

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Carica (*Vasconcellea pubescens*)

Tanaman carica (*Vasconcellea pubescens*) yang sering kita kenal merupakan tanaman yang banyak dijumpai di daerah dataran tinggi. Carica memiliki kekerabatan dekat dengan pepaya yang termasuk ke dalam famili *Caricaceae* (Laily, 2011). Tanaman ini berasal dari dataran tinggi Andes, sebelah barat laut Amerika Selatan dari Kolombia ke Bolivia selatan ke Chili tengah dan biasanya carica tumbuh pada ketinggian 1500-3000 m dpl (Sánchez 1994; Calabrese 1994; Moya León et al. 2004). Carica tersebar pada ketinggian 1.400-2.300 m dpl (Budiyanti dkk. 2005; Laily dkk. 2012; Sumaryono 2012; Fitriningrum 2013).

Carica terletak berdempol-dempol pada bagian ujung batang. Memiliki buah yang berukuran lebih kecil dibandingkan dengan buah pepaya. Kulit buah carica yang belum matang, memiliki warna hijau gelap dan permukaan kulitnya bertekstur licin, kemudian akan berubah berwarna kuning setelah buah matang. Biji carica memiliki jumlah yang banyak (Hidayat, 2000)

Penelitian terdahulu yang telah dilakukan, banyak diketahui bahwa tanaman dari keluarga *Caricaceae* memiliki aktivitas sebagai antelmintik, antihiperkolesterol, antibakteri, antioksidan dan aktivitas farmakologis lainnya yang masih berkaitan dengan sistem imun. Carica memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan buah pepaya

(Luhurningtyas dkk, 2020). Buah carica memiliki kandungan antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas, dan mengandung enzim pencernaan yang mampu meningkatkan kerja sistem pencernaan, absorpsi nutrisi, mengurangi stress pencernaan, menjaga pH, menjaga kesehatan usus serta menyeimbangkan enzim-enzim alami didalam tubuh.

B. Perbanyak Tanaman Secara *In Vitro* atau Kultur Jaringan

Didalam kultur jaringan, terdapat beberapa istilah seperti eksplan, meristematik dan primordia. Eksplan merupakan bahan yang digunakan untuk kultur jaringan yang harus memiliki sifat-sifat diantaranya yaitu sel-selnya masih memiliki sifat meristematik dan berasal dari jaringan yang masih muda atau primordia, serta sudah mengalami diferensiasi (Yuliarti, 2010). Dalam menentukan keberhasilan kultur jaringan tumbuhan, bagian tanaman memiliki peran penting, yaitu muda atau tidaknya eksplan yang digunakan dan ukuran eksplan yang digunakan (Sitinjak *et al.*, 2006).

Menurut Yuliarti N (2010), keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh (1) bentuk atau macam regenerasi didalam kultur tersebut, (2) eksplan, merupakan bagian dari tanaman yang akan digunakan untuk bahan dasar kultur *in vitro*, faktor penting yang mempengaruhi eksplan yaitu genotip atau varietas, umur eksplan, letak eksplan pada tanaman, dan juga seks (jantan/betina), (3) media pertumbuhan, dimana media mengandung berbagai komposisi garam anorganik dan berbagai zat pengatur tumbuh (ZPT), (4) Zat pengatur tumbuh (ZPT), merupakan faktor penting dalam kultur *in vitro*, yang perlu diperhatikan dari penggunaan ZPT yaitu konsentrasi, tahapan penggunaan

dan periode masa induksi dalam kultur tertentu, dan (5) lingkungan tumbuh yang mempengaruhi regenerasi eskplan.

C. Induksi Kalus Endosperma

Didalam kultur jaringan, induksi kalus dapat tumbuh secara langsung tanpa melalui pembentukan kalus, merupakan proses regenerasi tanaman dengan organogenesis secara langsung. Tunas dapat terbentuk secara langsung dengan menggunakan potongan batang, akar maupun daun (Zhang dan Lemaux, 2004).

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 berbunga 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).

Menurut Agus Sukanto (2010), faktor keberhasilan kultur endosperma secara *in vitro* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti umur endosperma penyertaan zigot embrio, pencoklatan (*browning*) dan

umur kultur. 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). Endosperma muda pada fase sel-selnya masih meristematis, umumnya akan respon positif bila dikultur, seperti pada kelapa, jeruk besar, dan apel (Sukamto, 2010). Inisiasi endosperma tua umumnya memerlukan penyertaan embrio untuk menginduksi pembelahan sel dan inisiasi endosperma muda tidak memerlukan penyertaan embrio untuk menginduksi pembelahan sel tersebut (Sukamto, 2010).

Formulasi media yang digunakan didalam kultur endosperma akan mempengaruhi keberhasilan pertumbuhan jaringan. Media MS lebih sering digunakan, karena memiliki kandungan garam anorganik dan nitrogen yang lebih besar (Sukamto, 2010).

Pencoklatan dapat menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat dan kematian pada jaringan. Pencoklatan atau *browning* dapat disebut sebagai kegagalan eksplan untuk hidup apabila warnanya berubah menjadi hitam (Sukamto, 2010). Menurut Rismayani, (2010) menyatakan bahwa pencoklatan atau *browning* disebabkan karena adanya oksidasi dari senyawa fenolik yang dihasilkan oleh jaringan tanaman. Oksidasi fenolik ini dapat menghambat dan dapat bersifat toksik bagi pertumbuhan eksplan yang dapat menyebabkan kematian pada eksplan. Tabiyeh *et al*, (2006) juga menyatakan pencoklatan dalam kultur *in vitro* disebabkan karena adanya peningkatan produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi aktivitas enzim oksidase (PPO) dan polimerasinya.

D. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik yang ditambahkan kedalam media dalam jumlah yang sedikit untuk dapat mendukung, menghambat, atau mengubah proses fisiologi tanaman. ZPT sangat dibutuhkan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi sel eksplan (Fitriani, 2016). Golongan ZPT yang sering digunakan untuk inisiasi kalus yaitu auksin dan sitokinin.

Auksin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh (ZPT) yang memiliki peran dalam proses perkembangan tanaman dan berfungsi untuk pemanjangan sel (Utami et al., 2007), proliferasi kalus (Huan et al., 2004) dan induksi embrio somatic (Shinoyama et al., 2004). Jenis auksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Selain memiliki fungsi untuk induksi pemanjangan sel, auksin juga berfungsi untuk meningkatkan aktivitas enzim selulosa sintetase yang bertugas untuk mensintesis dinding sel baru (Woodward & Bartel, 2005).

Sedangkan sitokinin yang digunakan dalam penelitian ini yaitu BAP (Benzyl amino purine). BAP merupakan salah satu sitokinin buatan (Sudarmo, 1991).

Jaringan yang akan dikulturkan akan mengalami penghambatan jika ketersediaan sitokinin didalam media kultur tersebut terbatas. Tetapi apabila jaringan tersebut dipindahkan pada media yang mengandung sitokinin yang memadai, maka pembelahan sel akan berlangsung dengan cepat. Sitokinin memiliki fungsi selain untuk meningkatkan pembelahan sel dan inisiasi pucuk, juga berfungsi dalam mengontrol perkecambahan

biji, mempengaruhi ambibisi daun dan transpor auksin, memungkinkan bekerjanya giberelin dengan cara menghilangkan penghambat tumbuh, serta menunda penuaan (George dan Sherrington, 2008). Selain itu, sitokinin juga berfungsi untuk menginduksi pembentukan tunas adventif dari eksplan pisang (Bhosale *et al.*, 2011). Hormon BAP berperan dalam pembentukan tunas, pertumbuhan tunas dapat mempengaruhi pertumbuhan tinggi planlet. Apabila semakin banyak tunas yang tumbuh, maka pertumbuhan tinggi planlet menjadi kurang optimal (Ramesh dan Ramassamy, 2014).

Hasil penelitian dari penggunaan BAP dalam induksi kalus endosperma mangga menunjukkan hasil sebesar 70 % dari penambahan BAP 0.4 mg/l dengan warna putih kehijauan (Irni *et al.* 2014). Kombinasi BAP 5 mg/l dan Naphthaleneacetic Acid (NAA) 1 mg/l memberikan hasil terbaik dalam induksi kalus triploid mulberry (*Morus alba L.*) dengan hasil 58,3% (Thomas *et al.*, 1999). Kombinasi BAP 0.2 mg/l dan Kinetin 1 mg/l menghasilkan regenerasi tunas sebanyak 25 % dengan eksplan endosperma *Annona squasoma* (Nair *et al.*, 1986). Induksi kalus dengan kombinasi BAP 2 mg/l dan NAA 5 mg/l menghasilkan induksi kalus sebesar 53% dari eksplan endosperma *Azadirachta indica* (Chaturvedi *et al.*, 2003).