

A. Judul Penelitian : **Studi Regenerasi Cabai (*Capsicum annuum* L.) Untuk Rekayasa Genetika**

B. Bidang Ilmu : **Pertanian**

C. **Abstrak**

Perbanyak cabai secara *in vitro* dengan menggunakan daun muda telah dilakukan terhadap 13 genotipe. Eksplan dikulturkan pada media induksi kalus yaitu media dasar MS dengan vitamin L2 yang ditambahkan BAP 4 ppm dan IAA 0.5 ppm. Kemudian untuk media regenerasi dan perpanjangan sel, kalus di subkultur pada media MS yang ditambah vitamin L2, BAP 1 ppm, GA<sub>3</sub> 2 ppm, Calsium Pantotenat 2 ppm dan AgNO<sub>3</sub> 5 ppm.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada semua kondisi yang diuji, semua genotipe mampu membentuk kalus, tapi tidak semua kalus bisa berdiferensiasi membentuk tunas. Diantara 13 genotipe cabai yang diuji genotipe yang paling respon terhadap media diferensiasi dan perpanjangan tunas adalah genotipe Tit Super.

Kata kunci: *Capsicum annuum*, *in-vitro*, BAP (6-benzylaminopurine), IAA (indole 3-acetic acid), Calsium Pantotenat, AgNO<sub>3</sub>

#### D. PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum spp*) merupakan sayuran penting di dunia dan termasuk spesies pertama yang ditemukan telah digunakan manusia diseluruh dunia (Berke, 2002a). Cabai dapat dikonsumsi dalam bentuk buah segar, kering atau bentuk olahannya dan memiliki berbagai manfaat. Cabai telah menjadi bagian penting dalam resep masakan (Berke, 2002b), kaya akan vitamin C, A, dan B, potasium, fosfor dan kalsium (Xuefeng, 1999; Boslan and Votava, 2000), dan kandungan kimianya merupakan bagian penting dalam obat-obatan,

pewarna makanan, dan kosmetika (Taychasinpitak and Taywiya, 2003; IISR, 2006).

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan spesies yang dibudidayakan paling luas (Zhang, 2005) karena merupakan spesies cabai pertama yang ditemukan oleh Columbus dan diintroduksi ke seluruh dunia. Cabai merah masuk ke Indonesia dibawa oleh bangsa Portugis sekitar 450 – 500 tahun yang lalu (Berke, 2002b). Cabai merah beradaptasi dengan cepat dan diterima oleh bangsa asli Indonesia sehingga menjadi komoditi sayuran penting, mempunyai nilai ekonomis yang tinggi dan seiring dengan peningkatan jumlah penduduk maka permintaan akan cabai juga terus meningkat. Di Indonesia ternyata luasnya pertanaman cabai merah tidak diikuti oleh tinggi produktivitas. Dari data Dirjen Bina Produksi Hortikultura tahun 2000, tercatat bahwa luas areal pertanaman cabai merah adalah sebesar 183.347 ha, dengan rata-rata produksi 5.5 ton /ha, dan tahun 2001 produktivitas menurun menjadi 4.17 ton/ha, yang masih jauh di bawah rata-rata produksi dunia sebesar 9.5 ton/ha, sehingga tidak mampu mencukupi kebutuhan Nasional (Dirjen Produksi Hortikultura dan Aneka Tanaman, 2001). Dari data BPS Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-buahan Indonesia tahun 2002, rata-rata hasil pertanaman cabai dari semua provinsi di Indonesia kurang dari 2 ton/ha. Sedangkan potensi produksi cabai merah dapat berkisar antara 12 – 20 ton/ha.

Menurut Departemen Pertanian (2006), pada tahun 2004 luas panen cabai merah Indonesia mencapai 110.170 ha dengan produksi 714.705 ton/tahun dan daya hasil 6,94 ton/ha. Daya hasil cabai merah yang jauh dari potensi produksinya yang mencapai 12 ton/ha (Langay, 1996). Jika dibandingkan dengan negara-negara Asia. daya hasil cabai merah Indonesia tertinggal jauh. Sebagai contoh daya hasil cabai merah Cina mencapai 14.5 ton/ha (Rubatzky dan Yamaguchi, 1997).

Banyak faktor yang menyebabkan rendahnya produktivitas cabai di Indonesia di antaranya: penggunaan benih yang kurang bermutu, teknik budidaya yang kurang sempurna, dan tingginya serangan hama dan penyakit. Secara umum pertumbuhan dan perkembangan tanaman dipengaruhi oleh Faktor genetik dan lingkungan. Kenyataan di lapangan lingkungan pertumbuhan tanaman tidak selalu merupakan yang optimum bagi tanaman, sehingga seringkali tanaman tidak mampu mengekspresikan seluruh potensi genetik yang dimilikinya.

Produksi cabai dapat ditingkatkan melalui program perluasan pertanaman dan intensifikasi budidaya. Kedua program ini membutuhkan benih yang berkualitas, baik secara genetik maupun fisiologis. Benih yang berkualitas genetik tinggi dapat diperoleh melalui persilangan konvensional yang diikuti dengan proses seleksi.

Pemuliaan tanaman cabai konvensional untuk merakit varietas unggul merupakan cara yang banyak dilakukan untuk mengendalikan serangan hama penyakit. Kehadiran teknologi transformasi memberikan wahana baru bagi para pemulia tanaman untuk memperoleh gen baru yang lebih luas (Greenberg dan Glick, 1993). Rekayasa genetika akan memberikan perbaikan dari karakter-karakter penting pada tanaman. Sifat ketahanan tanaman terhadap beberapa cekaman biotik seperti gulma, virus, serangga dan mikroorganisme telah dapat diperbaiki dengan pendekatan ini. Demikian pula terhadap cekaman abiotik dan modifikasi kualitas dan kuantitas produk tanaman (Bennet, 1993). Suatu gen yang tidak terdapat pada suatu spesies tanaman tertentu dimungkinkan untuk dapat diperoleh dari organisme lain seperti bakteri, virus, binatang dan tanaman lain (Herman, 1996).

Teknik penyisipan gen (transformasi gen) akan menghasilkan tanaman transgenik yang kemudian dapat dimanfaatkan sebagai sumber plasma nutfah

atau langsung diseleksi menjadi galur harapan. Transformasi gen secara *in vitro* dengan menggunakan vektor *Agrobacterium* akan berhasil dan bermanfaat apabila sudah diperoleh protokol regenerasi tanaman yang efisien dan stabil. Kompetensi untuk beregenerasi yaitu kemampuan membentuk tanaman lengkap (mempunyai tunas dan akar) dan kompetensi untuk ditransformasi merupakan dua kunci penting penentu keberhasilan program transformasi genetik.

Di dalam aplikasi bioteknologi atau transformasi genetika untuk program perbaikan tanaman, kultur sel atau jaringan dan sistem regenerasinya memegang peranan yang sangat penting. Beberapa usaha yang dilakukan untuk mencapai sistem regenerasi yang efisien adalah dengan menentukan parameter penting yang spesifik pada tanaman (Parrot *et al.*, 1992). Oleh karena itu, sebelum dilakukan transformasi genetik untuk memperoleh tanaman cabai yang membawa sifat tertentu yang kita inginkan perlu adanya sistem regenerasi yang efisien dan stabil.

### **Perumusan Masalah**

1. Untuk program perbaikan tanaman melalui rekayasa atau transformasi genetika tanaman cabai diperlukan sistem regenerasi tanaman yang efisien.
2. Pemilihan genotipe cabai yang responsif untuk diregenerasikan menjadikan tanaman yang utuh membantu di dalam program rekayasa genetika yang optimal.

### **Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari sistem regenerasi beberapa genotipe cabai secara *in vitro* yang akan digunakan di dalam program transformasi genetika.

### **Kontribusi penelitian**

Dengan diperolehnya sistem regenerasi tanaman cabai yang efisien maka akan sangat membantu di dalam program perbaikan tanaman melalui transformasi genetik.

## **E. BAHAN DAN METODE**

### **Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas Padang, mulai bulan April sampai dengan bulan November 2008.

### **Bahan dan Alat**

Pada percobaan ini digunakan benih dari tiga belas genotipe cabai (cabai besar Sudra, cabai keriting North Redstyar, cabai rawit Salmon, cabai besar Jati Laba, Cabai keriting Taro, cabai besar Nenggala, cabai besar Prabu, cabai keriting Tepon, cabai besar Chili 409, hot pepper Cayane, Tit Super, Newzeland, Galur 375, Galur 535).

### **Metodologi**

#### **Perkecambahan benih in vitro**

Benih cabai disterilkan permukaannya dalam laminar dengan merendam pada 20% (v/v) larutan Clorox<sup>®</sup> tiga kali berturut-turut selama 10 menit. Benih dibilas tiga kali dengan air steril dan direndam 12 jam untuk merangsang perkecambahan. Benih dikecambahkan secara in vitro pada medium MS (Murashige & Skoog, 1962), sukrosa (3%), dan agar komersial (0.6%) tanpa zat pengatur tumbuh.

### **Induksi kalus dari eksplan potongan daun**

Kecambah berumur 23 hari dikeluarkan dari botol dan diambil daunnya, kemudian dipotong ujung dan pangkal daun dengan meninggalkan sedikit petiolenya. Eksplan daun muda tersebut ditanam pada medium induksi kalus (MS + Vit L2 + BAP 4 mg/L + IAA 0.5 mg/L + Sukrosa 3 g/L dan pH 5.8). Potongan daun dikulturkan selama 2 minggu pada suhu 22°C di bawah pencahayaan 4000 lux sehingga membentuk kalus.

### **Regenerasi tunas**

Setelah 2 minggu pada media induksi kalus, eksplan daun muda yang telah bekalus dipindahkan ke medium regenerasi (MS + Vit L2 + AgNO<sub>3</sub> 5 mg/L + GA<sub>3</sub> 2 mg/L dan Kalsium pantotenat 2 mg/L) dengan permukaan atas menghadap ke atas. Semua kultur dipindahkan ke medium regenerasi yang baru setiap 2 minggu. Setelah dua minggu kultur berada pada media regenerasi, kalus dengan warna hijau, kompak dapat dipindahkan ke medium regenerasi yang baru. Kalus-kalus dengan primordia tunas akan mulai tumbuh setelah 2 minggu dan segera dipotong menjadi potongan kecil dan dipindahkan ke media regenerasi yang baru pada botol untuk pemanjangan tunas.

### **Perakaran tunas**

Apabila batang dari tunas berukuran 2-4 cm, tunas dipisahkan dari kalus dan dipindahkan ke media perakaran (MS + Vit L2 + IAA 0.1 mg/L) pada botol kultur. Potongan kalus dari dasar batang tunas sebisa mungkin tidak diikutsertakan karena akan mengganggu pembentukan akar. Tunas-tunas akan membentuk akar dan berkembang selama 2 minggu setelah dipindahkan ke medium perakaran.

### **Pengamatan dan Analisis Data**

Pengamatan dilakukan terhadap masing-masing varietas tanaman cabai dengan beberapa parameter, yaitu: persentase pembentukan kalus, waktu yang

dibutuhkan untuk pembentukan kalus jumlah eksplan yang membentuk tunas, Data-data yang telah diperoleh kemudian dibandingkan untuk setiap varietas untuk melihat respon regenerasi dari masing-masing varietas dan dapat ditentukan varietas yang paling responsif untuk regenerasi.

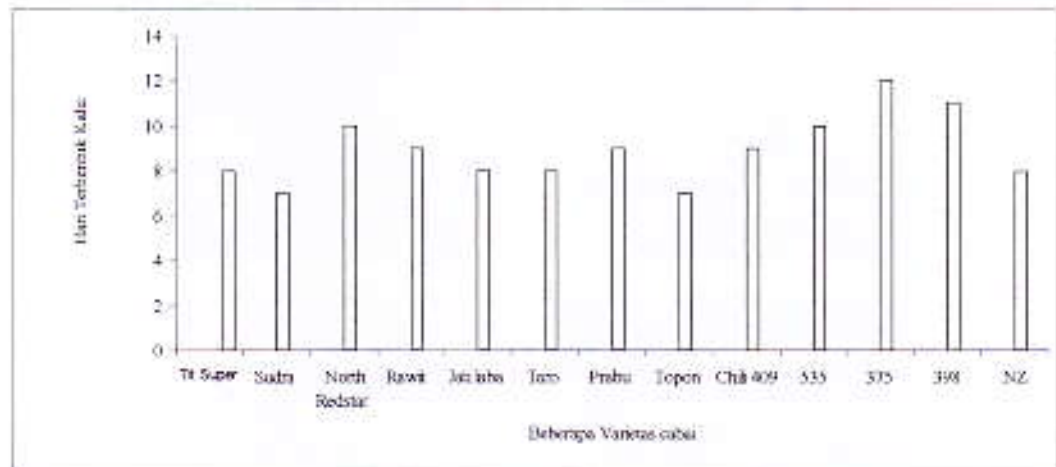
## F. HASIL

Setelah tiga minggu benih cabai dikecambahkan secara *in vitro* kemudian dilakukan induksi kalus pada media MS+Vitamin L2+BAP 4 ppm+IAA 0.5 ppm.

Kalus-kalus terbentuk pada bagian bekas potongan pada eksplan setelah berada pada media induksi kalus selama 2 minggu. Semua eksplan daun muda dari beberapa genotipe cabai yang digunakan mempunyai kemampuan membentuk kalus 100% (Tabel 1), tapi tidak semua kalus berkembang membentuk tunas (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase pembentukan kalus dan tunas dari beberapa genotype cabai secara *in vitro*

No	Genotipe	Kalus Yang Terbentuk (%)	Tunas Yang terbentuk (%)
1	Cabe besar Sudra	100%	0.488
2	Cabe Keriting (North Redstar)	100%	0.221
3	Rawit salmon	100%	0.254
4	Cabe besar jati laba	100%	0.595
5	Cabe keriting Taro	100%	0.473
6	Cabe besar prabu	100%	0.390
7	Cabe keriting topon	100%	0.450
8	Chili 409	100%	0.253
9	535	100%	0.637
10	375	100%	0.219
11	398	100%	0.393
12	NZ	100%	0.150
13	Tit Super	100%	0.900

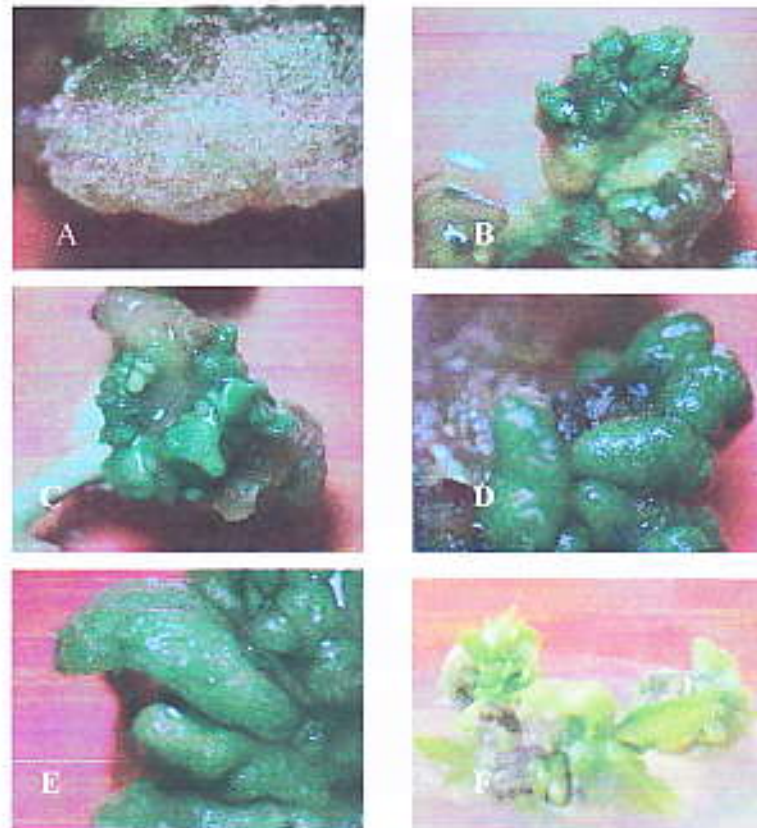


Gambar 1 Waktu yang diperlukan beberapa varietas cabai untuk membentuk kalus

Ada 2 tipe kalus yang diamati pada penelitian ini, kalus yang berwarna coklat merupakan kalus yang tidak dapat diregenerasikan (*non-regenerable callus*) (NRC) dan kalus yang berwarna putih yang akan berubah menjadi kehijauan dalam beberapa hari dan kalus ini merupakan kalus organogenik (*organogenic callus*) (OC). Kalus organogenik ini akan menghasilkan atau membentuk primordia-primordia tunas sekitar 15-21 hari. Untuk mempercepat pembentukan primordia tunas maka merupakan hal penting untuk melakukan subkultur kalus-kalus tersebut pada media baru sehingga akan tersedia nutrisi yang cukup bagi kalus-kalus untuk membentuk primordia tunas.

Pengamatan dari tahap perkembangan kalus organogenik mulai dari tahap kalus globular sampai berbentuk kotiledonary dan akhirnya membentuk tunas dapat dilihat pada Gambar 2.





Gambar 2. Tahapan perkembangan kalus cabai organogenik mulai dari tahap globular sampai membentuk tunas, (A) – (E) tahapan globular sampai kotiledonary, (F) terbentuknya tunas

### G. PEMBAHASAN

Tabel 1 memperlihatkan bahwa kemampuan eksplan membentuk primordia tunas yang tinggi ditunjukkan oleh genotype Tit Super, dibandingkan genotype-genotype lain. Perbedaan respon eksplan untuk membentuk kalus dan tunas terutama disebabkan karena perbedaan genotype. Eksplan yang berasal dari daun muda dari semua genotype cabai yang digunakan mempunyai kemampuan untuk membentuk kalus 100% setelah ditumbuhkan pada media induksi kalus (Tabel 1). Hal ini membuktikan apa yang sebelumnya dikatakan oleh Christopher dan Rajam (1996) bahwa eksplan daun muda lebih konsisten membentuk tunas dibandingkan dengan eksplan hipokotil dan kotiledon. Bahkan diantara eksplan-eksplan yang berkalus tersebut terdapat eksplan yang telah berinisiasi membentuk primordia tunas. Primordia tunas ditandai dengan

munculnya jaringan seperti daun yang berukuran kecil dan akan berkembang menjadi tunas kecil.

Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk kalus bervariasi antara genotipe satu dengan yang lainnya, waktu yang dibutuhkan tersebut berkisar mulai dari 6 hari sampai 14 hari (Gambar 1).

Kalus-kalus yang organogenik akan mengalami beberapa fase perkembangan sampai menghasilkan tunas. Fase tersebut dimulai dari kondisi kalus dalam bentuk globular, kemudian heart, torpedo, sampai pada fase akhir kotyledonary dan akhirnya baru membentuk tunas (Gambar 2). Sementara kalus-kalus yang bukan organogenik akan selalu dalam fase globular.

Penggunaan kombinasi BAP tinggi dan IAA rendah menginduksi kalus, BAP rendah untuk pemanjangan tunas, dan IAA rendah tanpa BAP untuk pembentukan akar (Gunay dan Rao, 1978; Phillips dan Hubstenberger, 1985).

Respon dari genotype cabai untuk beregenerasi ditandai dengan kemampuan eksplan dari genotype tersebut untuk membentuk tunas dengan bagian daun dan batang. Ada dua jenis tunas yang dapat diamati pada media regenerasi, (1) tunas yang mempunyai daun dan batang, (2) tunas yang hanya punya daun saja tanpa batang (rosset daun), tunas yang dapat dipindahkan ke media perakaran adalah tunas yang mempunyai bagian daun dan batang sedangkan tunas yang abnormal dimana tunas tersebut bagian batangnya tidak berkembang dengan baik tidak bisa dipindahkan ke media perakaran, sebab bila dipindahkan ke media perakaran akan sulit membentuk akar.

Kultur *in vitro* pada cabai dapat digunakan untuk aplikasi bioteknologi yang berbeda seperti misalnya propagasi klonal, produksi tanaman bebas virus. Seperti telah dilaporkan sebelumnya, bahwa paling tidak ada tiga faktor penting yang sangat berpengaruh di dalam sistem regenerasi tanaman secara *in vitro*.

Faktor-faktor tersebut adalah genotipe, tipe eksplan dan komposisi media (Moghaieb, 1999; Gubis *et al.*, 2003).

Pada penelitian ini dapat diamati adanya perbedaan yang nyata di dalam kemampuan regenerasi di antara 13 genotipe cabai yang digunakan, yang ditandai dengan adanya perbedaan dalam jumlah eksplan yang membentuk primordia tunas, eksplan yang beregenerasi membentuk tunas dan jumlah tunas per eksplan.

Genotipe Tit Super yang digunakan sebagai kontrol pada penelitian ini menunjukkan respon yang paling tinggi. Dengan demikian, untuk tujuan rekayasa genetika atau transformasi genetika cabai, maka Tit Super dapat digunakan untuk tujuan tersebut.

#### H. KESIMPULAN

Dari tiga belas genotipe cabai yang beradaptasi di Indonesia, Tit Super mempunyai respon yang terbaik di dalam regenerasi tanaman cabai secara *in vitro* bila dibandingkan dengan genotipe lainnya.

Untuk tujuan rekayasa genetika, Tit Super dapat digunakan sebagai materi/eksplan untuk transformasi genetika cabai.

#### I. DAFTAR PUSTAKA

- Bennet J. 1993. Genes for crop improvements. *Genet. Eng.* 16:93-113
- Berke TG. 2002a. *Hybrid Seed Production in Capsicum* Di dalam: Basra AS, editor. *Hybrid Seed Production in Vegetable: Rationale and Methods in Selected Crops*. New York: Food Products Press. Hlm.49-67
- Berke TG. 2002b. The Asian Vegetable Research and Development Center Pepper Project. Di dalam *Proceeding of The 16<sup>th</sup> International Pepper Conference*; Tampico, Tamaulipas, 10 – 12 Nov. 2002.
- Bosland, P.W., Votata, E.J. 2000. *Peppers: vegetables and spice Capsicums*. Cabi Publishing. New York.

- Christopher, T. & M.V. Rajam. 1996. Effect of genotype, explant and medium on in vitro regeneration of red pepper. *Plant Cell Tissue Culture*. 46:245-250.
- Departemen Pertanian. 2006. Pusat Data Informasi Pertanian sub Sektor Tanaman Pangan dan Hortikultura Komoditi Cabe Merah: Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Nasional Tahun 2004. Jakarta: Departemen Pertanian. <http://database.deptan.go.id/bdspweb/f4-free-frame.asp> [20 Jan 2006]
- Dirjen Bina Produksi Hortikultura. 2001. Produksi Tanaman Sayuran, Buah-buahan, Hias, dan Obat di Indonesia Tahun 2000. Dirjen Bina Produksi Hortikultura. Jakarta. 94 hal.
- Gunay, A.L. & P.S. Rao. 1978. In vitro plant regeneration from hypocotil and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum*). *Plant Sci. Lett.* 11:365-372
- Greenberg B.M. and Glick. 1993. The use of recombinant DNA technology to produce genetically modified plants. Pp: 1-10. *In* D. Gierson (Ed.) *Methods in plant molecular biology and biotechnology*. CRC Press, Inc. New York.
- Herman. M. 1996. Rekayasa genetika untuk perbaikan tanaman. *Bul. Agrobio* 1(1):24-34
- Parrot WA, Bailey MA, Durham RE, Mathews HV. 1992. Tissue culture and genotype independent. Di dalam: Moss JP (Ed.) *Biotechnology and Crop Improvement in Asia*. International Crops. Research Institute for Semi-Arid Tropics. Patancheru, Andhra Pradesh 502 324, India. hal 115-148
- Rubatzky VE, Yamaguchi M. 1997. *World Vegetable, Principles, Production and Nutritive Value*. Ed. Ke-2. London: Chapman and Hall.
- Taychasinpitak T, P. Taywiya. 2003. Specific Combining Ability of Ornamental Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Kasetsart J* 37:123-128.
- Xuefeng L. 1999. Evaluation of Sweet and Hot Peppers in Kamphaen Saen. [www.acr-avrdc.org/pdf files/Lix17-N\).pdf](http://www.acr-avrdc.org/pdf_files/Lix17-N.pdf) [1 Des 2005]
- Zhang ZH. 1989. The practicability of anther culture breeding in rice. *In* A Mujeeb-Kazi, LA Stich (eds). *Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-88*. Intternasional Maize and Wheat Improvement Center-International Rice Research Institute. Pp. 31-42