

PENGARUH CAHAYA SERTA KOMBINASI NAA DAN 2,4-D TERHADAP INDUKSI KALUS CABAI MERAH VARIETAS LOTANBAR

Mia Chalimatur Rosyidah^{1*}, Noor Aini Habibah¹

^{1*} Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang
Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229.

*Email: miachalimaturrosyidah01@students.unnes.ac.id

Abstrak

Cabai merah (Capsicum annum L) varietas lotanbar merupakan jenis komoditas pertanian potensial bagi kebutuhan pangan Indonesia. Cabai memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai obat seperti capsaicinoid, karotenoid, flavonoid dan lain sebagainya. Melalui induksi kalus, dapat dihasilkan senyawa metabolit lebih banyak dibanding dengan kultur biasa. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian NAA dan 2,4-D serta cahaya terhadap induksi kalus cabai merah varietas lotanbar. Pada penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan dua faktor yaitu cahaya (gelap dan terang) serta NAA (0 ; 0,5 ; 1) ppm dan 2,4-D (0; 0,5; 1) ppm yang dikombinasikan. Eksplan yang digunakan yaitu hipokotil ± 1 cm hasil perkecambahan benih secara in vitro berumur 15 hari. Data dianalisis dengan anova dua arah lalu dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi ZPT dan kondisi pencahayaan terhadap induksi kalus cabai. Faktor ZPT berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus, waktu muncul kalus, dan presentase kalus. Kondisi optimal induksi kalus terdapat pada kombinasi ZPT 2,4-D 1 ppm + NAA 0 ppm pada kondisi gelap. Morfologi kalus yang dihasilkan keseluruhan bertekstur remah . Warna kalus pada kondisi terang ialah kuning kehijauan. Sedangkan pada kondisi gelap warna kalus yang dihasilkan putih hingga putih kecoklatan.

Kata kunci: Cabai merah, lotanbar, hipokotil, kalus, gelap, terang, NAA, 2,4-D

PENDAHULUAN

Cabai merah (*Capsicum annum L.*) varietas lotanbar merupakan salah satu tanaman potensial yang banyak digemari oleh sebagian besar masyarakat Indonesia. Selain karena rasa pedas yang dihasilkan oleh zat capsaicin, cabai merah memiliki kandungan senyawa yang memiliki manfaat di bidang kesehatan. Yanti *et al.* ,(2022) menambahkan bahwa di dalam cabai merah terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, karotenoid, asam lemak, dan capsaicinoid. Senyawa tersebut berfungsi sebagai anti-diabetes, anti- jamur, anti- mikroba, anti- inflamasi , anti- obesitas, dan dyslipidemia.

Metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan senyawa metabolit yaitu melalui kultur jaringan tumbuhan. Keunggulan kultur jaringan tumbuhan yaitu dapat menghasilkan tanaman banyak , seragam ,dan memproduksi metabolit (Murthy *et al.*, 2014). Teknik awal dalam memproduksi metabolit melalui kultur jaringan yaitu dengan induksi kalus . Keberhasilan dalam teknik kultur jaringan ini dipengaruhi oleh faktor tertentu antara lain kondisi yang aseptis, eksplan, ZPT, pencahayaan, dan lain sebagainya.

Hormon memengaruhi keberhasilan dalam teknik kultur jaringan tumbuhan karena memiliki peran sebagai regulator pertumbuhan eksplan. Untuk mendukung perkembangan eksplan banyak menggunakan hormon sintesis atau ZPT. ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu NAA dan 2,4-D. Kedua ZPT tersebut merupakan golongan auksin yang memiliki fungsi dalam pembesaran dan pemanjangan sel yang kinerjanya dipengaruhi oleh kondisi pencahayaan.

Pertumbuhan tanaman secara *in vitro* juga dipengaruhi oleh kondisi pencahayaan. Metabolit sekunder, serta metabolit lainnya pada tanaman dapat diproduksi dalam kultur jaringan di bawah pengaruh cahaya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pencahayaan serta NAA dan 2,4-D terhadap induksi kalus dari eksplan hipokotil cabai merah var. lotanbar Sumatera.

METODE

Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Jurusan Biologi, FMIPA, UNNES pada bulan November 2022 hingga Januari 2023.

Jenis dan desain penelitian

Penelitian ini menggunakan RAK dengan dua faktor yang diteliti yaitu faktor ZPT NAA konsentrasi (0 ; 0,5 ; 1) ppm dan 2,4-D konsentrasi (0 ; 0,5 ; 1) ppm yang dikombinasikan. Faktor ZPT Ada 9 taraf perlakuan yaitu P1= 2,4-D 0 + NAA 0 ; P2= 2,4-D 0 + NAA 0,5 ; P3= 2,4-D 0 + NAA 1 ; P4= 2,4-D 0,5 + NAA 0 ; P5=2,4-D 0,5 + NAA 0,5; P6= 2,4-D 0,5 + NAA 1 ; P7= 2,4-D 1 + NAA 0 ; P8= 2,4-D 1 + NAA 0,5; P9= 2,4-D 1 + NAA 1 . Faktor kedua yaitu pencahayaan ada 2 taraf (gelap dan terang). Total ada 18 perlakuan dengan 5 kali ulangan.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu erlemeyer, gelas ukur, mikropipet, pengaduk, neraca analitik, autoklaf, LAF, bunsen, petridish, alat diseksi (*scalpel*, pinset, mata pisau) dan pH meter. Adapun bahan yang digunakan yaitu benih cabai merah var. lotanbar, media MS, glukosa, agar, myoinositol, spirtus, byclin, alkohol 70% dan 96%, NAA, 2,4-D, dan aquades steril

Prosedur penelitian

Penelitian ini menggunakan eksplan yang berasal dari hipokotil hasil perkecambahan benih cabai secara *in vitro* berumur 15 hari. Sterilisasi benih yaitu dengan byclin 20% dan 10% dan dibilas dengan aquades lalu ditanam pada media MS 0. Tanaman yang tumbuh lalu dipotong bagian hipokotil \pm 1 cm dan ditanam secara horizontal pada media yang telah diberikan ZPT sesuai perlakuan. Eksplan diinkubasi 45 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Kalus

Berdasarkan uji *two way* anova, hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi ZPT dengan kondisi pencahayaan terhadap waktu berkalus cabai merah. Namun, kombinasi ZPT berpengaruh terhadap waktu berkalus cabai merah. Berdasarkan uji tukey , dapat dilihat bahwa ZPT berpengaruh terhadap waktu muncul kalus cabai. Perlakuan 2,4-D 1 + NAA 0 ppm memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa 2,4-D 1 + NAA 0 ppm merupakan kombinasi yang optimal dengan menghasilkan waktu munculnya kalus cabai merah yaitu 12,5 hari. Sejalan dengan Bustami (2011) bahwa pemberian 2,4-D pada konsentrasi 1,0 mg/l hingga 3,5 mg/l dapat menyebabkan pembentukan kalus pada eksplan daun kacang tanah lebih cepat.

Tabel 1. Ringkasan hasil uji Tukey rerata waktu muncul kalus

ZPT (ppm)		Rerata waktu muncul kalus (hari)
2,4-D	NAA	
0	0	28.9 ^e
0	0,5	26.6 ^e
0	1	25.5 ^d
0,5	0	14.1 ^{ab}
0,5	0,5	20.2 ^c
0,5	1	20.6 ^c
1	0	12.5^a
1	0,5	18.3 ^{bc}
1	1	17.6 ^{bc}

Beberapa penelitian juga telah menemukan bahwa penambahan 2,4-D telah menjadi komponen penting dalam inisiasi kalus beras yang efektif (Joyia & Khan, 2013). Bhatla & Lal (2018) Hal ini disebabkan auksin mengaktifkan pompa proton ATPase untuk mengasidifikasi ruang dinding sel dengan cara ion H⁺ dipompa dari sitoplasma sehingga pH rendah. Rendahnya pH menyebabkan ikatan silang polimer penyusun dinding sel pecah, yang mengendurkan ikatan dinding sel. Air dan zat organik dapat masuk ke dalam sel, menyebabkan sel tumbuh dan berkembang.

Pertumbuhan Kalus

Berdasarkan uji *two way* anova, hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi ZPT dengan kondisi pencahayaan terhadap pertumbuhan kalus cabai merah. Namun, kombinasi ZPT berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus cabai merah.

Tabel 1. Ringkasan hasil uji Tukey rerata pertumbuhan kalus

ZPT (ppm)		Rerata pertumbuhan kalus (cm)
2,4-D	NAA	
0	0	0,39 ^e
0	0,5	0,66 ^{de}
0	1	0,83 ^{cd}
0,5	0	1,36 ^b
0,5	0,5	1,02 ^{bc}
0,5	1	1,14 ^{bc}
1	0	2,18^a
1	0,5	1,12 ^{bc}
1	1	1,08 ^{bc}

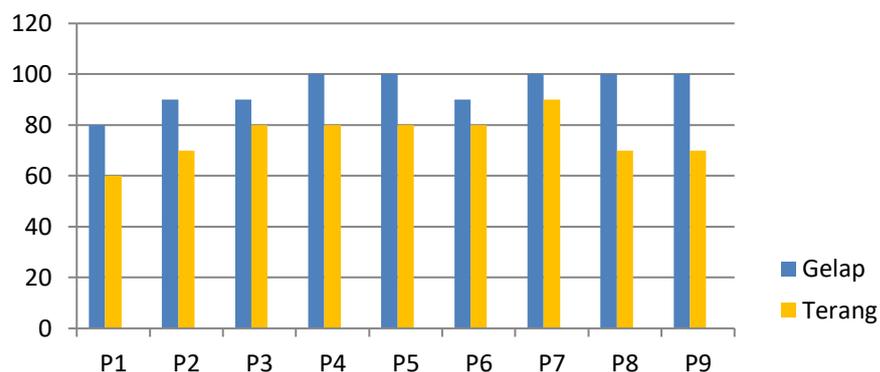
Berdasarkan uji tukey, dapat dilihat bahwa ZPT juga berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus. Perlakuan 2,4-D 1 + NAA 0 ppm memberikan hasil yang berbeda

nyata terhadap semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa 2,4-D 1 + NAA 0 ppm merupakan kombinasi terbaik untuk pertumbuhan kalus cabai merah yang menghasilkan rata-rata pertumbuhan kalus sebesar 2,18 cm.

Zat pengatur tumbuh 2,4-D yang diberikan akan menyebabkan perluasan sel kalus akan diiringi peningkatan ukuran dan pembelahan sel. Fleksibilitas dinding sel dan produksi enzim selulase akan meningkat, sehingga memudahkan penyerapan oksigen, air, dan garam mineral melalui membran dinding sel yang menyebabkan pertumbuhan kalus optimal. Gunawan (1992) tingkat kecepatan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh faktor tertentu yaitu genetik, jenis dan usia eksplan, faktor lingkungan, aerasi dan juga dipengaruhi oleh pemberian 2,4-D. Pemberian 2,4-D yang sesuai akan merangsang pembelahan sel sehingga pertumbuhan kalus optimal.

Presentase Kalus

Berdasarkan analisis statistik, data presentase cabai merah yang berkalus dapat dilihat pada diagram berikut.



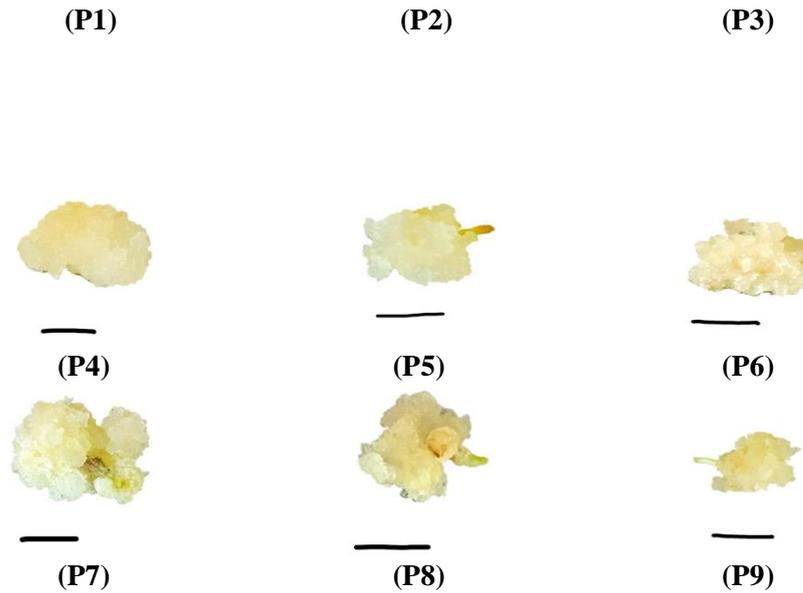
Gambar 1. Diagram presentase tumbuh kalus

Berdasarkan diagram, dapat dilihat bahwa kalus yang tumbuh di tempat gelap memiliki presentase berkalus lebih tinggi jika dibandingkan dengan kalus yang tumbuh dengan kondisi pencahayaan terang. Kondisi terang rata-rata kalus yang dihasilkan cabai merah ini 75,6 %, sedangkan pada kondisi gelap rata-rata 94,5 %. Chory *et al.*, (1994) memaparkan proporsi eksplan berkalus dalam kondisi gelap lebih efektif dan ideal dibandingkan dalam kondisi terang karena pada kondisi minim cahaya kinerja auksin akan meningkat (Chory *et al.*, 1994). Hal ini sejalan dengan Suhartanto *et al.*, (2022) menyatakan bahwa kondisi gelap dapat menghasilkan kalus 49,3 % dibanding kondisi terang yang hanya menghasilkan 30,7 % kalus jagung var. Srikandi putih .

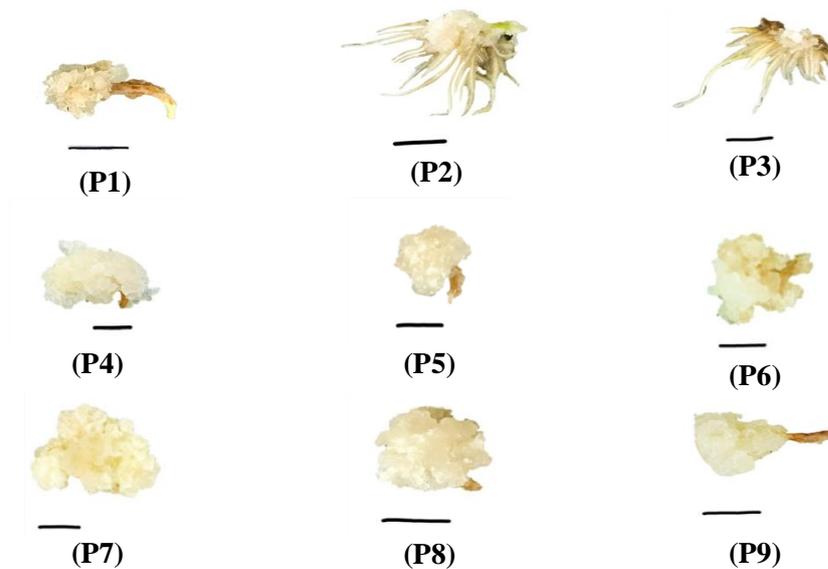
Morfologi kalus

Pada kondisi terang, rata-rata warna kalus kuning kehijauan, sedangkan kondisi gelap berwarna putih kecoklatan. Adapun gambaran kalus yang dihasilkan pada kondisi terang dan gelap sebagai berikut





Gambar 2. Morfologi kalus cabai pada kondisi terang



Gambar 3. Morfologi kalus cabai pada kondisi gelap

Tekstur kalus dapat diamati secara visual yaitu kalus intermediet, kalus *friable*, dan kalus *compact*. Warna dan tekstur kalus dapat mengidentifikasi sel hidup atau mati (Turhan, 2004). Berdasarkan data, tidak ada perbedaan antara perlakuan gelap dan terang karena keseluruhan kalus cabai bertekstur kalus *friable* atau remah. Kalus remah ditandai dengan munculnya ruang sel yang longgar dan mudah dipisahkan. Ketika ZPT auksin NAA dan 2,4-D diaplikasikan pada kalus, terjadi pembelahan dan perluasan sel aktif, yang mengarah pada perkembangan kalus bertekstur remah.

Warna dan tekstur kalus digunakan untuk mengukur pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro*. Kalus yang dihasilkan dari eksplan tanaman memiliki warna yang berbeda-beda. Warna kalus cabai pada kondisi terang berwarna kehijauan, sedangkan kondisi gelap berwarna putih kecoklatan. Kherasani *et al.*, (2017) kalus berwarna putih muncul saat pertama kali inisiasi. Berbeda dengan pencahayaan gelap,

pencahayaan terang menghasilkan kelompok sel dengan warna hijau kekuningan yang lebih menonjol. Kalus berwarna putih disebabkan karena kandungan plastid namun tidak ada kloroplas. Sedangkan kalus yang cenderung berwarna kuning kehijauan, mengandung kloroplas. Hal ini sejalan dengan Setiawati *et al.*,(2020) jika dibandingkan dengan kalus yang diinkubasi pada pencahayaan cukup atau terang, kalus krisan yang diinkubasi pada kondisi gelap cenderung lebih pucat dan menghasilkan warna lebih terang.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian yang telah dibahas, maka dari penelitian ini dapat ditarik beberapa simpulan:

- 1) Tidak ada pengaruh interaksi ZPT dengan cahaya terhadap waktu muncul kalus, presentase kalus, dan pertumbuhan kalus eksplan cabai merah var. lotanbar
- 2) Kombinasi NAA dan 2,4-D berpengaruh terhadap waktu muncul kalus, presentase kalus, dan pertumbuhan kalus eskplan cabai merah var. lotanbar
- 3) Kondisi optimal untuk menginduksi cabai merah var. lotanbar yaitu kombinasi 2,4-D 1 + NAA 0 ppm yang menghasilkan waktu berkalus 12,5 hari, pertumbuhan kalus 2,18 cm, dan presentase kalus 94,5% pada kondisi gelap.
- 4) Morfologi kalus yang dihasilkan keseluruhan bertekstur remah. Warna kalus cabai pada kondisi terang kuning kehijauan, sedangkan pada kondisi gelap berwarna putih kecoklatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2018). Plant Physiology, Development and Metabolism. In *Plant Physiology, Development and Metabolism*. 1-1237.
- Bustami, M. U. (2011). Penggunaan 2,4-D untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng*. 4(2), 137–141.
- Chory, J., Reinecke, D., Sim, S., Washburn, T., & Brenner, M. (1994). A Role For Cytokinins In De-Etiolation In Arabidopsis: Det Mutants Have an Altered Response to cytokinins. *Plant Physiology*. 104 (2), 339–347.
- Gunawan. L. W. (1992). *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Bioteknologi IPB. Bogor : 252.
- Joyia, F. A., & Khan, M. S. (2013). Scutellum-Derived Callus-Based Efficient and Reproducible Regeneration System for Elite Varieties of Indica Rice In Pakistan. *International Journal of Agriculture and Biology*. 15(1), 27–33.
- Kherasani, I., Prihastanti, E., Haryanti, S., (2017). Pertumbuhan Kalus Eksplan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc.) pada Berbagai Konsentrasi Sukrosa Secara In Vitro. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*. 2(1), 43–49.
- Murthy, H. N., Lee, E. J., & Paek, K. Y. (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*. 118(1), 1–16.
- Setiawati, T., Annisa, N.A., & Mohammad, N. (2020). Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* var. Tomohon Kuning) dengan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan 6-Benzylaminopurine (BAP) Pada Kondisi Pencahayaan Berbeda. *Jurnal Pro-Life*. 7(1), 13–26.
- Suhartanto, B., Astutik, M., Umami, N., Suseno, N., & Haq, M. S. (2022). The Effect of Explants and Light Conditions on Callus Induction of Srikandi Putih Maize (*Zea mays* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1001(1).
- Turhan, H. (2004). Callus Induction and Growth In Transgenic Potato Genotypes. *African*

Journal of Biotechnology. 3(8), 375–378.
Yanti. (2022). Bioactive Compounds Content and Pharmacological Activities of Chili.
FARMASAINS : Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kesehatan. 41–60.