

**STUDI VARIASI ANATOMI DAN KANDUNGAN
FLAVONOID LIMA JENIS ANGGOTA GENUS *Phyllanthus***

TESIS

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister
Program Studi Biosain**



Oleh

**Tiwuk Dwi Hariyani
S900809021**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2012**



**STUDI VARIASI ANATOMI DAN KANDUNGAN FLAVONOID
LIMA SPESIES ANGGOTA GENUS *Phyllanthus***

Tesis

Oleh

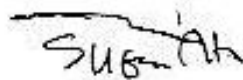
Tiwuk Dwi Hariyani

S 900809021

Komisi	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing			
Pembimbing I	<u>Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D</u> NIP.195708201985031004		
Pembimbing II	<u>Prof. Dr. Ir. Feli Purwanto, M.Sc</u> NIP. 196010081985031001		

**Telah dinyatakan memenuhi syarat
pada tanggalNovember 2012**

Ketua Program Studi Biosain
Program Pascasarjana



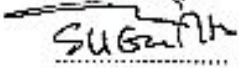
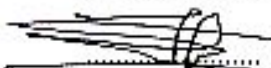

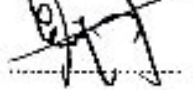
Prof. Dr. Sugivarto, M.Si
NIP. 196704301992031002

STUDI VARIASI ANATOMI DAN KANDUNGAN FLAVONOID
LIMA SPESIES ANGGOTA GENUS *Phyllanthus*

TESIS

Oleh
Tiwuk Dwi Hariyani
S 900809021



Tim penguji

Jabatan	Nama	Tanda tangan	Tanggal
Ketua	Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si		18/1 2013
Sekretaris	Drs. Marsusi, M.S., Ph.D		8/2013
Anggota Penguji	Prof. Drs. Suranto, M.Sc.Ph.D		10/12 2012
Anggota Penguji	Prof. Dr. Ir. Edi Purwanto, M.Sc		11/12 2012

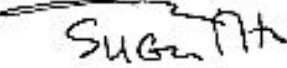
Telah dipertahankan di depan penguji
Dinyatakan telah memenuhi syarat
pada tanggal 11 - Jan 2012

Mengetahui,

Direktur Program Pascasarjana UNS


Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS
NIP.196107171986011001


Ketua Program Studi Biosains


Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si
NIP.196704301992031002

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar – benarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul: “ *Studi Variasi Anatomi dan Kandungan Flavonoid Lima Spesies Anggota Genus Phyllanthus*.” ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan unsur – unsur jiplakan, maka saya bersedia Tesis beserta gelar MAGISTER saya dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang – undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).
2. Tesis ini merupakan hak milik Prodi Biosains PPs-UNS. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada Jurnal atau forum ilmiah lain harus seijin Ketua Prodi Biosains PPs-UNS dan minimal satu kali publikasi menyertakan tim pembimbing sebagai Author. Apabila sekurang – kurangnya satu semester (6 bulan sejak pengesahan Tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan isi Tesis ini, maka Prodi Biosains PPs-UNS berhak mempublikasikanya pada jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Prodi Biosains PPs-UNS dan atau media yang ditunjuk. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, November 2012



Mahasiswa

Tiwuk Dwi Haryani
Tiwuk Dwi Haryani
S900809021

Tiwuk Dwi Hariyani. S900809021. 2012. *Studi Variasi Anatomi dan Kandungan Fitokimia Flavonoid Lima Spesies Anggota Genus Phyllanthus*. TESIS. Pembimbing I: Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D, Pembimbing II: Prof. Dr.Ir. Edi Purwanto, M.Sc Program Studi Biosain, Program Pasca sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

ABSTRAK

Genus *Phyllanthus* merupakan kelompok genus yang memiliki anggota yang cukup besar. Jumlah spesies yang ada dalam genus ini mencapai 833 spesies (Govaerts *et al* 2000 *cit* Kathriarachani *et al* 2006). Sebagian besar anggota dari genus ini telah diketahui sebagai tanaman obat. Beberapa di antaranya telah digunakan secara tradisional maupun sebagai bahan industri obat berskala besar. Beberapa spesies yang termasuk genus *phyllanthus* antara lain *Phyllanthus niruri* (meniran hijau), *Phyllanthus urinaria* (meniran merah), *Phyllanthus acidus* (ceremai), *Phyllanthus buxifolius* (sligi) dan *Phyllanthus reticulatus* (buah tinta). Tujuan dari penelitian ini adalah 1) mengetahui perbedaan karakter anatomi, 2) menguji kandungan fitokimia flavonoid dan 3) mengetahui hubungan kekerabatan antar kelima spesies dengan pohon filogeni.

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif deskriptif. Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Juni 2011 di Laboratorium Biologi MIPA UNS, Laboratorium Kimia MIPA UGM, Unit Laboratorium Pengembangan dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, meliputi pengambilan sampel, pembuatan preparat permanen, pengamatan anatomis pengamatan stomata. pemeriksaan flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilanjutkan dengan menggunakan uji HPLC. Data penelitian dibentuk dalam table OUT dan selanjutnya dicari hubungan kekerabatannya dengan program NTsys.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan karakter anatomi pada batang dan daun sedangkan pada karakter fitokimia terdapat perbedaan jenis flavonoid. Hubungan kekerabatan yang terbentuk dari kesamaan sifat anatomi dan fitokimia flavonoid menempatkan buah tinta dan cermai dalam kekerabatan yang dekat dengan kesamaanya tinggi, meniran hijau dan sigi juga dekat, sedangkan meniran merah kekerabatannya jauh.

Kata kunci: Anatomi, Flavonoid, Pohon filogeni, *Phyllanthus*

Tiwuk Dwi Hariyani. S900809021.2012. **The Variation Study of Anatomical and Phytochemical Flavonoid Character in Five Genus Phyllanthus.** Supervisor I: Suranto, Prof. Drs., M.Sc., Ph.D, Supervisor II: Edi Purwanto, Prof. Dr., M.Sc, Ir, Thesis: Program Study of Biosain, Postgraduate Program of Sebelas Maret University, Surakarta.

ABSTRACT

Genus *Phyllanthus* are large genus which had large species. The number species in genus *Phyllanthus* was up to 833 species. A large of species has been herb medicines. A part of them was used in traditional medicines or modern herb manufacture. The member of *Phyllanthus* genus such as *Phyllanthus niruri* (meniran hijau), *Phyllanthus urinaria* (meniran merah), *Phyllanthus acidus* (ceremai), *Phyllanthus buxifolius* (sligi) dan *Phyllanthus reticulatus* (buah tinta). The aim of the research to knew differentiation of character anatomy , Phytochemical Flavonoid Character and and Phylogenetic tree of five species from genus *Phyllanthus*.

This research was conducted at January up to June 2012 in Laboratory Center the chemical unit sub of UNS, Laboratory of Chemical UGM, laboratory of LPPT UGM. The research had scope take of specimens, made anatomical preparat, examined anatomical structure, and counted stomata densities. The flavonoid contents examined with TLC method and to knew variety of substance flavonoid used HPLC method. The result describe with OUT's table and then had been analyzed with NTsys Programe.

The Result showed differentiated of anatomical and Phytochemical flavonoid substances. The Caracteres of five species from genus *Phyllanthus* made phylogeny tree. Spesies *P. reticulatus* and *P.acidus* had near relationship and the first groups, Spesies *P. buxifolius* and *P.niruri* in second group and the last *P. urinaria* joint in large groups from four species.

Keywords: anatomy character , phytochemical flavonoid, phylogenetic tree, *Phyllanthus*

HALAMAN PERSEMBAHAN

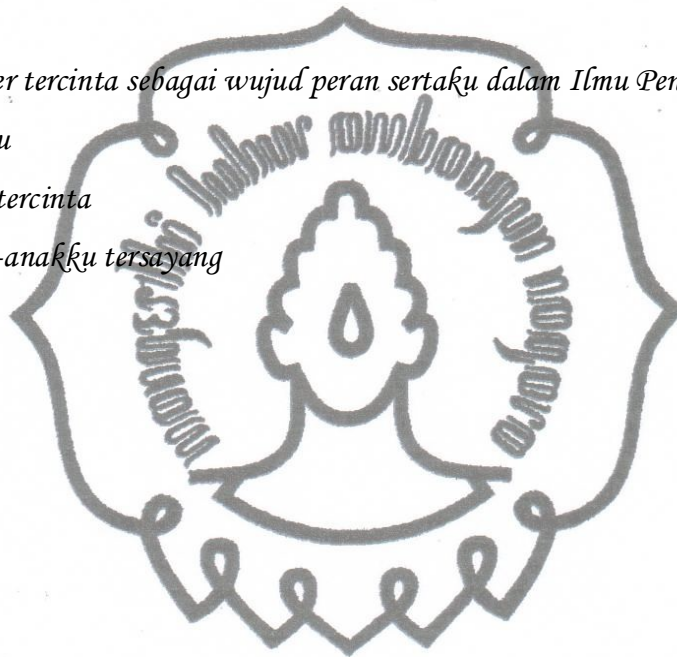
Karya ilmiah ini saya persembahkan kepada

Almamater tercinta sebagai wujud peran sertaku dalam Ilmu Pengetahuan

Bapak Ibu

Suamiku tercinta

dan anak-anakku tersayang



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Alloh SWT, atas limpahan rahmad dan hidayahNya penulis dapat menyajikan tulisan tesis yang berjudul ” *Studi Variasi Anatomi dan Kandungan Fitokimia Flavonoid Lima Spesies Anggota Genus Phyllanthus*.”.

Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi variasi karakter tumbuhan dari lima spesies anggota genus *Phyllanthus*. Karakter yang dimaksud adalah anatomi dan kandungan fitokimia. Pengamatan anatomi meliputi akar, batang dan daun. Sedangkan uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif kandungan flavonoid lima spesies dari genus *Phyllanthus*. Dari kedua karakter anatomi dan fitokimia inilah dikaji bagaimana kesamaan antar spesies dan hubungan kekerabatannya.

Nilai penting dari penelitian ini adalah memberikan informasi secara taksonomi kesamaan sifat dari kelima spesies yang ada dalam genus *Phyllanthus*. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian maupun penulisan, walaupun telah diupayakan dengan sekuat tenaga untuk dapat mendekati kesempurnaan. Oleh karena itu penulis berharap segala saran yang bersifat membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih setulusnya kami sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Sebelas Maret Prof.Dr. Ravik Karsidi,M.S yang berkenan menerima penulis sebagai Mahasiswa S2
2. Direktur Program Pasca sarjana Prof. Drs. Suranto,M.Sc.Ph.D atas fasilitas dan ijinya dalam menempuh semua proses pembelajaran S2
3. Ketua Program Studi Biosain Dr. Sugiyarto, M.Si. atas segala fasilitas dan arahnya dalam proses penelitian maupun pembelajaran
4. Prof. Drs. Suranto,M.Sc.Ph.D dan Prof. Dr. Ir. Edi Purwanto, M.Sc selaku pembimbing atas segala curahan pemikiran dalam membimbing Penelitian dan penulisan Tesis.
5. Laboratorium Biologi MIPA UNS atas bantuannya mendokumentasikan hasil pengamatan anatomi.
6. Laboratorium LPPT UGM atas bantuannya menguji kandungan flavonoid.
7. Laboratorium Kimia Fakultas MIPA UGM atas bantuannya menguji flavonoid dengan HPLC.
8. Saudara Ifandari atas motivasi, bantuan dan waktunya dalam penyelesaian penelitian.
9. Teman – teman prodi Biosain angkatan 2009 atas semangat dan segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini
10. Ketua Yayasan Lembaga Pendidikan Al Firdaus atas pemberian ijin kuliah bagi penulis.
11. Kepala Sekolah dan guru-guru SD Al Firdaus atas motivasi, bantuan, dan pengertiannya.
12. Saudari Iffah Nadya Abror atas dukungan dan bantuan dalam pengurusan administrasi.
13. Dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas segala bantuan dalam penelitian ini.

DAFTAR ISI

Hal

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING TESIS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN ABSTRAK.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
HALAMAN KATA PENGANTAR.....	viii
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv

Bab I Pendahuluan

a. Latar belakang.....	1
b. Rumusan masalah.....	4
c. Tujuan penelitian.....	5
d. Manfaat penelitian.....	5

Bab II Tinjauan Pustaka dan Kerangka Konsep Penelitian

A. Tinjauan Pustaka

1. Keanekaragaman genus <i>Phyllanthus</i>	6
2. Taksonomi Modern.....	16
3. Anatomi Tumbuhan.....	19
4. Flavonoid.....	20
5. Kromatografi.....	22

B. Kerangka pemikiran.....	25
C. Kerangka penelitian.....	26
D. Hipotesa	27

Bab III Metodologi Penelitian

A. Waktu dan tempat penelitian.....	28
B. Alat dan bahan penelitian.....	28
C. Cara Kerja.....	29
D. Analisis data	33

Bab IV Hasil dan Pembahasan

A. Karakter anatomi.....	35
B. Karakter Fitokimia Flavonoid.....	48
C. Pengklasifikasian berdasarkan karakter anatomi dan fitokimia flavonoid.....	57

Bab V Kesimpulan dan Saran

A. Kesimpulan.....	61
B. Saran.....	61

DAFTAR PUSTAKA.....	62
---------------------	----

LAMPIRAN.....	67
---------------	----

DAFTAR TABEL

Hal

Tabel 1. Ringkasan Pengamatan Karakter Anatomi Batang Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus	33
Tabel 2. Ringkasan Pengamatan Karakter Anatomi Akar Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus	35
Tabel 3. Ringkasan Pengamatan Karakter Anatomi Daun Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus	37
Tabel 4. Indeks Stomata daun pada Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus	38
Tabel 5. Nilai Koefisien Similaritas karakter anatomi Kelima Spesies	40
Tabel 6. Kandungan Flavonoid Total pada Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus dengan metode Spektrofotometri	45
Tabel 7. Nilai Koefisien Similaritas karakter fitokimia flavonoid Kelima Spesies Anggota Genus Phyllanthus	51
Tabel 8. Nilai Koefisien Similaritas berdasarkan Karakter Anatomi dan Fitokimia Flavonoid dari Kelima Spesies anggota Genus Phyllanthus	54

DAFTAR GAMBAR

Hal	
Gambar 1. Morfologi Meniran Hijau (<i>Phyllanthus niruri</i>).....	8
Gambar 2. Morfologi Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i>).....	10
Gambar 3. Morfologi Sligi (<i>Phyllanthus buxifolius</i>).....	11
Gambar 4. Morfologi Ceremai (<i>Phyllanthus acidus</i>).....	13
Gambar 5. Morfologi Buah Tinta (<i>Phyllanthus reticulatus</i>).....	15
Gambar 6. Skema Kerja HPLC.....	20
Gambar 7. Bagan Alur Kerangka Pemikiran.....	21
Gambar 8. Kerangka Penelitian.....	22
Gambar 9. Penampang Melintang Batang Lima Spesies Genus <i>Phyllanthus</i>	32
Gambar 10. Penampang Melintang Akar Lima Spesies Genus <i>Phyllanthus</i>	34
Gambar 11. Penampang Melintang Daun Lima Spesies Genus <i>Phyllanthus</i>	36
Gambar 12. Stomata Daun Lima Spesies Genus <i>Phyllanthus</i>	38
Gambar 13. Dendrogram kesamaan karakter Anatomi dari kelima spesies genus <i>phyllanthus</i>	41
Gambar 14 . Hasil TLC Kelima Spesies Anggota Genus <i>Phyllanthus</i>	44
Gambar 15. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak Buah Tinta.....	46
Gambar 16. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak Meniran Merah.....	47
Gambar 17. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak Ceremai.....	47
Gambar 18. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak Meniran Hijau.....	48
Gambar 19. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak Sligi.....	48

Gambar 20. Kromatogram pemisahan senyawa baku pembanding Rutin dan Quercetine 49

Gambar 21. Dendrogram kesamaan karakter Fitokimia Flavonoid dari kelima spesies Phyllanthus.....

52

Gambar 22. Dendrogram kesamaan sifat berdasarkan karakter Anatomi dan Fitokimia Flavonoid kelima spesies gnggota genus Phyllanthus

55

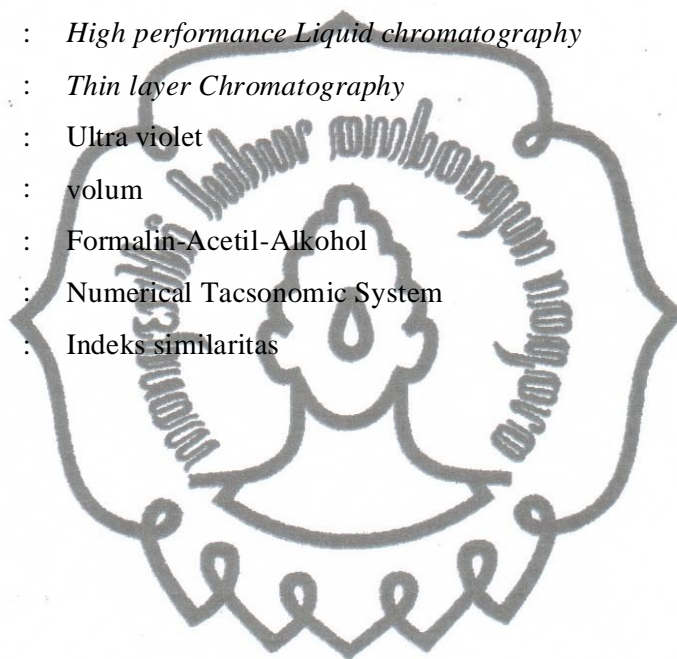


DAFTAR LAMPIRAN

Hal	
Lampiran 1. Data karakter anatomi.....	65
Lampiran 2. Data karakter fitokimia.....	66
Lampiran 3. Matrik similaritas karakter anatomi	67
Lampiran 4. Matriks similaritas karakter fitokimia.....	69
Lampiran 5. Matriks similaritas karakter anatomi dan fitokimia	70
Lampiran 6 . Dendogram berdasar karakter anatomi	71
Lampiran 7. Dendogram berdasar karakter flavonoid	72
Lampiran 8. Dendogram berdasar karakter anatomi dan flavonoid	72
Lampiran 9. Foto-foto penelitian	73

DAFTAR SINGKATAN

KG	:	Kromatografi Gas
<i>P</i>	:	<i>Phyllanthus</i>
HNMR	:	
HPLC	:	<i>High performance Liquid chromatography</i>
TLC	:	<i>Thin layer Chromatography</i>
UV	:	Ultra violet
v	:	volum
FAA	:	Formalin-Acetil-Alkohol
NTSys	:	Numerical Tacsonomic System
IS	:	Indeks similaritas



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Indonesia yang terletak di daerah tropis memiliki keanekaragaman tumbuhan yang tinggi. Keragaman hayati meliputi keragaman interspesies, intraspesies, interpopulasi dan intrapopulasi. Keanekaragaman tumbuhan yang menjadi perhatian para peneliti saat ini salah satunya adalah keanekaragaman tanaman obat. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat yang banyak diteliti saat ini adalah tumbuhan dari genus *Phyllanthus*.

Genus *Phyllanthus* merupakan satu genus yang memiliki anggota yang cukup besar. Jumlah spesies yang ada dalam genus ini mencapai 833 spesies (Govaerts *et al* 2000 *cit* Kathriarachahi *et al* 2006). Adanya jumlah spesies yang cukup besar memungkinkan kemiripan yang tinggi antara karakter yang ada terutama morfologi, anatomi dan habitusnya. Sebagian besar anggota dari genus ini telah diketahui sebagai tanaman obat. Beberapa di antaranya telah digunakan secara tradisional maupun sebagai bahan industri obat berskala besar. Beberapa spesies yang termasuk genus *phyllanthus* antara lain *Phyllanthus niruri* (meniran hijau), *Phyllanthus urinaria* (meniran merah), *Phyllanthus acidus* (cermai), *Phyllanthus buxifolius* (sligi) dan *Phyllanthus reticulatus* (buah tinta).

Beberapa spesies anggota genus *Phyllanthus* telah diketahui sebagai anti bakteri, antiviral. *P. urinaria* (meniran merah) dilaporkan mempunyai efek immunomodulator. Meniran hijau (*P. niruri*) (Maat,1997) dan meniran merah (*P. urinaria*) (Ifandari, 2011) memiliki efek immunomodulator. Berdasarkan

aktivitas farmasi yang sangat kompleks pada genus *Phyllanthus*, diperlukan suatu evaluasi didalam aplikasinya. Langkah ini dimulai dari kepastian dalam bidang sistematik terutama dalam proses klasifikasi dan identifikasi tiap spesies dalam genus *Phyllanthus*.

Pengklasifikasian genus *Phyllanthus* mengalami banyak perbedaan pendapat antara banyak peneliti. Genus ini tergolong sangat besar anggota spesiesnya dan memungkinkan banyak modifikasi pada morfologi, anatomi maupun molekulernya (Kathriarachahi, *et al* 2006). Sebagai contoh spesies *P.niruri* dan *P.tenellus* yang ada di daerah Brazil memiliki tingkat kemiripan yang besar pada sifat morfologinya (Garcia et al, 2004).

Pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat herba diperlukan ketelitian pemilihan baik menurut jenis maupun kandungan kimianya. Dengan adanya tingkat kemiripan yang besar pada genus *Phyllanthus*, diperlukan karakter anatomi dan karakter morfologi yang spesifik. Hal ini diperlukan sebagai langkah awal sebelum masuk pada pemeriksaan kandungan bioaktifnya.

Di Indonesia, penelitian tentang anggota genus *Phyllanthus* hanya sebatas yang telah digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Penelitian yang ada sebatas aktivitas senyawa yang terkandung dalam spesies tertentu, sedangkan pada tingkat taksonomi yang telah diteliti baru terbatas pada dua spesies, yaitu *P. niruri* (meniran hijau) dan *P. urinaria* (meniran merah) saja. Oleh karena itu diperlukan studi variasi dari beberapa spesies anggota genus *Phyllanthus* yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia.

Studi variasi tumbuhan yang berlandaskan pada karakter anatomi dan morfologi menjadi perhatian utama para ahli taksonomi tumbuhan. Kedua karakter ini menjadi akar dari pengembangan bidang ilmu seperti keanekaragaman, filogeni dan juga evolusi (Endress, et al 2000).

Ilmu taksonomi sebagai ilmu dasar menggunakan kedua karakter ini sebagai dasarnya dan kemudian berkembang lebih lanjut dengan penambahan karakter lainnya. Sistem taksonomi yang pertama muncul adalah berdasarkan asa manfaat dari tumbuhan. Sistem ini sekarang disebut sebagai taksonomi klasik. Penggunaan dasar hanya dari kedua karakter ini kadang masih menimbulkan keambiguan, oleh karena itu muncul sistem taksonomi yang lain sebagai pemantapannya.

Salah satu cara pendekatan dalam klasifikasi tumbuhan adalah dengan menggunakan taksonomi numerik. Istilah taksonomi numerik (*numerical taxonomy*) atau *taxometrics* diciptakan oleh Sokal dan Sneath (1963). Taksonomi numerik muncul secara kebetulan bersama-sama dengan pendekatan fenetik dalam klasifikasi tumbuhan. Oleh sebab itu muncul pendapat bahwa kedua pendekatan ini sama, padahal tidak demikian. Sebab taksonomi numerik tidak menghasilkan data baru, bukan pula sistem pendekatan baru, tetapi metode baru dalam pengorganisasian data, dan biasanya dengan bantuan komputer, sehingga taksonomi numerik bisa digunakan dalam menentukan hubungan kekerabatan dalam pendekatan fenetik (Stace, 1980)

Penggunaan kemotaksonomi telah dipraktekkan oleh manusia untuk mengenal dan mengelompokkan tumbuhan berdasarkan rasa, bau, warna dan lainnya. Kemotaksonomi muncul didasari oleh konsep pemikiran Linnaeus pada abad ke-18 yang menyatakan bahwa tumbuhan yang mempunyai ciri morfologi yang mirip pada umumnya juga mempunyai kandungan zat kimia yang mirip (Hegnauer, 1962). Namun begitu, antara tumbuhan satu dengan lainnya tidak akan memiliki kandungan kimia yang semuanya persis sama, pasti terdapat salah satu atau beberapa zat kimia yang khas untuk masing-masing tumbuhan tersebut (Pramono, 1988).

Penggunaan tanaman sebagai obat, erat kaitanya dengan kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman tersebut. Senyawa aktif yang telah digunakan dalam pengobatan antara lain flavonoid. Senyawa ini telah diteliti mampu sebagai anti oksidan dan peningkat daya immunomodulator (Sharififar et al, 2009). Selain digunakan sebagai senyawa aktif dalam pengobatan, flavonoid juga dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies pada kelompok tertentu (Seiger, 1981). Oleh karena itu diperlukan penelitian perbandingan kandungan flavonoid pada beberapa tanaman anggota genus *Phyllanthus* yang digunakan sebagai obat di Indonesia.

Selain itu, untuk memberikan informasi mengenai perbandingan struktur anatomi dan kandungan kimia pada meniran merah (*P. urinaria*), meniran hijau (*P. niruri*), sliki (*P. buxifolius*), cermai (*P. acidus*), dan buah tinta (*P. reticulatus*) dapat diketahui hubungan kekerabatan pada spesies tersebut berdasarkan karakter anatomi dan kimia flavonoid.

Studi komparasi meniran merah (*Phyllanthus urinaria*), meniran hijau (*P. niruri*), sligi (*P. buxifolius*), cermai (*P. acidus*), dan buah tinta (*P. reticulatus*) berdasarkan struktur anatomi dan analisis fitokimia flavonoid belum pernah diadakan sebelumnya, sehingga penelitian ini perlu untuk dilakukan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

1. Sejauh mana perbedaan karakter anatomi antara meniran merah (*Phyllanthus urinaria*), meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), sligi (*Phyllanthus buxifolius*), cermai (*Phyllanthus acidus*), dan buah tinta (*Phyllanthus reticulatus*)?
2. Sejauh mana perbedaan karakter fitokimia flavonoid *P. urinaria*, *P. niruri*, *P. buxifolius*, *P. acidus*, dan *P. reticulatus* ?
3. Bagaimanakah hubungan kekerabatan antar spesies tersebut?

C. Tujuan Penelitian

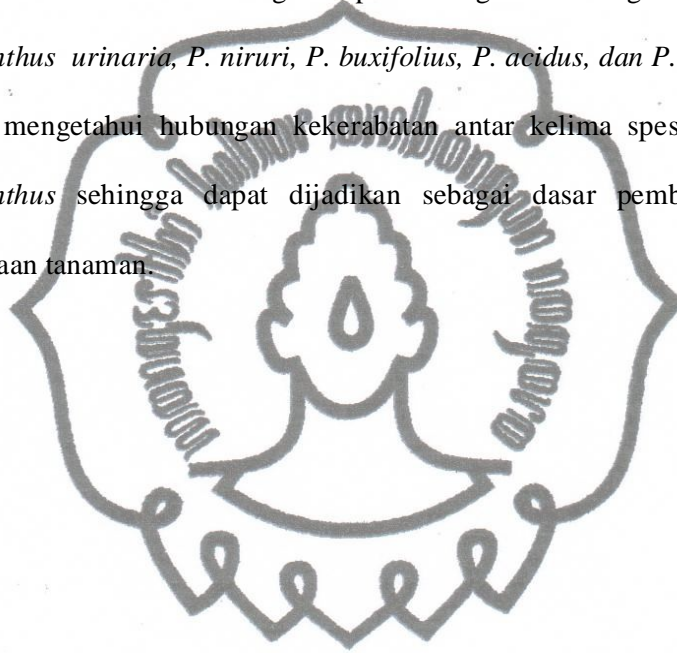
Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menguji perbedaan karakter anatomi meniran merah (*P. urinaria*), meniran hijau (*P. niruri*), sligi (*P. buxifolius*), cermai (*P. acidus*), dan buah tinta (*P. reticulatus*).
2. Menguji perbedaan karakter fitokimia flavonoid *P. urinaria*, *P. niruri*, *P. buxifolius*, *P. acidus*, dan *P. reticulatus*
3. Mendeskripsikan hubungan kekerabatan antar spesies tersebut.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah

1. Memberikan informasi mengenai perbandingan anatomi dari *Phyllanthus urinaria*, *P. niruri*, *P. buxifolius*, *P. acidus*, dan *P. reticulatus*
2. Memberikan informasi mengenai perbandingan kandungan flavonoid dari *Phyllanthus urinaria*, *P. niruri*, *P. buxifolius*, *P. acidus*, dan *P. reticulatus*
3. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar kelima spesies pada genus *Phyllanthus* sehingga dapat dijadikan sebagai dasar pembudidayaan dan pemuliaan tanaman.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Keanekaragaman genus *Phyllanthus*.

Genus *Phyllanthus* merupakan satu genus yang memiliki keanekaragaman spesies tinggi. Jumlah spesies yang ada dalam genus ini mencapai 833 spesies. Genus ini pertama kali dideskripsikan oleh Linnaeus pada tahun 1753. Anggota genus ini tersebar luas di dunia dan penyebaran terbesar pada wilayah tropis (Govaerts et al, 2000).

Kajian sistematik dalam kelompok genus *Phyllanthus* telah banyak dilakukan, akan tetapi hasil yang didapatkan terdapat perbedaan terutama dalam menentukan spesies. Terdapat beberapa spesies yang dianggap spesies kompleks berdasarkan perbedaan geografisnya. Variasi yang ada terutama persamaan dari segi morfologi yang sangat erat hubungannya dengan lingkungan hidupnya (Kandavel et al, 2011). Spesies yang dianggap kompleks oleh beberapa peneliti adalah *P.niruri*, spesies ini yang tumbuh diluar wilayah Brazil merupakan spesies kompleksnya (Figueira et al 2006).

Kajian pada genus *Phyllanthus* banyak dilakukan karena sebagian besar anggota spesiesnya merupakan tanaman obat. Genus *Phyllanthus* merupakan kelompok tanaman yang sebagian besar anggotanya telah digunakan sebagai obat herbal. Berdasarkan penelitian, anggota genus *Phyllanthus* memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai anti viral (Liu et al, 2001;Yang et al, 2007), antibakteri (Ho Lai et al, 2008), anti kanker (Huang et al,2010), hepatoprotektif (Sharma et al, 2011), antioksidan (Chularojmontri et al,2005

;Karuna et al, 2009) dan khususnya meniran hijau berperan sebagai immunomodulator (Maat,1997). Keragaman yang ada dalam genus ini dapat berdasarkan morfologi, anatomi, kandungan fitokimia dan tingkat gen.

Di Indonesia, penelitian tentang anggota genus *Phyllanthus* hanya sebatas yang telah digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Penelitian yang ada sebatas aktivitas senyawa yang terkandung dalam spesies tertentu, sedangkan pada tingkat taksonomi yang telah diteliti hanya pada tingkat kelompok meniran saja. Jumlah spesies anggota genus *Phyllanthus* yang tumbuh di Indonesia belum pernah tercatat dan bagaimana hubungan kekerabatanya belum diteliti. Beberapa spesies anggota genus *Phyllanthus* yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia.

a. Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri* L.)

Klasifikasi Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri* L.) menurut Steenis (2005).

Kingdom	: Plantae (Tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Sub-divisi	: Angiospermae (Biji tertutup)
Kelas	: Dicotyledoneae (Biji berkeping dua)
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Phyllanthus</i>
Spesies	: <i>Phyllanthus niruri</i> L.

Meniran hijau (*Phyllanthus niruri*) tumbuh liar di tempat lembab dan kurang subur, seperti di sepanjang saluran air, semak-semak, dan tanah di antara rerumputan. Tumbuhan ini bisa ditemukan di daerah dataran rendah

sampai ketinggian 1000 m dari permukaan laut. Daun tunggal, letak berseling. Helaian daun bundar telur sampai bundar memanjang, ujung tumpul, pangkal membulat, permukaan bawah berbintik kelenjang, tepi rata, panjang sekitar 1,5 mm, lebar sekitar 7 mm, berwarna hijau. Dalam satu tanaman ada bunga betina dan bunga jantan. Bunga jantan keluar di bawah ketiak daun, sedangkan bunga betina keluar di atas ketiak daun. Buahnya kotak, bulat pipih, licin, bergaris tengah 2-2,5 mm. Bijinya kecil, keras, berbentuk ginjal, berwarna coklat (Hutapea dan Syamsyu Hidayat, 1991).



Gambar 1. Morfologi meniran hijau (*P. niruri*)

Kandungan kimia meniran hijau (*P. niruri*) adalah lignin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, asam lemak, Vitamin C, kalium, damar, tannin, geranin, phyllantin (Bagalkotkar et al, 2006).

Tanaman ini tumbuh liar di tanah datar dan daerah pegunungan hingga tinggi 1 m sampai 1000 m dari permukaan laut. Tumbuhan ini tumbuh liar di tempat terbuka pada tanah gembur, berpasir di ladang, di tepi sungai dan di pantai, bahkan tumbuh liar di pekarangan rumah (Dalimarta, 2000).

Pemanfaatan meniran hijau (*P. niruri*) banyak digunakan secara tradisional maupun modern. Pemanfaatan secara tradisional banyak ditemukan pada resep *ayurvedic medicines*. Berdasarkan penelitian, meniran hijau memiliki aktivitas antibakteri, immunomodulator (Ma'at, 1997), hepatoprotektif, antioksidan (Chatterjee and Sil, 2006), antiviral HSV dan antireplikasi virus HIV (Naik and Juvenkar, 2003).

b. Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* L.)

Klasifikasi Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* L.) menurut Steenis (2005).

Kingdom : Plantae (Tumbuh-tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Sub-divisi : Angiospermae (Biji tertutup)
Kelas : Dicotyledonae (Biji berkeping dua)
Ordo : Euphorbiales
Famili : Euphorbiaceae
Genus : *Phyllanthus*
Spesies : *Phyllanthus urinaria* L.

Meniran merah (*P. urinaria*) mempunyai ciri yang hampir sama dengan meniran hijau. Meniran merah mempunyai tinggi antara 50 - 100 cm. Tumbuhan ini berumah satu dan bunganya berkelamin tunggal. Tumbuhan ini memiliki daun majemuk dengan anak daun berbentuk bulat lonjong. Bunga mempunyai antera memecah secara horizontal. Buah bertekstur licin, menempel pada bawah tangkai anak daun. Bunga

berukuran kecil berwarna putih dan letaknya sama dengan munculnya buah. Batang dan tangkai daun berwarna merah.

Meniran merah (*P. urinaria*) memiliki warna batang dan tangkai daun merah walaupun kadang agak kehijauan. Sayatan batang muda berbentuk persegi lima yang disebut bentuk kristal polihedral. Bentuk sayatan cabang berbentuk pipih bersayap. Meniran merah (*P. urinaria*) memiliki kristal *druse* pada jaringan palisade dan tulang daun. Pada tepi daun meniran merah dapat ditemukan trikoma uniseluler (Qonit, 2010).



Gambar 2. Morfologi meniran merah (*P. urinaria*)

Kandungan kimia meniran merah (*P. urinaria*) adalah corilagin, rutin, brevifolin carboxylic acid, isostrictiniin, geranin, gallic acid, ellagic acid, ellagitanin, flavonoid, Phenol (Zhang et al, 2003).

Meniran merah (*P. urinaria*) dapat tumbuh ditempat terbuka seperti sawah, ladang dan pekarangan. Tanaman ini sering dijumpai bersama meniran hijau, akan tetapi dalam jumlah kecil. Meniran merah (*P. urinaria*)

akan tumbuh dengan baik pada lahan yang tanpa naungan. Tanaman ini dapat tumbuh mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi.

Pemanfaatan meniran merah (*P.urinaria*) di Indonesia belum begitu banyak, akan tetapi di negara luar seperti Cina dan India sudah banyak dimanfaatkan. Tanaman ini memiliki aktivitas sebagai peningkat imunomodulator (Ifandari, 2011), anti kanker (Huang et al 2010), kardioprotektif (Chularojmontri et al, 2005), dan antiviral HSV 1,2 (Yang et al 2007) dan HBV (Xin et al, 2007). Pemanfaatan meniran merah secara tradisional belum begitu spesifik, dan jenis ini sering menggantikan meniran hijau (*P. urinaria*). Padahal dari kedua spesies ini memiliki kandungan bioaktif yang berbeda.

c. Sligi (*Phyllanthus buxifolius*)

Klasifikasi Sligi (*Phyllanthus buxifolius*) menurut Steenis (2005)

Kingdom	: Plantae (Tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Sub-divisi	: Angiospermae (Biji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (Biji berkeping dua)
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Phyllanthus
Spesies	: <i>Phyllanthus buxifolius</i> L.

Tanaman sligi (*P. buxifolius*) berhabitus perdu dengan tinggi 60-90 cm. Batang bentuk bulat, arah tumbuh, tegak, berkayu, permukaan kasar,

bercabang, hijau kecoklatan. Percabangan monopodial, daun majemuk dengan arah berlawanan daun folia opposita. Bentuk lembar anak daun oval dengan ukuran 1 – 2 cm. Permukaan daun rata halus dengan warna hijau hingga hijau pucat. daun berstipula. Bunga aktinomorf petal 6 - 7 lembar merah kekuningan. Jumlah stamen banyak dan **kedudukan ovarium trilokuler**. Buah tunggal, buah batu, keras dengan endokarpium yang lunak. Buah berbagi 6 ruang dengan diameter 5 – 6 mm berwarna coklat (Orwal et al, 2009).

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa aktif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sligi mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, kuinon, dan steroid triterpenoid (Wardah dkk, 2007).



Gambar 3 : Morfologi sligi (*P.buxifolius*).

Sligi (*P. buxifolius*) merupakan tanaman asli dari wilayah Cina, India, Malaysia dan Srilangka. Tanaman ini dapat tumbuh di tanah yang gembur, lembab dan kadang di tumpukan sampah. Sligi dapat tumbuh baik pada ketinggian maksimal 2000m dpl (Orwal et al, 2009). Tanaman ini

dimanfaatkan secara tradisional sebagai anti inflamasi, sedangkan menurut penelitian, tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan, menekan sintesis asam lemak dan menurunkan hiperlipidemia (Wardah et al 2012).

d. Cermay (*Phyllanthus acidus*)

Klasifikasi Cermay (*Phyllanthus acidus*) menurut Steenis (2005)



Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Phyllanthus
Spesies	: <i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeells

Cermay (*P. acidus*) berbentuk pohon, berumur panjang (perennial), tinggi kurang lebih 10 meter. Akar tunggang. Batang aerial, berkayu, silindris, tegak, warna coklat kotor, bagian dalam solid, kulit tebal, permukaan kasar, percabangan simpodial. Daun tunggal, bertangkai pendek, tersusun berseling (alternate), warna hijau muda, bentuk bulat telur, panjang 2-7 cm, lebar 1,5 – 2 cm, helaian daun tipis tegar, ujung runcing, pangkal tumpul (obtusus), tepi rata, pertulangan menyirip (pinnate), tidak memiliki daun penumpu, permukaan halus, tidak pernah meluruh bunga majemuk, bentuk tandan (racemes), muncul di sepanjang

batang dan cabang, kelopak berbentuk bintang (stellatus), mahkota berwarna merah muda.

Buah batu (drupa) bulat, panjang 1,2 – 1,5 cm, warna kuning muda muda, bentuk dengan biji bulat pipih, berbiji 4-6, berwarna cokelat muda, rasanya asam perbanyakkan generative (biji), vegetative (okulasi) (Orwa et al, 2009) (Pino et al , 2008).

Cermai (*P. acidus*) memiliki banyak kandungan senyawa kimia baik yang terdapat akar, batang, atau daun. Senyawa tersebut antara lain saponin, flavonoid, tannin, polifenol, terpen, alkaloid, lignan dan vitamin C (Chakraborty et al, 2012).



Gambar 4 : Morfologi Cermai (*P.acidus*)

Tanaman ini dapat tumbuh optimum di daerah tropis, dan daerah lintang sedang dengan musim kemarau pendek maupun panjang. Tanaman ini berasal dari daerah Brazil dan Colombia, dan tersebar di wilayah Asia Tenggara. Syarat tumbuh tanaman ini mudah, cermai dapat tumbuh di jenis tanah bervariasi hingga berpasir (Orwa et al, 2009).

Cermai (*P. acidus*) memiliki aktivitas antioksidan, analgesik dan anti inflamasi terhadap penyakit patologis. Secara tradisional tanamam ini telah dimanfaatkan sebagai peningkat memori otak, pereda batuk, kelainan kulit, anti hipertensi, dan pereda demam (Chakraborty et al 2012).

e. Buah tinta (*Phyllanthus reticulatus*)

Klasifikasi Buah tinta (*Phyllanthus reticulatus*) menurut Steenis (2005)



Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Phyllanthus
Spesies	: <i>Phyllanthus reticulatus</i> (L.) Skeells

Tumbuhan buah tinta (*P. reticulatus*) termasuk kelompok semak berkayu dan di Indonesia paling tinggi mencapai 2 meter. Batang berwarna hijau hingga coklat, berbentuk silinder. Daun mempunyai bentuk yang beragam dari elips hingga oval dengan panjang 1,5 cm. Percabangan plagiotrof memiliki daun majemuk dengan tangkai daun yang pendek. Bungan uniseksual, kecil, tunggal. Bunga mempunyai periantium lobus dan lempeng 5 hingga 6. Buah berbentuk bulat kecil seperti buah kemlaka dan mempunyai diameter hingga 7 mm dan berwarna biru keunguan.

Buah tinta (*P. reticulatus*) memiliki kandungan senyawa kimia pada daun berupa lupeol asetat, stigmasterol, lupeol (Jamal et al, 2008). Kandungan ekstrak secara keseluruhan antara lain: Phenol, flavonoid, alkaloids, tannin, steroid dan saponin (Vaghasiya, 2011)

Buah tinta (*P. reticulatus*) dapat hidup pada daerah terbuka maupun dengan naungan. Di Indonesia tanaman ini sangat banyak jumlahnya dan banyak digunakan sebagai pagar hidup.

Pemanfaatan tanaman buah tinta (*P. reticulatus*) secara tradisional telah dilakukan. Tanaman ini berkhasiat dalam meredakan penyakit kolik, konstipasi dan gangguan lambung lainnya. Pemanfaatan tanaman buah tinta (*P. reticulatus*) dimulai dari seluruh tanaman hingga buah yang matang. Ekstrak semua bagian tanaman buah tinta (*P. reticulatus*) memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektif (Das et al, 2008).



Gambar 5 : Morfologi Buah Tinta (*P. reticulatus*)

2. Taksonomi Modern

Taksonomi merupakan suatu ilmu yang mempelajari tata cara pengelompokan makhluk hidup berdasarkan persamaan sifat yang dimiliki. Taksonomi modern merupakan sistem yang melibatkan system taksonomi klasik dan eksperimental yang digunakan secara bersama-sama dengan tujuan karakternya saling melengkapi. Taksonomi modern sering disebut juga sebagai taksonomi numerik. Sistem ini dapat digunakan untuk menyusun klasifikasi berdasarkan hubungan kekerabatan, khususnya persamaan sifat-sifat fenotip (Shukla dan Misra, 1982 dalam Suranto, 2007)

Taksonomi numerik memiliki ruang kajian yang luas. Pada sistem ini, ruang kajian meliputi fenetik dan filogenetik. Taksonomi numerik lebih luas kajiannya dibandingkan Kladistik Henningian. Dengan ruang kajian yang luas, diharapkan system klasifikasi ini dapat mendeteksi sistem klasifikasi natural (Sneath, 1995).

Tidak semua ahli taksonomi merasa puas dengan adanya pendekatan secara filogenetik. Beberapa ahli seperti Sokal dan Sneath memandang pendekatan ini terlalu subyektif. Sebagai bukti mereka menyebutkan ahli taksonomi yang berbeda membuat klasifikasi yang berbeda untuk makhluk hidup yang sama. Faktor subyektifitas dari sistem filogenetik juga tampak dalam pemilihan ciri-ciri taksonomi yang akan dibandingkan.

Usaha untuk menghindari atau setidaknya mengurangi sifat subyektifitas ini khususnya dalam mengelompokkan makhluk hidup ditempuh antara lain dengan 1) diusahakan menggunakan ciri-ciri taksonomi sebanyak-

banyaknya; 2) deskripsi maupun cara pengukuran dari cirri-ciri tersebut dibuat jelas dan setepat mungkin; 3) membandingkan cirri-ciri taksonomi setepat mungkin, yaitu secara kuantitatif (Rideng, 1989)

Pandangan tersebut telah melahirkan pendekatan fenetik. Fenetik didasarkan pada konsep bahwa hubungan kekerabatan di antara makhluk hidup didasarkan atas jumlah derajat persamaan yang ada. Gagasan fenetik ini diperkenalkan oleh Adanson pada abad ke-18. Para peneliti seperti Michener, Sokal, Sneath, Cain, dan Harrison mulai memperkenalkan metode computer dasar untuk menghitung derajat kesamaan dan untuk mengelompokkan taksa menggunakan metode kuantitatif. (Joes and Luchsinger, 1987)

Taksonomi numerik pada mulanya digunakan oleh ahli mikrobiologi. Sistem ini digunakan dalam mengatasi ketidak konsistenan sistem klasifikasi pada mikrobial. Setelah itu system klasifikasi ini digunakan luas pada objek organism yang lebih tinggi (Sneath, 1995). Dengan hal ini maka taksonomi numerik sering disebut sebagai taksonomi modern. Taksonometri merupakan perkembangan ilmu taksonomi yang berdasarkan sifat makro dan sifat mikro. Sifat makro merupakan sifat yang jelas terlihat dari luar yang berupa morfologi dan anatomi sedangkan sifat mikro berupa kandungan kimia, jumlah kromosom, pollen, sitologi, dan data genetik (Suranto, 2007).

Pada sistem taksonomi numerik melibatkan kegiatan karakterisasi, koding, pembobotan untuk evaluasi dalam pembentukan grup, mengkonstruksi klasifikasi

dan menterjemahkan hasil informasi klasifikasi yang didapat dari hasil pengelompokan (Sneath, 1999)

Karakterisasi merupakan salah satu tahapan kegiatan dalam taksonomi yang dilakukan agar suatu individu memiliki kedudukan dalam tingkat takson yang jelas. Proses karakterisasi menghasilkan kumpulan karakter yang akan digunakan dalam proses klasifikasi dalam system taksonomi. Karakter yang ada kemudian dilakukan pengkoding atau penotasian.

Taksonomi numerik (taksonometri) merupakan metode kuantitatif mengenai kesamaan atau kemiripan sifat antar golongan organism, serta penataan golongan-golongan tersebut melalui analisis kluster ke dalam kategori takson yang lebih tinggi atas dasar kesamaan tersebut. Taksonometri didasarkan atas bukti-bukti fenetik yaitu kemiripan yang diperlihatkan obyek studi yang diamati dan dicatat. Jadi bukan berdasarkan kemungkinan perkembangan filogenetiknya.

Terdapat lima kegiatan taksonometri yang diawali pemilihan objek studi yang mewakili golongan organism tertentu, yang selanjutnya disebut OTU (*Operational Taxonomy Unit*). Kegiatan berikutnya adalah pemilihan karakter, pengukuran analisis kluster, dan penerikan kesimpulan (Tjitrosoepomo, 2005).

Pengukuran kemiripan pada OTU berdasarkan karakter yang dimilikinya. Karakter yang digunakan sebagai OTU merupakan deskripsi terhadap bentuk, struktur atau sifat yang membedakan sebuah unit taksonomi dengan unit lainnya.

Setiap karakter memiliki nilai yang dapat bersifat kalitatif atau kuantitatif. Karakter yang berkaitan dengan bentuk dan struktur merupakan karakter kualitatif. Karakter yang mendeskripsikan ukuran, panjang, dan jumlah merupakan karakter kualitatif. Secara umum, karakter kualitatif lebih berguna dalam membedakan taksa pada tingkat taksonomi yang lebih tinggi. Sementara karakter kuantitatif banyak digunakan untuk membedakan kategori taksonomi pada tingkat yang lebih rendah. (Singh, 1999)

. Proses klasifikasi pada taksonomi numerik semua karakter yang ada dikumpulkan dan kemudian dianalisis untuk mendapatkan nilai kesamaan yang nantinya menunjukkan hubungan kekerabatannya (Sneath, 1995).

Karakter yang didapat dalam proses karakterisasi kemudian dikoding dengan “1” untuk sifat yang ada dan “0” untuk sifat yang tidak ada. Proses pembobotan dinilai dengan indeks similaritas. Indeks similaritas merupakan hasil dari penjumlahan sifat yang sama-sama dimiliki oleh dua spesies yang dibandingkan dibagi dengan semua sifat yang ada. Dari nilai indeks similaritas inilah yang menentukan jauh dekatnya kekerabatan antar spesies. (Sokal, 1966)

Nilai indeks similaritas ini kemudian dimasukkan dalam teknik pengelompokan (clustering). Teknik pengelompokan terdiri dari tiga macam yaitu singk linkage, average linkage, dan complex linkage. Teknik pengklasteran ini merupakan kerangka dari klaster atau grup yang akan terbentuk. Untuk jumlah sampel yang kecil, teknik singk linkage lebih cocok digunakan. (Sokal, 1966). Tingkat validasi dari sistem klasifikasi ditentukan oleh banyaknya sifat yang diujikan diharapkan spesifik pada kelompok takson yang diuji.

3. Anatomi Tumbuhan

Karakter anatomi merupakan karakter yang melibatkan struktur sel dan jaringan tumbuhan (Simpson, 2006). Karakter anatomi pada tumbuhan melibatkan struktur dari empat organ dasar yaitu akar, batang, daun dan bunga. Karakter anatomi ini digunakan dalam sistem taksonomi.

Karakter morfologi dan anatomi merupakan tulang punggung dari sistem taksonomi (Endress et al., 2000). Karakter anatomi merupakan data untuk melakukan kegiatan klasifikasi. Banyak taksa yang dibangun dari karakter anatomi. Karakter anatomi yang umum digunakan antara lain: sistem pembuluh di batang dan daun, tangkai daun, anatomi nodul, susunan jaringan pada daun, dan studi epidermal (Singh, 1999).

Karakter anatomi memiliki banyak kelebihan dibandingkan karakter morfologi. Karakter morfologi dapat mengalami perubahan sesuai dengan situasi lingkungan sedangkan anatomi sedikit peluangnya mengalami perubahan. Karakter ini mempunyai nilai kestabilan yang lebih dibandingkan karakter morfologi. Oleh karena itu karakter ini berguna mendukung aspek penelitian morfogenesis, fisiologi, ekologi, taksonomi, evolusi, genetika, reproduksi dan lain sebagainya (Simpson, 2006).

Karakter anatomi yang umum diujikan pada kelompok dikotil antara lain struktur batang, akar, dan daun. Pada struktur akar bagian yang diteliti antara lain epidermis akar, bulu akar, dan jaringan pengangkut. Pada bagian batang, karakter yang dilihat antara lain bentuk batang (spesifik pada genus *Phyllanthus*), sel

epidermis, batang, jaringan pengangkut, struktur pembuluh silinder pusat, dan bahan organik lain (kristal) dalam jaringan. Lain halnya dengan organ daun struktur yang diamati antara lain stomata sel epidermis, palisade, bunga karang, dan adanya bahan seperti kristal dalam jaringan. (Simpson, 2006; Celep et al, 2011)

4. Flavonoid.

Karakter fitokimia mendukung dalam proses klasifikasi tumbuhan. Karakter ini bernilai dalam taksonomi tumbuhan modern. Sistem klasifikasi yang berdasarkan karakter ini disebut kemotaksonomi. Keberadaan senyawa kimia tertentu pada suatu jenis tumbuhan dapat menunjukkan hubungan evolusioner pada kelompok tertentu. Karakter kimia efektif untuk merunut pada semua tingkatan takson, bahkan dalam tingkat spesies dalam suatu genus (Seiger, 1981).

Flavonoid merupakan salah satu jenis metabolit sekunder yang banyak mendapatkan perhatian dari banyak peneliti. Senyawa ini memberikan peran penting dalam membentuk warna dari tumbuhan baik bunga maupun buah. Sebagian besar flavonoid terdapat dalam vakuola. Senyawa ini merupakan salah satu fenol alami dan terdapat pada seluruh bagian tumbuhan. Flavonoid merupakan zat warna pada tumbuhan dengan kenampakan warna merah, ungu, biru dan kuning. Anggota kelompok flavonoid yang banyak diteliti adalah antosianin, flavanol dan flavon (Lenny, 2006).

Flavonoid banyak menjadi objek penelitian karena ada kemungkinan untuk menghubungkan berbagai perbedaan morfologi diantara spesies yang

berkerabat dekat dalam satu genus. Kandungan senyawa ini dalam suatu spesies yang berkerabat dalam satu genus memberikan informasi bagi ahli taksonomi untuk mengelompokkan dan menentukan garis evolusi tumbuhan (Seiger, 1981).

Kandungan kimia yang umum terdapat pada genus *Phyllanthus* adalah golongan alkaloid, flavonoid, tannin, lignin dan polifenol (Khan et al 2011). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang penting dalam kelompok tanaman obat. Oleh karena itu, kandungan senyawa ini digunakan sebagai salah satu penanda untuk control kualitas dari obat herbal (Soares et al, 2003).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang jenisnya banyak. Senyawa ini berguna bagi tumbuhan dalam mempertahankan pertumbuhan dan perkembangannya. Fungsi spesifik dari kelompok ini untuk pertahanan diri dari herbivora, penyerap nutrisi esensial, mengandung polinator dan agen pemencaran biji dan masih banyak yang lain. (Andersen and Markham, 2006)

Deteksi senyawa flavonoid yang ada dalam ekstrak tumbuhan secara sederhana dapat dilakukan dengan metode Thin Layer Chromatography. Analisis senyawa flavonoid pada awalnya menggunakan UV-vis serapan cahaya spektrofotometri, GLC untuk analisis gula, dan aplikasi HNMR spektrofotometri. Metode ini terus berkembang tetapi sudah jarang digunakan. Pendeteksian senyawa flavonoid dengan metode terbaru dengan menggunakan spektrofotometer massa yang digabungkan dengan HPLC. Dengan metode ini analisis purifikasi dan determinasi senyawa flavonoid dapat cepat dilakukan (Andersen and Markham, 2006).

5. Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran senyawa berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi masing-masing komponen di antara 2 fase yaitu fase diam dan fase bergerak. Pemisahan ini dapat terjadi karena adanya perbedaan sifat fisik campuran, yaitu kecenderungan molekul zat untuk menguap, larut dalam cairan dan terserap butir-butir zat padat yang halus dengan permukaan luas. Kromatografi dapat dibedakan berdasarkan media pemisahannya. Pembagian teknik kromatografi terdiri dari kromatografi kertas, kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis (TLC), kromatografi cair performa tinggi (HPLC), dan kromatografi cair (LC) (Andersen and Markham, 2006).

Kromatografi lapis tipis (*Thin Layer Chromatography/TLC*) merupakan suatu modifikasi dari kromatografi kertas. TLC merupakan metode kromatografi yang paling sederhana. Teknik ini dapat digunakan dalam mendeteksi adanya flavonoid dengan cara sederhana, murah, dan cepat. Metode TLC cocok digunakan dalam proses “skreeening” awal untuk uji kualitatif flavonoid (Jork et al cit Andersen and Markham, 2006)

Uji flavonoid dengan TLC menggunakan solvent yang berasal dari kelompok flavone asetilasi. Kecocokan jenis solvent dengan senyawa uji sangat mempengaruhi hasil. Untuk memperoleh hasil terbaik diperlukan percobaan perubahan perbandingan jenis volum yang digunakan. Hasil positif test flavonoid ditunjukkan dengan adanya spot warna dari kuning, orange, sampai ungu (Andersen and Markham, 2006).

Kromatografi cair berperforma tinggi (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. HPLC termasuk metode analisis terbaru yang merupakan suatu teknik kromatografi dengan fase gerak cairan dan fase diam cairan atau padat. Banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya. HPLC dapat dipandang sebagai pelengkap Kromatografi Gas (KG). Dalam banyak hal kedua teknik ini dapat digunakan untuk memperoleh efek pemisahan yang sama baiknya. Bila derivatisasi diperlukan pada KG, tetapi pada HPLC zat-zat yang tidak diderivatisasi dapat dianalisis. Untuk zat-zat yang labil pada pemanasan atau tidak menguap, HPLC adalah pilihan utama. (Effendy D. Putra, 2004)

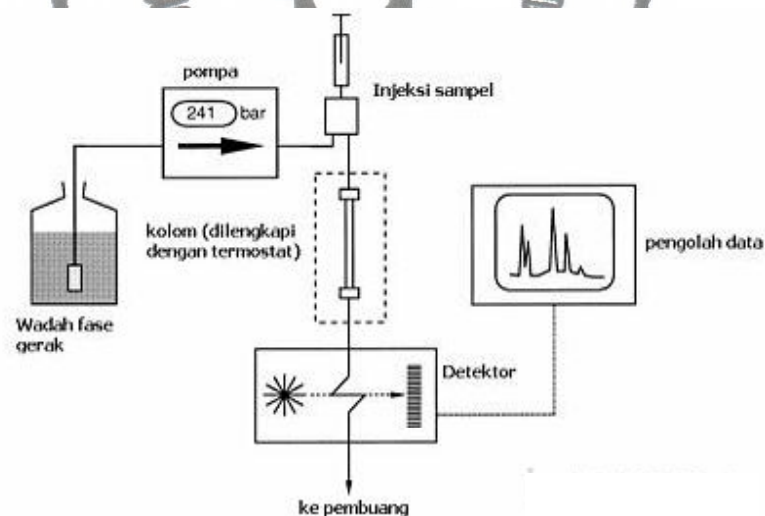
HPLC termasuk dalam kromatografi kolom. Kolom dalam jenis kromatografi ini terbuat dari partikel silica dengan solvent berupa pelarut non polar jenis heksan. Mekanisme kerja dari HPLC adalah sampel diinjeksikan pada alat, kemudian alat akan memproses pemisahan senyawa. Senyawa yang terpisah terdeteksi dengan adanya waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi tergambar dalam kromatogram membentuk puncak – puncak. Setiap jenis senyawa memiliki waktu retensi yang berbeda

Waktu retensi merupakan wujud dari adanya kinerja bagian detector. Detector yang biasa digunakan dalam alat HPLC berupa absorbansi sinar ultraviolet. Setiap jenis senyawa memiliki kemampuan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu. Kromatogram yang terbentuk dari detector perlu proses interpretasi untuk mendapatkan data. Proses interpretasi dilakukan

dalam program tersendiri pada alat dengan prinsip penerjemahan puncak – puncak waktu retensi absobansi cahaya.

Metode HPLC cocok digunakan dalam proses analisis flavonoid secara kuantitatif dan kualitatif. Hasil analisis HPLC sangat cocok digunakan dalam proses purifikasi dari produk alami tanaman dan penelitian kemotaksonomi (Andersen and Markham, 2006)

Istrumentasi HPLC pada dasarnya terdiri dari wadah fase gerak, pompa, alat untuk memasukkan sampel (tempat injeksi), kolom, detector, wadah penampung buangan fase gerak, dan suatu komputer atau integrator atau perekam. Diagram skematik sistem kromatografi cair adalah sebagai berikut:



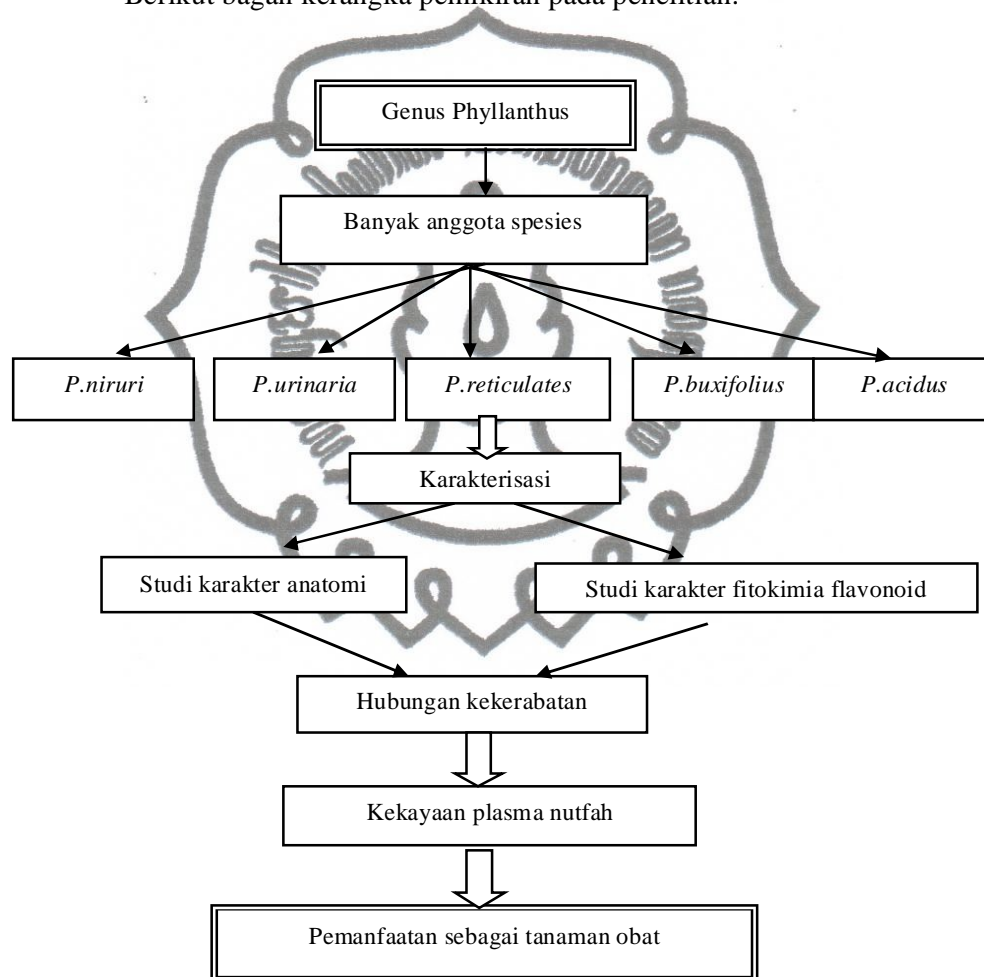
Gambar 6. skema kerja HPLC

HPLC merupakan seperangkat sistem yang cocok untuk meneliti mengetahui adanya aktivitas senyawa anti oksidan. Flavonoid merupakan kelompok yang mempunyai peran sebagai antioksidan. Oleh karena itu alat ini dipilih untuk meneliti kandungan flavonoid. HPLC dapat mendeteksi secara cepat

adanya senyawa anti oksidan dalam senyawa campuran yang kompleks (Neungchamnong et al,2004).

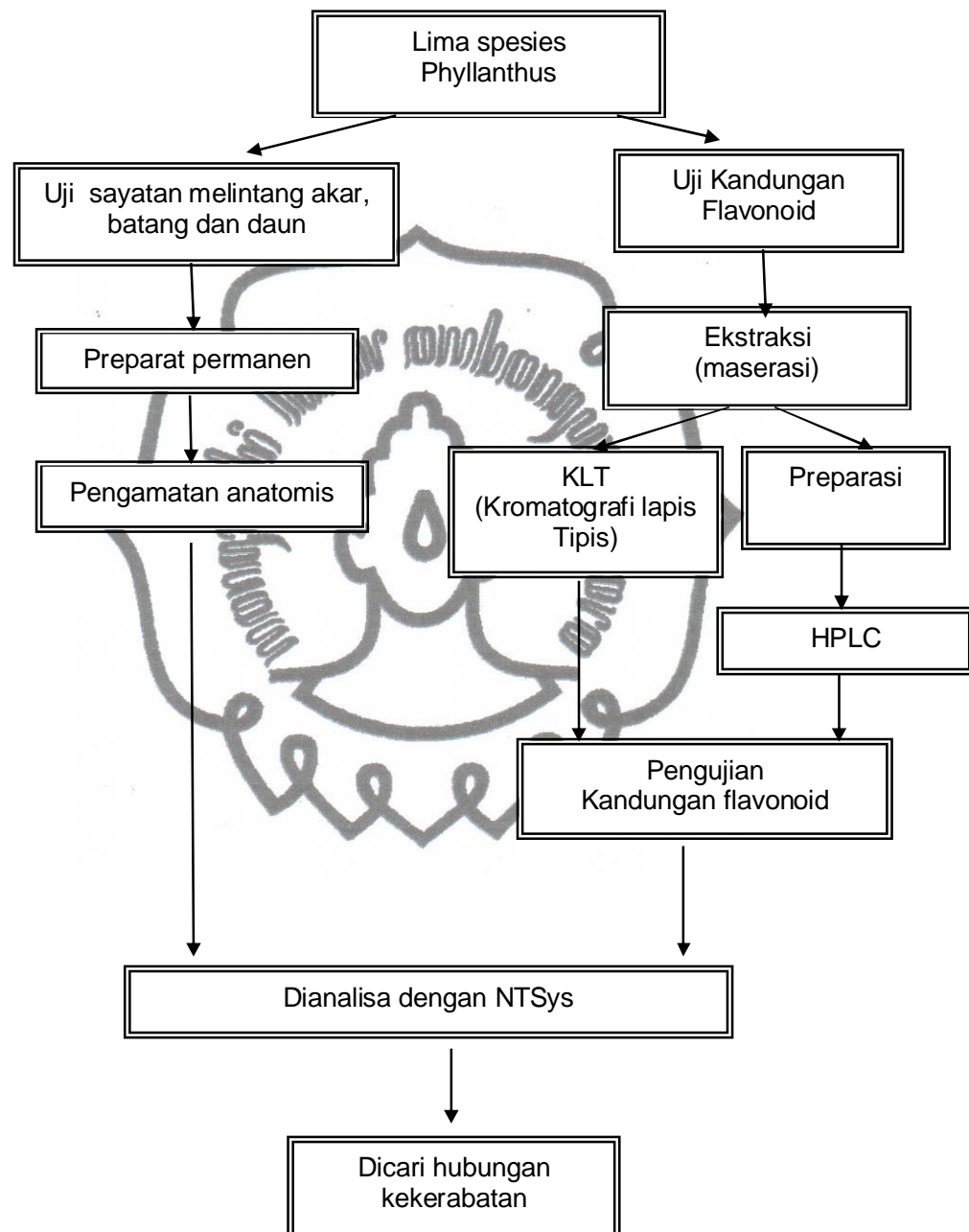
B. Kerangka Pemikiran

Berikut bagan kerangka pemikiran pada penelitian.



Gambar 7. Bagan alur kerangka pemikiran

C. Kerangka Penelitian



Gambar 8. Bagan alur kerangka penelitian

D. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah

1. Sejauh mana perbedaan anatomi antara meniran merah (*P.urinaria*), meniran hijau (*P. niruri*), sligi (*P. buxifolius*), cermai (*P. acidus*), dan buah tinta (*P. reticulatus*) dapat dilihat dari karakter anatomi masing-masing spesies.
2. Sejauh mana perbedaan karakter fitokimia flavonoid antara meniran merah (*P.urinaria*), meniran hijau (*P.niruri*), sligi (*P.buxifolius*), cermai (*P.acidus*), dan buah tinta (*P.reticulatus*) dapat dilihat secara kuantitatif dan kualitatif.
3. Sejauh mana hubungan kekerabatan antar kelima spesies genus *Phyllanthus* dapat dilihat dari dendogram berdasarkan sifat fenetiknya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Juni 2012. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, Laboratorium Mikroteknik Tumbuhan Biologi UGM, Laboratorium Kimia Organik MIPA UGM dan Laboratorium LPPT UGM.

B. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dan kuantitatif cluster analisis yang meliputi pengamatan kualitatif anatomi akar, batang, dan daun, serta penghitungan kadar kandungan flavonoid secara kuantitatif.

C. Populasi dan Sampel

Sampel penelitian diambil dari wilayah Colomadu Karanganyar secara acak dengan kondisi lingkungan yang cukup seragam. Meniran merah (*P. urinaria*), meniran hijau (*P. niruri*), dan buah tinta (*P. reticulatus*) merupakan tumbuhan yang hidup liar di sekitar sawah, sedangkan sliji (*P. buxifolius*) dan cermai (*P. acidus*) merupakan tumbuhan yang sengaja di tanam di pekarangan.

D. Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kantung kertas tempat sampel, alat pemotong, botol sampel, botol fiksasi, gelas benda, gelas penutup, nampan, gelas ukur, bejana pewarna, pipet tetes, pinset, oven, silet, mikroskop, kaca pembesar, kamera, seperangkat alat ekstraksi maserasi, rotary evaporator, penyaring, tabung elusi, botol fakon kecil, dan HPLC.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian tumbuhan yang berupa akar, batang dan daun lima spesies (*P niruri*, *P urinaria*, *P acidus*, *P buxifolius* dan *P reticulatus*). Asam acetat glacial, aquades, Formalin, Alkohol 70%, alkohol bertingkat ; 40%, 60%, 80%, 95%, 100%. xylol, parafin cair dan parafin padat, aquades, safranin, entelan, kertas blok, etanol 70% dan aquades steril.

E. Cara Kerja

1. Pengambilan sampel

Sampel yang diambil untuk pengamatan struktur anatomi dan mendapatkan ekstrak simplisia. Pengambilan sampel untuk pembuatan preparat anatomi dengan mengambil bagian akar, batang dan daun tumbuhan. Sampel untuk pembuatan ekstrak simplisia uji dengan mengambil keseluruhan bagian tanaman (akar, batang, daun, bunga buah dan biji). Sampel untuk preparat anatomi dimasukkan dalam botol berisi alkohol 70% dengan seluruh bagian

terendam dalam cairan. Sedang untuk pembuatan ekstrak simplisia dengan dimasukkan pada kantung plastik.

2. Penelitian di Laboratorium

a. Pembuatan ekstrak simplisia uji

Sampel tumbuhan yang berupa seluruh jaringan tanaman (akar, batang, daun, buah, bunga dan biji) dikering anginkan. Sampel kemudian dipotong – potong dan digiling. Setelah itu bubuk sampel diayak, bagian halus yang digunakan.

Bubuk sampel direndam pada wadah tertutup dengan etanol 70% selama 2-3 hari dan setelah itu disaring. Proses ini memerlukan pembilasan sampai bening. Filtrate dikumpulkan dan kemudian dikentalkan dengan rotary evaporator. Ekstrak simplisia kemudian diambil dari tabung dan disimpan dalam wadah pada suhu 4°C.

b. Persiapan alat HPLC

HPLC yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan kolom C₁₈ dengan ukuran 4.0 x 250 mm , 5µm. Temperatur kolom 35°C dengan fase gerak A terdiri dari asetonitril : asam asetat : air (3:0.5:96.5,v/v/v) and Fase gerak B Asetonitril : asam asetat : air (50:0.5:49.5,v/v/v), linear gradient elution dari 72.5% A / 27.5% B (v/v) to 65% A / 35% B (v/v) selama 0 - 10 menit, dari 65% A / 35% B (v/v) sampai 20% A /80% B (v/v) selama 10 - 35 menit , dari 20% A /80% B (v/v) sampai 0% A

/100% B (v/v) selama 35 - 40 menit ; fase gerak dengan kecepatan 1,1 mL min⁻¹ dengan panjang gelombang 262 nm (Andersen and Markham, 2006).

c. Pembuatan Baku Pembanding

Baku pembanding yang dipakai adalah Rutine dan Quercetin. Kedua senyawa tersebut berbentuk bubuk ditimbang sebanyak 250 mg. Masing – masing senyawa dilarutkan dengan methanol grade HPLC sampai volumenya 25 ml. Larutan kemudian disimpan dibotol dengan suhu 4°C penyimpanan dilakukan sampai waktu akan diinjeksikan pada HPLC. Larutan diambil 10 µl dan diinjeksikan pada HPLC. Hasil kromatogram standar baku dipakai sebagai pembanding untuk sampel ekstrak tanaman.

d. Pemeriksaan kandungan Flavonoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 40 mg dan diencerkan dengan methanol grade HPLC sampai volumenya 10 ml. Larutan kemudian disaring dengan nilon filter dengan ukuran 0,45 µm. Filtrate disimpan dalam botol bening dan disimpan dalam suhu 4°C. Larutan masing – masing ekstrak diambil sebanyak 10 µl diinjeksikan pada HPLC. Hasil yang diperoleh dari kedua jenis elutan pada setiap jenis tanaman dibandingkan profil kromatogramnya. Peak-peak yang muncul dibandingkan dengan peak dari standart baku.

e. Pembuatan preparat permanen struktur anatomi tanaman

Pembuatan preparat permanen sesuai dengan cara yang diberikan oleh Wibisosno. Jaringan sampel dipotong sepanjang 2 mm. Jaringan kemudian dimasukkan dalam botol fiksasi. Proses fiksasi dilakukan dengan larutan Formalin-Acetil-Alkohol (FAA). Larutan FAA dibuat dengan mencampur alkohol 70 % 90 ml dengan asam asetat glacial 5 ml didiamkan selama 12 jam dan kemudian dicampur dengan formalin 5 ml.

Jaringan kemudian dicuci dan didehidrasi dengan menghilangkan larutan fiksasi berturut-turut dan diganti dengan alkohol bertingkat dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 95%, 100% dengan interval waktu 30 menit setiap konsentrasi. Setelah itu dilakukan dealkoholisasi yaitu membuang alkohol. Proses penghilangan dengan mencuci jaringan berturut-turut dan menggantinya dengan campuran alkohol-xylol 3 : 1, campuran alkohol-xylol 1 : 1, campuran alkohol-xylol 1 : 3, xylol I, xylol II dengan interval waktu 30 menit. Paraffin cair dimasukkan ke dalam botol kaca yang berisi jaringan dengan xylol dengan perbandingan paraffin : xylol yaitu 9 : 1, yang diletakkan selama 15 menit diudara bebas dan 15 menit di dalam oven.

Setelah itu jaringan dilakukan infiltrasi. Proses infiltrasi yaitu mengganti jaringan yang telah dimasukkan pada xylol-parafin dan diganti dengan parafin murni. Kemudian dibiarkan diudara terbuka selama 15 menit dan di dalam oven selama 15 menit berikutnya . Penyelubungan yaitu mengganti parafin lama dengan parafin baru, kemudian meletakkan

jaringan tersebut pada dasar blok kertas yang telah dibuat kemudian dituangkan paraffin dan dibiarkan membeku selama beberapa hari.

Pengirisan dengan membuat irisan - irisan dengan menggunakan mikrotom dengan tebal. Perekatan : irisan diletakkan pada gelas benda dengan campuran glycerin/albumin yang dibubuhi air. Kemudian gelas benda ditaruh dalam thermostat dengan temperatur 45 ° C selama + jam. Pewarnaan tunggal dilakukan dengan safranin 1 % dalam air. Proses pewarnaan dilakukan dengan mencelupkan berturut-turut gelas benda dimasukkan ke dalam: Xylol I 3 menit, Xylol II 3 menit, Campuran alkohol / xylol 1 : 3, Campuran Alkohol : Xylol 1 : 1 3 menit campuran Alkohol : Xylol 3 : 1 3 menit, alkohol absolute I 3 menit, alkohol absolute II 3 menit, alkohol 95 % 3 menit, alkohol 80% 3 menit, alkohol 60 % 3 menit, alkohol 40 % 3 menit, Aquadest secukupnya 2 jam, alkohol 40 % 3 menit, alkohol 60 % 3 menit, alkohol 80% 3 menit, alkohol 95 % 3 menit, alkohol absolute I 3 menit, alkohol absolute II 3 menit, campuran, Alkohol : Xylol 3 : 1 3 menit, Campuran Alkohol : Xylol 1 : 1 3 menit, Campuran alkohol/xylol 1 : 3, Xylol I 3 menit, Xylol II 3 menit.

Setelah proses defraksinasi dilakukan penutupan objek dengan gelas penutup. Gelas penutup diletakkan pada objek dan kemudian direkatkan dengan entelan. Preparat dibiarkan pada udara terbuka selama 2 hari. Setelah itu dilakukan pelabelan pada preparat pada sisi kiri.

f. Pengamatan struktur anatomi tanaman.

Pengamatan struktur anatomi tumbuhan dilakukan dengan mikroskop dengan perbesaran tertentu dan kemudian difoto. Struktur anatomi tanaman yang diamati meliputi pada:

Preparat melintang akar : bulu akar, bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, xylem dan stele.

Preparat melintang batang: bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, tipe xilem, stele, adanya Kristal druse.

Preparat melintang daun: bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, mesofil, stomata, trikoma adanya sel lain.

F. Analisis Data

Karakter anatomi dan kandungan flavonoid pada sampel meniran hijau (*P.niruri*), meniran merah (*P.urinaria*), cermai (*P. acidus*), buah tinta (*P. reticulatus*) dan sliji (*P. Buxifolius*) dianalisis secara deskriptif. Karakter yang **ada** diberi tanda (1) dan karkter yang **tidak ada** diberi tanda (0). Karakter pada setiap spesies yang ada dianalisis hubungan kekerabatan dengan spesies lainnya dengan program NTSYS. Pada program ini akan didapatkan koefisien similaritasnya dengan *single linkage* .

NTSYS merupakan program yang digunakan untuk mencari dan menampilkan suatu struktur dalam data *multivariate*. Program ini dibuat untuk digunakan pada bidang ilmu Biologi, khususnya pada bidang taksonomi

numeric (NTSYS/Numerical Taxonomy SYStem). Tetapi kemudian penggunaan program ini mulai digunakan untuk morfometrik, ekologi, dan untuk beberapa disiplin ilmu alam, teknik, sosial.

Pada kajian biosistematik, terdapat dua pendekatan yang berbeda dalam klasifikasi, yaitu pendekatan fenetik dan kladistik. Fenetik lebih menekankan pada pola deskriptif dari keanekaragaman hayati dan mengklasifikasikan berdasarkan derajat kesamannya yang dihitung dari data multivariate. Sedangkan kladistik merupakan pendekatan klasifikasi melalui sejarah evolusi dari organisme (Rohlf, 1998)

NTSYSpc version 2.0 dapat digunakan untuk menghitung penilaian-penilaian yang beragam dari kesamaan (similarity) ataupun ketidaksamaan (dissimilarity) antar obyek yang diteliti (OTU, individu, specimen, kuadrat, dan lain-lain) kemudian menyusunnya dalam suatu kesatuan berdasarkan kesamannya (cluster analysis), atau dalam suatu ruang dalam satu atau lebih sumbu ordinat (ordination analysis/ multidimensional scale analysis). Analisis fenetik dengan program NTSYSpc version 2.0 ini dapat menghasilkan suatu dendrogram yang menggambarkan sejauh mana hubungan kekerabatan antar objek yang diteliti.

Rumus dari indeks similaritas menurut Dragomirescu and Postelnicu adalah:

$$IS = (n + \mu) / m$$

Keterangan;

Is : Indeks similaritas

n; jumlah karakter yang sama – sama ada

μ ; jumlah karakter yang sama – sama tidak ada

m; Jumlah seluruh karakter.

Setelah terbentuk matrik similaritas, kemudian data matriks similaritas dimasukkan pada analisis clustering dengan SAHN. Dendrogram yang terbentuk, diuji validitasnya dengan analisis cophenetic dan dendrogram yang dipilih dengan nilai R mendekati 1.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

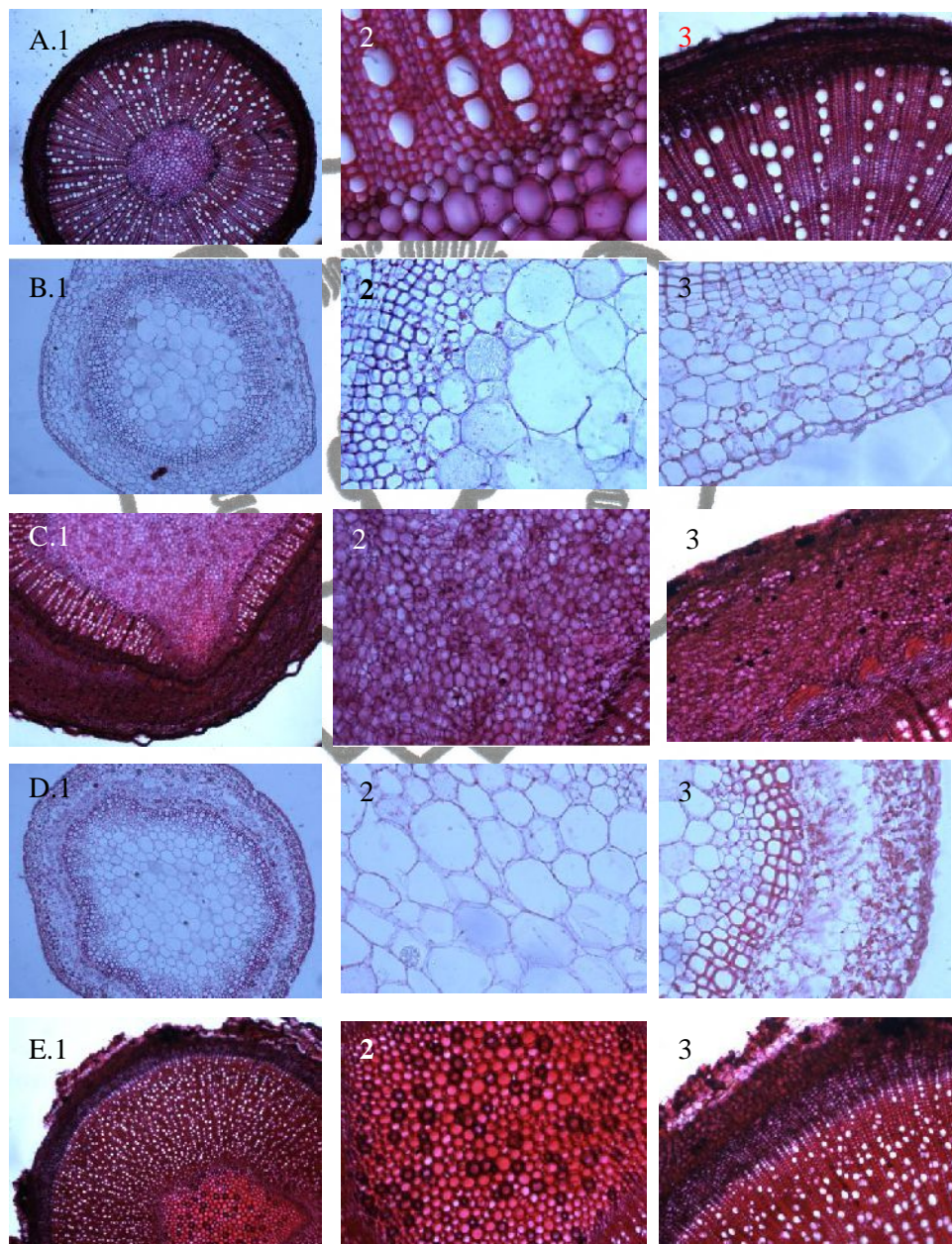
Hasil penelitian studi kekerabatan lima spesies dari genus *Phyllanthus* ini mencakup karakterisasi sifat anatomi dan fitokimia. Karakter anatomi dilihat dari struktur akar, batang dan daun sedangkan karakter fitokimia hanya berdasarkan kandungan flavonoid saja. Pemeriksaan kandungan flavonoid dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Metode yang dipakai adalah *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan diuji lanjut dengan *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC)

A. Karakter Anatomi

Karakter anatomi merupakan salah satu karakter yang dipakai dalam sistem taksonomi selain karakter morfologi. Karakter anatomi dan morfologi banyak dipakai karena terkenal sederhana dan murah dalam proses pemeriksaannya walaupun terdapat banyak kelemahannya. Karakter anatomi mempunyai sifat yang lebih stabil dibandingkan dengan karakter morfologi. Sifat ini tidak banyak berubah karena adanya perbedaan tempat hidup. Oleh karena itu, peneliti menggunakan sifat dari karakter ini untuk proses studi kekerabatan pada penelitian ini.

Genus *Phyllanthus* memiliki keragaman spesies yang tinggi. Beberapa jenis telah digunakan sebagai obat oleh masyarakat secara tradisional. Lima spesies diantaranya adalah Meniran hijau (*P. niruri*), Meniran merah (*P. urinaria*), Cermay (*P. acidus*), Sliki (*P. buxifolius*) dan Buah tinta (*P.*

reticulatus). Kelima spesies memang memiliki habitus yang sangat jauh berbeda akan tetapi memiliki banyak persamaan secara anatominya.



Gambar. 9. Penampang Melintang Batang Lima Spesies Genus *Phyllanthus*
A: *P. reticulatus* , **B:** *P. urinaria* **C:** *P. acidus* **D:** *P. niruri* **E:** *P. buxifolius* .
 4. Penampang keseluruhan, 2. Bagian tengah : 3 Bagian Pinggir

Dari gambar terlihat bahwa batang meniran merah (*P. urinaria*) berbentuk segi lima, sedangkan yang lain cenderung bulat. Karakter yang diamati untuk menyusun pohon fenetik pada penampang lintang batang adalah bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, tipe xilem, silinder pusat, adanya kristal pada jaringan parenkimnya (Gambar 9).

Dari kelima spesies tersebut tampak perbedaan antara tanaman yang berbatang keras dan lunak. Tanaman yang berbatang lunak terlihat pada pewarnaan yang tipis dan pada xilem lapisannya tipis.

Perbedaan karakter yang pada hasil pengamatan terdapat pada bentuk batang, Kristal pada parenkim batang, tipe xilem dan ketebalannya (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Karakter Anatomi Batang Kelima Spesies Genus *Phyllanthus*

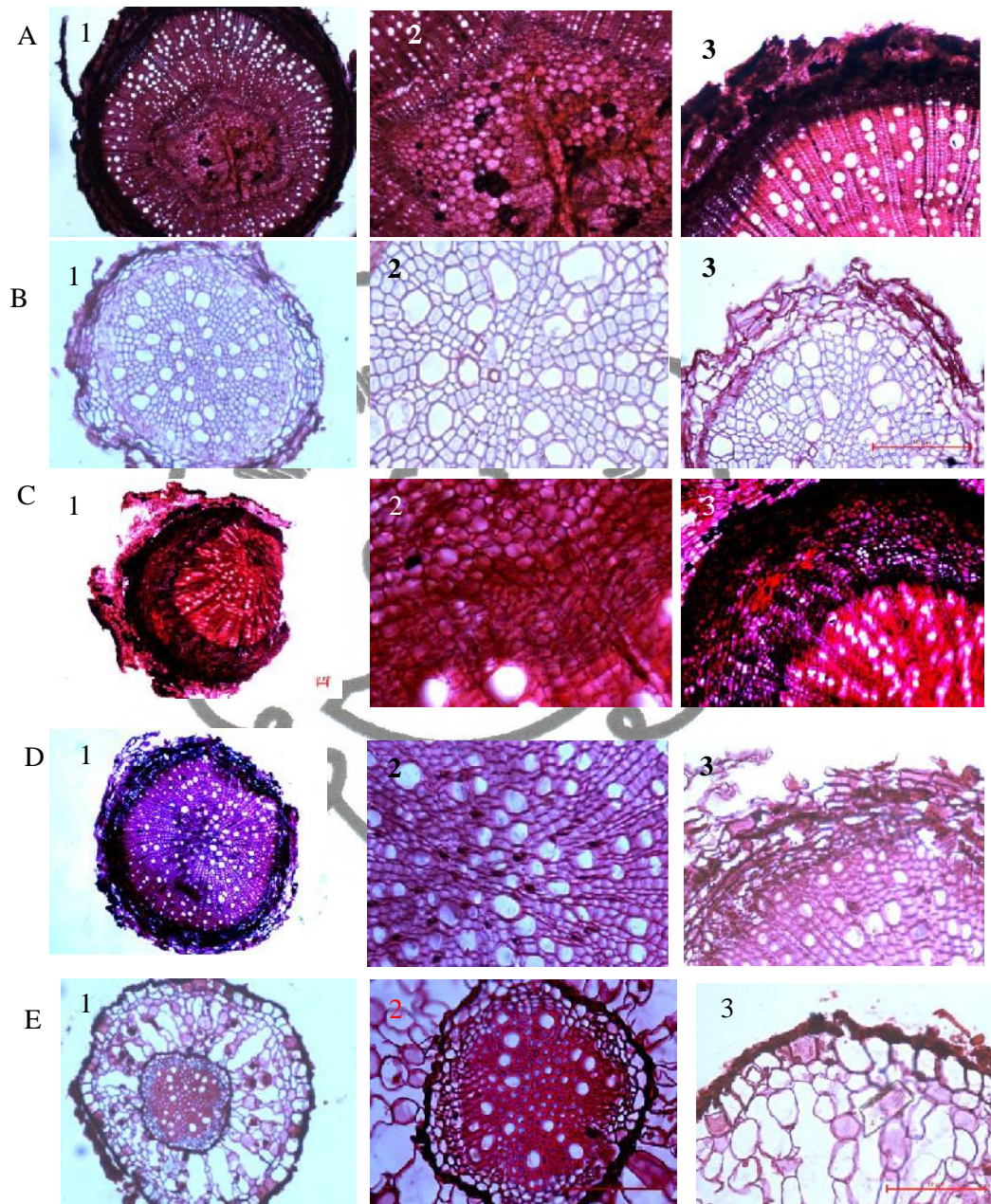
Karakter	<i>P. reticulatus</i>	<i>P. urinaria</i>	<i>P. acidus</i>	<i>P. niruri</i>	<i>P. buxifolius</i>
Bentuk dasar batang	Bulat	Bulat	Bulat	Segi Lima	Bulat
Epidermis	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Hypodermis	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Tipe pembuluh	Kolateral	Kolateral	Kolateral	Kolateral	Kolateral
Silinder pusat	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Bentuk parenkim	Polyhedral	Polihedral	Polihedral	Polihedral	Polihedral
Keberadaan Kristal dalam parenkim	Ada	Tidak	Tidak	Ada	Tidak
Tipe xilem	Cincin	Pancar	Pancar	Cincin	Cincin
Ketebalan xilem	Tebal	Tipis	Tipis	Tipis	Tebal

Struktur anatomi dari kelima spesies yang sangat mencolok perbedaanya pada bentuk batang meniran merah yang segi lima dibandingkan keempat spesies yang lain yang berbentuk bulat. Kristal pada jaringan parenkim hanya terdapat pada spesies buah tinta dan meniran hijau saja.

Sedangkan pada xylem, tumbuhan yang bertekstur batang keras pada umumnya memiliki xylem yang tebal, cermai (*P. acidus*) termasuk tumbuhan berkayu, akan tetapi xilemnya masih tipis. Hal ini dimungkinkan batang masih muda dan xylem baru berkembang. Tipe xylem dapat menentukan dekat tidaknya hubungan fenetik dari tumbuhan. Dari tipe ini, meniran merah (*P. urinaria*) dan cermai (*P. acidus*) masih satu tipe yaitu pancar.

Dari hasil pengamatan, ditemukan banyak persamaan karakter anatomi dari kelima spesies genus *Phyllanthus*. Persamaan terdapat pada Epidermis, hypodermis, tipe pembuluh, silinder pusat dan bentuk parenkhim. Karakter anatomi uji telah digunakan sebagai karakter pokok untuk identifikasi pada kelompok tanaman secara umum (Singh,1999).

Karakter anatomi yang diamati selanjutnya adalah akar. Struktur anatomi akar pada umumnya tidak berbeda jauh dengan batang (Gambar 10).



Gambar 10. Penampang Melintang Akar Lima Spesies Genus *Phyllanthus*
A: *P. reticulatus* , **B:** *P. urinaria* **C:** *P. acidus* **D:** *P. niruri* **E:** *P. buxifolius* .
 1. Penampang keseluruhan, 2. Bagian tengah : 3 Bagian Pinggir

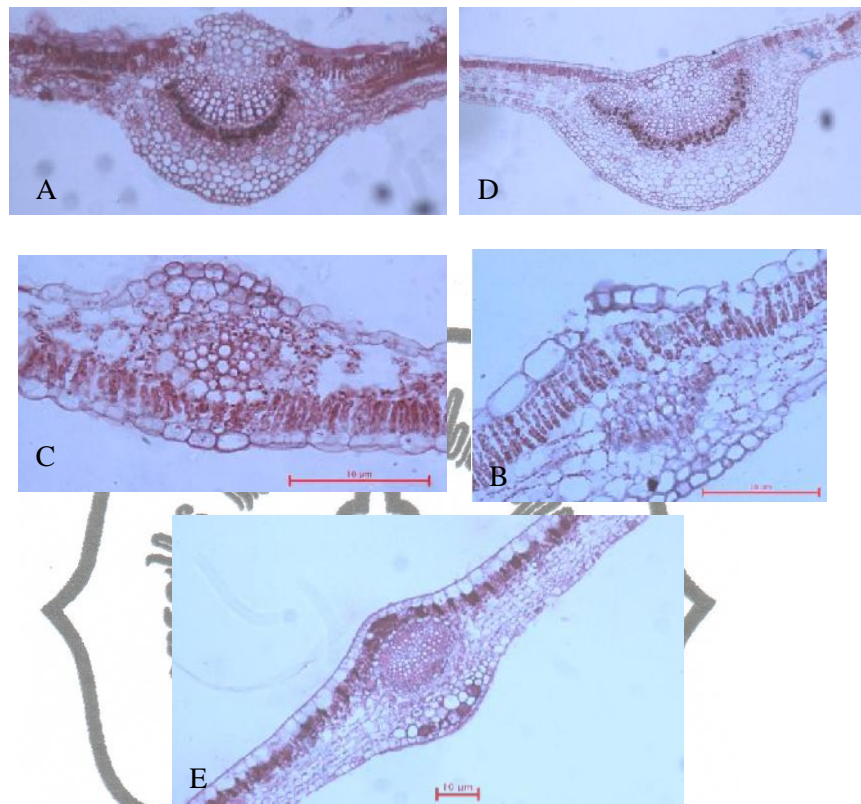
Karakter yang diamati pada penampang lintang akar adalah bulu akar, bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, xylem dan silinder pusat. Pada penampang lintang akar dari kelima spesies ini tidak mempunyai perbedaan yang mencolok. Karakter rambut akar tidak dapat dijumpai pada kelima spesies. Karakter pembeda pada sel parenkim, sel pada akar dari meniran hijau, meniran merah dan sligi tampak berongga besar dibandingkan pada buah tinta dan cermai. Hal ini memperlihatkan pada buah tinta dan cermai akar bertekstur keras dan berkayu sedang pada ketiga spesies lain akarnya lunak (Tabel 2.).

Tabel 2. Ringkasan Pengamatan Karakter Anatomi Akar Kelima Spesies Anggota Genus *Phyllanthus*

Karakter	<i>P.reticulates</i>	<i>P.urinaria</i>	<i>P.acidus</i>	<i>P.niruri</i>	<i>P.buxifolius</i>
Bentuk dasar akar	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Epidermis	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Hypodermis	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Rambut akar	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa anatomi akar dari kelima spesies genus *Phyllanthus* adalah sama. Hal ini menunjukkan bahwa secara fisiologis kelima spesies genus *Phyllanthus* memiliki aktivitas yang sama pada saat mencari air dan zat hara yang dibutuhkan dari dalam tanah.

Karakter lain yang diamati adalah daun. Daun merupakan bagian penting tumbuhan dimana didalamnya terdapat struktur anatomi yang banyak digunakan sebagai dasar klasifikasi. Bagian daun yang diamati pada penelitian ini adalah potongan melintang daun dan permukaan daun untuk mengetahui kepadatan stomata (gambar 11).



Gambar 11. Penampang Melintang Daun Lima Spesies Genus *Phyllanthus*
A: *P. reticulatus*, **B:** *P. urinaria* **C:** *P. acidus* **D:** *P. niruri* **E:** *P. buxifolius*.

Karakter yang diamati pada irisan melintang daun meliputi bentuk, susunan sel epidermis, susunan jaringan pengangkut, hypodermis, mesofil, stomata, trikoma adanya sel lain. Pada kelima spesies yang diamati, perbedaan pada bagian tipe pembuluh daun, ada tidaknya trikoma dan keberadaan kristal pada jaringan daun. Tipe pembuluh daun berbentuk sabit terdapat pada buah tinta dan cermi sedang yang lainnya berbentuk sabit. Selain penampang lintang daun, juga diamati bentuk dan kepadatan stomata (Gambar 12).

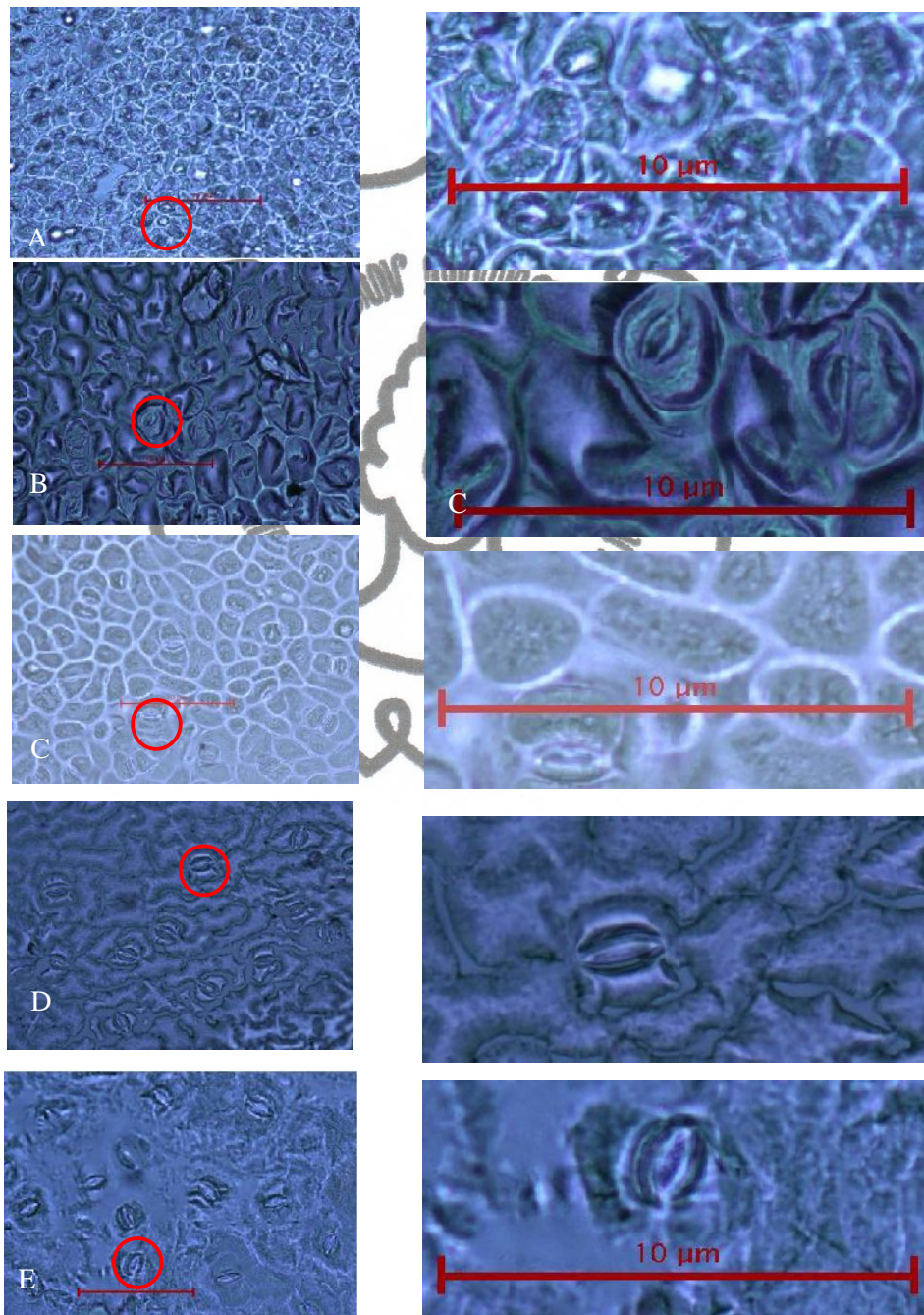
Tabel 3. Ringkasan Pengamatan Karakter Anatomi Daun Kelima Spesies Anggota Genus *Phyllanthus*

Karakter	<i>P. reticulatus</i>	<i>P. urinaria</i>	<i>P. acidus</i>	<i>P. niruri</i>	<i>P. buxifolius</i>
Pola ikatan pembuluh Epidermis	Sabit berkutikula dan berpapila	cincin berkutikula dan berpapila	Sabit berkutikula dan berpapila	cincin berkutikula dan berpapila	cincin berkutikula
Jaringa palisade	1 baris	1 baris	1 baris	1 baris	1 baris
Jaringan bunga karang	Berongga	berongga	Berongga	berongga	tidak
Letak Kristal pada Trikoma	Bunga karang Ada	palisade ada	Tidak ada Tidak	Tidak ada Tidak	Tidak ada Tidak
Tipe trikoma	Uniseluler	uniseluler	Tidak	Tidak	Tidak
Tipe stomata	Parasitic	Parasitic dan anisositik	Parasitic	Parasitic dan anisositik	anomositik

Pada hasil pengamatan struktur anatomi daun menunjukkan banyak perbedaan antara kelima spesies tersebut. Perbedaan terdapat pada adanya macam aksesories daun (trikoma, kutikula maupun papilla) dengan tipe yang beraneka ragam dan juga pada jaringan dasarnya. Secara umum tipe daun bersifat dorsiventral dengan palisade hanya 1 baris pada sisi bawah daun, sedang stomata dengan kepadatannya besar pada sisi bawah pula. Hal yang berbeda dapat dilihat pada tipe pembuluh dan juga tipe stomata.

Selain struktur anatomi daun secara umum, kepadatan stomata pada permukaan daun merupakan karakter penting dalam system klasifikasi. Pada beberapa penelitian, indeks stomata digunakan sebagai pembeda pada tingkat spesies (Hidayat, 2009). Indeks stomata daun yang dihitung dalam penelitian ini merupakan jumlah stomata total dibandingkan dengan jumlah sel epidermis daun ditambah dengan jumlah stomata.

Untuk memperoleh jumlah stomata dan sel epidermis dihitung dari bidang pandang pengamatan (Gambar 12).



Gambar 12. Stomata Daun Lima Spesies Genus Phyllanthus

A: *P. reticulatus*, B: *P. urinaria* C: *P. acidus* D: *P. niruri* E: *P. buxifolius*.

Hasil perhitungan dari presentase indeks stomata (Tabel 4), menunjukkan bahwa buah tinta menempati urutan tertinggi dan dibawahnya adalah meniran hijau (*P. niruri*), sligi (*P. buxifolius*), meniran merah (*P. urinaria*) dan cermai (*P. acidus*) memiliki indeks stomata yang tidak berbeda jauh. Dari hasil ini dimungkinkan adanya hubungan yang dekat antara ketiga spesies tersebut.

Tabel.4. Indeks Stomata daun pada Kelima Spesies Genus Phyllanthus

No	Spesies	Indeks Stomata (%)
1.	<i>P. reticulatus</i>	44.91018
2.	<i>P. urinaria</i>	20.16129
3.	<i>P. acidus</i>	19.04762
4.	<i>P. niruri</i>	40.78947
5.	<i>P. buxifolius</i>	21.05263

Hasil pengelompokan berdasarkan indeks stomata pada penelitian ini, mempunyai kesamaan pada penelitian lain. Pada penelitian Hidayat dan Kusdiyanti (2009), menempatkan meniran hijau (*P. niruri*) mempunyai hubungan dekat dengan meniran merah (*P. Urinaria*), akan tetapi hubungannya ada diluar setelah meniran hijau (*P. niruri*) dengan meniran kuning, sedangkan cermai (*P. acidus*) dan meniran merah (*P. urinaria*) hubungannya jauh ada dalam kelompok yang berbeda. Dari hasil penelitian ini meniran hijau (*P. niruri*) jauh diatas dan lebih dekat dengan buah tinta (*P. reticulatus*). Sedangkan meniran merah (*P. urinaria*) dekat dengan sligi (*P. buxifolius*) dan cermai (*P. acidus*). Hasil ini berbeda dengan penelitian Hidayat dan Kusdiyanti (2009), dikarenakan

pembandingan spesiesnya yang berbeda dan jumlah spesies yang diamati juga berbeda.

Hasil karakterisasi dari seluruh karakter anatomi dikumpulkan kemudian dibuat table perbandingan karakter unit untuk diperbandingkan antar dua spesies. Hasil perbandingan dihitung Koefisien similaritasnya. Nilai indeks similaritas yang sering dipakai dengan skala 100, untuk mendapatkannya dengan perkalian koefisien similaritas dengan 100% (Tabel 5).

Tabel.5. Nilai Koefisien Similaritas Kelima Spesies anggota genus *Phyllanthus* berdasarkan data anatomi

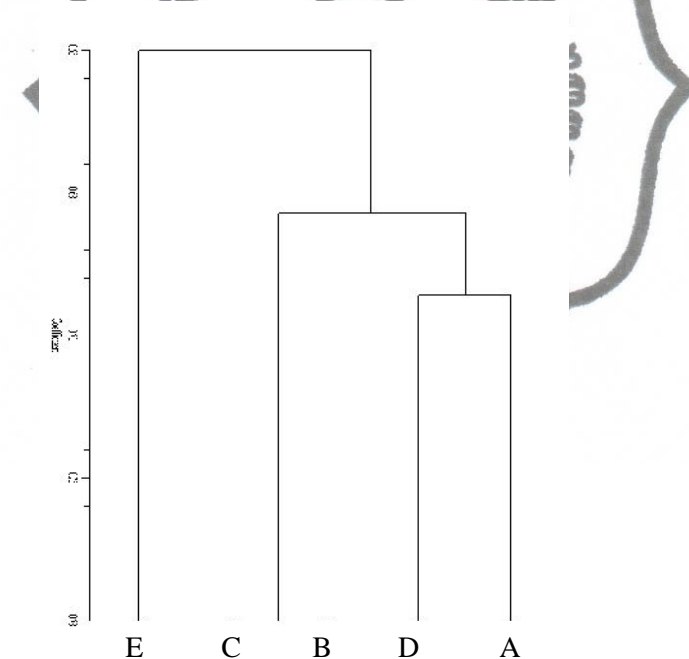
Spesies	Koefisien similaritas	(%) Similaritas
A-B	0.6666667	66.66667
A-C	0.7407407	74.07407
A-D	0.7037037	70.37037
A-E	0.6296296	62.96296
B-C	0.7777778	77.77778
B-D	0.6666667	66.66667
B-E	0.5925926	59.25926
C-D	0.6666667	66.66667
C-E	0.6666667	66.66667
D-E	0.7037037	70.37037

Keterangan: A : *P. reticulatus*, B : *P. urinaria*, C: *P. acidus* D : *P. niruri*
E : *P. buxifolius*

Hasil penghitungan koefisien similaritas berdasarkan karakter yang sama – sama dimiliki baik bersifat punya ataupun tidak. Hal ini sesuai dengan rumusan indeks *Similaritas Simple Matching (SSM)*. Dari hasil pembandingan karakter secara berpasangan spesies yang besar nilai kesamaanya yaitu spesies meniran merah (*Phyllanthus urinaria*) dan cermai (*Phyllanthus acidus*) sedangkan spesies lain berada dibawahnya.

Hasil perhitungan koefisien similaritas telah menunjukkan nilai kesamaan dari spesies berpasangan yang diperbandingkan akan tetapi belum mampu menunjukkan dari kelima spesies yang diujikan. Konstruksi nilai koefisien similaritas menjadi dendrogram atau pohon kekerabatan mutlak dilaksanakan

Kumpulan dari karakter anatomi dapat dibuat menjadi sebuah dendrogram yang menggambarkan hubungan kesamaan dari kelima spesies yang diteliti.



Gambar .13. Dendrogram kesamaan karakter Anatomi dari kelima spesies genus *Phyllanthus*.

Keterangan:

- A : *P. reticulatus*
- B : *P. urinaria*
- C : *P. acidus*
- D : *P. niruri*
- E : *P. buxifolius*

Hasil konstruksi dendrogram memperlihatkan bahwa meniran merah (*P. urinaria*) dan cermai (*P. acidus*) secara karakter anatomi banyak kesamaanya. Nilai kesamaanya mencapai 0.78, nilai kesamaan yang besar. Kelompok kedua spesies buah tinta (*P. reticulatus*) dan meniran hijau (*P. niruri*) memiliki nilai kesamaan 0,703. Kedua spesies ini secara anatomi kesamaanya banyak. Spesies sligi (*P. buxifolius*) berada pada bagian luar kelompok dengan nilai kesamaanya 0.65. Sligi (*P. buxifolius*) mempunyai karakter anatomi yang berpotongan secara garis besar dengan keempat spesies lainnya.

Hasil ini menunjukkan bahwa hubungan kedekatan antara meniran merah (*P. urinaria*) dan cermai (*P. acidus*) menurut sudut pandang anatomi dekat. Hal ini sangat berbeda menurut sudut pandang morfologi saja. Kedua spesies memiliki perbedaan habitus dan morfologi yang agak jauh, sedangkan kelompok kedua adalah buah tinta (*P. reticulatus*) dan meniran hijau (*P. niruri*). Kedua spesies ini juga memiliki perbedaan morfologi dan habitus yang agak jauh pula, dan yang terakhir adalah sligi (*P. buxifolius*). Hubungan kekerabatan antar kelima spesies ini berdasarkan semua sifat anatomi yang sama dimiliki oleh kelima spesies dan juga sifat bedanya. Sifat yang sama – sama dimiliki oleh semua spesies yang ada dalam kelompok memiliki sifat yang lemah dalam sistem taksonomi numerik, hal ini dikarenakan tidak mempunyai sifat yang membedakan antar spesies uji.

Dari hasil klasifikasi berdasarkan karakter anatomi yang diteliti hampir mendekati hasil penelitian dari sudut pandang molekuler. Meniran merah (*P.*

urinaria) dan cermai (*P. acidus*) memiliki hubungan yang lebih dekat dibandingkan dengan meniran hijau (*P. niruri*) dan juga buah tinta (*P. reticulatus*) berdasarkan marka gen daerah *NR ITS* dan Plasmid *MAT K DNA* (Kathriarachchi et al 2006). Dari hasil karakterisasi secara anatomi ini mendekati hasil yang sama dengan karakterisasi menurut marka gen daerah *NR ITS* dan Plasmid *MAT K DNA*. Dengan hasil ini, dimungkinkan gen – gen tersebut yang berperan dalam pembentukan sifat struktur anatomi yang diamati.

Karakter tambahan lain yang lebih detail dari struktur mikroskopis anatomi adalah indeks stomata daun. Karakter ini sering dipakai dalam proses perbedaan tingkat takson yang membutuhkan ketelitian lebih lanjut (Witono,2003).

B. Karakter Fitokimia Flavonoid

Karakter fitokimia mendukung dalam proses klasifikasi tumbuhan. Karakter ini bernilai dalam taksonomi tumbuhan modern. Karakter kimia digunakan sebagai penunjang untuk menjelaskan masalah dalam taksonomi tumbuhan (Hegnauer, 1962). Karakter fitokimia yang dapat digunakan umumnya senyawa yang dihasilkan dari metabolit sekunder.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dipakai sebagai karakter fitokimia. Senyawa ini merupakan salah satu fenol alami dan terdapat pada seluruh bagian tumbuhan. Flavonoid merupakan zat warna pada tumbuhan dengan kenampakan warna merah, ungu, biru dan

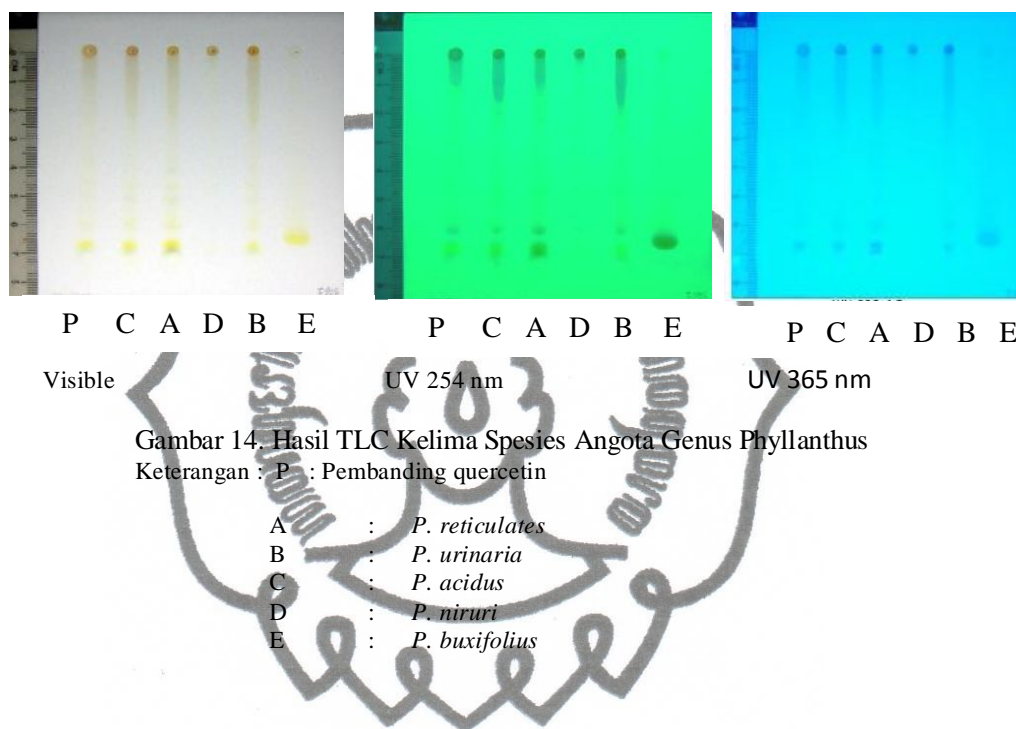
kuning. Anggota kelompok flavonoid yang banyak diteliti adalah antosianin, flavanol dan flavon (Lenny, 2006).

Flavonoid banyak menjadi objek penelitian karena ada kemungkinan untuk menghubungkan berbagai perbedaan morfologi diantara spesies yang berkerabat dekat dalam satu genus. Kandungan senyawa ini dalam suatu spesies yang berkerabat dalam satu genus memberikan informasi bagi ahli taksonomi untuk mengelompokkan dan menentukan garis evolusi tumbuhan (Seiger, 1981).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Hal ini berarti campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Analisa flavonoid lebih baik dengan memeriksa aglikon yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang ada dalam ekstrak asal (Harbone, 1987)

Hasil pemeriksaan dengan *Thin Layer Chromatography* (TLC) menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada kelima spesies tumbuhan buah tinta (*P. reticulatus*), meniran merah (*P. niruri*), cermai (*P. acidus*), meniran hijau (*P. niruri*) dan sliki (*P. buxifolius*). Keberadaan flavonoid

ditandai dengan warna kuning pada lempeng silica gel (Gambar 14). Flavonoid yang ditemukan dari kelima spesies tersebut memiliki nilai Retendation faktor yang sama yaitu 0.85.



Nilai Rf yang sama dalam lempeng menunjukkan bahwa semua jenis mengandung flavonoid. Hasil ini hanya bersifat kualitatif saja sedangkan untuk mengetahui secara kuantitatif dilakukan uji dengan spektrofotometri.

Hasil pemeriksaan spektrofotometri menunjukkan bahwa kelima spesies memiliki jenis senyawa kimia yaitu flavonoid dengan jumlah kandungan total flavonoid yang beragam (Tabel 6).

Tabel.6. Kandungan Flavonoid Total pada Kelima Spesies Anggota Genus *Phyllanthus* dengan metode Spektrofotometri

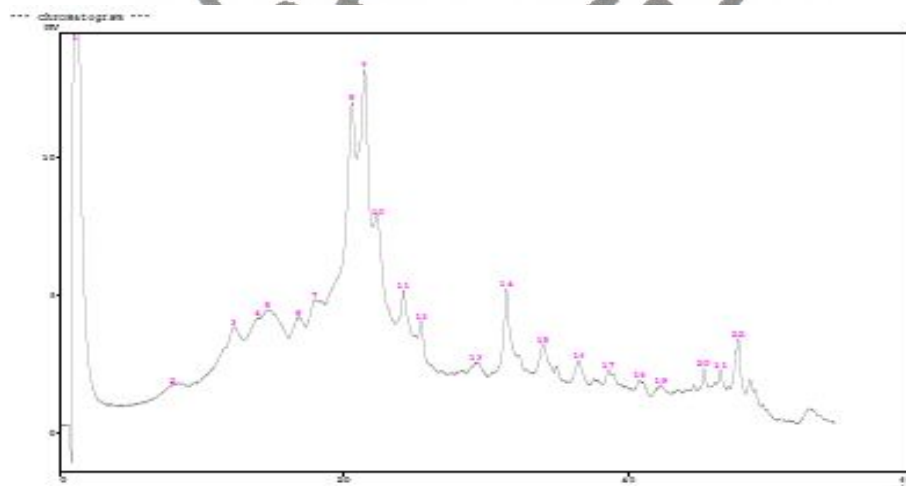
No	Spesies	Kandungan flavonoid total (%)
1.	<i>P. reticulates</i>	3,75
2.	<i>P. urinaria</i>	7,54
3.	<i>P. acidus</i>	2,81
4.	<i>P. niruri</i>	4,89
5.	<i>P. buxifolius</i>	3,70

Kandungan flavonoid tertinggi pada meniran merah dan yang paling rendah pada Cermi. Keberagaman kuantitas flavonoid ini bersifat relatif dan tidak bisa digunakan sebagai patokan untuk setiap jenis spesies. Sifat ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Dalam penelitian kandungan lignan pada beberapa aksesori *Phyllanthus* sangat dipengaruhi oleh lingkungan yang berupa naungan (Oktavidiati dkk, 2011). Meskipun demikian, setiap spesies memiliki kisaran tertentu dalam memproduksi senyawa flavonoid seiring dengan keberagaman kualitas faktor lingkungan.

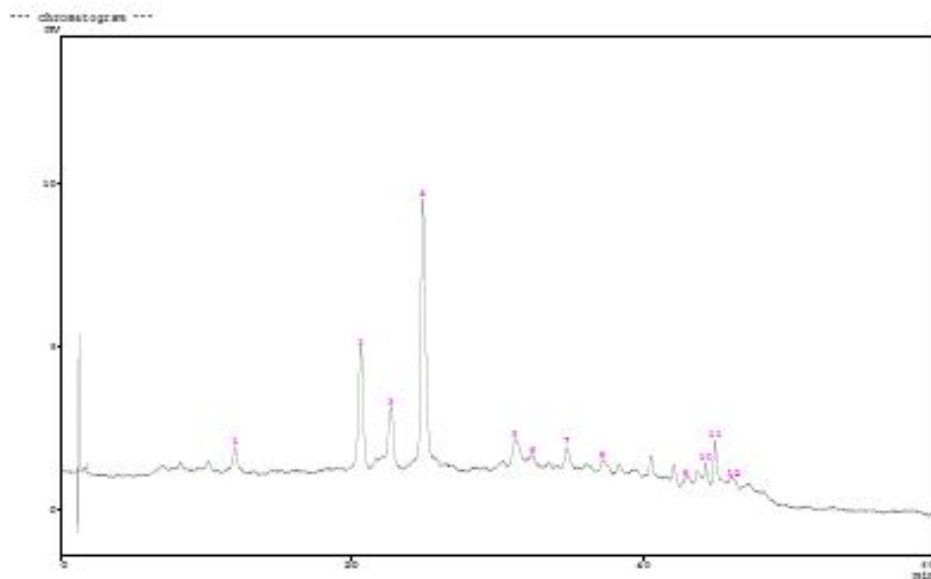
Hasil yang didapat dari TLC masih berupa kualitas dan kuantitas flavonoid secara garis besar. Dari langkah ini kemudian dilanjutkan dengan metode pemisahan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Metode HPLC banyak digunakan sebagai pemisah flavonoid pada beberapa tingkat takson dan terutama genus *Phyllanthus* yang ada di Thailand (Chantaranonthai, 2005). Hasil pemisahan senyawa flavonoid inilah yang nantinya digunakan sebagai dasar penanda untuk tingkat takson tertentu. Penanda tingkat takson pada beberapa genus menggunakan senyawa flavonoid sebagai dasarnya. Jenis – jenis senyawa flavonoid yang terpisah dengan metode HPLC digunakan dasar dalam pengklasifikasian spesies

berdasarkan sifat kimianya. Dalam hal ini sifat kimia flavonoid sering disebut Fingerprints dari spesies tertentu (Khan et al, 2011).

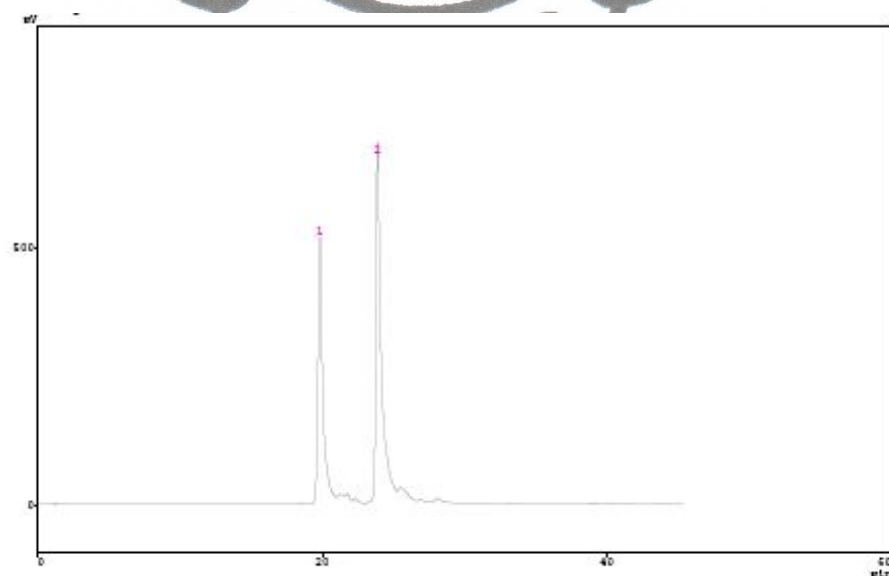
Hasil analisa pemisahan senyawa dengan metode HPLC berupa gambaran kromatogram. Pada kromatogram terdapat puncak – puncak yang tidak lain adalah suatu jenis senyawa. Flavonoid dapat terpisah dari menit pertama hingga menit ke-45. Banyaknya puncak – puncak dalam kromatogram menandakan banyaknya jenis senyawa yang ada dalam ekstrak. Dalam penelitian ini hanya digunakan dua baku standart yaitu rutine dan quercetin. Berikut ini dua kromatogram dari lima spesies anggota genus *Phyllanthus*. Kromatogram lengkap ada pada lampiran.



Gambar 15. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak meniran merah (*P. urinaria*) Hasil pemisahan ekstrak meniran merah (*P. urinaria*) terbentuk 22 puncak. Senyawa rutine pada puncak ke – 8 dan quercetine pada puncak ke-11.



Gambar 16. Kromatogram pemisahan senyawa pada ekstrak sliji (*P. buxifolius*)
Hasil pemisahan ekstrak tanaman sliji (*P. buxifolius*) terbentuk 12 puncak.
Senyawa rutine ditunjukkan pada puncak ke – 2.



Gambar 17. Kromatogram pemisahan senyawa pada baku pembanding Rutine dan Quercetine
Puncak ke-1 adalah Rutine dan puncak ke-2 adalah Quercetine.

Dengan metode ini, didapatkan 36 kelompok kisaran waktu pisah (*Retention time*). Dari ketiga puluh enam kelompok yang terbentuk, yang dapat teridentifikasi secara jelas hanya pada dua kelompok yaitu kelompok dengan waktu pisah 19.841 - 20.617 yang merupakan senyawa Rutine dan kelompok dengan waktu pisah 23.914 - 24.378 yang merupakan senyawa Quercetine.

Senyawa Rutine dimiliki oleh buah tinta (*P. reticulatus*), meniran merah (*P. urinaria*) dan sliji (*P. buxifolius*) sedangkan untuk senyawa Quercetine dimiliki hanya pada meniran merah. Sedangkan kelompok waktu pisah lainnya adalah senyawa flavonoid lain tidak dapat terdeteksi jenisnya. Hal ini dikarenakan keterbatasan baku standart yang ada.

Pengelompokan kisaran waktu pisah didasarkan pada kisaran yang terbentuk dari penginjeksian dua baku standar yang dilakukan secara terpisah dan dicampurkan. Dari hasil ini didapatkan kisaran antara 0.464 – 0.667. Nilai kisaran ini hanya sebagai dasar pengelompokan nilai waktu pisah yang berdekatan. Pengelompokan waktu pisah penelitian spesies buah tinta (*P. reticulatus*), meniran merah (*P. urinaria*), cermai (*P. acidus*), meniran hijau (*P. niruri*) dan sliji (*P. buxifolius*) menghasilkan kisaran waktu yang besar.

Kelompok kisaran waktu pisah diambil sebagai dasar karakter fitokimia flavonoid. Dengan dasar ini kelima spesies yang diteliti memiliki jenis flavonoid yang sangat beragam. Dari hasil penelitian ini, didapatkan kesamaan kandungan kimia senyawa tertentu dari kelima spesies.

Kandungan jenis flavonoid dari kelima spesies tumbuhan sangat beragam. Dari proses ini kemudian dilanjutkan dengan penghitungan koefisien similaritasnya.

Hasil karaterisasi kemudian dihitung koefisian similaritas. Nilai indeks similaritas yang sering dipakai dengan skala 100, untuk mendapatkannya dengan perkalian koefisien similaritas dengan 100% (Tabel 7).

Tabel .7. Hasil Uji Similaritas Kelima Spesies Phyllanthus berdasarkan kandungan flavonoid

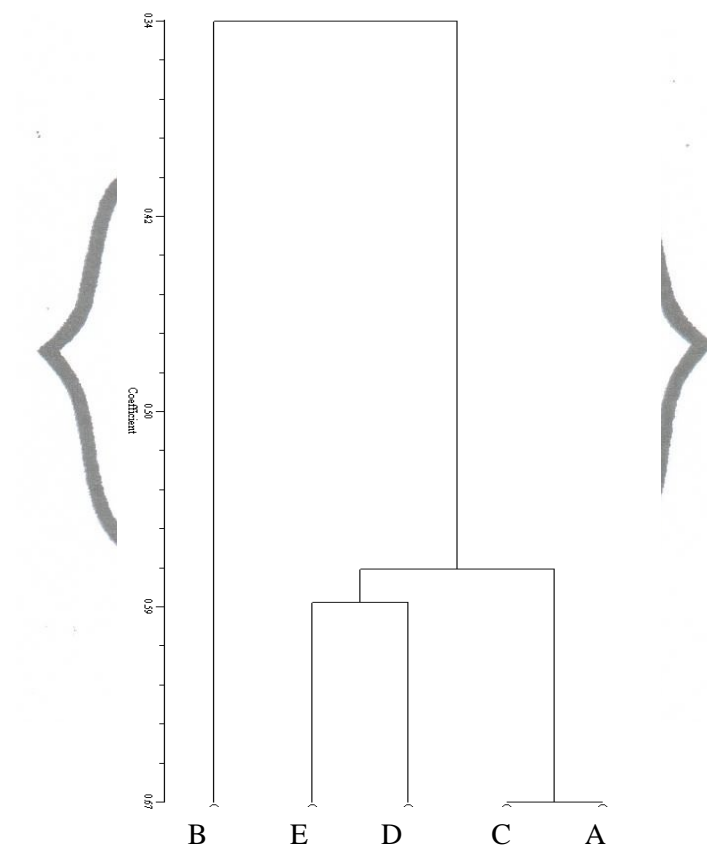
Spesies	Koefisien similaritas	(%) Similaritas
A-B	0,3056	30,56
A-C	0,6667	66,67
A-D	0,5556	55,56
A-E	0,5833	58,33
B-C	0,2500	25,00
B-D	0,4722	47,22
B-E	0,3333	33,33
C-D	0,5556	55,56
C-E	0,5833	58,33
D-E	0,5833	58,33

Keterangan:

- A : *P. reticulatus*
- B : *P. urinaria*
- C : *P. acidus*
- D : *P. niruri*
- E : *P. buxifolius*

Hasil perhitungan menunjukkan kisaran kesamaan sifat jenis flavonoid memiliki koefisien antara 0,25 hingga 0,667. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermi (*P. acidus*) memiliki nilai kesamaan jenis kandungan flavonoid yang tinggi yaitu mencapai 0.66, Sedangkan spesies lainnya dibawah dari nilai tersebut.

Hasil perhitungan koefisien similaritas telah menunjukkan nilai kesamaan dari spesies berpasangan yang diperbandingkan akan tetapi belum mampu menunjukkan dari kelima spesies yang diujikan secara bersamaan.



Gambar.18. Dendrogram kesamaan karakter flavonoid dari kelima spesies genus *Phyllanthus*.

Keterangan:

- A : *P. reticulatus*
- B : *P. urinaria*
- C : *P. acidus*
- D : *P. niruri*
- E : *P. buxifolius*

Hasil konstruksi dendrogram menunjukkan bahwa buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermai (*P. acidus*) dalam satu kelompok dan memiliki

kesamaan sifat fitokimia flavonoid yang besar. Kelompok kedua adalah sligi (*P. buxifolius*) dan meniran hijau (*P. niruri*), sedangkan meniran merah (*P. urinaria*) berada di titik paling luar dari pengelompokan. buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermai (*P. acidus*) mempunyai jenis flavonoid yang banyak kesamaanya begitu pula antara sligi dan meniran hijau. Jenis flavonoid yang banyak berbeda dibandingkan keempat spesies tanaman adalah pada meniran merah (*P. urinaria*).

Hasil pengelompokan berdasarkan sifat fitokimia flavonoid memiliki hasil yang berbeda dengan menurut sifat anatomi. Buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermai (*P. acidus*) paling besar kesamaanya pada kandungan jenis flavonoidnya akan tetapi pada kesamaan anatominya tidak, begitu pula dengan yang lainnya. Hasil yang berbeda antara pengelompokan dengan dasar sifat anatomi dan fitokimia dapat terjadi dimungkinkan terdapat sifat – sifat dari sudut anatomi yang dirasa kurang tepat dalam membedakan antar spesies yang diteliti.

Berdasarkan hasil penelitian, jenis flavonoid memang memiliki kesamaan, namun sifat dari kandungan metabolit sekunder dapat mengalami perubahan seiring dengan perubahan lingkungan. Akan tetapi, penggunaan sifat fitokimia flavonoid telah digunakan sebagai kualiti kontrol dari anggota genus *Phyllanthus* yang digunakan sebagai bahan obat herba (Soares et al, 2003). Keterkaitan antara sifat anatomi dan fitokimia dalam penelitian ini tidak terlalu jelas terlihat. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan hasil pengelompokan yang berbeda antara sifat anatomi dan fitokimia flavonoid.

C. Dendogram berdasarkan gabungan karakter anatomi dan flavonoid.

Dalam sistem taksonomi yang bersifat alami, karakter berasal dari berbagai macam sudut pandang seperti, morfologi, anatomi, fitokimia, dan lain sebagainya. Dalam penelitian ini, digunakan dua macam karakter yang digunakan sebagai dasar dari pengelompokan. Karakter anatomi dan fitokimia yang telah dibahas sebelumnya kemudian digabungkan menjadi satu. Dari hasil ini didapatkan gambaran kedekatan nilai kesamaan sifatnya secara lebih alami atau dapat diperoleh gambaran hubungan kekerabatanya. Dari seluruh karakter yang ada kemudian dihitung koefisien similaritasnya (Tabel 8).

Tabel.8. Perbandingan Nilai Koefisien Similaritas berdasarkan Karakter Anatomi dan Fitokimia Flavonoid dari Kelima Spesies anggota Genus *Phyllanthus*

Spesies	Koefisien similaritas	Indeks similaritas (%)
A-B	0.4603175	46.03175
A-C	0.6984127	69.84127
A-D	0.6190476	61.90476
A-E	0.6031746	60.31746
B-C	0.4761905	47.61905
B-D	0.5555556	55.55556
B-E	0.4444444	44.44444
C-D	0.6031746	60.31746
C-E	0.6190476	61.90476
D-E	0.6349206	63.49206

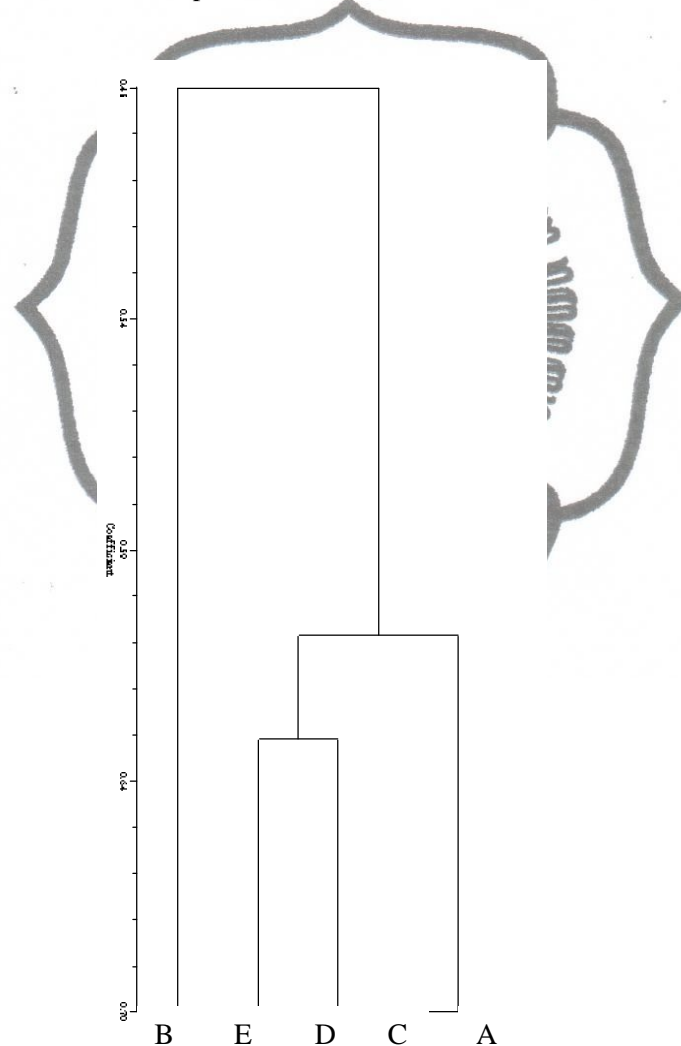
Keterangan:

- A : *P. reticulatus*
- B : *P. urinaria*
- C : *P. acidus*
- D : *P. niruri*
- E : *P. buxifolius*

Dari hasil perhitungan tersebut, didapatkan adanya perbedaan dari hasil pengelompokan berdasarkan sifat anatomi akan tetapi sama dengan sifat fitokimia. Nilai koefisien tertinggi didapatkan antara spesies buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermai (*P. acidus*). Hasil yang jauh berbeda dibandingkan kesamaan karakter

anatomi yang dibangun secara terpisah. Nilai dari koefisien persamaanya juga mengalami penurunan menjadi 0.698.

Untuk mengetahui konstruksi pengelompokan yang lain harus dibuat dendrogram. Dari dendrogram akan didapatkan gambaran yang lebih lengkap nilai kesamaan dari kelima spesies tersebut.



Gambar. 19. Dendrogram kesamaan sifat berdasarkan karakter Anatomi dan Fitokimia Flavonoid kelima Spesies Anggota Genus *Phyllanthus*.

Keterangan:

- A : *P. reticulatus*
- B : *P. urinaria*
- C : *P. acidus*
- D : *P. niruri*
- E : *P. buxifolius*

Konstruksi dendrogram (Gambar 22) menunjukkan spesies buah tinta (*P. reticulatus*) dan dan cermai (*P. acidus*) memiliki kesamaan sifat yang tinggi. Pada kelompok selanjutnya didapatkan spesies meniran hijau dan sligi dan terakhir adalah meniran merah (*P. urinaria*). Hasil yang berbeda dengan pengelompokan berdasarkan sifat anatomi. Jika pada hasil sebelumnya Meniran merah (*P. urinaria*) masih satu kelompok dengan cermai (*P. acidus*), Setelah kedua karakter digabung ternyata buah tinta (*P. reticulatus*) yang lebih dekat dengan cermai (*P. acidus*). Kelompok kedua yang mempunyai hubungan langsung secara kesamaan sifatnya adalah meniran hijau (*P. niruri*) dengan sligi (*P. buxifolius*) Hasil ini berbeda dengan hasil pengelompokan secara anatomi yang berdiri sendiri. Spesies yang berada diluar dan baru bergabung setelah yang lain dikelompokkan adalah meniran merah (*P. urinaria*).

Perbedaan hasil pengelompokan berdasarkan sifat anatomi dengan sifat gabungan antara anatomi dan fitokimia dapat terjadi karena terdapat 13 sifat anatomi yang sama – sama dimiliki oleh kelima spesies tersebut dan juga masih kurangnya sifat anatomi yang tepat yang dipakai dalam penelitian ini. Sifat tersebut masih dipakai dikarenakan pada kelompok taxon lain sifat tersebut merupakan pembeda. Hasil yang sama didapatkan antara pengelompokan sifat berdasarkan fitokimia saja dan gabungan. Hal ini dikarenakan pada sifat fitokimia dari kelima spesies tidak ditemukan senyawa yang sama – sama dimiliki oleh kelimanya. Berdasarkan penelitian ini, sifat

fitokimia lebih tepat dikarenakan mendukung dari pengelompokan secara lebih luas cakupannya.

Hasil pengelompokan berdasarkan sifat anatomi dan fitokimia lebih menitik beratkan hubungan kekerabatan secara filogenetik dan evolusi. Struktur anatomi yang ada pada tumbuhan dewasa memiliki keterkaitan dengan kandungan fitokimia. Hal ini disebabkan senyawa fitokimia yang dihasilkan mempunyai hubungan langsung terhadap struktur anatomi. Dari hasil pengelompokan ini dimungkinkan tumbuhan buah tinta (*P. reticulatus*) dan cermai (*P. acidus*) memiliki hubungan dekat secara evolusioner. Begitu pula dengan meniran hijau (*P. niruri*) dengan sligi (*P. buxifolius*). Meniran merah (*P. urinaria*) yang memiliki pigmen warna merah dimungkinkan tingkat kekerabatannya agak jauh, walaupun bentuk morfologinya hampir sama dengan meniran hijau (*P. niruri*).

Perbedaan hasil pengelompokan dicapai karena masing – masing karakter yang sama terkumpul dan membentuk gambaran yang lain. Hasil yang didapat dari pengelompokan ini berbeda dengan hasil penelitian pada genetik berdasarkan marka gen daerah NR ITS dan Plasmid MAT K DNA (Kathriarachchi et al 2006). Jika dilihat secara menyeluruh, pengelompokan yang terbentuk berdasarkan karakter anatomi dan fitokimia masih bersifat kurang mantap. Pengelompokan yang bersifat mantap lebih mendekati ke arah alami. Pengelompokan yang bersifat alami akan menunjukkan adanya kesesuaian antara marka gen dengan sifat morfologi yang stabil maupun sifat anatominya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Perbedaan anatomi batang pada meniran merah (*P.urinaria*), meniran hijau (*P.niruri*), sligi (*P.buxifolius*), cermi (*P.acidus*), dan buah tinta (*P. reticulatus*) terdapat pada bentuk dasar batang, keberadaan Kristal dalam parenkim, tipe xylem, dan ketebalan xilem, Perbedaan pada daun terdapat pada pola ikatan pembuluh, epidermis, dan jaringan bunga karangnya, sedangkan pada akar tidak ditemukan perbedaan.
2. Terdapat variasi kandungan flavonoid pada lima spesies *Phyllanthus*, dimana *P.urinaria* merupakan spesies dengan kadar flavonoid tertinggi, diikuti *P.niruri*, *P. reticulatus*, *P.buxifolius* dan yang terendah adalah *P.acidus*.
3. Hubungan kekerabatan yang terbentuk dari kesamaan sifat anatomi dan flavonoid menempatkan *P.reticulatus* dan *P.acidus* dalam kelompok pertama, *P.niruri* dan *P.buxifolius* kelompok kedua, sedangkan *P.urinaria* kekerabatanya jauh dibanding empat spesies lainnya.

B. SARAN

1. Kandungan flavonoid pada *P. Urinaria* yang cukup tinggi perlu ditindaklanjuti untuk dikembangkan menjadi bahan baku tanaman obat.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang hubungan anatomi tumbuhan lima spesies anggota genus *Phyllanthus* dengan kadar flavonoidnya.
3. Diperlukan pemeriksaan senyawa metabolit sekunder yang lain untuk memastikan khasiat obat dari beberapa spesies anggota genus *Phyllanthus*.

