2006. *Optimalisasi Pembuatan Bioetanol Ubi Jalar Putih Sebagai Alternatif Bahan Bakar Terbarukan*. Laporan PMKP. Universitas Negeri Malang.
- Prabang Setyono dan Endang S. Soetarto, 2008. *Biomonitoring Degradasi Ekosistem Akibat Limbah CPO di Muara Sungai Mentaya Kalimantan Tengah dengan Metode Elektromorf Isozim Esterase*. Biodiversitas 2 (3) : 232 – 236.

- Purnomo, Susandari R, Anggreini D.M. 2008. *Keragaman Spesies Uwi ( Dioscorea spp ) di Kabupaten Bantul dan Sleman Yogyakarta dan Kekerbatan Fenetiknya dan Berdasarkan Morfologi Organ Vegetatif*. Seminar Nasional Biodiversitas II. Departemen Biologi Universitas Airlangga. h : 167 – 177.
- Rahayu, S., Sumitro, T. Susilowati dan Soemarno. 2006. *Analisis Isozim untuk mempelajari Variasi Genetik Sapi Bali di Propinsi Bali Berkas Penelitian Hayati* :12 (1-5).
- Rolf, FJ. 1993. *NYSYS-pc Numerical Taxonomic and Multivariate Analisis System*. Exeter Software New York.
- Ruben Darmawan, Darukutni, Satimin H., Adi Prayitno. 2005. *Variasi Isozim dan Morfologi pada Anopheles subpictus Grassi Vektor dan Nonvektor Malaria*. Biodiversitas. 6 (4) : 229 – 232.
- Seido K. 1993. *Manual of Isozyme Analysis*. FTIP No 2. Ministry of Forestry in Indonesia.
- Sri Hadiyati dan D. Sukmadjaja. 2002. *Keragaman Pola Pita Dan Hubungan Kekerbatan Nanas Berdasarkan Analisis Isozim*. J. Bioteknologi Pertanian. 7 (2) : 62 - 70.
- Sri Widodo, Alfonso J.B.,Stephanus Misi, Sarasutha . 1996. *Koleksi dan Evaluasi Budidaya Ubi – Ubian Langka Potensial*. Simposium Pemuliaan Tanaman IV. Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia. Komisariat Daerah Jatim. h : 124 - 129.
- Sri Widowati dan Nurnina. 2004. *Peningkatan Pendapatan Rumah Tangga Tani Lahan Marginal Melalui Agroindustri Tepung Kasava*. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Inovatif Lahan Marginal.
- Sriyono, 2006. *Identifikasi dan Keragaman Genetik Pohon Induk Durian ( Durio zibethinus Murr ) Lokal Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Morfologi dan Pola Pita Isozim*. Tesis. Program Pasca Sarjana UNS. Surakarta.
- Sudarmadji, S. 1996. *Teknik Analisis Biokimia Bahan Makanan*. Erlangga. Jakarta.
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Edisi 8. Kanisius Yogyakarta. h : 94-99.
- Suismono. 2008. *Teknologi Pengolahan dan Pemanfaatan Pangan Lokal Ubi – Umbian*. Majalah Pangan. Perum Bulog 52 (VII) : 38 -50.
- Sukaya, Hartana A. 1996. *Analisis Keragaman Beberapa Pola Pita Isozim Pada Ubi Jalar*. Simposium Pemuliaan Tanaman IV. Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia. Komisariat Daerah Jatim. h : 120-123
- Suranto. 2001. *Isozyme Studies on The Morphological Variation of Ranunculus nanus Population*. Agrivita. 3 (2) : 139 – 146.
- 2001. *Cluster Analysis of Ranunculus Spesies*. Biodiversitas 3 (1) : 201 -206.

- 2002. *The Early Application of Electrophoresis of Protein in Higher Plant Taxonomy*. Biodiversitas. 3 (2) : 257 – 262.
- Suryana A. 2003. *Ketahanan Pangan*. BPFE Yogyakarta. h : 237 – 240.
- Taufik Mulyadi. 2007. *Analisis Sumber Daya Manusia di Bidang Pertanian Dengan Metode LQ untuk Menentukan Inovasi Pendidikan yang Mendukung Potensi Lokal*. Studi Kasus di Kabupaten Karanganyar.
- Tesri Maideliza, 2007. *Keragaman Dioscorea bulbifera di Sumatera Barat*. Makara Sains. 11(1) : 23 – 27.
- Titi Candra Sunarti, Indah Yuliasih dan Nur Richana. 2004. *Perubahan Komposisi Karbohidrat pada Hidrolisis Enzimatis Pati Umbi-umbian*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. IPB. Bogor.
- Tjitrosoepomo G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Edisi Ketujuh. Gadjah Mada University Press. h : 427
- Van Steenis C.G.G.J. 2003. *Flora*. Edisi Sembilan . Pradnya Paramita Jakarta. h :150
- Wahono F, Widyanta A.B., Kusumajati T. 2005. *Pangan, Kearifan Lokal dan Keanekaragaman Hayati*. CPRC Yogyakarta. h : 68 – 79.
- Wigati, E., Sutarno, Haryanti. 2002. *Variasi Genetik Ikan Anggoli (Pristipomoides multidens) Berdasarkan Pola Pita Allozim*. Biodiversitas 4 (2). h :73 -79.
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. h :15 – 27.
- Zaenal Arifin. 2008. *Diversifikasi Dioscorea Flour sebagai Sumber Alternatif Pangan*. Biological Fair ITS Surabaya.