PENGARUH INTENSITAS CAHAYA TERHADAP BIOMASSA DAN KADAR SAPONIN KALUS GINSENG JAWA (*Talinum paniculatum* Gaertn.) PADA BERBAGAI WAKTU KULTUR

Afifatul Alwiyah, Y. Sri Wulan Manuhara, dan Edy Setiti Wida Utami
Program Studi S-1 Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

Abstract

The aims of this research was to study the effects of light intensity on callus biomass and saponin content of ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). Callus induced from leaf explants on solid *Murashige and Skoog* (MS) medium supplemented by 2 mg/L of 2,4-D and 1 mg/L of kinetin. Callus induced by treatment of combination between light intensities 1000, 2000, 4000, 6000 lux, also dark condition and culture period 4, 6, and 8 weeks. Each treatment of combination was repeated 6 times. Retrieval of data were callus biomass (fresh and dry weight) and saponin content. The data of biomass were analyzed by using manova test (significance of 5%). Saponin content was analyzed semi-quantity using Thin Layer Chromatography (TLC). The result showed that the highest average of dry weight (as parameter) obtained at treatment combination 4000 lux light intensity and 8 weeks culture period was 0,0699 gram. Meanwhile the highest saponin content obtained at 4000 lux light intensity and 6 weeks culture period was 58,5 mm^2/0,01 gram dry weight of callus and color intensity +4. With the results that light intensities influence on callus biomass and saponin content of ginseng jawa at different culture period.

Keywords: biomass, callus, culture period, light intensity, saponin content, *Talinum paniculatum* Gaertn

Pendahuluan

Ginseng jawa merupakan tanaman herba tahunan yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional atau jamu (Hutapea, 1991). Tumbuhan ini sering digunakan sebagai pengganti ginseng korea (*Panax ginseng*) karena harganya relatif lebih murah, mudah diperoleh, dan mudah dibudidayakan.

Kandungan kimia paling penting dan dominan dalam tanaman ginseng jawa adalah saponin (Cahyo, 2011). Saponin merupakan glikosida yang terdapat pada berbagai jenis tanaman (Nio, 1989). Glikosida terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin (Prihatman, 2001). Saponin memiliki manfaat antara lain menghambat pertumbuhan sel kanker, mengikat kolesterol, sebagai antibiotik, anti inflamasi, dan memperbaiki fungsi hati (Abe, 1980).

Budidaya tanaman ginseng jawa dapat dilakukan dengan cara generatif (biji), vegetatif (stek batang), dan teknik kultur jaringan (Hendaryono & Wijayani, 1994). Namun penggunaan kultur jaringan dianggap lebih menguntungkan dibandingkan produksi pada tanaman utuh, karena dalam kultur jaringan pasokan zat hara yang teratur menjamin pengaturan proses metabolisme sehingga dapat diperoleh hasil yang maksimal (Kurz dan Constabel, 1991).

Cahaya merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder. Cahaya mempengaruhi morfogenesis dan akumulasi flavonoid pada kalus tanaman teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Hal yang sama juga terjadi pada kultur kalus *Prunus cerasus* L. untuk produksi antosianin (Blando *et al*., 2005). Waktu kultur juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder. Waktu kultur berkaitan dengan fase pertumbuhan. Dari fase pertumbuhan sangat penting diketahui pada fase apa metabolit sekunder mulai dihasilkan. Produksi metabolit sekunder pada umumnya berjalan sangat lambat bahkan belum dimulai pada fase pertumbuhan. Setelah fase pertumbuhan kalus berakhir maka produksi metabolit sekunder segera dimulai (Manuhara, 2014).

Melalui kultur jaringan dan pemberian intensitas cahaya serta waktu kultur yang berbeda dalam penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif usaha peningkatan produksi saponin sebagai bahan baku obat dengan cara menginduksi pertumbuhan kalus yang menghasilkan metabolit sekunder berkadar tinggi dibandingkan pada produksi tanaman utuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh intensitas cahaya terhadap biomassa dan kadar saponin kultur kalus ginseng jawa pada waktu kultur yang berbeda.

Bahan dan Metode

Bahan hayati yang digunakan adalah daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) sebagai eksplan dan kalus dari hasil induksi eksplan daun. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan penyusun media Murashige dan Skoog yang mengandung bahan-bahan anorganik dan zat-zat organik meliputi stok makronutrien (NH_4NO_3, KNO_3, $CaCl_2.7H_2O$, $MgSO_4.7H_2O$, dan KH_2PO_4), stok mikronutrien, stok vitamin, stok zat besi, myo-inositol, dan sukrosa. Stok zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, akuades, larutan HCl, larutan KOH, *chlorox* 10%, alkohol 70%, saponin standar, etanol 96%, anisaldehid (Merck), asam asetat glacial (Merck), asam sulfat pekat, dan 2-propanol (Merck).

Induksi Kalus dari Eksplan Daun

Eksplan daun tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) dilakukan sterilisasi bertingkat dengan menggunakan larutan deterjen dan larutan klorox 10% kemudian dibilas menggunakan akuades sebanyak tiga kali.

Kemudian daun dipotong ± 1x1 cm dan ditanam dalam media MS padat ditambah zat pengatur tumbuh auksin 2,4-D 2 ppm dan kinetin 1 ppm.

Eksplan dalam botol kultur kemudian diinkubasi selama waktu kultur 4, 6, dan 8 minggu untuk pertumbuhan kalus dan diletakkan masing-masing di bawah naungan cahaya dari lampu duduk yang telah diukur terlebih dahulu intensitasnya yaitu 1000, 2000, 4000, dan 6000 lux, serta beberapa botol dilapisi dengan alumunium foil untuk perlakuan kontrol gelap (0 lux).

Pengukuran Biomassa

Pengamatan berat segar dilakukan pada saat masing-masing kalus dipanen setiap 4, 6, dan 8 minggu, dengan cara kalus dipisahkan dari daun kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Setelah itu kalus disimpan dalam oven dengan suhu 50°C selama 5 hari, lalu ditimbang kembali untuk mendapatkan berat kering kalus tersebut.

Ekstraksi Saponin

Untuk melakukan ekstraksi saponin, kalus yang sudah kering tadi digerus dengan mortar untuk mendapatkan tekstur bubuk. Diambil 0,01 gram bubuk kalus kering dan ditambahkan dengan 10 mL etanol 96% sebagai pelarut, kemudian dipanaskan dalam waterbath pada suhu 80°C selama 45 menit. Selanjutnya didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah 24 jam, ekstrak kalus disaring dan dipekatkan dalam waterbath pada suhu 80°C hingga volumenya menjadi ± 1 mL.

Pengukuran Kadar Saponin

Uji kadar saponin dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menotolkan sampel ekstrak kalus menggunakan mikropipet pada pelat *silica gel* GF_{245} sebanyak 10 μL dan sebagai larutan pembanding digunakan larutan saponin standar. Kemudian diamati fase gerak ekstrak kalus pada pelat di dalam wadah yang berisi larutan eluen dengan perbandingan komposisi larutan 2-propanol : air = 14 : 3. Setelah fase gerak selesai, dilakukan penyemprotan pada permukaan pelat *silica gel* GF_{245} menggunakan larutan anisaldehid-asam sulfat. Selanjutnya pelat dimasukkan dalam oven 100°C selama 8-10 menit. Noda saponin yang terbentuk pada pelat berwarna hijau kehitaman kemudian dihitung luasnya.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa berat segar, berat kering, dan kadar saponin kalus. Data berat kering akar diuji dengan menggunakan MANOVA (Multivariate Analysis of Variance) dengan taraf signifikansi 5%. Analisis semi kuantitatif dilakukan untuk kadar saponin dengan mengukur luas dan mengamati intensitas warna noda saponin pada pelat *silica gel* GF_{254}. Noda saponin yang terbentuk dihitung luasnya/0,01 g berat kering sampel.

Hasil dan Pembahasan

Data rata-rata berat segar dan kering kalus ginseng jawa pada berbagai intensitas cahaya dan waktu kultur dapat dilihat pada tabel 1.1 dan 1.2.

Tabel 1.1. Rata-rata berat segar kalus (gram) pada berbagai intensitas cahaya (lux) dan waktu kultur (minggu)

Intensitas Cahaya (lux)	Waktu Kultur (minggu)		
	4	6	8
Tanpa cahaya	0,1550 ± 0,0526[a]	0,7001 ± 0,3003[ab]	1,3366 ± 0,2261[ac]
1000	0,4335 ± 0,0667[ba]	1,8384 ± 0,2955[b]	1,4956 ± 0,2368[bc]
2000	0,7261 ± 0,1913[bca]	1,5821 ± 0,2596[bcb]	2,2646 ± 0,3955[bcc]
4000	0,9598 ± 0,2936[ca]	1,6354 ± 0,7453[cb]	2,3171 ± 0,8347[c]
6000	1,0832 ± 0,2538[ca]	1,8385 ± 0,7021[cb]	2,1701 ± 0,4919[c]

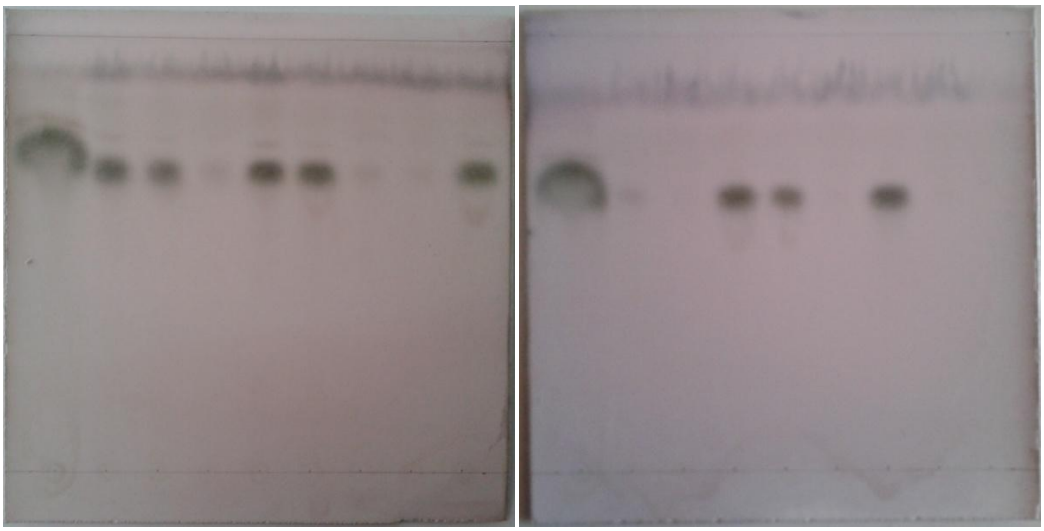
Tabel 1.2. Rata-rata berat kering kalus (gram) pada berbagai intensitas cahaya (lux) dan waktu kultur (minggu)

Intensitas Cahaya (lux)	Waktu Kultur (minggu)		
	4	6	8
Tanpa cahaya	0,0118 ± 0,0025[a]	0,0344 ± 0,0050[ac]	0,0367 ± 0,0118[ab]
1000	0,0249 ± 0,0040[ba]	0,0645 ± 0,0252[bc]	0,0392 ± 0,0074[b]
2000	0,0267 ± 0,0075[ba]	0,0468 ± 0,0038[bc]	0,0606 ± 0,0084[b]
4000	0,0295 ± 0,0061[ca]	0,0576 ± 0,0321[c]	0,0699 ± 0,0302[cb]
6000	0,0352 ± 0,0087[ba]	0,0667 ± 0,0156[bc]	0,0696 ± 0,0089[b]

Dari tabel 1.2 diketahui bahwa rata-rata berat kering paling tinggi terdapat pada kombinasi perlakuan intensitas cahaya 4000 lux dan waktu kultur 8 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa akumulasi energi dari proses fotosintesis dengan pemberian cahaya 4000 lux dan nutrisi yang terdapat di dalam media mampu mendukung pertumbuhan optimal kalus tanaman ginseng jawa hingga 8 minggu, sehingga kombinasi perlakuan ini berpengaruh paling tinggi dibanding kombinasi perlakuan yang lain. Sebagaimana menurut Manuhara (2014), intensitas cahaya yang baik untuk pertumbuhan kultur adalah 1000-4000 lux.

Pertambahan ukuran maupun berat kering tanaman mencerminkan bertambahnya protoplasma, yang terjadi karena bertambahnya ukuran dan jumlah sel (Khristyana *et al*., 2005). Kecepatan sel membelah diri dapat dipengaruhi oleh adanya jenis dan konsentrasi auksin tertentu tergantung pada tanamannya, juga

faktor-faktor dari luar lainnya seperti intensitas cahaya dan temperatur (Trimulyono dkk., 2003). Menurut Lakitan (1996), berat kering menggambarkan akumulasi senyawa organik yang berhasil disintesis tumbuhan dari senyawa-senyawa anorganik terutama air dan CO_2. Pertambahan berat kering tumbuhan berasal dari unsur hara yang telah terserap. Unsur hara ini digunakan dalam proses sintesis senyawa organik.



Gambar 1.1. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol kalus ginseng jawa pada pelat KLT: (S) Saponin standar, (A) Kontrol gelap waktu kultur 4 minggu, (B) Kontrol gelap waktu kultur 6 minggu, (C) Kontrol gelap waktu kultur 8 minggu, (D) Intensitas cahaya 1000 lux waktu kultur 4 minggu, (E) Intensitas cahaya 1000 lux waktu kultur 6 minggu, (F) Intensitas cahaya 1000 lux waktu kultur 8 minggu, (G) Intensitas cahaya 2000 lux waktu kultur 4 minggu, (H) Intensitas cahaya 2000 lux waktu kultur 6 minggu, (I) Intensitas cahaya 2000 lux waktu kultur 8 minggu, (J) Intensitas cahaya 4000 lux waktu kultur 4 minggu, (K) Intensitas cahaya 4000 lux waktu kultur 6 minggu, (L) Intensitas cahaya 4000 lux waktu kultur 8 minggu, (M) Intensitas cahaya 6000 lux waktu kultur 4 minggu, (N) Intensitas cahaya 6000 lux waktu kultur 6 minggu, (O) Intensitas cahaya 6000 lux waktu kultur 8 minggu.

Kadar saponin dalam ekstrak etanol kalus ginseng jawa dideteksi dengan membandingkan nilai Rf (*retardation factor*) noda dengan larutan saponin

standard setelah mendapat perlakuan penampak noda anisaldehide-asam sulfat. Nilai Rf diperoleh dari perbandingan antara jarak titik pusat noda dari titik awal dengan jarak garis depan dari titik awal (Stahl, 1985). Menurut Yachya (2012) kedua zat dikatakan sama bila perbandingan *fingerprint* sampel dengan sebuah standar obat, jumlah, sekuen, posisi, dan warna dari zona identik atau sama.

Tabel 1.3. Kadar saponin kalus (mm^2/0,01 gr) pada berbagai intensitas cahaya (lux) dan waktu kultur (minggu)

Intensitas Cahaya (lux)	**Waktu Kultur (minggu)**	**Luas Noda Saponin (mm^2/0,01 gr)**	**Intensitas Warna**	**Nilai Rf**
Saponin standar 1				0,70
Gelap (kontrol)	4	58,5	+3	0,69
	6	44	+3	0,69
	8	22,75	+2	0,69
1000	4	51	+4	0,69
	6	53	+3	0,69
	8	13,75	+2	0,69
2000	4	15	+2	0,69
	6	55	+3	0,69
Saponin standar 2				0,65
2000	8	22	+2	0,64
4000	4	16,5	+1	0,64
	6	58,5	+4	0,63
	8	48,75	+2	0,63
6000	4	11	+1	0,62
	6	54	+4	0,64
	8	6	+1	0,62

Dari tabel 1.3 diketahui bahwa luas noda saponin paling tinggi dihasilkan dari kombinasi perlakuan intensitas cahaya 4000 lux dan waktu kultur 6 minggu yaitu 58,5 mm serta memiliki intensitas warna paling jelas (+4). Sementara kadar saponin terendah diperoleh dari kombinasi perlakuan intensitas cahaya 6000 lux dan waktu kultur 8 minggu yakni 6 mm dan intensitas warnanya pun sangat

samar (+1). Hal ini menunjukkan bahwa kadar saponin yang terdapat pada kalus tanaman ginseng jawa tidak tergantung laju pertumbuhan kalus.

Biomassa paling tinggi didapatkan dari perlakuan intensitas cahaya 4000 lux pada waktu kultur 8 minggu dan kadar saponin paling tinggi didapatkan dari perlakuan intensitas cahaya 4000 lux juga tapi pada waktu kultur 6 minggu. Hal ini terjadi karena pada kombinasi perlakuan intensitas cahaya 4000 lux pada waktu kultur 8 minggu, kalus masih mampu tumbuh hingga mencapai fase eksponensial, dimana terjadi pertumbuhan yang optimal, sedangkan pada kalus yang diberi kombinasi perlakuan intensitas cahaya 4000 lux pada waktu kultur 6 minggu laju pertumbuhan kalus telah mencapai fase stasioner dimana fase pertumbuhan akan berakhir dan produksi saponin telah dimulai.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahmawati (1999), bahwa sebelum inisiasi kultur jaringan terjadi tiga fase yaitu fase lag (fase penyesuaian atau adaptasi), fase eksponensial (fase pembelahan sel dan kecepatan pertumbuhan sel mencapai maksimum), fase stasioner (fase dimana tidak ada lagi pertumbuhan). Pada fase stasioner pertumbuhan sel terhenti dan selama inilah terjadi produksi metabolit sekunder. Pada fase pertumbuhan (eksponensial) biosintesis metabolit sekunder sangat lambat bahkan seringkali belum dimulai. Menurut Bhojwani dan Razdan (1996), produksi metabolit sekunder umumnya terjadi pada akhir fase stasioner ketika persediaan nutrisi pada media menipis. Wattimena *et al*. (1992) menambahkan bahwa pigmen antosianin maksimum diproduksi pada saat fase stasioner.

Kesimpulan

Intensitas cahaya berpengaruh meningkatkan biomassa dan kadar saponin kalus tanaman ginseng jawa pada waktu kultur tertentu. Intensitas cahaya terbaik untuk mendapatkan biomassa paling tinggi pada kalus adalah intensitas cahaya 4000 lux pada waktu kultur 8 minggu yaitu 2,3172 gram untuk berat segar dan 0,0699 gram untuk berat kering. Untuk mendapatkan kadar saponin paling tinggi kalus adalah pada intensitas cahaya 4000 lux dan waktu kultur 6 minggu yaitu 58,5 mm/0,01 gram berat kering dengan intensitas warna hijau gelap yang sangat jelas (+4).

Daftar Pustaka

Abe, H., 1980, Pharmacological actions of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum*. 1. Effects of saikosaponin on liver function, *Planta Medica* 40: 366-372

Bhojwani, S. S. and M. K. Razdan, 1996, Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Edition, Elsevier

Blando, F., A. P. Scardino, L. De Bellis, I. Nicoletti, and G. Giovinazzo, 2005, Characterization of in vitro anthocyanin-producing sour cherry (*Prunus cerasus* L.) callus culture, *Food Research Internat* 38: 937-942

Cahyo, A. N., 2011, Yang Serba Menakjubkan dari Ginseng, Buku Biru, Yogyakarta

Hendaryono, D. P. S., dan A. Wijayani, 1994, Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan, dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif Modern, Kanisius, Yogyakarta

Hutapea, J. R., 1991, Inventaris Tanaman Obat Indonesia II, Depkes RI, Jakarta

Khristiyana, L., E. Anggarwulan., dan Marsusi., 2005, Pertumbuhan, kadar saponin, dan nitrogen jaringan tanaman daun sendok (*Plantago major* L.) pada pemberian asam giberelat (GA_3), *Jurnal Biofarmasi* 3 (1): 1693-2242

Kurz, W. G. W., dan F. Constabel, 1991, Produksi dan Isolasi Metabolit Sekunder. Dalam Wetter, L.R. dan F. Constabel (eds.). Metode Kultur Jaringan Tanaman. ITB Press, Bandung

Lakitan, B., 1996, Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman, Raja Grafindo Persada, Jakarta

Manuhara, Y. S. W., 2014, Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan, Airlangga University Press, Surabaya

Nio, O. K., 1989, Zat-zat toksik yang secara alamiah ada pada bahan makanan nabati, *Cermin Dunia Kedokteran* 58: 24-30

Prihatman, K., 2001, Saponin untuk Pembasmi Hama Udang, *Laporan Hasil Penelitian*, Pusat Penelitian Perkebunan Gambung, Bandung

Rahmawati, E. S., 1999, Variasi Kadar Kalium Dihidrogenafosfat dalam Medium MS terhadap Sintesis Minyak Atsiri pada Tunas Hasil Kultur *in vitro* Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin*), *Skripsi*, Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta

Stahl, E., 1985, Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi, ITB, Bandung

Trimulyono, G., Solichatun, dan S. D. Marliana, 2003, Pertumbuhan kalus dan kandungan minyak atsiri nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan perlakuan asam α-naftalen asetat (NAA) dan kinetin, *Jurnal Biofarmasi* 2 (1): 9-14

Wattimena, G. A., 1992, Bioteknologi Tanaman, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan IPB, Bogor

Yachya, A., 2012, Pengaruh Laju Aerasi dan Kerapatan Inokulum terhadap Biomassaa dan Kandungan Saponin Kultur Akar Rambut Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn) dalam Bioreaktor Tipe Balon, *Tesis*, Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya