

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Carica

Tanaman carica (*Vasconcellea pubescens*) merupakan tanaman yang cukup populer di dunia. Sebagai salah satu spesies dari famili *Caricaceae*, morfologi *V. pubescens* memiliki kemiripan dengan *Carica papaya*. Ciri utama yang membedakan antara keduanya adalah aroma buah *V. pubescens* yang lebih tajam, ukuran buah lebih kecil, dan habitatnya yang berada pada ketinggian lebih dari 1400 meter di atas permukaan laut (mdpl) (Laily *et al.*, 2012). *V. pubescens* merupakan tanaman asli dari Amerika Selatan dan telah tersebar luas ke daerah yang meliputi Chili, Ekuador,



Gambar 3.1. Biji *V. pubescens* (Koleksi pribadi)

Meksiko, dan sepanjang Pegunungan Andes, dan telah banyak dimanfaatkan di Colombia (Schedelman, 2011). Di Indonesia, tanaman ini terbatas hanya dapat dijumpai di daerah Bali, Bromo, dan di Jawa Tengah hanya terdapat pada Dataran

Tinggi Dieng Kabupaten Wonosobo. Oleh karena itu, di Jawa Tengah tanaman tersebut lazim disebut carica dieng (Kristanti, 2015, Minarno, 2015, 2016).

Buah *V. pubescens* memiliki karakteristik yang dapat dilihat dari buah, daun, dan juga batang dan akarnya. Menurut Neal (1965) dalam Hidayat (2000) letak buah *V. pubescens* berdempol – dempol pada cabang batang bagian ujung. Buah *V. pubescens* memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan buah pepaya. Buah yang matang berbentuk bulat telur dengan berat rata – rata 100 – 150 gram, panjang 6 – 10 cm, dan diameter 3 – 5 cm dengan lima sudut memanjang dari pangkal ke ujung sehingga menyerupai bentuk belimbing. Kulit buah *V. pubescens* yang belum matang berwarna hijau gelap dengan tekstur permukaan kulit yang licin dan akan berubah menjadi berwarna kuning ketika buah sudah matang. Kulit buah *V. pubescens* tebal dan memiliki getah yang banyak. Daging buahnya keras, berwarna kuning sampai jingga dengan rasa yang sedikit asam tetapi tetap berbau harum dan khas. Dalam daging buah terdapat rongga yang dipenuhi biji yang terbungkus oleh sarkotesta berwarna putih, bening, dan berair. Biji berwarna merah ketika *V. pubescens* masih mentah dan akan berubah menjadi hitam ketika carica matang. Biji *V. pubescens* berjumlah banyak dan padat.

Hasil penelitian Minarno (2016) menunjukkan bahwa, sumber saponin triterpen memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai obat komersial yang dapat diperoleh dari tangkai daun *V. pubescens*. Biji *V. pubescens* dapat digunakan sebagai ekstrak untuk antibakteri terhadap *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

penyebab diare pada mencit jantan (*Mus musculus*) (Wijayanti dan Febrinasari, 2017). Suwarmi dan Suprijono (2014) menyatakan bahwa, ekstrak buah *V. pubescens* dapat digunakan sebagai *Sun Protection Factor* karena buahnya memiliki kandungan vitamin C tinggi.

B. Kultur Kalus Endosperma Secara *In vitro*

Endosperma merupakan jaringan triploid yang terdapat pada biji, yang merupakan hasil dari dua inti polar gamet betina dengan satu inti gamet jantan yang bersatu dan memiliki perbedaan embrio dalam jumlah kromosomnya. Endosperma banyak dijumpai pada tumbuhan yang berbungan dan mencakup lebih dari 81% (Johri dan Bhojwani, 1977; Johri *et al.*, 1980; Thomas dan Chaturvedi, 2008).

Kultur endosperma merupakan teknik alternatif untuk dapat menghasilkan tanaman triploid secara langsung, dengan melalui satu tahapan (Lakshmi, 1987). Tanaman triploid hasil kultur endosperma dipercaya memiliki kualitas yang lebih unggul dibandingkan dengan hasil persilangan ($2n$) waktu fusi pada pusat sel megagametofit (Knight dan Alston, 1969). Kultur endosperma secara *in vitro* akan mendapatkan tanaman triploid karena endosperma adalah jaringan triploid (Sukanto, 2010). Tanaman triploid dapat nilai tambah ekonomi yang tinggi dalam memperbaiki kualitas dan kuantitas buah, yaitu buahnya tidak berbiji, lebih besar dan hasilnya lebih produktif (Thomas dan Chaturvedi, 2008).

Keberhasilan kultur endosperma secara *in vitro* dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya: kematangan buah yang tepat (berapa hari setelah penyerbukan)

menentukan keberhasilan, seperti 7-10 hari pada ketimun (Nakajima, 1962), 35-60 hari pada loquat (Chen *et al*, 1988), 56 hari pada walnut (Tulecke *et al.*, 1988), 21 hari pada tomat (Kagan-Zur *et al*, 1990), 84-98 hari pada jeruk besar cv *White Siamese* dan jeruk manis cv *Ridge Pineapple* (Gmitter *et al*, 1990), 85-95 hari pada jeruk besar cv *Tosa-Buntan* (Yang *et al*, 2000), jeruk manis cv *Hongjiang* (Chen *et al.*, 1990), 28 hari pada *blackberry* (Cantoni *et al*, 2009). Tingkat perkembangan endosperma yang digunakan untuk dijadikan eksplan juga merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan kultur endosperma, untuk dapat merespon baik dalam kultur *in vitro* (Yang *et al.*, 2000).

Telah dilakukan beberapa penelitian tentang respon kultur endosperm secara *in vitro* pada berbagai media kultur dasar yang dilengkapi dengan berbagai konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Tiku *et al.* (2014) menggunakan endosperma muda dari *Phlox drummondii* menggunakan media MS dengan kombinasi terbaik ZPT 5 μM BAP + 10 μM NAA dan 10 μM BAP + 2,5 μM IAA; Tian dkk. (2012) menggunakan endosperma dewasa dari *Sapium sebiferum* menggunakan media MS dengan kombinasi terbaik ZPT 4,44 μM BA + 5,37 μM NAA; 8,88 μM BA + 1,07 μM NAA; 9,84 μM IBA + arang aktif ; Zhu (2011) menggunakan endosperma dewasa dari *Jatropha curcas* menggunakan media MS dengan kombinasi terbaik ZPT 1,82 μM TDZ + 9,04 μM 2,4-D + 1,44 μM GA 3 + 1 g / l YE; 6,8 μM ZT + 1,33 μM IAA.

Berdasarkan hasil penelitian dari Waryastuti, *et al* (2017) Perlakuan 2,4-D 2 ppm dengan BAP 0 ppm mampu menghasilkan kalus yang baik, banyak, inisiasi yang

cepat dan efisien (optimal). Perlakuan 2,4-D 2 ppm + BAP 0 ppm menghasilkan kalus yang banyak yaitu 26,18 mg dan persentase kalus yang tinggi yaitu 100%. Media MS dengan penambahan 2,4-D tanpa BAP mampu membentuk kalus yang remah dan embriogenik. Media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP tanpa 2,4-D mampu meregenerasikan kalus embriogenik dan membentuk akar. Tunas dan daun terbentuk pada media kontrol (2,4-D 0 ppm + BAP 0 ppm).

C. Media MS (*Murashige & Skog*)

Media kultur merupakan salahsatu komponen penting dalam penanaman sel dan metode kultur jaringan. Wetherell (1976) juga menyatakan bahwa media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrien makro mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber energi (umumnya menggunakan sukrosa), serta mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat pengatur tumbuh. Penelitian Sukmadjaja (2005) secara umum menyatakan, media dasar MS yang diperkaya dengan BAP menunjukkan respon yang baik dalam membentuk embrio somatik sebesar 71,4% pada cendana.

Hormon endogen dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media tanam memiliki peranan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Efektifitas ZPT bergantung pada konsentrasi hormon endogen yang berinteraksi dengan hormon eksogen yang diberikan (Davies, 2004). Hasil penelitian dari Haryati, *et al* (2017), medium yang terbaik untuk pertumbuhan kalus *J.curcas* adalah medium MS + 0,5 ppm BAP + 1,5 ppm 2,4-D yang ditandai dengan munculnya

kalus dengan waktu tercepat dan berwarna putih kekuningan, bertipe remah, memiliki massa yang lebih besar, dengan kondisi sel kalus yang memiliki bentuk besar dan aktif membelah.

D. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetat) terhadap induksi kalus

Hormon 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetat) sangat efektif karena dapat merangsang pembentukan sel-sel (Mahadi *et al.*, 2014). Auksin yang berupa hormon 2,4-D dapat meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menaikkan tekanan osmotik, dinding sel menjadi berkembang, mengurangi tekanan pada dinding sel, plastisitas meningkat, dan sintesis protein dapat meningkat (Mahadi *et al.*, 2016). Pada tahapan induksi embriogenesis somatik diperlukan media yang mengandung auksin yang memiliki daya aktifitas yang cukup kuat. Sepertihalnya yang telah diungkapkan oleh (Purnamaningsih 2002) bahwa dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 2,4-D yang merupakan ZPT golongan auksin yang cukup efektif untuk induksi kalus embriogenik. Adapun peran auksin yaitu meningkatkan kualitas sel-sel embriogenik dengan cara memacu pembelahan sel pada sel kallus untuk membentuk masa proembriogenik, serta hormone ini juga dapat mencegah inisiasi pertumbuhan teratur pada sel tersebut (Ibrahim *et al.*, 2010). Sedangkan pada tahap pendewasaan eksplan auksin diberikan dalam konsentrasi yang sedikit atau tidak sama sekali.

Menurut penelitian Mahadi *et al.*, (2016) pada induksi kalus jeruk kasturi yang menggunakan hormon 2,4-D dan BAP menunjukkan bahwa kombinasi hormon

tersebut berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus dan pertumbuhan kalus. Penelitian Riyadi dan Tirtoboma (2004) menunjukkan bahwa, induksi yang terbaik pada kalus embrio somatik kopi Arabika diperoleh dari media MS yang diberi perlakuan 4 mg/l 2,4-D dan dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin. Hasil penelitian Rusdianto dan Indrianto (2012) menunjukkan bahwa, penambahan 2 mg/l 2,4-D pada media MS setelah lima minggu tanam dapat menginduksi kalus embriogenik pada hipokotil kecambah wortel. Telah dilaporkan bahwa penggunaan konsentrasi 4 mg/l 2,4-D dengan kombinasi 0,1 mg/l kinetin pada eksplan daun kopi arabika menghasilkan tingkat induksi embrio somatik terbaik (Imron & Tirtoboma, 2004). Konsentrasi 2,4-D 4 mg/l juga terindikasi menjadi persentase tertinggi dari pembentukan kalus embriogenik dari eksplan gulungan daun muda tanaman tebu (Sholeha *et al.*, 2015). Kombinasi konsentrasi 2,4-D sebanyak 0.5 ppm dengan *Thidiazuron* berkonsentrasi 6 ppm pada kalus pule landak (*Rauvolfia Serpentina L.*) juga membentuk formasi embriogenesis somatik terbaik (Heru *et al.*, 2006). Sedangkan pada buah rotan tohiti dilaporkan penggunaan 2,4-D 1,0 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 1,0 mg/l pada media MS menghasilkan jumlah embrio somatic terbanyak (Yelnitis, 2018). Eksplan daun muda angrek *Vanda Sumatrana Schltr* dengan perlakuan 2 mg/l 2,4-D dan 3 mg/l 2,4-D menunjukkan konsentrasi yang dapat menginduksi embryogenesis somatic (Anita *et al.*, 2019).

Pemberian 2,4-D yang berlebihan dapat merubah fungsi menjadi herbisida. Proses oksidasi akan menghasilkan brown polimers yang dapat mempengaruhi eksplan

menjadi coklat. Hal ini dikarenakan pada organel vakuola terdapat senyawa flavons dan quinons yang berikatan dengan oksigen (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

E. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP (*Benzylamino Purine*) terhadap induksi kalus

George dan Sherrington (1984), menyebutkan bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Menurut Wattimena (1988), sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman terutama mendorong pembelahan sel. Selain itu menurut Rahayu, *et al* (2003), media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

Penambahan BAP dalam kultur *in vitro* berfungsi untuk pembelahan sel dan pembentukan tunas bibit jati (Suhartati dan Nursyamsi, 2007). Menurut Marli (2012) bahwa, penambahan BAP dapat menghambat perpanjangan dan perkembangan akar. Pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat (Marlin *et al.*, 2005). Mekanisme kerja BAP yang dalam media kultur *in vitro* yaitu BAP akan diserap oleh eksplan kemudian akan bergerak mencari jaringan target dan menuju ke dalam getah xilem (Campbell *et al.*, 2005). Hasil penelitian Sukmadjaja (2005) menyatakan bahwa, media dasar MS yang dikombinasikan dengan BAP menunjukkan respon yang baik dalam membentuk embrio somatik sebesar 71,4% pada tanaman cendana.

BAP memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sitokinin turunan adenine jenis lain. Berat molekul BAP adalah 225,26 g mol⁻¹. BAP merupakan sitokinin yang lebih ekonomis dan seringkali digunakan untuk merangsang multiplikasi tunas aksilar pisang ambon pada konsentrasi 0,5-10 mg/l (Pradana, 2011). BAP mempengaruhi pertambahan jumlah tunas, terutama pada perlakuan BAP 10 mg/l dengan rata-rata 9,5 tunas, hal ini lebih tinggi dibanding pada perlakuan BAP 7,5 mg/l dihasilkan 8 tunas pada pisang barangan (Tiliaar dan Sompotan, 2007). Perlakuan penambahan BAP 0,5 mg/l merupakan konsentrasi yang paling tepat dalam meningkatkan pembentukan embrio somatik pada eksplan wortel (Rusdianto & Indrianto, 2015). Konsentrasi 2,4-D 1.0 mg/l dengan kombinasi BAP 0,01 mg/l menghasilkan kalus tertinggi pada induksi dan regenerasi embriogenesis pepaya (Sutanto & Aziz, 2005).