

BAB IV

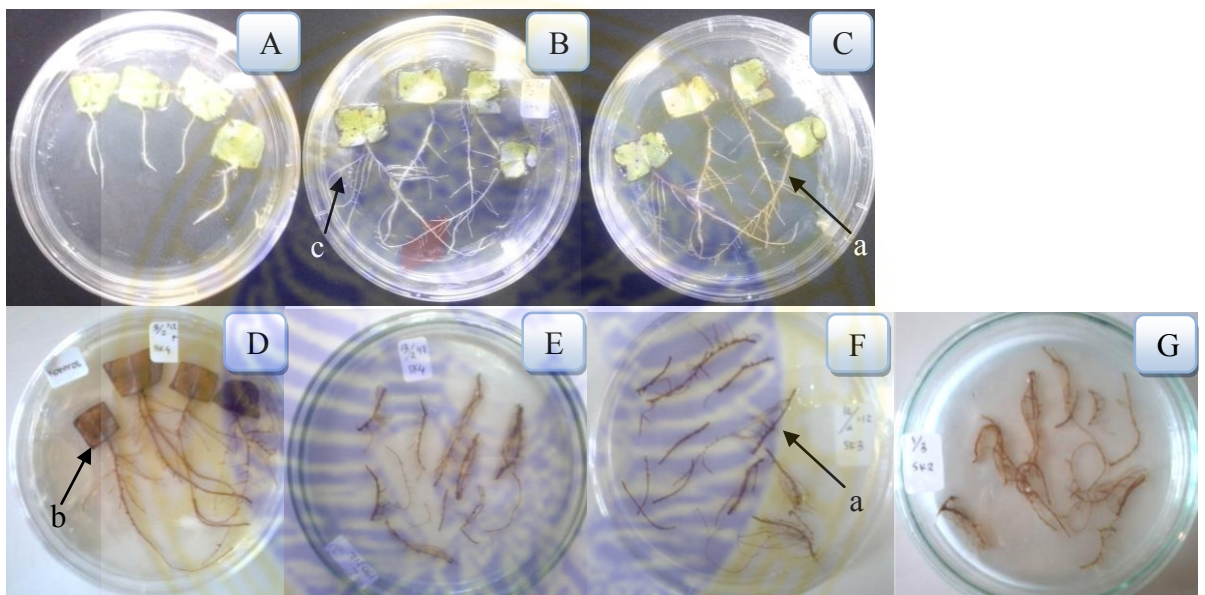
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Biomassa akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. pada berbagai periode subkultur

Akar rambut adalah akar yang dihasilkan dari adanya gen *Agrobacterium rhizogenes* yang tersisip pada genom inti tanaman, kemudian mempengaruhi pembentukan dan pertumbuhan akar rambut pada eksplan. Akar rambut pada tanaman *Talinum paniculatum* Gaertn. hasil transformasi gen dengan panjang ± 2 cm berwarna putih, belum terdapat cabang dan akar tumbuh pada bagian pangkal tulang daun (Gambar 4.1A), akar rambut yang terbentuk tidak melalui pembentukan kalus terlebih dahulu seperti pada akar adventif. Akar rambut yang berumur 1 minggu kultur perlakuan tumbuh panjang seperti akar pokok dan memiliki banyak cabang, akar tumbuh plagiotropik dan akar berwarna putih (Gambar 4.1B). Akar rambut pada umur 2 minggu kultur perlakuan sudah berwarna coklat dan kecepatan pertumbuhan mengalami penurunan (Gambar 4.1C) yang diketahui dari panjang akar tidak berbeda jauh dengan akar yang berumur 1 minggu kultur. Akar rambut pada perlakuan tanpa subkultur tidak dilakukan pemotongan daun sedangkan pada perlakuan lain dilakukan pemotongan daun ketika dilakukan subkultur untuk pertama kali (Gambar 4.1D,E,F,G). Gambar 4.1D,E,F,G menunjukkan akar rambut yang berumur 10 minggu kultur pada MS0 semisolid+*cefotaxime* yang sudah berwarna coklat. Akar rambut yang telah dilakukan subkultur mengalami pertumbuhan ditandai dengan

tumbuhnya rambut akar baru yang berwarna putih, namun jumlah dan waktu tumbuhnya rambut akar berbeda pada semua perlakuan subkultur. Kemudian akar rambut ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) setelah berumur 10 minggu kultur dilakukan pemanenan dan diambil data berat segar dan juga berat kering akar.



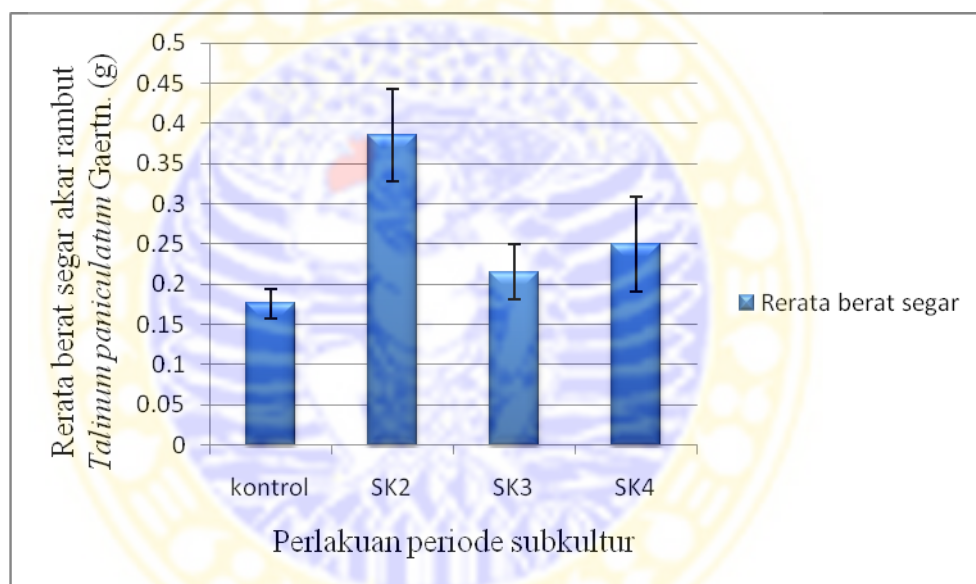
Gambar 4.1 Akar rambut ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) A= Akar rambut \pm 2 cm, B= Akar rambut umur 1 minggu kultur perlakuan, C= Akar rambut umur 2 minggu, D= kontrol (tanpa subkultur) umur 10 minggu kultur, E= perlakuan periode subkultur 4 minggu umur 10 minggu kultur, F= periode subkultur 3 minggu umur 10 minggu kultur, G= periode subkultur 2 minggu umur 10 minggu kultur, a= akar rambut, b= eksplan daun, c= cabang akar rambut.

Akar rambut setelah panen kemudian dilakukan penimbangan berat segar selanjutnya akar dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 7 hari dan ditimbang berat keringnya. Data berat segar dan berat kering akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. pada berbagai periode subkultur dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Berat segar dan berat kering akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan berbagai perlakuan periode subkultur.

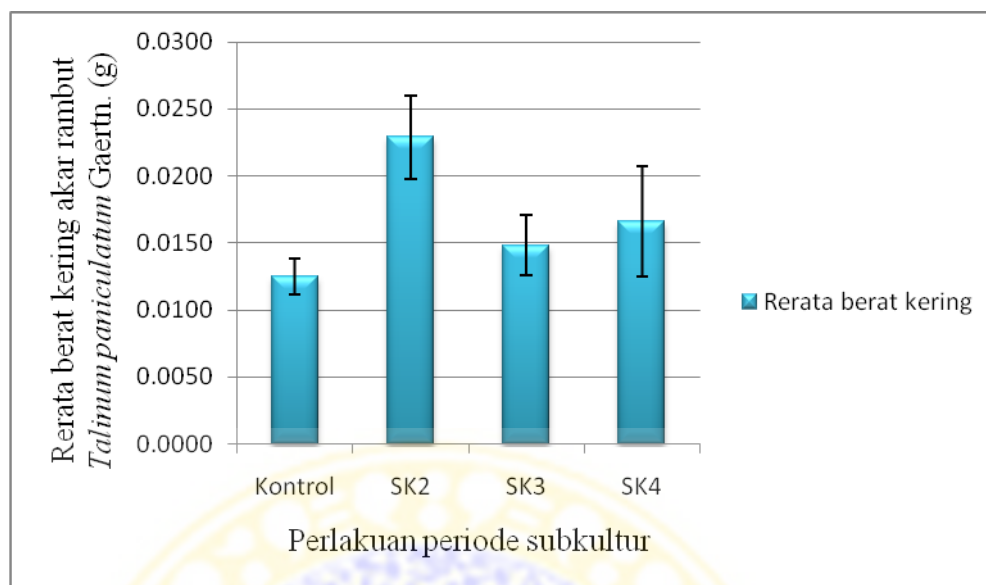
Periode subkultur (minggu)	Rerata berat segar (g)	Rerata berat kering (g)
0	0,1756 ± 0,0188	0,0125 ± 0,0013
2	0,3859 ± 0,0576	0,0229 ± 0,0031
3	0,2038 ± 0,0446	0,0148 ± 0,0023
4	0,2494 ± 0,0594	0,0166 ± 0,0041

Dari data rerata berat kering dan berat segar pada tabel 4.1 kemudian dibuat diagram seperti pada gambar 4.2 dan 4.3



Gambar 4.2 Diagram rerata berat segar akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan berbagai periode subkultur. Kontrol= Tanpa subkultur (subkultur 0 minggu), SK2= Subkultur 2 minggu, SK3= Subkultur 3 minggu, SK4= Subkultur 4 minggu.

Dari gambar diagram rerata berat segar akar rambut *T. paniculatum* (Gambar 4.2) diketahui akar memiliki berat segar dari yang paling tinggi sampai yang paling rendah yaitu pada perlakuan periode subkultur 2 minggu, perlakuan periode subkultur 4 minggu, perlakuan periode subkultur 3 minggu dan yang memiliki berat segar akar yang paling rendah yaitu pada kontrol (tanpa subkultur).



Gambar 4.3 Diagram rerata berat kering akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan berbagai periode subkultur. Kontrol= Tanpa subkultur (subkultur 0 minggu), SK2= Subkultur 2 minggu, SK3= Subkultur 3 minggu, SK4= Subkultur 4 minggu.

Dari gambar diagram rerata berat kering rambut akar *T. paniculatum* (Gambar 4.3) diketahui akar memiliki berat kering dari yang paling tinggi sampai yang paling rendah sama seperti hasil yang diperoleh pada berat segar yaitu pada perlakuan periode subkultur 2 minggu, perlakuan periode subkultur 4 minggu, perlakuan periode subkultur 3 minggu dan yang memiliki berat kering akar yang paling rendah yaitu pada perlakuan tanpa subkultur.

Data berat kering dari perlakuan berbagai periode subkultur kemudian dianalisis secara statistik dengan *one way ANOVA* sedangkan data berat segar tidak dilakukan uji statistik. Sebagai syarat ANOVA, data harus berdistribusi normal dan homogen sehingga data berat kering akar diuji menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* dan *Test of Homogeneity of Variences* terlebih dahulu. *Kolmogorov-Smirnov Test* digunakan untuk mengetahui apakah suatu data

berdistribusi normal apa tidak. Data berdistribusi normal dan homogen bila nilai signifikansi pada *Kolmogorov-Smirnov Test* dan *Test of Homogeneity of Variences* berturut-turut adalah lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hasil dari *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa data berat kering akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. tidak berdistribusi normal dengan nilai $p = 0,007$ ($p < 0,05$). Menurut Dahlan (2009) distribusi data harus dinormalkan dengan mencoba berbagai metode, seperti log 10, akar kuadrat, akar tiga, dll. Melalui proses transformasi data tersebut kemudian diperoleh distribusi data normal dengan nilai $p = 0,120$ ($p > 0,05$). Setelah data berdistribusi normal kemudian dilakukan *Test of Homogeneity of Variences*. Nilai p pada uji homogenitas berat kering akar *Talinum paniculatum* Gaertn. adalah 0,105. Karena $p > 0,05$, maka data berat kering akar bersifat homogen dan memenuhi syarat untuk dilakukan analisis *one way ANOVA*. Dari hasil uji ANOVA diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang artinya paling tidak terdapat perbedaan berat kering yang bermakna pada dua kelompok sehingga diambil keputusan tolak H_0 dan terima H_1 yaitu terdapat pengaruh periode subkultur terhadap berat kering akar rambut tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan LSD dari hasil *one way ANOVA*. Hasil Uji LSD ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji LSD (*Least Significant Difference*) pada berbagai periode subkultur.

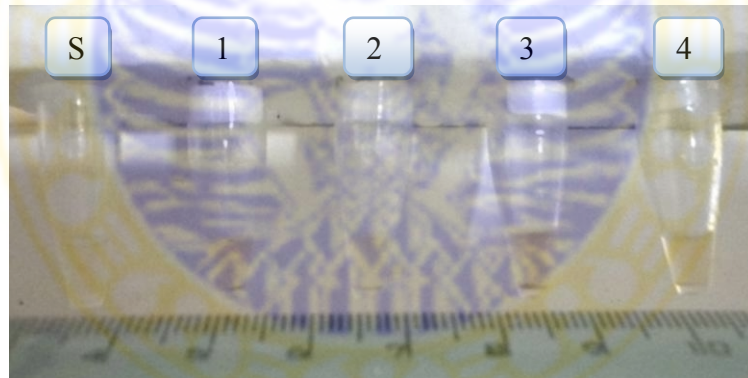
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	subkultur2	-.26115*	.03664	.000	-.3362	-.1861
	subkultur3	-.07178	.03664	.060	-.1468	.0033
	subkultur4	-.11435*	.03664	.004	-.1894	-.0393
subkultur2	kontrol	.26115*	.03664	.000	.1861	.3362
	subkultur3	.18937*	.03664	.000	.1143	.2644
	subkultur4	.14680*	.03664	.000	.0717	.2219
subkultur3	kontrol	.07178	.03664	.060	-.0033	.1468
	subkultur2	-.18937*	.03664	.000	-.2644	-.1143
	subkultur4	-.04257	.03664	.255	-.1176	.0325
subkultur4	kontrol	.11435*	.03664	.004	.0393	.1894
	subkultur2	-.14680*	.03664	.000	-.2219	-.0717
	subkultur3	.04257	.03664	.255	-.0325	.1176

*. Taraf signifikansi 5%

Tabel 4.2 merupakan tabel hasil Uji LSD dan diperoleh hasil terdapat lebih dari dua kelompok periode subkultur memiliki perbedaan berat kering yang nyata. Tanda bintang dalam tabel menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antar dua kelompok. Berdasarkan tabel 4.2 tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok periode subkultur 3 minggu dan antara kelompok periode subkultur 3 minggu dengan kelompok periode subkultur 4 minggu.

4.1.2 Pengukuran kadar saponin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada akar rambut ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.)

Ekstrak akar rambut yang diperoleh dengan volume 0,2 mL berwarna kuning jernih dan memiliki intensitas warna kuning yang berbeda pada setiap perlakuan periode subkultur. Warna ekstrak akar rambut dari yang memiliki intensitas warna kuning yang paling tinggi sampai paling rendah berturut-turut yaitu pada kontrol (tanpa subkultur), periode subkultur 3 minggu, periode subkultur 4 minggu, periode subkultur 2 minggu (Gambar 4.4). Dari intensitas warna ekstrak yang diperoleh tersebut dapat diketahui adanya perbedaan hasil ekstrak pada berbagai periode subkultur.



Gambar 4.4 Ekstrak akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan menggunakan etanol 96%. Ekstrak akar rambut sebanyak 0,2 mL. S= Larutan standar saponin, 1= Kontrol (tanpa subkultur), 2=Subkultur 2 minggu, 3= Subkultur 3 minggu, 4= subkultur 4 minggu.

Ekstrak akar yang diperoleh selanjutnya diuji KLT dengan menggunakan *silica gel* GF₂₅₄ (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Hasil Kromatografi lapis tipis ekstrak etanol akar rambut tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) pada pelat KLT (*silica gel* GF₂₅₄) menggunakan larutan pengembang 2-propanol/air : 14/3 dan disemprot dengan anisaldehyd-asam sulfat yang diikuti dengan pemanasan. (S) saponin standar, (1) Kontrol (tanpa subkultur), (2) Subkultur 2 minggu, (3) Subkultur 3 minggu, (4) Subkultur 4 minggu.

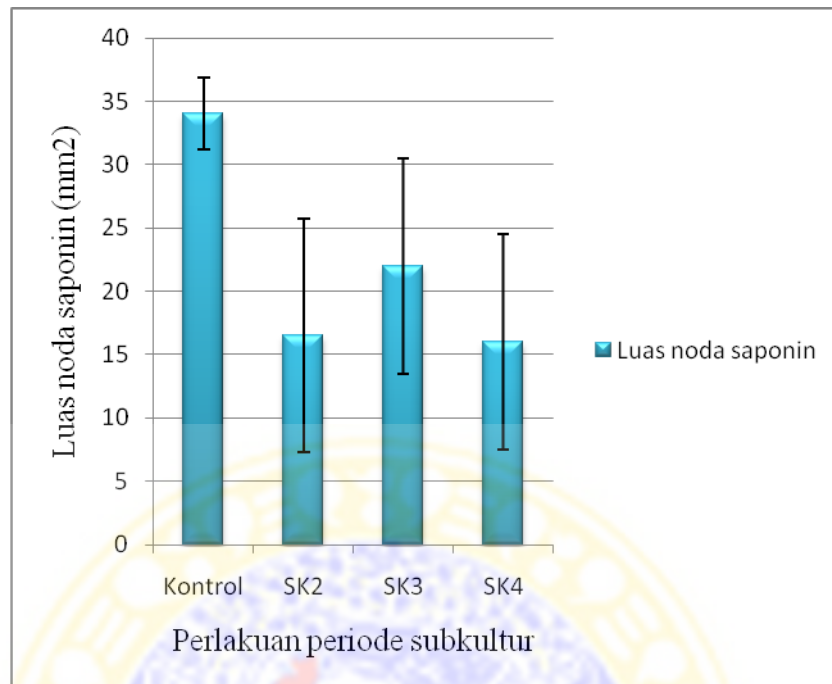
Setelah dilakukan penotolan pada pelat *silica gel* GF₂₅₄, kemudian mengamati fase gerak eluen mencapai garis batas akhir pelat *silica gel* dan diketahui terdapat garis berwarna kuning seiring naiknya eluen pada pelat *silica gel* dan noda saponin tidak terlihat dan belum bisa dideteksi. Setelah dilakukan penyemprotan dengan larutan anisaldehyd-asam sulfat diketahui banyak noda yang muncul dengan warna yang berbeda. Berdasarkan gambar 4.5, pada bagian atas pelat *silica gel* terdapat sederetan noda dengan warna ungu berderet pada R_f yang sama, warna ungu tersebut hanya terdapat pada sampel ekstrak akar pada semua perlakuan periode subkultur sedangkan pada larutan standar tidak terdapat warna ungu tersebut. Noda berwarna biru juga muncul dan terdeteksi pada sampel

ekstrak akar pada semua perlakuan periode subkultur sedangkan pada larutan standar tidak muncul warna biru tersebut. Hal ini membuktikan bahwa larutan penyemprot anisaldehyd-asam sulfat dapat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa lain dengan menghasilkan warna lain. Noda saponin yang didapat pada pelat *silica gel* memiliki warna kuning kehijauan setelah pemanasan 100° C selama 10 menit dan penyemprotan dengan larutan anisaldehyd-asam sulfat (Gambar 4.5). Noda saponin yang diperoleh memiliki intensitas warna yang berbeda dan memiliki luasan yang berbeda juga. Selanjutnya dilakukan pengukuran luas noda saponin dan data dapat dilihat pada tabel 4.3 dan gambar 4.6.

Tabel 4.3 Luas noda saponin pada pelat KLT (*silica gel* GF₂₅₄) ekstrak akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. pada perlakuan berbagai periode subkultur.

Periode subkultur	Rerata luas noda saponin(mm ² /0,04 berat kering)
Tanpa subkultur	34 ± 2,83
Subkultur 2 minggu	16,5 ± 9,19
Subkultur 3 minggu	22 ± 8,49
Subkultur 4 minggu	16 ± 8,49

Untuk memperjelas hasil luasan noda pada tabel, data rerata luas noda ekstrak akar rambut *T. paniculatum* pada tabel 4.3 kemudian dibuat diagram pada gambar 4.6.



Gambar 4.6 Diagram rerata luas saponin pada pelat KLT (*silica gel GF₂₅₄*). Kontrol= Tanpa subkultur (subkultur 0 minggu), SK2= Subkultur 2 minggu, SK3= Subkultur 3 minggu, SK4= Subkultur 4 minggu.

Dari gambar 4.6 di atas diketahui bahwa data yang memiliki luasan noda yang paling tinggi adalah pada kontrol (tanpa subkultur) dengan luas noda $34 \pm 2,83 \text{ mm}^2/0,04 \text{ g}$ berat kering dan kemudian luasan noda terluas kedua dari perlakuan periode subkultur 3 minggu seluas $22 \pm 8,49 \text{ mm}^2/0,04 \text{ g}$ berat kering selanjutnya data luasan dari perlakuan periode subkultur 2 minggu seluas $16,5 \pm 9,19 \text{ mm}^2/0,04 \text{ g}$ berat kering dan luasan noda yang paling kecil yaitu pada perlakuan periode subkultur 4 minggu $16 \pm 8,49 \text{ mm}^2/0,04 \text{ g}$ berat kering.

Dari hasil rerata luas noda saponin pada pelat *silica gel GF₂₅₄* pada keempat perlakuan periode subkultur menunjukkan terdapat perbedaan kadar saponin pada keempat perlakuan periode subkultur dan disimpulkan bahwa periode subkultur

berpengaruh terhadap kadar saponin akar rambut tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.).

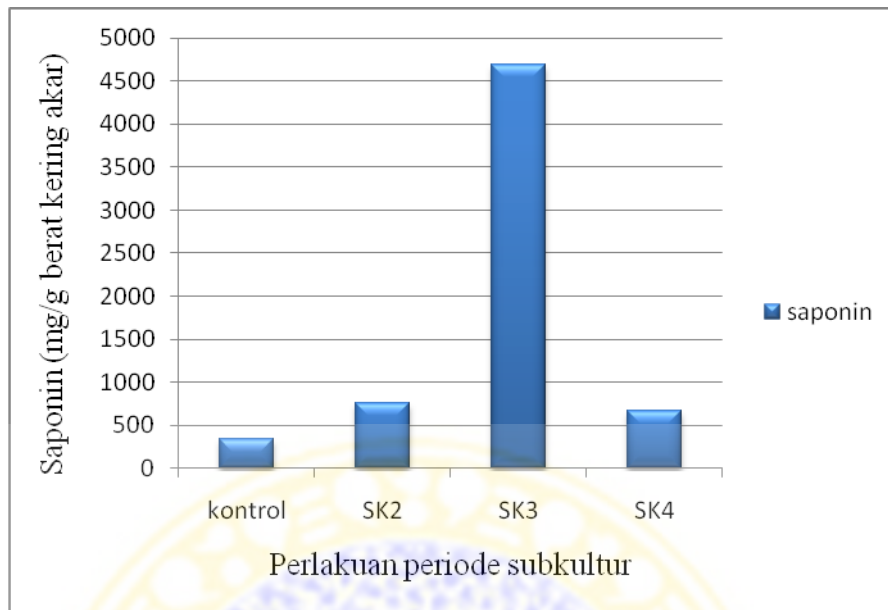
4.1.3 Pengukuran kadar saponin dengan mengukur nilai absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis

Sampel ekstrak etanol akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. sebanyak 0,2 mL diencerkan menjadi 10 mL yang kemudian diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 365 nm (Stahl, 1985). Diperoleh data yang kemudian dimasukkan pada kurva standar saponin dan diperoleh kadar saponin. Data disajikan dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rerata berat kering dan kadar saponin akar rambut *T.paniculatum* pada berbagai periode subkultur.

Periode subkultur	Rerata berat kering (g)	Rerata luas noda saponin (mm ² /0,04 g berat kering)	Kadar saponin (ppm)	Kadar saponin (mg/g)
Tanpa subkultur	0,0125 ± 0,0013	34 ± 2,83	27	337,5
Subkultur 2 minggu	0,0229 ± 0,0031	16,5 ± 9,19	61	762,5
Subkultur 3 minggu	0,0148 ± 0,0023	22 ± 8,49	375	4687,5
Subkultur 4 minggu	0,0166 ± 0,0041	16 ± 8,49	53	662,5

Saponin (mg/g berat kering akar) berdasarkan analisis spektrofotometri dapat dilihat pada diagram pada gambar 4.7.



Gambar 4.7 Diagram kadar saponin (mg/g berat kering) pada setiap perlakuan periode subkultur. Kontrol= Tanpa subkultur (subkultur 0 minggu), SK2= Subkultur 2 minggu, SK3= Subkultur 3 minggu, SK4= Subkultur 4 minggu.

Dari diagram pada gambar 4.7 diketahui kadar saponin hasil uji spektrofotometri dari yang paling tinggi sampai yang paling rendah berturut-turut yaitu pada perlakuan periode subkultur 3 minggu sebesar 4687,5 mg/g berat kering, periode subkultur 2 minggu sebesar 762,5 mg/g berat kering, periode subkultur 4 minggu sebesar 662,5 mg/g berat kering, dan yang paling rendah yaitu pada kontrol (tanpa subkultur) sebesar 337,5 mg/g berat kering.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Biomassa akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. pada berbagai periode subkultur

Pertumbuhan adalah proses dalam kehidupan tanaman yang mengakibatkan perubahan. Perubahan terjadi pada ukuran sel yang disebabkan bertumbuhnya ukuran sel, jumlah sel meningkat dan volume akan bertambah besar. Selain itu

terjadi juga perubahan bobot (biomassa), jumlah sel, banyaknya protoplasma dan tingkat kerumitan (Salisbury dan Ross, 1995).

Tenea *et al.*, (2008) menjelaskan berdasarkan hasil PCR akar rambut *Glycyrrhiza glabra* L., gen *rolB* dan *nptII* dari Ri plasmid *A. rhizogenes* telah terintegrasi ke dalam genom *G. glabra* dan hasil tersebut tidak ditemukan pada kontrol (akar nontransformasi) dimana gen *rolB* diketahui sebagai onkogen yang penting yang mempengaruhi perkembangan akar. Sehingga berdasarkan pernyataan tersebut, akar rambut *T. paniculatum* tumbuh dan berkembang pada media MS0 karena adanya gen *rolB* dari Ti plasmid *A. rhizogenes*.

Menurut Hoekstra (1993) *Agrobacterium rhizogenes* strain LBA 9457 membawa plasmid Ri yang mempunyai dua DNA transfer (T-DNA) yaitu TL-DNA dan TR-DNA. TR-DNA mempunyai Ri-aux1 dan Ri-aux2. Kecambah hipokotil yang terinfeksi *Agrobacterium rhizogenes* strain LBA 9457 dapat menginduksi akar. Menurut Cardarelli (1987) TL-DNA lebih berperan dalam mendeterminasi fenotip akar transgenik selain itu TL-DNA juga memelihara pertumbuhan akar transgenik.

Pada penelitian ini data yang diambil adalah data berat segar akar, berat kering akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dan kadar saponin akar rambut dengan uji semikuantitatif dengan KLT dan kuantitatif dengan spektrofotometer. Setelah dilakukan kultur akar selama 10 minggu kemudian dilakukan pemanenan akar kemudian ditimbang berat segar dan berat kering akar *T. paniculatum*. Berdasarkan tabel 4.1 dapat terlihat bahwa berat kering akar rambut *T. paniculatum* paling tinggi dihasilkan dari perlakuan periode subkultur 2 minggu

dan berat kering pada kontrol (tanpa subkultur) memiliki berat kering yang paling rendah. Berat kering yang dihasilkan dari perlakuan periode subkultur antara 3 minggu dan 4 minggu tidak memiliki beda nyata. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada perlakuan tanpa subkultur, akar telah memasuki fase stasioner dan kematian karena tidak ada suplai nutrisi dengan ditandai rendahnya berat kering. Pada perlakuan periode subkultur 2 minggu didapatkan berat kering akar yang paling tinggi dikarenakan pada periode subkultur 2 minggu, setiap 2 minggu sekali dilakukan subkultur sehingga memberikan pengaruh yang baik terhadap biomassa akar rambut karena ketika nutrisi dalam media berkurang segera mendapatkan tambahan nutrisi dan suplai oksigen baru (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Read (1990) menyatakan bahwa oksigen merupakan salah satu faktor pembatas bagi pembelahan dan pertumbuhan sel-sel pada jaringan yang dikulturkan secara *in vitro*. Jay *et al.*, (1992) menyatakan bahwa selama fase proliferasi, laju pertumbuhan kultur sel tanaman *Daucus carota* lebih rendah dan penyerapan gula mengalami hambatan pada kadar oksigen 10% dibandingkan kadar oksigen 100%. Dan pada perlakuan periode subkultur 3 dan 4 minggu yang tidak berbeda nyata, diduga dikarenakan meskipun akar mendapat suplai nutrisi dari media yang baru namun akar sudah hampir memasuki fase stasioner sehingga respon akar terhadap nutrisi sudah rendah.

Hasil yang diperoleh sesuai dengan hasil dari Rijhwani & Shanks (1998) dimana siklus subkultur pada akar rambut tanaman *Catharanthus roseus* memberikan pengaruh pada kecepatan pertumbuhan dan biomassa akar. Pada

siklus subkultur 2 minggu diperoleh hasil pertumbuhan yang lebih cepat sementara pada siklus subkultur 4 minggu menunjukkan kecepatan pertumbuhan yang lambat, begitu juga dengan biomassa akar yang diperoleh.

4.2.2 Kadar saponin dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada akar rambut ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.)

Saponin merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh suatu makhluk hidup bukan untuk memenuhi kebutuhan dasarnya, akan tetapi untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan ekosistem. Dalam proses interaksi dengan lingkungan hidupnya, seringkali kadar metabolit sekunder yang disintesis berubah-ubah. Secara khusus, senyawa metabolit sekunder mempunyai fungsi umum yaitu sebagai alat pengikat (*attractant*) bagi serangga atau hewan lainnya untuk membantu penyerbukan, sebagai alat penolak (*repellent*) terhadap gangguan hama atau hewan pemangsanya, dan sebagai alat pelindung (*protectant*) terhadap kondisi lingkungan fisik yang ekstrim (Makkar *et al.*, 2007).

Tanaman mempunyai tiga fase pertumbuhan seperti yang dikemukakan oleh Salisbury dan Ross (1995) fase logaritmik dimana ukuran bertambah secara eksponensial sejalan dengan waktu dan pada akhir fase pertumbuhan eksponensial yaitu fase stasioner dan terus berlanjut diseluruh periode pertumbuhan konstan berarti bahwa pertumbuhan konstan (fase linier) terjadi aktivitas metabolisme dan fase ketiga merupakan fase penuaan, ditandai laju pertumbuhan mulai menurun.

Uji kandungan saponin pada akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dilakukan dengan uji semikuantitatif dengan mengukur luas spot (noda) pada pelat

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Menurut Itakura *et al.*, (2001) saponin adalah glikosida dari steroid atau terpenoid yang dapat terdeteksi sebagai noda berwarna hijau gelap atau coklat ketika disemprot dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat. Hasil KLT ekstrak etanol akar rambut ginseng jawa dan larutan saponin standar menunjukkan bahwa akar rambut ginseng jawa mengandung saponin yang ditandai dengan munculnya noda hijau setelah pelat KLT disemprot dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat dan diikuti dengan pemanasan 100-110° C selama 7-10 menit (Stahl, 1985). Penggunaan saponin sebagai bahan kimia referensi standar bertujuan untuk lebih menyakinkan hasil uji penampak noda dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat dan luas noda saponin berkorelasi dengan kandungan saponin di dalam larutan ekstrak, sehingga semakin besar luas noda maka semakin tinggi kandungan saponinnya (Stahl, 1985). Pada gambar 4.5 diketahui bahwa saponin standar (Calbiochem) mengandung 2 jenis saponin ditandai adanya 2 noda berwarna hijau dengan Rf yang berbeda pada pelat *silica gel* sedangkan pada sampel hanya mengandung 1 jenis saponin dan juga diketahui adanya kandungan senyawa lain ditandai adanya noda berwarna biru dan ungu selain noda saponin pada penggunaan eluen 2-propanol/air (14/3) dan larutan penyemprot anisaldehyd-asam sulfat. Berdasarkan tabel 4.3 dapat terlihat bahwa luas noda yang diindikasikan sebagai saponin yang dihasilkan dari ekstrak etanol akar rambut *T. paniculatum* dengan membandingkan nilai Rf dan warna noda antara saponin standar dan sampel perlakuan memiliki perbedaan luasan. Data luasan noda saponin dari yang paling tinggi sampai rendah berturut-turut yaitu pada kontrol (tanpa subkultur) seluas $34 \pm 2,83 \text{ mm}^2/0,04 \text{ g}$ berat kering kemudian

perlakuan periode subkultur 3 minggu seluas $22 \pm 8,49 \text{ mm}^2/0,04$ berat kering, periode subkultur 2 minggu seluas $16,5 \pm 9,19 \text{ mm}^2/0,04$ berat kering, dan yang paling rendah yaitu pada perlakuan periode subkultur 4 minggu seluas $16 \pm 8,49 \text{ mm}^2/0,04$ berat kering. Data luasan noda menunjukkan bahwa hasil pada perlakuan periode subkultur 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu, dan tanpa subkultur berpengaruh terhadap luasan noda yang diperoleh sehingga berpengaruh terhadap kadar saponin.

Berdasarkan diagram diketahui bahwa perlakuan kontrol (tanpa subkultur) diperoleh kandungan saponin paling tinggi sedangkan berat kering akar yang diperoleh paling rendah dan diagram tersebut menunjukkan bahwa kandungan saponin berkorelasi terbalik terhadap berat kering akar yang diperoleh. Menurut Bhojwani dan Razdan (1996), produksi metabolit sekunder umumnya terjadi pada akhir stasioner ketika persediaan nutrisi medium menipis. Sehingga disimpulkan pada perlakuan kontrol, sel mengalami stress oleh lingkungan ekstrim dan metabolit sekunder dihasilkan sebagai respon atas lingkungan yang kritis tidak ada suplai nutrisi dan oksigen, fase stasioner dicapai lebih cepat sedangkan pada perlakuan yang disubkultur, sel memperoleh suplai nutrisi dan oksigen sehingga sel terkonsentrasi dalam pertumbuhan dan fase stasioner dicapai lebih lama. Hasil yang diperoleh ini juga sesuai dengan hasil yang diperoleh oleh Rijhwani & Shanks (1998) dimana kandungan tabersonine pada akar rambut *Catharanthus roseus* mengalami penurunan linear terhadap biomassa dari hari ke-21 menuju hari ke-35, kandungan tabersonine berkorelasi terbalik dengan biomassa akar. Menurut Rijhwani & Shanks (1998) senyawa yang diamati sebenarnya disintesis

secara *continue* namun kecepatan sintesis lebih rendah dari proses transformasi atau degradasi menjadi senyawa lain.

Anand (2010) menyatakan bahwa keuntungan adanya gen asing dari *A.rhizogenes* yang ditransfer pada gen tanaman memungkinkan produksi metabolit sekunder tertentu atau menghasilkan metabolit sekunder tersebut karena hadirnya gen penyandi enzim yang mengkatalis proses hidroksilasi, metilasi, dan reaksi glikolisis.

Uji Kromatografi Lapis Tipis biasanya digunakan sebagai uji kualitatif dan juga menentukan senyawa yang ingin diidentifikasi dengan membandingkan nilai Rf standar sedangkan untuk uji kuantitatif harus dilanjutkan dengan uji spektrodensitometri, noda yang terjadi diukur intensitasnya dengan TLC *scanner*.

4.2.3 Uji kadar saponin dengan mengukur nilai absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis

Uji kuantitatif kandungan saponin dengan mengukur nilai absorbansi ekstrak akar rambut *Talinum paniculatum* Gaertn. dan kemudian memasukkan nilai absorbansi pada kurva standar saponin. Menurut Stahl (1985) untuk mengetahui kandungan saponin yaitu dengan mengukur absorbansi ekstrak akar dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 365 nm begitu juga seperti penelitian-penelitian yang pernah dilakukan (Khristyana *et al.*, 2005; Wardani *et al.*, 2003; Peni *et al.*, 2004).

Pada panjang gelombang 365 nm diperoleh data kandungan saponin dari yang paling tinggi sampai rendah yaitu pada perlakuan periode subkultur 3 minggu sebesar 4687,5 mg/g berat kering, selanjutnya pada perlakuan periode subkultur 2 minggu sebesar 762,5 mg/g berat kering, pada perlakuan periode

subkultur 4 minggu sebesar 662,5 mg/g berat kering, dan yang memiliki kandungan saponin yang paling rendah yaitu pada perlakuan kontrol (tanpa subkultur) sebesar 337,5 mg/g berat kering. Kandungan saponin hasil analisis secara spektrofotometri keempat kultur dengan perlakuan periode subkultur yang berbeda secara tidak langsung menginformasikan hasil kandungan saponin secara spektrofotometri berbeda dengan kandungan saponin hasil analisis secara KLT. Perbedaan kandungan saponin hasil analisis secara spektrofotometri dengan KLT dapat disebabkan adanya pigmen kuning pada masing-masing ekstrak etanol keempat kultur perlakuan atau adanya senyawa lain. Pigmen kuning nampak pada hasil KLT sebelum pelat disemprot dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat. Analisis menggunakan sinar UV seperti pada spektrofotometer UV-Vis yang teridentifikasi adalah semua kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada panjang gelombang maksimal 365 nm. Sedangkan analisis saponin dengan KLT dengan penampak noda anisaldehyd-asam sulfat hanya mengidentifikasi noda saponin. Data luas noda saponin hanya diperoleh benar-benar merupakan luasan noda senyawa saponin dalam sampel, karena hanya saponin yang dapat memberikan warna hijau dengan reagen penampak noda anisaldehyd-asam sulfat sehingga metode yang diacu untuk menjawab rumusan masalah adalah analisis kadar saponin dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).