



PENGARUH ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID PADA KULTUR KALUS GINSENG JAWA (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)

Matthew Linardi^{1*}, Ratih Restiani², Dwi Adityarini³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Diterima: 02 September 2021 Direvisi: 25 Januari 2022 Diterbitkan : 31 Januari 2022

ABSTRACT

Javanese ginseng (*Talinum paniculatum*) is a plant that is used as raw material in traditional medicine because it contains flavonoid as one of its secondary metabolites. Flavonoids are useful as antioxidants, antibacterial, antiviral, and anti-inflammatory. Increasing the flavonoid content in *Talinum paniculatum* can be done by applying elicitation to in vitro culture. Salicylic acid is an abiotic elicitor that is often used in elicitation because it can increase the production of secondary metabolites. The aim of this study was to determine the effect of salicylic acid concentration and elicitation time on callus biomass and flavonoid content in *Talinum paniculatum* callus culture. *Talinum paniculatum* callus production was carried out on MS medium with a combination of 2 mg/L 2-4,D and 3 mg/L kinetin. Elicitation was carried out on callus that had entered the stationary phase on the interaction of variations in the concentration of salicylic acid concentrations of 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, and 20 ppm and elicitation times were 2 days, 4 days, and 6 days. Each variations were replicated three times. The callus was dried and extracted and then the flavonoids were identified and measured semi-quantitatively using thin layer chromatography (TLC). The callus biomass elicited by varying the concentration of salicylic acid and elicitation time (0.052 – 0.067) was not significantly different from the control (0.067). The most optimal concentration and elicitation time were found at 20 ppm salicylic acid concentration and 2 days elicitation time with the largest flavonoid stain area (1.570 cm²), color intensity 3, and Rf value similar to control (0.5).

Keywords: salicylic acid, elicitation, flavonoids, javanese ginseng, talinum paniculatum

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan biodiversitas yang tinggi. Salah satu biodiversitas yang ada adalah tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum*) yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Ginseng jawa memiliki manfaat untuk peningkatan nafsu makan, pelancar ASI, penyegar tubuh, pencegaham iritasi/radang, keracunan makan, dan anemia. Pemanfaatan ginseng jawa tersebut berkaitan dengan

metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Ginseng jawa mengandung beberapa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavnoid, kuinon, polifenol, minyak atsiri, saponin, steroid, dan tanin (Setyani, 2016).

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang sering dimanfaatkan dari ginseng jawa. Flavonoid memiliki manfaat sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antivirus

***Correspondence Address**

E-mail: 31170099@students.ukdw.ac.id

(Robinson, 1995). Flavonoid dihasilkan secara alami oleh ginseng jawa dalam skala kecil dan dipengaruhi oleh faktor iklim, sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan pemakaian manusia. Diperlukan suatu metode untuk meningkatkan produksi flavonoid pada ginseng jawa. Salah satu metode yang dapat diterapkan ialah dengan elisitasi pada kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* didefinisikan sebagai teknik perbanyak tanaman dengan menumbuhkan jaringan dari organ tanaman yang dilakukan secara aseptis (Akula & Ravinshankar, 2011). Metode kultur *in vitro* saja kurang optimal dalam meningkatkan kandungan metabolit sekunder sehingga dapat ditambahkan prekursor atau elisitor (Anand, 2010). Penambahan elisitor merupakan proses elisitasi yang dilakukan untuk memberi cekaman pada tanaman yang akan menstimulasi pertahanan diri tanaman dan meningkatkan produksi metabolit sekunder (Anand, 2010). Elisitor yang dimanfaatkan pada penelitian ini adalah asam salisilat yang merupakan elisitor biotik.

Shafiri *et al.* (2019) mengaplikasikan elisitor asam salisilat dengan konsentrasi 0; 0,5; dan 1 mg/g pada kultur kalus sodab iran (*Ruta graveolens*). Hasil terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 1 mg/mL dengan peningkatan kandungan flavonoid sebesar 29,41 mg/g. Penelitian tersebut membuktikan bahwa pemberian asam

salisilat dengan konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan kandungan flavonoid. Asam salisilat terbukti dapat menjadi elisitor yang baik untuk beberapa tanaman tetapi belum diaplikasikan pada *Talinum paniculatum*. Selain itu, penelitian sebelumnya tidak menggunakan perlakuan waktu elisitasi, sehingga pada penelitian ini ditambahkan perlakuan waktu elisitasi untuk melihat pengaruhnya terhadap kandungan flavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam salisilat dan waktu elisitasi terhadap kandungan flavonoid pada kultur kalus *Talinum paniculatum*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar II Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana (UKDW), Yogyakarta. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan desain rancangan acak lengkap faktorial untuk pengujian interaksi perlakuan konsentrasi asam salisilat dan waktu elisitasi terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus *Talinum paniculatum*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, oven (Memmert), botol kultur, *Laminar air flow*, timbangan analitik (AND), *scalpel handle*, *scalpel*, gelas ukur (Herma), pH meter (Hanna), gelas

Erlenmeyer (Iwaki), gelas beker (Iwaki), cawan petri (Iwaki), batang pengaduk, mikropipet (Serana), pipet tetes, pipet ukur (Iwaki), bunsen, korek api, karet, kompor, corong kaca, *aluminium foil*, kertas tisu, kertas perkamen, kertas label, kertas saring (Whatman), pinset, *mortar*, alu, *waterbath* (Memmert), tabung reaksi (Iwaki), plat silica gel GF254 (Merck). Eksplan daun *T. paniculatum* berumur 3–4 minggu (diambil daun dari ujung tangkai hingga urutan ke-3) dengan kondisi segar dan terbebas dari hama dan penyakit yang dibudidayakan di Laboratorium Biologi Dasar Fakultas Bioteknologi UKDW, Media MS (*Murashige* dan *Skoog*), kinetin (Sigma-Aldrich) dan 2,4-D (BDH), tween (Merck), sabun cair, aquades steril, ekstrak yeast (Oxoid), etanol absolute, 2-Propanol (Merck), dan anisaldehyd-H₂SO₄.

Pembuatan Media Induksi kalus dan Media perlakuan

Pembuatan 1 L media induksi kalus dilakukan dengan mencampurkan 10 mL stok makronutrien, 1 mL mikronutrien, 5 mL stok *iron*, dan 4 mL stok vitamin ke dalam elenmeyer. Kemudian ditambahkan 30 g sukrosa, 0,1 mg myo-inositol, hormon auksin 2,4-D, dan kinetin yang lalu dihomogenisasi dengan *magnetic stir*. Selanjutnya diukur pH media sehingga didapatkan sekitar 5,7 – 5,8, bila pH terlalu asam ditambahkan NaOH 0,1% dan jika

terlalu basah ditambahkan HCl 0,1%. Jika pH sudah tepat larutan dipanaskan serta ditambahkan agar/agen pematat sambil diaduk. Larutan dipanaskan hingga mendidih dan dituangkan sebanyak kira-kira 20 mL dalam setiap botol kultur. Botol kemudian ditutup dengan *aluminium foil*, perkamen, diikat dengan karet, dan diberi keterangan dengan label. Langkah terakhir adalah disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Tiga botol dari media diambil sebagai tiga replikasi kontrol. Media perlakuan dibuat dengan cara dan formulasi yang sama dengan media induksi kalus namun ditambahkan asam salisilat sesuai konsentrasi yang telah ditentukan (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm).

Inokulasi Eksplan

Sebelum dilakukan inokulasi, alat, bahan, dan ruang LAF disterilisasi terlebih dahulu. Pra-sterilisasi eksplan daun dilakukan dengan membilasnya dengan air mengalir. Kemudian, daun direndam ke dalam larutan akuades 27 mL, sabun cair 3 mL, dan 3 tetes tween 80 dan digojok selama 45 detik dan dibilas dengan akuades steril. Sterilisasi eksplan daun dilakukan dengan merendam dalam larutan alkohol 50% selama 3 menit dan dibilas dengan akuades steril. Eksplan daun yang sudah steril diambil dengan pinset steril dan diletakan dalam cawan petri steril. Daun steril

dipotong dengan skalpel dengan ukuran 1 cm × 1 cm. Sebanyak dua potong eksplan daun diinokulasi ke dalam setiap botol yang telah berisi media induksi kalus.

Pengamatan Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus

Pengamatan pertumbuhan dan perkembangan kalus diamati sejak hari-0. Beberapa parameter yang diamati adalah waktu inisiasi kalus, persentase terbentuknya kalus, dan morfologi kalus berupa tekstur dan warna kalus.

Elisitasi dan Penentuan Biomassa Kalus

Elisitasi dilakukan dengan subkultur kalus yang berusia 58 hari dan dilakukan pemindahan eksplan kalus dari media MS ke media perlakuan yaitu media MS yang sudah ditambahkan asam salisilat dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm. Waktu elisitasi dilakukan pada 2, 4, dan 6 hari setelah subkultur. Pengukuran biomassa kalus dilakukan dengan pengeringan kalus menggunakan oven selama 24 jam pada suhu 50°C sampai beratnya konstan. Berat kering kalus ditimbang menggunakan timbangan analitik. Data biomassa kalus dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA taraf 5% menggunakan program *IBM SPSS Statistics V21 x86*. Jika nilai signifikansi kurang dari 5%, menunjukkan bahwa hasil signifikan.

Ekstraksi Kalus

Ekstraksi kalus *Talinum paniculatum* dilakukan dengan cara kalus dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam dengan suhu 40°C. Kalus yang sudah dikeringkan ditumbuk dengan mortar dan alu hingga halus. Selanjutnya sebanyak 0,1 g dari hasil tumbuk diekstraksi dengan penambahan 1 mL metanol 96% dan didiamkan selama 12 jam. Ekstrak kemudian divorteks selama 5 menit dan didiamkan kembali selama 24 jam. Kemudian ekstrak disaring dengan kertas saring. Sisa pelarut diuapkan dengan cara dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 60°C hingga volume akhir sebanyak 0,1 mL.

Identifikasi Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Plat silika gel disterilkan dalam oven dengan suhu 100°C selama 1 jam. Kemudian ekstrak diambil sebanyak 3µL dengan mikropipet dan diteteskan di atas plat silika gel. Lalu, plat KLT dielusi dengan pelarut metanol dan air (7:3) dan dikeringkan. Selanjutnya plat disemprot dengan reagen anisaldehyd dan dipanaskan di oven selama 10 menit dengan suhu 105°C lalu diamati dengan sinar UV₂₅₄ nm. Selanjutnya dihitung nilai *retention factor* (Rf) dan luas noda flavonoid. Identifikasi flavonoid dihitung Rf dan luas noda flavonoid hasil uji KLT. Untuk kuantitas flavonoid dihitung menggunakan metode uji semi-kuantitatif

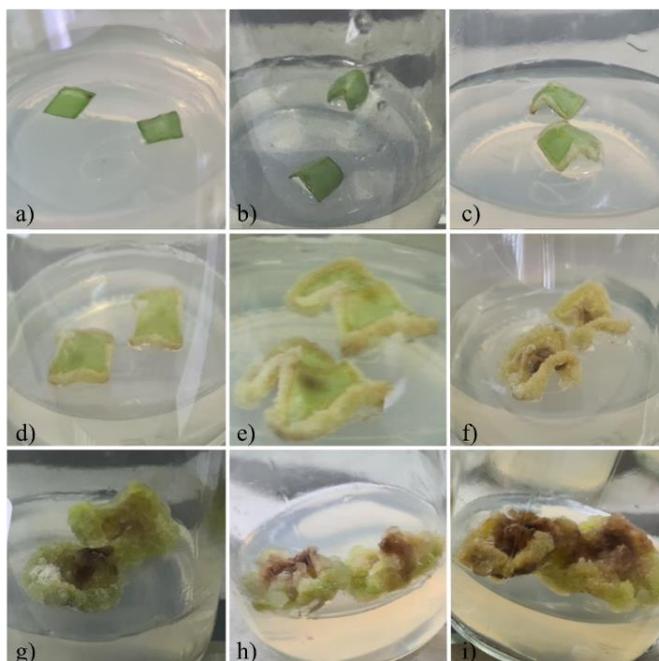
dengan cara menilai intensitas warna noda yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus

Pada penelitian ini eksplan daun *Talinum paniculatum* diinokulasi pada media induksi kalus dengan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin jenis 2,4-D sebanyak 2

mg/L dan kinetin sebanyak 3 mg/L. Kombinasi ZPT ini merupakan kombinasi terbaik untuk menginduksi kalus *Talinum paniculatum* menurut Herman (2019) karena menunjukkan pertumbuhan kalus dengan persentase sebesar 100%. Pertumbuhan kalus diamati setiap 2 hari sekali. Hasil pengamatan pertumbuhan kalus dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus *Talinum paniculatum*. Keterangan: a) hari ke-0, b) hari ke-4. C) hari ke-8. D) hari ke-18, e) hari ke-22, f) hari ke-30, g) hari ke-38, h) hari ke-48, i) hari ke-58

Berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 1 a), eksplan daun yang diinokulasikan ke dalam media MS memiliki permukaan yang datar dan berwarna hijau terang. Pada hari ke-4 warna eksplan masih sama tetapi bagian tengah tampak terangkat menyebabkan

eksplan melengkung. Hal ini terjadi karena eksplan daun mengalami pembengkakan disebabkan oleh penyerapan cairan dan nutrisi dari media (Gambar 1 b). Inisiasi kalus mulai terlihat pada hari ke-8 tampak

muncul bagian tebal berwarna putih pada bagian irisan daun (Gambar 1 c).

Inisiasi kalus mulai terjadi di setiap sisi eksplan terlihat dengan penebalan berwarna putih (Gambar 1 d). Faktor-faktor yang mempengaruhi induksi kalus antara lain lingkungan seperti suhu dan pH, media tumbuh, serta ZPT (Yelnititis, 2012). Berdasarkan penelitian Herman (2019), media MS merupakan media kultur yang optimal dalam menginisiasi kalus pada eksplan daun *Talinum paniculatum*. Hal ini disebabkan kandungan unsur makronutrien dan mikronutrien yang dibutuhkan dalam pertumbuhan eksplan.

Selain itu, ZPT juga memiliki peran penting dalam pertumbuhan eksplan terutama dalam menginisiasi pembentukan organ baru. Jenis dan konsentrasi ZPT yang tepat membantu proses pembentukan kalus. Pada penelitian ini digunakan auksin 2,4-D sebanyak 2 mg/L dan sitokinin kinetin sebanyak 3 mg/L. Auksin memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium sehingga dibutuhkan untuk pembentukan kalus (Gunawan, 1992).

Sitokinin lebih berpengaruh dalam metabolisme sel dan merangsang terbentuknya tunas, apabila dikombinasikan dengan auksin dapat mendorong pembelahan sel (Karjadi dan Buchori, 2008).

Dari Gambar 1 e hingga 1 i menunjukkan pertumbuhan kalus semakin besar dan terjadi perubahan warna serta tekstur. Pada hari ke-22 kalus sudah terlihat tumbuh seutuhnya karena keseluruhan eksplan sudah berwarna putih dengan pembengkakan pada seluruh bagian eksplan. Perubahan selanjutnya terjadi pada hari ke-30 bagian tengah kalus mulai muncul warna kecoklatan. Hari ke-38 hingga hari ke-58 menunjukkan penambahan ukuran kalus semakin besar dan melebihi ukuran eksplan saat diinokulasi.

Menurut Wijaya (2020) kalus pada hari ke-58 sudah siap untuk dielitisasi karena kalus sudah mencapai fase stasioner. Hal ini dapat dilihat dari warna kalus yang lebih gelap disebabkan penyerapan nutrisi sudah tidak maksimal. Perubahan tekstur dan warna dapat dilihat pada Tabel 1 berserta dengan presentase pertumbuhannya.

Tabel 1. Pertumbuhan Kalus *Talinum paniculatum*

Minggu ke-	Parameter		
	Persentase tumbuh (%)	Tekstur	Warna
0	0	Kompak	-
1	50	Kompak	Putih
2	75	Kompak	Putih
3	100	Remah	Hijau kekuningan, putih

4	100	Remah	Hijau kekuningan, putih kecoklatan
5	100	Remah	Hijau kekuningan, putih kecoklatan
6	100	Remah	Hijau kekuningan, sedikit kecoklatan
7	100	Remah	Hijau kekuningan, kecoklatan
8	100	Remah	Hijau kekuningan, coklat tua

Dari Tabel 1 menunjukkan perubahan tekstur dan warna kalus. Kalus dari minggu ke-0 hingga minggu ke-2 memiliki tekstur kompak, yang ditunjukkan oleh terbentuknya tonjolan padat pada kalus dan susunan sel yang rapat (Santoso dan Nursandi, 2003). Pada saat kalus sudah terbentuk 100% dari minggu ke-3 hingga minggu ke-8 tekstur kalus menjadi remah, yang ditunjukkan oleh bentuk kalus yang mudah rapuh dan sel-sel yang renggang (Santoso dan Nursandi, 2003). Perbedaan tekstur kalus yang beragam disebabkan oleh komposisi media, ZPT, dan bagian tanaman sumber eksplan yang berbeda (Sugiyarto dan Kuswandi, 2014).

Perubahan warna yang terjadi pada kalus disebabkan oleh pengaruh lingkungan kalus seperti pigmen, nutrisi media, dan intensitas cahaya (Lutifana, 2013). Tanaman yang semula bersifat autotrof berubah menjadi heterotrof saat menjadi kalus, oleh karena itu warna yang dihasilkan kalus tidak terkondisikan. Warna eksplan pada minggu

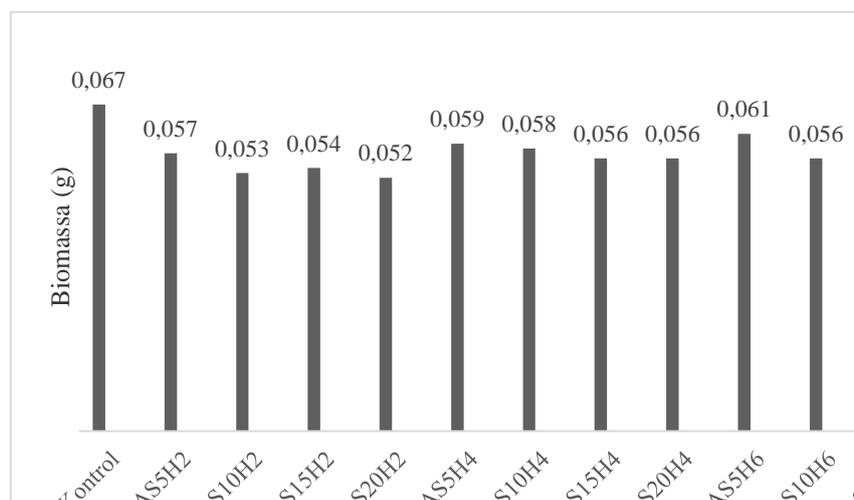
ke-0 hingga minggu ke-2 masih hijau dan diikuti dengan warna putih dari inisiasi kalus. Eksplan yang masih hijau menunjukkan bahwa sel pada eksplan masih mengandung klorofil dan masih aktif membelah (Fatmawati, 2008). Warna hijau dari kalus pada minggu ke-3 mulai memudar dan menjadi kekuningan dan masih terlihat ada putih di bagian tepi-tepi eksplan. Penelitian oleh Rahayu dkk. (2003) menunjukkan bahwa kalus yang berwarna kekuningan disebabkan tingginya konsentrasi 2,4-D sehingga pigmen klorofil sulit berkembang. Pada minggu ke-4 warna kalus mulai mengalami perubahan berupa munculnya warna kecoklatan yang menandakan adanya metabolisme senyawa fenol dan merupakan gejala kemunduran fisiologis eksplan, hal ini berlanjut hingga minggu ke-7 (Andryani, 2010). Pada minggu terakhir yaitu minggu ke-8 terjadi penuaan pada warna coklat kalus yang menandakan kalus mencapai fase stasioner karena penyerapan nutrisi dari media sudah tidak

maksimal. Pertumbuhan dan perubahan tekstur serta warna ini sesuai pada penelitian Wijaya (2020) dimana eksplan mulai remah dan kekuningan pada minggu ke-4.

Pengaruh Asam Salisilat Terhadap Biomassa Kalus

Pengaruh elisitasi asam salisilat dan waktu elisitasi terhadap biomassa kalus *Talinum paniculatum* didapatkan dengan

cara mengukur berat kering kalus. Berat kering kalus didapatkan dari mengeringkan kalus untuk mengurangi kadar air. Kandungan air yang terlalu tinggi dalam berat basah kalus menjadikan data tersebut tidak akurat. Hasil pengukuran biomassa untuk mengetahui pengaruh asam salisilat terhadap biomassa kalus *Talinum paniculatum* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Perlakuan Elisitasi Asam Salisilat dan Waktu Elisitasi terhadap Biomassa Kalus *Talinum paniculatum*. Keterangan: Kontrol = SA₀H₀, Konsentrasi Asam Salisilat: AS₅ = 5 ppm, AS₁₀ = 10 ppm, AS₁₅ = 15 ppm, AS₂₀ = 20 ppm, Waktu Elisitasi: H₂ = 2 hari, H₄ = 4 hari, H₆ = 6 hari

Dari Gambar 2 menunjukkan bahwa biomassa perlakuan elisitasi lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian asam salisilat dengan konsentrasi serta perlakuan waktu elisitasi yang berbeda memberi dampak penurunan biomassa pada kalus. Penurunan biomassa terjadi disebabkan efek stres yang ditimbulkan oleh elisitor asam

salisilat. Hasil ini sesuai dengan penelitian Permanasari (2015) yang menunjukkan terjadinya penurunan biomassa kultur suspensi sel *M. oleifera* setelah dielisitasi asam salisilat dengan konsentrasi 0,5 – 1,5 ppm dibandingkan dengan kontrol.

Hasil pengukuran biomassa kemudian dianalisis dengan uji statistik ANOVA (taraf 5%). Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai

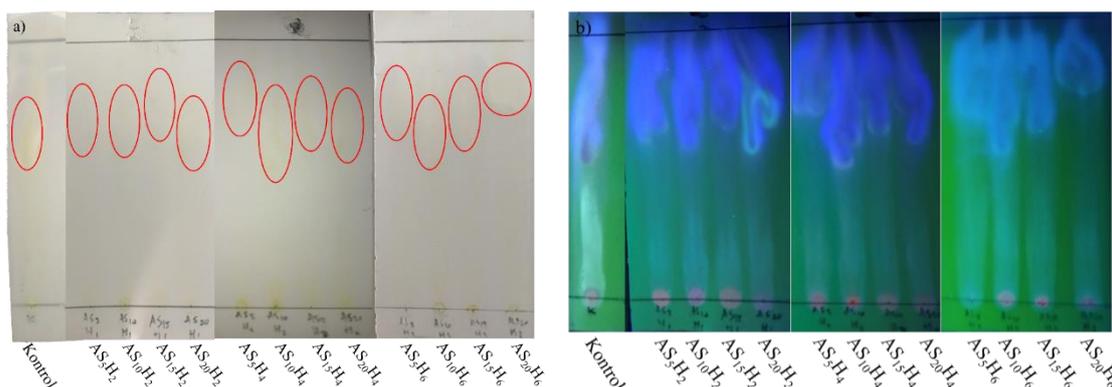
signifikansi interaksi perlakuan elisitasi asam salisilat dan waktu elisitasi sebesar 20%. Nilai ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan tidak signifikan terhadap biomassa kalus *Talinum paniculatum* karena nilai signifikansi lebih besar dari 5%.

Penurunan biomassa terjadi karena ketika tumbuhan dalam kondisi tercekam akan muncul respon untuk proses pertahanan diri, sehingga pertumbuhan menurun dan metabolit sekunder yang dihasilkan lebih banyak. Hal ini sesuai dengan Dong dkk. (2010) yang menyatakan bahwa senyawa golongan fenol seperti flavonoid merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam mekanisme pertahanan tumbuhan. Peningkatan senyawa golongan fenol terjadi karena adanya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan respon

awal dari pemberian elisitor berupa asam salisilat. Penurunan pertumbuhan sel terjadi karena adanya peningkatan ROS yang sejalan dengan peningkatan konsentrasi asam salisilat. Menurut Van Loon dan Van Strien (1999), penyebab produksi ROS adalah karena pemberian elisitor akan mengaktifkan jalur transduksi sinyal umum.

Pengaruh Asam Salisilat terhadap Kandungan Flavonoid dalam Kultur Kalus

Pengaruh asam salisilat terhadap kandungan flavonoid dianalisis secara semi-kuantitatif berdasarkan luas noda yang terbentuk dan intensitas warna noda ekstrak kalus *Talinum paniculatum* (Alwiyah dkk., 2015). Hasil identifikasi flavonoid menggunakan KLT dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 2.



Gambar 3. Hasil Uji Flavonoid Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Keterangan: a) Pengamatan di bawah sinar tampak, b) Pengamatan pada UV 254 nm, Kontrol = SA₀H₀, Konsentrasi Asam Salisilat: AS₅ = 5 ppm, AS₁₀ = 10 ppm, AS₁₅ = 15 ppm, AS₂₀ = 20 ppm, Waktu Elisitasi: H₂ = 2 hari, H₄ = 4 hari, H₆ = 6 hari

Tabel 2. Data Pengamatan Sampel Kromatografi Lapis Tipis

Sampel	Rf	Luas Noda (cm ²)	Warna
Kontrol	0,50	0,769	1
AS ₅ H ₂	0,75	0,942	2
AS ₅ H ₄	0,69	1,319	2
AS ₅ H ₆	0,67	0,510	2
AS ₁₀ H ₂	0,56	1,209	2
AS ₁₀ H ₄	0,49	1,429	3
AS ₁₀ H ₆	0,51	0,754	3
AS ₁₅ H ₂	0,64	1,021	3
AS ₁₅ H ₄	0,60	0,612	3
AS ₁₅ H ₆	0,60	0,769	3
AS ₂₀ H ₂	0,55	1,570	3
AS ₂₀ H ₄	0,57	0,989	3
AS ₂₀ H ₆	0,76	1,036	3

Gambar 3 a menunjukkan noda berwarna kuning kecoklatan dengan bentuk dan luas yang beragam. Gambar 3 b menunjukkan noda berwarna biru. Menurut Marlina (2005), noda menunjukkan adanya kandungan flavonoid apabila terbentuk noda berwarna kuning kecoklatan pada pengamatan dengan sinar tampak dan noda berwarna biru pada UV 254 nm. Untuk membandingkan nilai Rf, luas noda, dan intensitas warna maka hasil pengamatan telah dirangkum dalam Tabel 2.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa Rf, intensitas warna, dan luas noda masih beragam. Intensitas warna yang terbentuk mengindikasikan kuantitas flavonoid yang dihasilkan. Nilai intensitas warna ditunjukkan dengan angka 1 sampai dengan 5. Angka 1 menunjukkan intensitas warna

yang pudar, sedangkan angka 5 menunjukkan kepekatan warna. Intensitas warna yang dihasilkan setiap sampel lebih terang daripada kontrol (1) yaitu sekitar 2 – 3. Hal ini menandakan bahwa kandungan flavonoid pada sampel perlakuan lebih banyak daripada kontrol. Akan tetapi tidak ada sampel dengan intensitas cahaya mencapai angka 4 atau 5, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol dengan sampel terelisisasi lainnya.

Pada luas noda didapatkan ada yang di bawah kontrol tetapi ada juga yang melebihi kontrol. Nilai Rf yang mendekati nilai Rf kontrol (0,5) yang diduga mengandung flavonoid adalah perlakuan elisitasi asam salisilat 10 ppm dan waktu elisitasi 4 hari sebesar 0,49; asam salisilat 10 ppm dan waktu elisitasi 6 hari sebesar 0,51; dan asam

salisilat 20 ppm dan waktu elisitasi 2 hari sebesar 0,55. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol dan ketiga ekstrak dengan perlakuan tersebut menghasilkan senyawa yang sama yaitu flavonoid.

Luas noda digunakan untuk menentukan kuantitas flavonoid yang dihasilkan. Semakin besar luas noda maka semakin banyak jumlah senyawa yang dihasilkan. Tabel 2 menunjukkan bahwa luas noda kontrol sebesar 0,769 cm². Luas noda yang dihasilkan beragam, dimana beberapa lebih kecil daripada kontrol dan beberapa juga lebih besar dari kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi dan waktu elisitasi yang berbeda memengaruhi kandungan flavonoid baik penurunan ataupun peningkatan.

Luas noda terbesar didapatkan juga pada perlakuan elisitasi asam salisilat 20 ppm dan waktu elisitasi 2 hari dengan ukuran seluas 1,570 cm². Luas noda yang dihasilkan lebih besar daripada kontrol sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan tersebut optimal untuk meningkatkan kandungan flavonoid. Menurut Mendoza dkk. (2018), peningkatan metabolit sekunder oleh elisitor terjadi akibat adanya elisitor seperti asam salisilat yang terikat dengan membran plasma dan mengaktifkan jalur sinyal kekebalan tanaman. Sinyal tersebut akan mengaktifkan faktor transkripsi dan ekspresi gen dari metabolit sekunder.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh asam salisilat terhadap kandungan flavonoid pada kultur kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*), dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi dan waktu elisitasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan kultur kalus *Talinum paniculatum*. Hal ini ditunjukkan oleh biomassa kontrol sebesar 0,067 g/g lebih tinggi daripada biomassa perlakuan elisitasi asam salisilat dan waktu elisitasi dengan biomassa sekitar 0,052 – 0,067 g/g. Selain itu, kombinasi variasi konsentrasi asam salisilat dan waktu elisitasi berpengaruh terhadap kandungan flavonoid pada kultur kalus *Talinum paniculatum*. Hal ini ditunjukkan oleh perbedaan luas dan intensitas warna noda flavonoid pada KLT dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi elisitor asam salisilat dan waktu elisitasi paling optimal adalah pada konsentrasi 20 ppm dan waktu elisitasi selama 2 hari. Hal ini ditunjukkan oleh luas noda yang dihasilkan sebesar 1,570 cm², intensitas warna 3, dan nilai Rf serupa dengan kontrol (0,5). Untuk pengembangan penelitian, disarankan menggunakan konsentrasi asam salisilat yang lebih tinggi dan waktu elisitasi yang lebih lama. Selain itu, disarankan melakukan uji

yang dapat menentukan secara akurat kuantitas kandungan flavonoid seperti densitometer dan atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

DAFTAR PUSTAKA

- Akula, R & Ravishankar G. A.. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal and Behaviour* 6:1720–1731.
- Ali, M., Abbasi, B. H., Ahmad, N., Ali, S. S., Ali, S., Ali, G. S.. (2016). Sucrose-enhanced biosynthesis of medicinally important antioxidant secondary metabolites in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L..
- Alwiyah, A., Manuhara, Y., S., W. dan Utami, E., S., W.. (2015). Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Biomassa dan Kadar Saponin Kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Pada Berbagai Waktu Kultur. *Journal of Biological Science*. 3 (1), 47-55. <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-biologi2f38c2b75dfull.pdf>.
- Anand, S.. (2010). Various approach for secondary metabolite production through plant tissue culture. *Pharmacia*, 1(1):1-7.
- Andryani, D., P. I. Utami, Dan B.A. Dhiani. 2010. Penetapan Kadar Tanin Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Secara Spektrofotometri Ultraviolet Visible. *Pharmacy* 07 (2):1-11
- Cai, Li. (2014). *Thin Layer Chromatography*. South Carolina
- Dong, J., G. Wan, dan Z. Liang. (2010). Accumulation of Salicylic Acid Induced Phenolic Compounds and Raised Activities of Secondary Metabolic And Antioxydative Enzymes In *Salvia miltiorrhiza* Cell Culture. *Journal Of Biotechnology* 148: 99-104
- Fatmawati, A. (2008). Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Tanaman *Artemisia annua* L. secara In vitro. Skripsi Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Gondor OK, Janda T, Soos V, Pal M, Majlath I, Adak MK, Balazs E, Szalai G. (2016). Salicylic acid induction of flavonoid biosynthesis pathways in wheat varies by treatment. *Front Plant Sci*. 7:1447.
- Hagerman, A.E. (2002). *Condensed Tannin Structural Chemistry*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford.
- Harmanto. (2007). *Herbal untuk keluarga*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Herman, K., N. (2019). Optimasi sterilisasi dan induksi kalus pada Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*, Gaertn.). Yogyakarta: Skripsi: Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana
- Hernández, V. M., Tierranegra-Garcia N, Torres-Pacheco I, Ocampo-Velázquez

- RV, Mercado-Luna A, Rico-García E, Soto- Zarazúa MS, Feregrino-Pérez AA, Herrera-Ruiz G, Guevara-Gonzalez RG. (2010). Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) *Phytoparasitica* (Submitted): pp. 1-19.
- Hidayat, S.. (2005). Ginseng, Multivitamin Alami Berkhasiat. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidayat, S., Sri Wahyuni., dan Sofia Andalusia. (2008). Seri Tumbuhan obat berpotensi hias (1). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Jain, C. Khatana, S. Dan Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 10 (2): 494-504. Doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04
- Jedinak, A., Farago, J., Psenakova, I., Maliar, T.. (2004). Approaches to flavonoid production in plant tissue cultures. *Biologia, Bratislava*, 59(6):697-710.
- Karjadi, A. K., Buchory, A. (2008). Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *Jurnal Hotikultura*. Vol 18, no. 4
- Kristiani, Linda S. (2018). Morfologi, Kadar Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Kecambah Kacang Gude (*Cajanus cajan* L.) Terelitisasi NaCl dengan Variasi Konsentrasi Elisitor, Waktu Elisitasi, dan Waktu Perkecambahan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Lee, K.I., Kim, Y.J., and Lee, C.H.. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J.Agric. Food Chem.*. 51. 7292-7295.
- Lutfiana. (2013). Uji Aktivitas Antiinflamasi Eksrtak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel Darah Merah Dengan Metode In vitro. (Skripsi). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Markham, K. R.. (1988). Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., Suyono. (2005). Skrining Fitiokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. FMIPA. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

- Mendoza, D., Cuaspu, O., Arias, J. P., Ruiz, O., Arias, M. (2018). Biotechnology Reports: Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. Volume 19. No. e00273.
- Murthy, H. N., E.-J. Lee, & K.-Y. Paek., (2014). Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 118, no. 1, pp. 1–16
- Namdeo, A.G., (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1):69-79.
- Pathel, H. & R. Krishnamurthy. (2013). Elicitors In Plant Tissue Culture. *Journal of Pharcognosy and Phytochemistry*. 2(2):60-65
- Pemasari, Yunita. (2015). Pengaruh Asam Salisilat dan Fenilalanin Terhadap Kandungan Total Asam Fenol Pada Kultur Suspensi Sel *Moringa oleifera* Lam.. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Rahayu, B. Solichatun, Anggarwulan, E. (2003). Pengaruh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan flavonoid kultur kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*. 1 (1): 1-6 doi:10.13057/biofar/f010101.
- Rao, S.R., & Ravishankar, G.A.. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 20:101-153.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, terjemahan Padmawinata, K., Bandung: ITB.
- Santoso, N. & F. Nursandi. (2003) *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMN Press
- Setyani W., Setyowati, H., & Ayuningtyas, D. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Terstandardisasi Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 13(1), 44-51.
- Sharifi, Y., Nematzadeh, G., Omran, V.G., Ghavami, T., & Ebrahimzadeh, M. (2019). Effect of salicylic acid on phenols and flavonoids content in callus culture of Iranian sodab (*Ruta graveolens*): A threatened medicinal plant of north of Iran.
- Sharma, M., Sharma, A., Kumar, A., Basu, S.K., (2011). Enhancement of secondary metabolites in cultured plant cells through stress stimulus. *American Journal of Plant Physiology*. 6(2):50-71.
- Simpson, M. G.. (2006). *Plant systematics. Elsevier Academic Press Publivation*. London.

- Sugiyarto, L. dan Kuswandi, C., P. (2014). Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzil Aminopurin (BAP) terhadap pertumbuhan kalus daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta analisis kandungan flavonoid total. *Jurnal Penelitian Saintek*. 19 (1) 23-30. <https://journal.uny.ac.id/index.php/saintek/article/view/2322Fsu>.
- Taiz, L. & Eduardo Ziger. (2010). *Plant Physiology* (fifth edition). Massachusetts: Sinauer
- Tyler, V.E, Lynn, R.B., dan Robbers, J.E, (1988), *Pharmacognosy* 9th Edition, 293- 294, , Philadelphia: Lea and Febiyer.
- Van Loon, L.C. & E.A. Van Strien. (1999). The Families of Pathogenesis-Related Proteins, Their Activities, and Comparative Analysis of Pr-1 Type Proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 85–97.
- Wijaya. R., Restiani. R., dan Adityarini. D. (2020). Pengaruh Kitosan terhadap Produksi Saponin Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.). *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 5-1
- Yelnitits. (2012). Pembentukan kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) (Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan*.
- Zamaninejad M, Khorasani S, Moeini M, Heidarian A. (2013). Effect of salicylic acid on morphological characteristics, yield and yield components of corn (*Zea mays* L.) under drought condition. *Eur J Exp Biol*. 3(2):153–161.
- Zhao, J., L. C. Davis, R. Verpoorte. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. vol. 23, no. 4, pp. 283–333.

