

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Morfologi Kualitatif

Pengamatan morfologi dilakukan berdasarkan panduan morfologi tanaman salak menurut Radford (1986) dan Departemen Pertanian Republik Indonesia (2006) yang disajikan pada Lampiran 4. Karakter kualitatif yang diamati meliputi warna pupus, warna permukaan atas daun, warna permukaan bawah daun, ketebalan lapisan lilin permukaan bawah daun, warna pelepah, kekerasan daun, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, pelipatan tepi helai daun, warna duri, ketajaman duri, kekerasan duri, duri mudah lepas, bentuk duri, kerapatan duri, warna seludang bunga, bentuk seludang bunga, warna mahkota bunga, warna kulit buah matang, bentuk buah, warna daging buah, rasa daging buah, dan tekstur daging buah. Adapun karakter morfologi kualitatif pada daun tanaman salak bangkalan disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kualitatif daun tanaman salak Bangkalan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa warna pupus tanaman salak Bangkalan berwarna hijau kekuningan pada salak jenis Apel, Cocor, Penjalin, dan Senase, sedangkan salak jenis Bunter dan Kerbau berwarna coklat kekuningan. Warna permukaan atas daun pada umumnya berwarna hijau tua untuk salak jenis Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase, sedangkan salak jenis Apel memiliki warna permukaan atas daun berwarna hijau. Semua jenis salak Bangkalan yang diamati memiliki warna permukaan bawah daun berwarna hijau dengan alur coklat kecuali salak jenis Bunter memiliki warna permukaan bawah daun hijau keabuan. Salak jenis Apel, Bunter, Cocor, dan Kerbau memiliki ketebalan lapisan lilin yang tipis dibandingkan dengan salak jenis Penjalin dan Senase yang memiliki lapisan lilin tebal. Semua jenis salak Bangkalan yang diamati memiliki warna pelepah hijau kecoklatan. Pada pengamatan kekerasan daun, semua jenis tanaman salak Bangkalan memiliki daun yang lunak kecuali salak jenis Senase memiliki daun yang keras. Pada umumnya semua jenis tanaman salak Bangkalan memiliki bentuk pangkal daun rata dan memiliki bentuk ujung daun runcing, serta tidak memiliki pelipatan tepi helai daun

Tabel 1. Karakter Morfologi Kualitatif pada Daun Tanaman Salak Bangkalan

CIRI MORFOLOGI	WARNA PUPUS		WARNA PERMUKAAN ATAS DAUN		WARNA PERMUKAAN BAWAH DAUN		KETEBALAN LAPISAN LILIN		WARNA PELEPAH	KEKERASAN DAUN		BENTUK PANGKAL DAUN	BENTUK UJUNG DAUN	PELIPATAN TEPI HELAI
	CK	HK	H	HT	HAC	HA	Tp	Tb	HC	L	K	R	Rc	Tidak ada
APEL		√	√		√		√		√	√		√	√	√
BUNTER	√			√		√	√		√	√		√	√	√
COCOR		√		√	√		√		√	√		√	√	√
KERBAU	√			√	√		√		√	√		√	√	√
PENJALIN		√		√	√			√	√	√		√	√	√
SENASE		√		√	√			√	√		√	√	√	√

Keterangan :

CK : Coklat kekuningan

Rc : Runcing

HA : Hijau keabuan

H : Hijau

Ks : Keras

Tb : Tebal

R : Rata

HAC : Hijau dg alur coklat

HK : Hijau kekuningan

L : Lunak

Tp : Tipis

HT : Hijau tua

HC : Hijau kecoklatan



Tabel 2. Karakter Morfologi Kualitatif pada Duri Tanaman Salak Bangkalan

CIRI MORFOLOGI	WARNA DURI	KETAJAMAN DURI	KEKERASAN DURI	DURI MUDAH LEPAS	BENTUK DURI			KERAPATAN DURI		
	Hitam / Coklat	Tajam	Keras	Tidak	TpLB	TbLB	TpLK	ARp	SRp	J
APEL	√	√	√	√			√	√		
BUNTER	√	√	√	√			√			√
COCOR	√	√	√	√	√			√		
KERBAU	√	√	√	√		√			√	
PENJALIN	√	√	√	√	√			√		
SENASE	√	√	√	√			√	√		

Keterangan :

- TpLB : Tipis lancip besar  
 Arp : Agak rapat  
 TbLB : Tebal lancip besar  
 SRp : Sangat rapat  
 TpLK : Tipis lancip kecil  
 J : Jaran

Tabel 2 merupakan hasil pengamatan morfologi kualitatif duri pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan. Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kualitatif duri tanaman salak Bangkalan yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pada umumnya semua jenis tanaman salak Bangkalan yang diamati memiliki duri berwarna hitam/ coklat, tajam dan keras serta tidak mudah lepas. Salak jenis Apel, Bunter, dan Senase memiliki bentuk duri tipis lancip kecil, sedangkan salak jenis Cocor dan Penjalin memiliki bentuk duri tipis lancip besar, dan salak jenis Kerbau memiliki bentuk duri tebal lancip besar.

Kerapatan duri tanaman salak Bangkalan dikategorikan kedalam 4 (empat) kategori, yaitu rapat, agak rapat, sangat rapat, dan jarang. Salak jenis Apel, Cocor, Penjalin, dan Senase memiliki kerapatan duri agak rapat, salak jenis Bunter memiliki kerapatan duri yang jarang sedangkan salak jenis Kerbau memiliki kerapatan duri yang sangat rapat. Selanjutnya untuk pengamatan morfologi kualitatif bunga pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakter Morfologi Kualitatif Bunga pada Tanaman Salak Bangkalan

CIRI MORFOLOGI	WARNA SELUDANG BUNGA		BENTUK SELUDANG BUNGA	WARNA MAHKOTA BUNGA	
	K	C	Mb	MK	MM
APEL		√	√	√	
BUNTER		√	√		√
COCOR		√	√		√
KERBAU		√	√		√
PENJALIN	√		√	√	
SENASE		√	√		√

Keterangan:

- K : Kuning
- C : Coklat
- Mb : Membulat
- MK : Merah kekuningan
- MT : Merah tua
- MM : Merah muda

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kualitatif bunga tanaman salak Bangkalan, menunjukkan bahwa semua jenis tanaman salak Bangkalan memiliki seludang bunga berwarna coklat kecuali jenis salak Penjalin memiliki seludang bunga berwarna kuning. Semua jenis tanaman salak Bangkalan memiliki bentuk seludang bunga membulat. Pada karakter warna mahkota bunga salak jenis Bunter, Cocor, Kerbau, dan Senase memiliki mahkota bunga berwarna merah

muda, sedangkan salak jenis Apel dan Penjalin memiliki mahkota bunga berwarna merah tua. Selanjutnya untuk pengamatan morfologi kualitatif buah pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kualitatif pada buah tanaman salak Bangkalan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki warna kulit buah yang bervariasi. Variasi warna tersebut adalah kuning gading, cokelat, kuning kehijauan, hitam, dan cokelat kekuningan. Salak jenis Apel memiliki warna kulit buah kuning kehijauan, salak jenis Bunter memiliki kulit buah berwarna Cokelat, salak jenis Cocor memiliki kulit buah berwarna kuning gading, salak jenis Kerbau dan Senase memiliki kulit buah berwarna hitam, sedangkan salak jenis Penjalin memiliki kulit buah berwarna cokelat kekuningan. Pada karakter bentuk buah ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan juga memiliki bentuk yang bervariasi, yaitu segitiga panjang, segitiga pendek, dan bulat. Salak jenis Apel dan Kerbau memiliki buah berbentuk segitiga pendek, salak jenis Bunter memiliki bentuk buah bulat, sedangkan salak jenis Cocor, Penjalin, dan Senase memiliki bentuk buah segitiga panjang.

Berdasarkan karakter warna daging buah ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki 3 (tiga) variasi, yaitu kuning cokelat, putih kuning, dan putih. Dari karakter tersebut salak jenis Apel, Bunter, Cocor, dan Penjalin memiliki daging buah berwarna putih kuning, salak jenis Kerbau memiliki daging buah berwarna kuning cokelat, dan salak Senase memiliki daging buah berwarna putih. Ke-6 (enam) jenis salak Bangkalan memiliki variasi rasa yang berbeda, diantaranya adalah salak jenis Apel, Penjalin, dan Senase memiliki rasa yang sangat manis, salak jenis Bunter memiliki rasa manis asem, salak jenis Cocor memiliki rasa yang manis, dan salak jenis Kerbau memiliki rasa manis sepet. Berdasarkan karakter tekstur buah salak jenis Cocor, Kerbau, dan Senase memiliki tekstur buah yang masir, sedangkan salak jenis Apel, Bunter, dan Penjalin memiliki tekstur buah yang tidak masir.

Tabel 4. Karakter Morfologi Kualitatif pada Buah Tanaman Salak Bangkalan

CIRI MORFOLOGI	WARNA KULIT BUAH MATANG					BENTUK BUAH			WARNA DAGING BUAH			RASA DAGING BUAH				TEKSTUR DAGING BUAH	
	KG	C	KH	Ht	CK	SPj	B	SPd	KC	PK	P	SM	MS	M	MA	Masir	Tidak Masir
1	20					21			22							24	
APEL			√					√		√		√					√
BUNTER		√					√			√					√		√
COCOR	√					√				√				√		√	
KERBAU				√				√	√				√			√	
PENJALIN					√	√				√		√					√
SENASE				√		√					√	√				√	

Keterangan:

KG : Kuning gading

C : Coklat

KH : Kuning kehijauan

Ht : Hitam

CK : Coklat kekuningan

B : Bulat

SPd : Segitiga pendek

SPj : Segitiga panjang

KC : Kuning coklat

PK : Putih kuning

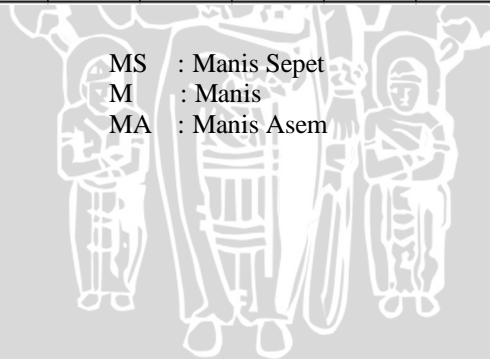
P : Putih

SM : Sangat Manis

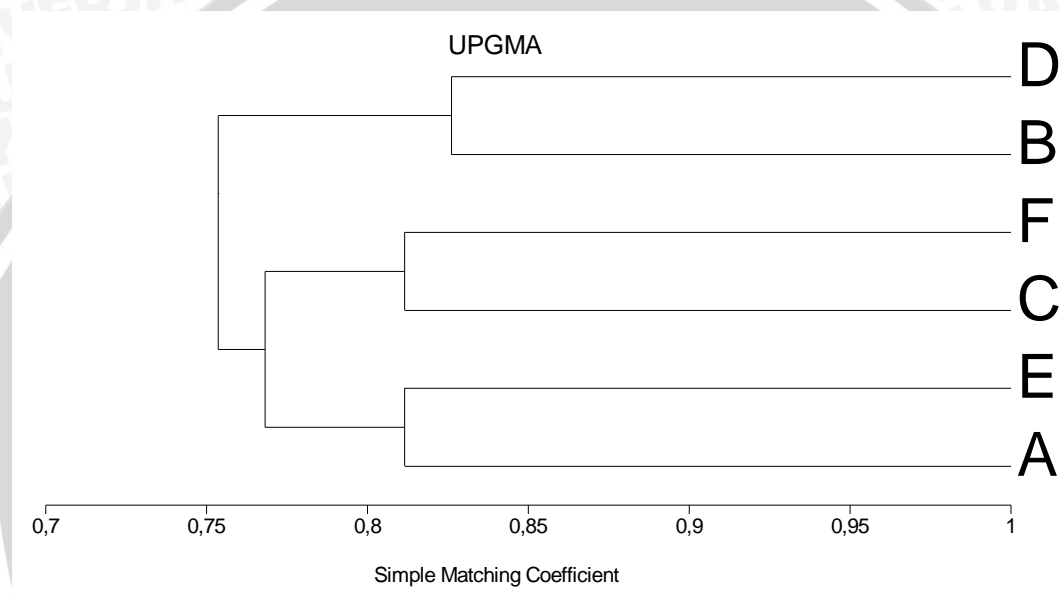
MS : Manis Sepet

M : Manis

MA : Manis Asem



Data hasil pengamatan morfologi kualitatif ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan kemudian diterjemahkan menjadi data biner. Data biner morfologi kualitatif disajikan pada Lampiran 3. Selanjutnya data biner dimasukkan dalam program *Multi Variate Statistical Package* (MVSP). Hasil dari program *Multi Variate Statistical Package* (MVSP) berupa dendrogram yang dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dan kemiripan dari ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan yang diamati. Dendrogram ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Dendrogram morfologi kualitatif 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, yaitu A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase.

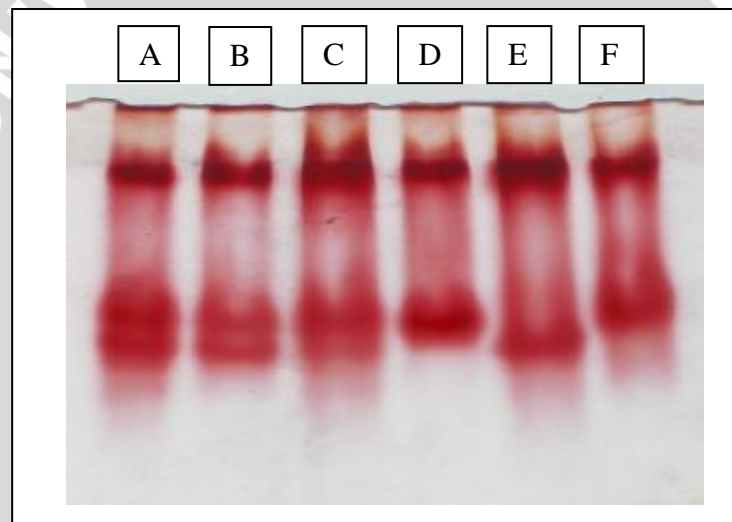
Berdasarkan dendrogram morfologi kualitatif, ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan (Gambar 1) memiliki koefisien kesamaan genetik (kemiripan) berkisar antara 0,75-0,82 (18-25%). Pada kesamaan 0,75 atau 75% terdiri dari 2 (dua) cluster, dan pada cluster I terdiri dari 2 (dua) subcluster yang memiliki kesamaan 0,76 atau 76%. Subcluster I adalah salak jenis Apel dan Penjalin, sedangkan subcluster II adalah salak jenis Cocor dan Senase. Salak jenis Apel dan Penjalin sekerabat dengan kesamaan genetik sebesar 0,81 (81%), atau memiliki kesamaan morfologi kualitatif sebesar 81%, begitu juga dengan salak jenis Cocor dan Senase memiliki kesamaan morfologi kualitatif sebesar 81%. Pada cluster II salak jenis Bunter sekerabat dengan salak Kerbau dengan kesamaan genetik sebesar 0,82 (82%). Dalam hal ini salak jenis Bunter dan Kerbau memiliki

kesamaan morfologi kualitatif sebesar 82%. Antar cluster I dan cluster II memiliki kesamaan genetik 0,75 atau dapat dikatakan antar 2 (dua) cluster tersebut memiliki kesamaan morfologi kualitatif sebesar 75%.

#### 4.1.2 Analisis Isozim

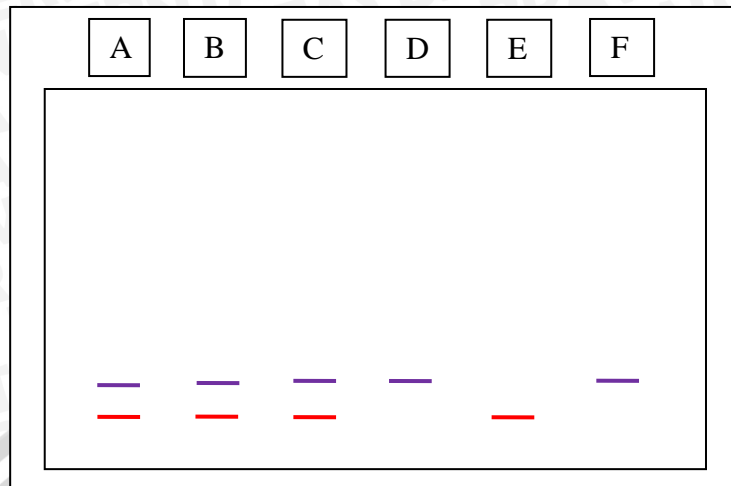
Hasil analisa 2 (dua) macam enzim yaitu, PER (peroksidase) dan EST (Esterase) pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan menunjukkan bahwa enzim PER (peroksidase) memperlihatkan adanya keragaman pola pita (polimorfik) sedangkan enzim EST (Esterase) tidak memperlihatkan adanya pola pita (tidak ada pola pita yang tampak/ muncul).

Hasil analisa isoenzim dengan menggunakan enzim PER (peroksidase) dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



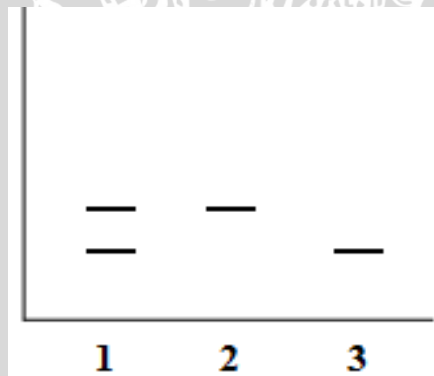
Gambar 2. Hasil elektroforesis isozim PER pada 6 jenis tanaman salak Bangkalan berturut-turut adalah A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase





Gambar 3. Zimogram elektroforesis isozim PER pada 6 jenis tanaman salak Bangkalan berturut-turut adalah A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase

Berdasarkan hasil elektroforesis enzim PER (peroksidase) pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan terdapat 3 (tiga) keragaman pola pita. Keragaman 3 (tiga) pola pita tersebut dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel. 5.



Gambar 4. Keragaman pola pita berdasarkan enzim PER pada tanaman salak Bangkalan, dimana 1 = pola pita ke I, 2 = pola pita ke II, 3 = pola pita ke III.

Tabel 5. Keragaman Pola Pita Isozim 6 (enam) Jenis Tanaman Salak Bangkalan Berdasarkan Enzim PER.

No.	Jenis Salak	Pola pita		
		1	2	3
1.	Apel	✓		
2.	Bunter	✓		
3.	Cocor	✓		
4.	Kerbau		✓	
5.	Penjalin			✓
6.	Senase		✓	

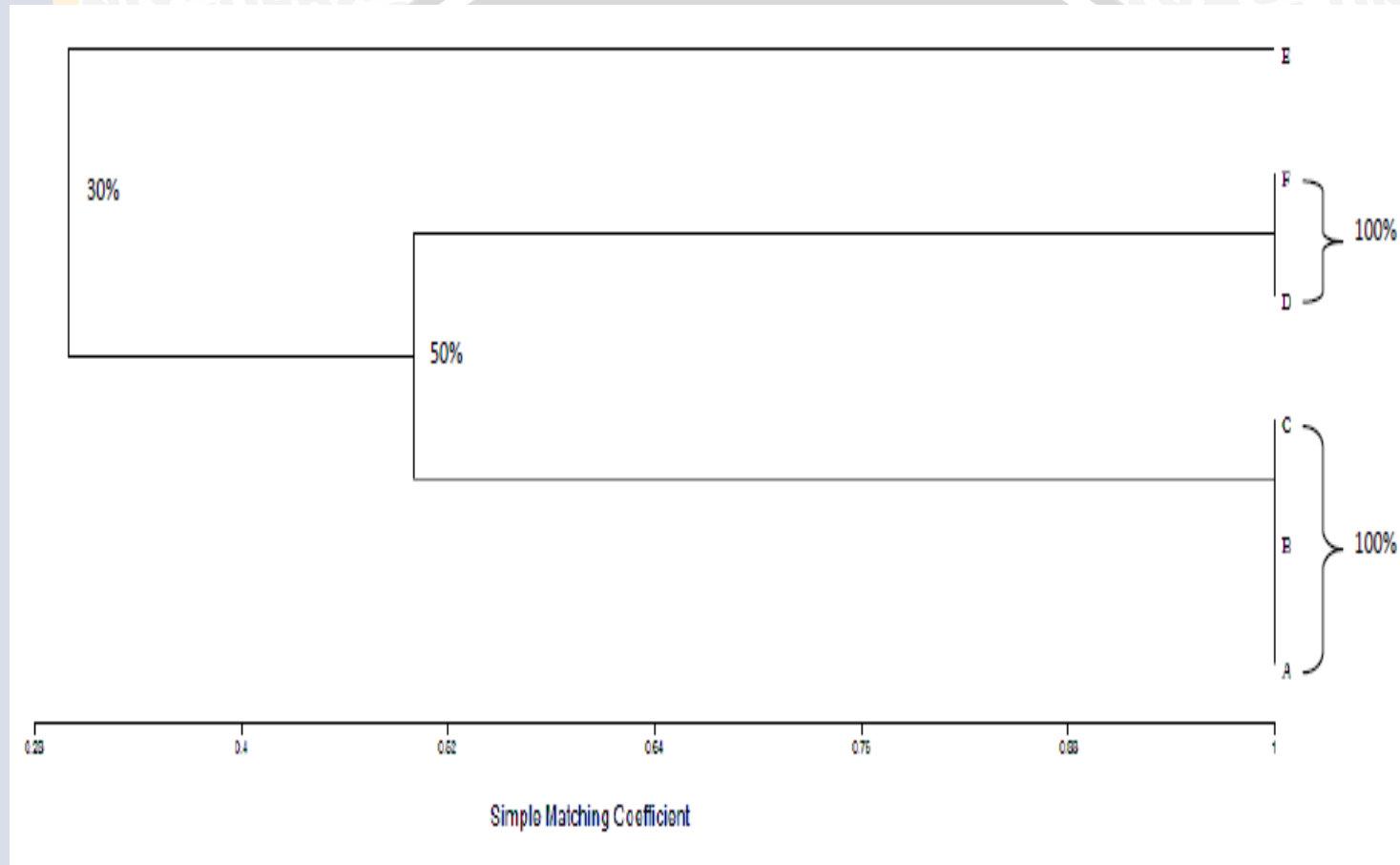
Berdasarkan Gambar 4 dan Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat 3 (tiga) keragaman pola pita dari hasil elektroforesis enzim PER (peroksidase) pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan. Pola pita I (pertama) adalah salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor, pola pita II (kedua) adalah salak jenis Kerbau dan Senase, pola pita III (ketiga) adalah salak jenis Penjalin.

Hasil analisa pola pita isoenzim PER (peroksidase) tersebut kemudian diterjemahkan menjadi data biner. Data biner pola pita isoenzim PER (peroksidase) dapat dilihat pada Tabel. 6. Selanjutnya data biner dimasukkan kedalam program komputer *Multi Variate Statistical Package* (MVSP). Hasil dari program *Multi Variate Statistical Package* (MVSP) berupa dendogram yang dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dan koefisien kesamaan genetik (kemiripan) dari ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan yang diamati. Dendogram isoenzim PER (peroksidase) dapat dilihat pada Gambar 5. Berdasarkan hasil elektroforesis PER (peroksidase), kemiripan genetik ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan berkisar 0,30-1 (30-100%).

Tabel 6. Data Skoring Hasil Analisa Pita Isozim dengan Menggunakan Enzim PER (peroksidase).

Jenis Salak	A	B	C	D	E	F
Data Biner	1	1	1	1	0	1
	1	1	1	0	1	0

Keterangan: 1 = ada pita, 0 = tidak ada pita, dimana A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase



Gambar 5. Dendrogram similaritas analisa isozim 6 (enam) jenis sampel daun salak Bangkalan menggunakan enzim PER (peroksidase), dimana A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase.

Berdasarkan dendrogram similaritas analisa isozim menggunakan enzim PER (peroksidase) pada Gambar 5, menunjukkan bahwa ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan terdiri dari 2 (dua) cluster. Cluster I (pertama) pada kesamaan genetik 0,50 (50%) terdiri dari 2 (dua) subcluster, subcluster I adalah salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor dan subcluster II adalah salak jenis Kerbau dan Senase. Salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor sekerabat dengan kesamaan genetik 1 (100%). Begitu juga dengan salak jenis Kerbau dan Senase sekerabat dengan kesamaan genetik 1 (100%). Sedangkan cluster 2 (dua) pada kesamaan 0,30 (30%) adalah salak jenis Penjalin. Salak jenis Penjalin memiliki kesamaan genetik 0,30 (30%) dengan cluster salak jenis Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, dan Senase.

Hasil elektroforesis dengan menggunakan enzim EST (esterase) pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, yaitu Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase tidak memperlihatkan adanya pola pita (tidak ada pola pita yang tampak/ muncul). Hasil analisa isoenzim dengan menggunakan enzim EST (esterase) ini dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil elektroforesis isoenzim EST (esterase) pada 6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan berturut-turut adalah A = Apel, B = Bunter, C = Cocor, D = Kerbau, E = Penjalin, F = Senase

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Morfologi Kualitatif

Data morfologi kualitatif digunakan untuk mengidentifikasi masing-masing jenis tanaman salak Bangkalan berdasarkan sifat-sifat yang terekspresi dalam fenotipe tanaman salak, sehingga dapat diketahui keragaman tanaman berdasarkan karakter kualitatif tanaman. Selain itu juga untuk mengetahui kedekatan kekerabatan dan tingkat kemiripan genetik antar ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan yang diamati. Hal ini didukung oleh pendapat Poespodarsono (1988) yang menyatakan bahwa pengelompokan berdasarkan sifat kualitatif lebih mudah, karena sebarannya deskriptif (tegas) dan sifat kualitatif dikendalikan oleh gen sederhana serta faktor lingkungan kurang berpengaruh. Berdasarkan pengamatan morfologi kualitatif, ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki karakter kualitatif yang beragam. Keragaman karakter kualitatif tersebut meliputi, warna pupus, warna permukaan atas daun, warna permukaan bawah daun, ketebalan lapisan lilin permukaan bawah daun, kekerasan daun, bentuk duri, kerapatan duri, warna seludang bunga, warna mahkota bunga, warna kulit buah matang, bentuk buah, warna daging buah, rasa buah dan tekstur daging buah.

Sedangkan karakter kualitatif yang meliputi warna pelepah, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, pelipatan tepi helai daun, warna duri, ketajaman duri, kekerasan duri, duri mudah lepas, dan bentuk seludang bunga pada ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan yang diamati pada umumnya seragam. Berdasarkan dendrogram morfologi kualitatif ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki kemiripan genetik berkisar antara 0,75-0,82 atau 75-82%. Hal ini menunjukkan bahwa ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki keragaman morfologi kualitatif sebesar 18-25% atau jarak genetik 0,18-0,25. Kesamaan genetik 0,75-0,82 diduga ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Pada kesamaan genetik 0,75 ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan terbagi menjadi 2 (dua) cluster. Cluster I (pertama) terdiri dari salak jenis Apel, Penjalin, Cocor, dan Senase, sedangkan pada cluster II (kedua) terdiri dari salak jenis Bunter dan Kerbau. Salak tersebut

termasuk dalam satu cluster karena memiliki kemiripan karakter morfologi, antara lain warna pupus, kerapatan duri, warna dan bentuk seludang bunga, bentuk buah, rasa buah dan warna daging buah. Salak jenis Apel, Penjalin, Cocor, dan Senase tidak termasuk kedalam satu kelompok yang sama dengan salak jenis Bunter dan Kerbau, hal ini diduga karena ada beberapa perbedaan morfologi yaitu warna pupus, kerapatan duri, warna seludang bunga, warna mahkota bunga, warna kulit buah matang, bentuk buah, rasa buah dan warna daging buah. Namun, pada pengamatan morfologi ini ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki karakter morfologi yang hampir sama/ tidak jauh berbeda, oleh karena itu masih memiliki kemiripan yang dekat. Kemiripan ini diduga penyerbukan tanaman salak Bangkalan berasal dari tetua (jantan) yang sama/ mirip atau tetua yang berkerabat dekat sehingga memiliki karakter yang hampir sama.

Antara cluster I (Apel, Penjalin, Cocor, dan Senase) dengan cluster II (Bunter dan Kerbau) diduga memiliki hubungan kekerabatan yang dekat sebab memiliki koefisien kesamaan genetik (kemiripan) sebesar 75%. Hal ini berdasarkan pernyataan Cahyarini, *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa dua varietas atau lebih dapat dikatakan mirip apabila jarak kemiripannya atau tingkat similaritasnya tidak kurang dari 0,60 atau 60%, sebaliknya jarak kemiripan bisa dikatakan jauh apabila kurang dari 0,60 atau 60%. Vanderpool (2001) dalam Cahyarini, *et al.* (2004) menyatakan bahwa apabila tingkat similaritas antara strain lebih dari 50% maka dapat dikelompokkan kedalam genus yang sama, apabila tingkat similaritas antar strain lebih dari 70% maka dapat dikelompokkan kedalam satu spesies sama dan apabila tingkat similaritas lebih dari 90% maka dapat dikelompokkan kedalam strain yang sama. Berdasarkan pendapat Vanderpool (2001) dalam Cahyarini, *et al.* (2004) tersebut, dapat dikatakan bahwa ke-6 (enam) jenis salak Bangkalan, yaitu, Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, Penjalin, dan Senase masih dalam satu spesies yang sama, yaitu *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.

#### 4.2.2 Analisis Isozim

Analisis isozim/ isoenzim pada penelitian ini dilakukan untuk mendukung hasil pengamatan morfologi ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, karena isozim merupakan produk langsung dari gen dan tidak dipengaruhi oleh faktor

lingkungan. Selain itu waktu yang dibutuhkan juga lebih cepat karena tidak menunggu tanaman sampai berproduksi. Keragaman tanaman salak Bangkalan yang diuji dengan analisis isozim dapat dilihat dari keragaman pola pita yang muncul pada setiap jenis enzim yang digunakan. Keragaman pola pita yang terinterpretasikan akan menunjukkan keragaman genetik antar tanaman salak Bangkalan. Banyaknya jumlah pita yang muncul pada tiap sampel menandakan jumlah gen yang terekspresi oleh enzim pada tanaman tersebut. Hal ini didukung oleh pernyataan Hayward dan Mc. Adam (1998) yang menjelaskan bahwa pola pita isozim sebagai ciri genetik lebih dipercaya dalam mempelajari keragaman individu atau populasi, identifikasi untuk klasifikasi, membantu seleksi, dan mempelajari penyebaran suatu jenis tanaman pada berbagai lingkungan yang berbeda.

Penelitian ini menggunakan 2 (dua) jenis enzim, yaitu PER (Peroksidase) dan EST (Esterase), karena enzim-enzim esterase dan peroksidase mempunyai pola pita yang jelas dan polimorfis. Hal ini didukung oleh penelitian Fajriani (2008) pada identifikasi salak jantan dan betina menggunakan morfologi dan analisis isozim, enzim PER dan EST memberikan penampakan pola pita yang jelas. Begitu juga pada penelitian Cahyarini *et al.* (2004) pada identifikasi keragaman genetik varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim dengan pewarnaan esterase dan peroksidase memberikan kenampakan pola pita isozim yang jelas, dan juga telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi tanaman nanas, jeruk besar, *Ranunculus nanus*, dan tebu. Pada pengamatan analisis dengan 2 (dua) jenis enzim tersebut, enzim PER (peroksidase) memperlihatkan pola pita yang jelas dan polimorfik (Gambar 3 dan 4) dan dapat divisualisasikan dengan baik sehingga memungkinkan untuk dilakukan interpretasi genetik.

Sedangkan enzim esterase (EST) tidak menunjukkan/ memperlihatkan adanya pola pita (tidak ada pola pita yang tampak/ muncul) sehingga tidak dapat divisualisasikan/ diinterpretasikan (Gambar 6). Menurut Lakitan (2007) perbedaan antar isozim dapat terjadi karena adanya gen-gen yang berbeda dalam melakukan kodifikasi untuk masing-masing isozim. Pada hasil elektroforesis menggunakan enzim EST (esterase) tidak ada pola pita yang tampak/ muncul, diduga hal ini

disebabkan oleh kandungan fenol yang tinggi yang sangat mudah rusak karena suhu atau lingkungan yang tidak sesuai. Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda, karena enzim merupakan protein yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan pH berubah. Diluar suhu dan pH yang tidak sesuai enzim tidak dapat bekerja secara optimal sehingga strukturnya akan mengalami kerusakan, hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya. Hadiati dan Sukmadjaja (2002) menjelaskan bahwa aktivitas enzim esterase dipengaruhi oleh lingkungan tertentu yang dominan seperti panas, suhu, dan pH. Esterase (EST) merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut.

Peroksidase (PER) pada tanaman merupakan anggota enzim reduktase yang dianggap mempunyai hubungan nyata dengan penyebab perubahan pada rasa, warna, tekstur, dan kandungan gizi buah-buahan dan sayuran yang belum diolah. Selain itu, peroksidase (PER) juga merupakan isoenzim yang berperan dalam pertumbuhan, diferensiasi dan pertahanan (Burnette, 1997, dalam Cahyarini, 2004). Berdasarkan hasil elektroforesis menggunakan enzim peroksidase (PER) terdapat 3 (tiga) keragaman pola pita yang berbeda (Gambar 4). Keragaman pola pita tersebut menunjukkan susunan genetik yang berbeda pula, karena enzim merupakan produk langsung dari gen dengan asam amino sebagai penyusunnya. Asam amino tersebut disandi oleh basa nukleotida DNA yang khas untuk setiap enzimnya (Purwanto *et al.*, 2002).

Hasil analisis kekerabatan pada dendrogram similaritas isozim menggunakan enzim peroksidase (PER) menunjukkan bahwa koefisien kesamaan genetik (kemiripan) antar ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan berkisar antara 0,30-1 (30-100%) (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa antar ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan memiliki keragaman sebesar 0-70% atau jarak genetik 0,00-0,70. Pada kemiripan 50% terdiri dari 2 (dua) subcluster. Subcluster I (salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor) sedangkan subcluster II (salak jenis Kerbau dan Senase). Hal ini mengandung makna bahwa antar subcluster tersebut memiliki kesamaan enzim PER sebesar 50% atau terdapat keragaman



sebesar 50%. Salak jenis Apel, Bunter, dan Cocor memiliki kesamaan genetik 1, hal ini mengandung makna bahwa antar jenis salak tersebut memiliki kesamaan enzim PER (peroksidase) sebesar 100%. Begitu juga dengan salak jenis Kerbau dan Senase memiliki kesamaan genetik 1 atau memiliki kesamaan enzim PER 100%. Kesamaan tersebut juga dapat dilihat dari kesamaan karakter morfologi kualitatif yaitu, warna daun, warna dan bentuk seludang bunga, serta warna daging buah. Menurut Hartatik (2002) jarak genetik 0 atau nilai kesamaan genetik 1, menunjukkan adanya kesamaan genetik yang mutlak antar aksesori tersebut. Kesamaan atau kemiripan pada setiap kelompok tersebut dapat dilihat dari pola pita isozimnya yang juga memiliki kesamaan.

Kesamaan genetik 0,50 (50%) menunjukkan bahwa antar dua subcluster tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang jauh. Hal ini berdasarkan pernyataan Cahyarini *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa jarak kemiripan dapat dikatakan jauh apabila kurang dari 0,60 atau 60%. Dari ke-6 (enam) jenis tanaman salak Bangkalan, salak jenis Penjalin memiliki hubungan kekerabatan yang paling jauh karena memiliki tingkat kesamaan genetik 0,30 (30%) atau terdapat keragaman 70% dengan ke-5 (lima) jenis salak Bangkalan lainnya, yaitu Apel, Bunter, Cocor, Kerbau, dan Senase. Hal ini juga dapat dilihat dari karakter morfologi salak jenis Penjalin yaitu, warna seludang bunga, warna kulit buah, bentuk buah, dan rasa serta tekstur buah yang berbeda dengan ke-5 (lima) jenis salak bangkalan lainnya.

Semakin rendah tingkat kemiripan genetik dari tanaman antar aksesori, menunjukkan keragaman genetik antar aksesori tersebut semakin tinggi. Sebaliknya semakin tinggi kemiripan genetik antar aksesori, semakin rendah pula tingkat keragaman genetik yang dihasilkan (Sulistiyowati, 2008 *dalam* Rahmawati, *et al.*, 2010). Analisis isozim dengan menggunakan enzim PER (peroksidase) menunjukkan adanya variasi genetik dimulai dari kemiripan genetik tinggi sampai pada kemiripan genetik rendah. Hal ini sesuai dengan sifat salak Bangkalan yang mempunyai sifat menyerbuk silang sehingga akan diperoleh variasi genetik tanaman.

Variasi genetik yang muncul, diduga dipengaruhi oleh asal tetua. Genotipe salak yang memiliki kedekatan genetik, diduga berasal dari tetua yang berkerabat

dekat. Sebaliknya genotipe salak yang jarak genetiknya relatif jauh, diduga berasal dari tetua yang jauh hubungan kekerabatannya dengan tetua varietas lain. Semakin jauh hubungan kekerabatan antar sampel, maka semakin kecil keberhasilan persilangan, tetapi kemungkinan untuk memperoleh genotip unggul lebih besar jika persilangan berhasil. Semakin beragam genetik, maka semakin besar kemungkinan diperoleh genotipe unggul. Perkawinan antar individu berjarak genetik dekat atau hubungan kekerabatannya sama mempunyai efek peningkatan homozigositas, sebaliknya perkawinan individu berjarak genetik besar atau kekerabatannya jauh mempunyai efek peningkatan heterozigositas. Informasi ini berdampak baik bagi proses pembuatan bibit unggul. Perkawinan tetua yang dengan variasi genetik tinggi akan menghasilkan individu dengan heterozigositas lebih tinggi.

#### **4.2.3 Ketelitian Metode Morfologi dan Analisis Isozim**

Pada penelitian ini penggunaan metode dengan menggunakan penanda morfologi dan analisis isozim memberikan informasi tingkat keragaman tanaman yang berbeda yang dapat dilihat dari perbedaan jarak genetik. Penanda morfologi kualitatif memiliki tingkat keragaman (polimorfisme) sebesar 18-25% atau jarak genetik 0,18-0,25. Sedangkan analisis isozim menunjukkan tingkat keragaman (polimorfisme) antara 0-70% atau jarak genetik 0,00-0,70. Pengamatan terhadap sifat morfologi kualitatif tanaman memiliki kelemahan antara lain membutuhkan pengamatan lebih lanjut apakah karakter yang diamati dipengaruhi oleh faktor genetik atau faktor lain seperti lingkungan. Sifat fenotipa merupakan gabungan sifat genotipa dan faktor lingkungan serta interaksi antara keduanya. Penanda morfologi kualitatif penampilan karakternya juga sering rancu karena dapat termodifikasi oleh pengaruh lingkungan.

Faktor lingkungan seperti intensitas matahari juga dapat mempengaruhi morfologi tanaman. Ketergantungan proses pembentukan klorofil pada cahaya juga menyebabkan perbedaan warna daun. Keberadaan unsur hara tertentu, seperti unsur hara N dan P juga dapat mempengaruhi warna daun. Kenyataan ini dapat menjadi penyebab perbedaan tampilan tanaman seperti pada warna pupus daun, warna permukaan bawah daun, dan warna pelepah daun antar tanaman salak yang diamati, sehingga juga mempengaruhi keakuratan hasil pengamatan morfologi.

Selain itu juga pengaruh tepung sari pada tanaman salak sangat jelas, karena tanaman salak Bangkalan menyerbuk silang dan kemungkinan penyerbukannya berasal dari jenis salak jantan yang berbeda-beda sehingga menyebabkan keragaman penampilan pada buah salak. Dalam hal ini penanda buah mungkin bukan merupakan komponen yang tepat. Penanda morfologi juga mempunyai tingkat keragaman (polimorfisme) yang rendah. Identifikasi tanaman yang hanya berdasarkan morfologi juga sulit diterapkan pada fase bibit karena tanaman salak pada masa bibit tidak menunjukkan adanya perbedaan yang tegas pada penilaian visual. Selain itu, dari segi efisiensi penanda morfologi jumlahnya sangat terbatas dan untuk mengamatinya, harus menunggu hingga sifat penanda itu muncul.

Pada setiap tanaman terkandung lebih dari satu jenis enzim yang dapat mempengaruhi tampilan (fenotipe) tanaman karena perubahan susunan asam amino yang membentuk protein/ enzim tersebut, sedangkan pada analisis isozim ini hanya 1 (satu) jenis enzim yang dapat divisualisasikan dan diinterpretasikan. Oleh karena itu hasil dari ke-2 (dua) metode tersebut berbeda. Mungkin akan lebih akurat lagi jika menggunakan lebih dari 1 (satu) jenis enzim. Menurut Purnomo (1994) dalam Rahmawati, *et al.* (2010) untuk menelaah perbedaan individu dalam populasi, disarankan paling sedikit menggunakan delapan macam enzim. Namun, dalam hal ini, penanda isozim pengadaan dan pengaturannya dikontrol secara genetik. Sifat genetik cenderung stabil terhadap perubahan lingkungan, dan tidak dipengaruhi oleh umur, sehingga penanda genetik dapat memberikan informasi yang relatif lebih akurat.

Hal ini didukung oleh pernyataan Nugraheni (2006) yang menyatakan bahwa penanda isozim bersifat stabil karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan, selain itu juga lebih cepat dan akurat karena tidak menunggu tanaman sampai berproduksi. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Hayward dan Mc. Adam (1998) yang menjelaskan bahwa pola pita isozim sebagai ciri genetik lebih dipercaya dalam mempelajari keragaman individu atau populasi, identifikasi untuk klasifikasi, membantu seleksi, dan mempelajari penyebaran suatu jenis tanaman pada berbagai lingkungan yang berbeda. Pendapat lainnya dikemukakan oleh Rahayu, *et al.* (2006) dalam Rahmawati, *et al.* (2010) bahwa penanda isozim menghasilkan data yang lebih akurat karena isozim merupakan ekspresi gen akhir,

dan hasilnya tidak dipengaruhi oleh lingkungan, relatif sederhana memerlukan biaya cukup rendah bila dibandingkan dengan penanda molekuler lain. Isozim juga telah banyak digunakan untuk karakterisasi, klasifikasi, dan mengetahui hubungan kekerabatan plasma nutfah nenas di hawaii (ADH, GPI, PGM, SKDH, TPI, UGPP) (Aradya *et al.*, 1994).

Penanda isozim dapat digunakan untuk membedakan antar individu tanaman karena polimorfisme isozim berupa molekul-molekul protein yang berbeda yang fenotipenya dapat ditampakkan dalam bentuk pita-pita. Keragaman pola pita yang terinterpretasikan akan menunjukkan keragaman genetik antar tanaman salak Bangkalan yang diamati. Banyaknya jumlah pita yang muncul pada tiap sampel menandakan jumlah gen yang terekspresi oleh enzim pada tanaman tersebut. Keragaman pola pita tersebut menunjukkan susunan genetik yang berbeda pula, karena enzim merupakan produk langsung dari gen dengan asam amino sebagai penyusunnya. Asam amino tersebut disandi oleh basa nukleotida DNA yang khas untuk setiap enzimnya (Purwanto *et al.*, 2002). Penggunaan isozim sebagai penanda genetik juga didukung oleh pendapat Sudarmono (2006) bahwa setiap genom tumbuhan (enzim/protein dan DNA) mempunyai berat yang berbeda-beda dan setiap isozim bermuatan listrik berbeda-beda (karena perubahan urutan asam amino penyusunnya) sehingga akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda pula pada elektroforesis. Perilaku ini dimanfaatkan dalam genetika molekuler untuk membedakan suatu sampel dengan sampel yang lain.