



Agrotekma

Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian

Available online <http://ojs.uma.ac.id/index.php/agrotekma>

Pengaruh Praperlakuan Dingin Antera terhadap Pembentukan Kalus Cabai Merah Keriting (*Capsicum annum L.*)

Effect of Anther's Cold Pretreatment on the Callus Formation of Curly Red Chilli Pepper (*Capsicum annum L.*)

Nida Wafiqah Nabila M. Solin*, Dian Adriani, Zulfahmi, Mokhamad Irfan dan Rosmaina

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Indonesia

Diterima: 24-02-2020; Disetujui: 18-06-2020; Dipublish: 30-06-2020

*Corresponding Email: nida.wafiqah@uin-suska.ac.id

Abstrak

Produksi tanaman haploid ganda secara in vitro melalui teknik kultur antera merupakan suatu upaya pemuliaan tanaman yang berguna untuk mendapatkan galur murni secara cepat. Berbagai praperlakuan telah dilaporkan dapat menginduksi kalus dan meregenerasi planlet secara efisien. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh praperlakuan dingin antera terhadap pembentukan kalus cabai merah keriting (*Capsicum annum L.*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Eksplan yang digunakan adalah antera cabai merah keriting genotipe lokal. Antera disimpan pada suhu rendah (4 °C) dengan interval waktu yang berbeda yaitu 0, 24, 48 dan 72 Jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase pembentukan kalus tertinggi diperoleh pada lama penyimpanan 24 dan 72 jam, yaitu 50%. Praperlakuan dingin dengan lama penyimpanan 72 jam menghasilkan kalus lebih cepat dengan persentase warna kalus putih kekuningan tertinggi yaitu 17,65 % serta berstruktur kompak. Praperlakuan dingin dengan lama penyimpanan antera 72 jam adalah yang paling optimal dalam mempercepat tahap perkembangan kultur antera dan menginduksi pembentukan kalus cabai merah keriting (*Capsicum annum L.*) genotipe lokal.

Kata Kunci: praperlakuan dingin, antera, kalus, cabai merah keriting.

Abstract

*The production of the double haploid plant in vitro through anther culture technique is a plant breeding technique used to obtain pure strain rapidly. A variety of pretreatment has been reported to induce callus and regenerate planlets efficiently. This study aims at describing the influence of cold anther pretreatment towards the callus formation of curly red chili pepper (*Capsicum annum L.*). This research was conducted in the laboratory of Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture and Animal Science, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. The explants used are anther of local genotype of curly red chili pepper. The anthers are stored at low temperatures (4 °C) with different time intervals of 0, 24, 48 and 72 hours. The results showed that the percentage of highest callus formation was obtained at 24 and 72 hours length storage, ie 50%. Cold pretreatment of 72 hours anther storage results in a faster callus with a percentage of the highest yellowish white callus color of 17.65% and a compact structure. The cold pretreatment with 72 hours anther storage is the most optimal acceleration in the development stage of anther culture and induces te formation of curly red chili pepper (*Capsicum annum L.*) local genotypes.*

Keywords: cold pretreatment, anther, callus, curly red chili pepper

How to Cite: Solin, N.W.N.M, Adriani, D, Zulfahmi, Irfan, M & Rosmaina. (2020). Pengaruh Praperlakuan Dingin Antera terhadap Pembentukan Kalus Cabai Merah Keriting (*Capsicum annum L.*). *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian*. 4 (2): 94-105

PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum* L.) merupakan salah satu komoditas sayuran penting dan bernilai ekonomi tinggi, yang dapat tumbuh pada iklim sedang dan tropis di dunia. Cabai dikenal memiliki kandungan vitamin C yang tinggi, B-kompleks, mineral, minyak esensial, karetonoid, serta pemanfaatannya yang beragam dalam kuliner dan industri makanan di berbagai negara (Irikova et al., 2011). Produktivitas cabai di Indonesia terus meningkat sejak tahun 2010. Produksi nasional cabai tahun 2018 dengan luas panen 136.857 Ha adalah sebanyak 1.206.737 ton/Ha, dengan peningkatan 0,04 persen dibanding tahun 2017 (Kementerian Pertanian, 2018).

Pemuliaan tradisional cabai membutuhkan waktu yang lama serta tenaga kerja yang intensif. Teknik kultur jaringan dapat berkontribusi untuk menghemat waktu dan tenaga kerja. Galur dihaploid homozigot yang diperoleh dari teknik haploid dapat mempersingkat studi pemuliaan tradisional dari 6-7 tahun menjadi 1-2 tahun. Pada tanaman haploid cabai, dua teknik yang biasa digunakan adalah kultur antera dan kultur mikrospora, atau biasa disebut metode androgenesis. Dengan kedua metode tersebut, selain dapat menangani tanaman

homozigot, dapat memperluas keragaman genetik, juga dapat mengembangkan varietas baru kualitas super dengan karakteristik yang diinginkan (Ozsan & Onus, 2017). Produksi tanaman diploid haploid dan spontan dari kultur antera merupakan alat yang dikembangkan dengan baik dan bermanfaat dalam pemuliaan tanaman praktis serta dalam penelitian dasar. Parra-Vega et al., (2013) menyatakan bahwa sampai saat ini, pendekatan yang paling mudah dan berguna untuk memproduksi haploid ganda pada cabai adalah melalui kultur antera.

Produksi cabai haploid in vitro pertama melalui kultur antera diperoleh oleh Wang et al., (1973). Morfogenesis haploid dalam *Capsicum* dilakukan oleh George & Narayanaswamy, (1973) dan Kuo et al., (1973), tetapi produksi individu haploid masih sangat rendah. Sistem kultur antera dua tahap, pertama sekali dikembangkan oleh Sibi et al., (1979) dan dioptimalkan oleh Dumas de Vaulx et al., (1981), yang telah digunakan di berbagai macam program pemuliaan tanaman cabai. Namun, prosedur dua tahap ini tidak memproduksi hasil positif pada banyak aksesi dalam plasma nutfah cabai yang berbeda. Selanjutnya, sistem kultur antera dua lapisan dikembangkan oleh Dolcet-

Sanjuan et al., (1997) dan berhasil diperbaiki oleh (Supena et al., 2006) untuk cabai pedas Indonesia.

Regenerasi kultur antera sangat bergantung pada banyak hal, juga interaksi diantaranya, seperti: genotipe, kondisi pertumbuhan tanaman donor, tahap pembentukan mikrospora, komposisi media, dan praperlakuan terhadap kuncup bunga atau antera (Germanà, 2011; Olszewska et al., 2014; Parra-Vega et al., 2013). Praperlakuan penyimpanan antera pada suhu rendah pada cabai telah dilaporkan oleh Morrison et al., (1986), Özkum et al., (2001) dan Popova et al., (2016). Praperlakuan awal pada suhu rendah (4 °C) mampu meningkatkan pembentukan kalus melalui embriogenesis langsung, dan pembentukan spot hijau pada tanaman cabai (Dewi & Dwimahyani, 2001; Roshany et al., 2013). Spot hijau menentukan terjadinya proses fotosintesis yang berpengaruh terhadap pertumbuhan plantlet tanaman. Karena praperlakuan suhu rendah meningkatkan embriogenesis serbuk sari dan dapat memicu induksi jalur sporofitik, sehingga mencegah perkembangan serbuk sari yang subur melalui jalur gametofitik (Popova Irikova et al., 2016). Saat ini, androgenesis in secara vitro - berdasarkan hampir 30 tahun penelitian - tampaknya menjadi metode yang efektif untuk induksi haploid

(Koleva-Gudeva et al., 2007). Karena hanya sejumlah kecil planlet haploid yang diregenerasi dari anter, maka harus dilakukan penelitian lanjutan, yang tidak hanya berkonsentrasi pada komposisi media kultur, tetapi juga pada faktor-faktor lain yang mempengaruhi frekuensi induksi haploid (Mitykó et al., 1995). Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh praperlakuan dingin terhadap pembentukan kalus cabai merah keriting (*Capsicum annum* L.).

METODE PENELITIAN

Preparasi sampel penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pemuliaan dan Genetika, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

Eksplan tanaman yang digunakan adalah bunga tanaman cabai yang masih kuncup, dengan kelopak dan mahkota sama panjang. Cabai yang digunakan adalah cabai merah keriting genotipe lokal. Kuncup bunga dipanen dengan menggunakan skapel dan dimasukkan ke dalam petridis.

Praperlakuan penyimpanan sampel

Kuncup bunga yang telah dipanen diberi praperlakuan suhu rendah. Kuncup bunga disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4°C dengan interval waktu yang berbeda (0 Jam, 24 jam, 48 jam dan 72

jam). Selanjutnya, kuncup bunga yang telah disimpan disterilkan dengan NaOCl (Clorox) 15% ditambah 5 tetes *Tween 20* selama 20 menit, kemudian dibilas dengan air aquades steril sebanyak 3 kali.

Kuncup bunga steril dilepaskan dari tangkainya dengan menggunakan skapel. Selanjutnya mahkota bunga dibuka dan antera cabai yang berwarna hijau atau keunguan dilepas satu persatu dengan menggunakan pinset dan skapel, kemudian antera ditanam pada media MS+4 ppm NAA + 1 ppm BAP. Setiap botol kultur berisi 1 antera. Setiap perlakuan terdiri dari 34 botol sehingga terdapat 136 botol percobaan.

Antera yang telah ditanam pada botol kultur diinkubasi dalam gelap selama 8 hari dengan cara menutup botol-botol yang berisi antera menggunakan kain berwarna hitam (Dumas de Vaulx et al., 1981), lalu inkubasi dilanjutkan dalam kondisi terang dengan pencahayaan hingga berumur 60 hari.

Pengamatan dan analisis data statistik

Pengamatan dilakukan setiap hari setelah inisiasi hingga berumur 8 minggu. Pengamatan dilakukan terhadap persentase hidup, persentase pembentukan kalus, waktu kemunculan kalus, warna kalus, dan bentuk kalus.

Semua pengamatan dilakukan pada/hingga umur 8 MST.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplan antera yang dikultur secara *in vitro* menunjukkan respon pertumbuhan 3 hari setelah kultur. Eksplan antera yang mulanya berwarna ungu berubah menjadi ungu pucat, kehijauan hingga kuning yang diiringi dengan pembengkakan dan merekahnya dinding antera pada beberapa eksplan.

Persentase Hidup

Praperlakuan suhu dingin pada kultur anter dengan interval waktu yang berbeda menurunkan persentase hidup, tetapi meningkatkan persentase pembentukan kalus (Tabel 1).

Persentase Pembentukan Kalus

Persentase pembentukan kalus tertinggi diperoleh pada lama praperlakuan dingin 24 dan 72 jam, yaitu 50%, sedangkan eksplan tanpa praperlakuan dingin (kontrol) hanya mampu menginduksi kalus sebesar 38.24% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa praperlakuan dingin dapat meningkatkan persentase pembentukan kalus. Hasil yang sama juga dinyatakan Dewi & Dwimahyani (2001), bahwa perlakuan stres dingin pada antera cabai selama 3 hari pada suhu 4°C sebelum diinduksi ternyata dapat meningkatkan pembentukan kalus. Popova et al., (2016) juga melaporkan praperlakuan dingin selama 24

jam pada 18 genotipe cabai, berhasil menginduksi kalus pada 16 genotipe dan hanya 2 genotipe yang tidak membentuk kalus. Ciner & Tipirdamaz (2002) membandingkan tanaman yang diberi praperlakuan dingin terhadap tanaman kontrol, dan hasilnya menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan kalus, walaupun tidak terdapat pengaruh yang nyata antar lama praperlakuan. Analisis histologi kultur antera *Solanum carolinense* (Reynolds, 1984) menunjukkan bahwa butiran serbuk sari androgenik adalah satu-satunya sel yang membelah dari eksplan, oleh karena itu, dapat dikonfirmasi bahwa kalus berasal dari serbuk sari.

Tabel 1. Praperlakuan dingin kultur antera 8 MST

Praperlakuan (jam)	Hidup (%)	Pembentukan Kalus (%)
0	100	38,24
24	70,59	50
48	58,82	41
72	35,29	50

Ada beberapa penjelasan yang mungkin, untuk keuntungan yang diberikan oleh praperlakuan suhu rendah ini. Pertama, pengaruh praperlakuan dingin menyebabkan degradasi tapetum sebelum spora membelah. Hal ini mengganggu tahap perkembangan normal mikrospora dan menginduksi pelepasan mikrospora di lokul antera dengan nutrisi cairan yang lebih banyak (Sunderland et al., 1984). Kedua, bahwa praperlakuan

dingin memperlambat metabolisme, sehingga menekan jalur gametofit yang normal dan memicu pembelahan sporofitik (Lazar et al., 1985; Wang et al., 2000). Kedua hal tersebut membuktikan bahwa pengaruh tekanan pada suhu rendah memiliki peran dalam respons kultur antera (Zheng, 2003; Ziauddin & Kasha, 1990). Ini memperkuat pernyataan Morrison et al., (1986) dan Supena et al., (2006) yang menyatakan bahwa praperlakuan dingin pada kuncup bunga sebelum memisahkan antera untuk dikulturkan, dapat merangsang respons androgenesis pada cabai. Respons androgenesis tersebut dapat berupa pembentukan embrio atau pertumbuhan kalus (Bhatia, 2015; Dumas de Vaulx et al., 1981).

Stimulasi induksi embrio dengan memberikan kejutan suhu sangat penting, terutama pada genotipe dengan respons yang buruk. Namun, Vagera & Havránek, (1985) melaporkan tidak ada pengaruh yang signifikan dari praperlakuan dingin kuncup bunga dalam meningkatkan pembentukan embrio, tetapi berhasil menginduksi kalus dari eksplan yang digunakan. Secara umum, ketika terjadi inisiasi kalus, maka induksi embrio somatik tidak terjadi (Binzel et al., 1996).

Persentase pembentukan kalus juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh

yang ditambahkan ke dalam media kultur. Rasio antara zat pengatur tumbuh dari luar dengan hormon yang diproduksi tanaman (endogen) akan menentukan arah perkembangan kultur dan tipe pembentukan organnya. Dalam penelitian ini digunakan media MS yang diberikan penambahan akusin NAA 4 ppm dan sitokinin BAP 1 ppm. (Park et al., 1992) mengobservasi bahwa pembentukan kalus terjadi ketika sitokinin dikombinasikan dengan *α-naphthaleneacetic acid* (NAA).

Auksin biasanya berperan dalam pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ serta inisiasi akar. Sementara sitokinin berperan dalam pengaturan pembelahan sel, jaringan dan organogenesis. Fase pembentukan tunas dan akar dari kalus (organogenesis), biasanya akan menginduksi pembentukan tunas pada eksplan secara langsung (Hoesen et al., 2008).

Waktu Kemunculan Kalus

Persentase waktu kemunculan kalus selama 4 MST pada Tabel 2 memperlihatkan bahwa perlakuan lama penyimpanan 72 jam merupakan perlakuan dengan kemunculan kalus tercepat dan terbanyak. Kalus terus mengalami peningkatan kemunculan yang dimulai pada minggu ke-2 dan pada minggu ke-4 total kemunculan kalus telah

mencapai 47,06 %, atau tertinggi dari semua perlakuan. Ini membuktikan bahwa pemberian stres dingin selama tiga hari mampu meningkatkan frekuensi pembentukan kalus (Dewi & Dwimahyani, 2001). Hal ini diduga bahwa pada praperlakuan penyimpanan suhu dingin (rendah) kelangsungan hidup embriogenesis serbuk sari menjadi lebih besar dibandingkan tanpa perlakuan suhu rendah sehingga pada saat dikulturkan eksplan segera dapat beradaptasi pada media dan dapat tumbuh dengan baik. Praperlakuan suhu rendah (4 °C) dapat memicu jalur gametofitik menjadi induksi ke jalur sporofitik, karna selama perlakuan suhu rendah perlahan mikrospora berkembang membentuk embrio yang mana seharusnya berkembang membentuk polen yang masak (Arjunappa et al., 2016)

Tabel 2. Kemunculan Kalus selama 4 Minggu Setelah Kultur dengan Lama Praperlakuan Berbeda

Pengamatan (Minggu)	Lama Praperlakuan Dingin (Jam)			
	0	24	48	72
M1	-	-	-	-
M2	11,76 %	2,94 %	0,00 %	14,71 %
M3	11,76 %	14,71 %	14,71 %	38,24 %
M4	14,71 %	20,59 %	23,53 %	47,06 %

Pertumbuhan antera terus terjadi sampai antera menghasilkan kalus, yaitu pada 3-4 minggu setelah dikulturkan. Pertumbuhan kalus ditandai dengan

pecahnya kelopak antera cabai yang diakibatkan oleh hasil pembelahan sel-sel mikrospora cabai yang tumbuh menjadi massa sel. Hasil ini mirip dengan yang dilaporkan Dewi & Dwimahyani (2001) yang mendapatkan kalus 3-4 minggu setelah dikulturkan.

Hasil dari semua perlakuan yang diuji pada genotipe lokal cabai, semua genotipe berhasil menumbuhkan kalus, ini berarti bahwa genotipe lokal tersebut merupakan genotipe yang responsif apabila dikulturkan. Hal lain yang mempengaruhi adalah tahap perkembangan mikrospora Ciner & Tipirdamaz (2002) mengatakan bahwa tahap perkembangan mikrospora di dalam antera merupakan faktor penting untuk keberhasilan kultur antera. Kuncup bunga yang dipilih untuk penelitian ini adalah kuncup yang mempunyai panjang kelopak dan mahkota yang sama panjang, yang merupakan ukuran terbaik untuk induksi dan regenerasi kalus cabai (Lantos et al., 2009) dan paling sesuai untuk inisiasi androgenesis pada cabai (Nowaczyk et al., 2009). Kuncup bunga yang dipisahkan bersama kelopak dan mahkota bunga yang sama panjang, serta mengandung mikrospora pada tahap pertama mitosis pollen, dapat menghasilkan tanaman haploid lebih banyak pada cabai (Dumas de Vault et al., 1981).

Hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan bahwa kalus banyak didapatkan dari antera yang mengalami pembengkakan dan merekahnya dinding antera pada bagian tengah belahan antera. Banyaknya antera yang bengkak dan merekah ini meningkatkan jumlah pembentukan kalus. Antera ini berasal dari sumber antera yang berwarna hijau keunguan dan bagian belahan antera sedikit terbuka/merekah. Hegde et al., (2017) dan Mangal & Srivasatava (2019) menyatakan bahwa tahap terbaik untuk menginduksi androgenesis pada cabai, adalah ketika antera berwarna hijau dengan sedikit pigmentasi ungu di ujung apikal. Warna ungu pada antera merupakan tingkat dari pigmen antosianin yang terdapat di dalam antera, dan biasanya digunakan sebagai penanda yang dapat diandalkan untuk mengidentifikasi tahap optimum dalam perkembangan mikrospora (Kim et al., 2008).

Warna dan Bentuk Kalus

Gambar 2 menunjukkan bahwa antera yang mengalami pembengkakan dan bagian tengah belahan antera yang merekah terlihat jelas berwarna kuning seiring bertambahnya ukuran antera.

Pada ujung tempat melekatnya tangkai anter atau bagian tengah antera yang merekah akan terbentuk kalus, kalus yang muncul berukuran kecil kemudian

akan semakin berkembang dan antera semakin lama semakin menciut serta kering. Hal ini sejalan dengan teori apotopsis dimana akan terjadi kematian sel untuk menyokong sel lain yang sedang berkembang. Pengamatan (Widiastuti et al., 2014) terhadap perkembangan antera cabai rawit selama kultur menunjukkan antera yang semula berwarna kekuningan beberapa hari kemudian antera mulai mengalami pembesaran ukuran dan pada minggu ketiga mulai terdapat antera yang pecah. Praperlakuan dingin diduga menunda proses degradasi di epidermis antera dan membran endotelium yang membuat mikrospora terjaga dari senyawa beracun yang dilepaskan ketika antera membusuk (Duncan & Heberle, 1976), sehingga terekspresi menjadi induksi kalus (Ardakani et al., 2015). Selain itu, interaksi auksin dan sitokinin menyebabkan sel mikrospora mengalami pembesaran dan pembelahan sel sehingga mikrospora dapat berkembang dengan baik. Saat dinding antera pecah, mikrospora menyebar pada media dan pada perkembangan selanjutnya, mikrospora ini berkembang menjadi kalus atau embrio (Sunderland & Xu, 1982)

(Jam)	kekuningan keruh			
0	23,53	2,94	5,88	5,88
24	29,41	2,94	11,76	5,88
48	35,29	2,94	2,94	0,00
72	29,41	17,65	0,00	2,94
Total	117,65	26,47	20,59	14,71

Secara umum warna kalus yang terbentuk berwarna putih, putih kekuningan, kuning keruh dan kecoklatan (Tabel 3). Pada semua perlakuan rata-rata menghasilkan kalus yang berwarna putih lebih banyak sekitar 23,53-35,29 %. Kalus berwarna putih berasal dari jaringan eksplan yang responsif dan terus mengalami pertumbuhan yang pesat sejak muncul pada umur 2 MST sampai 4 MST. Pada minggu pertama kalus yang muncul akan berwarna putih hingga umur 3 minggu setelah kemunculan kalus, setelah itu kalus yang berwarna putih akan berwarna putih kekuningan seiring bertambahnya ukuran kalus. Bentuk kalus secara umum berstruktur kompak untuk semua perlakuan yang diuji (Tabel 4). Meskipun pada awal kemunculan beberapa kalus seperti terlihat remah namun dalam beberapa hari kalus yang terlihat remah menjadi berstruktur kompak hingga 8 MST. Hasil ini mirip dengan yang dilaporkan Muswita (2011) dan Wang et al., (1973) yang menghasilkan warna kalus putih kekuningan dan bertekstur kompak. Tipe kalus berwarna putih kekuning-kuningan dan kompak ini

Tabel 3. Warna Kalus Cabai dengan Lama Praperlakuan Berbeda

Lama Penyimpanan	Warna Kalus (%)		
	Putih	Putih Kuning	Kecoklatan

bersifat embriogenik dan mempunyai kemampuan untuk beregenerasi dan selanjutnya membentuk spot hijau (Dewi & Dwimahyani, 2001).



Gambar 1. Bentuk Antera Cabai (a) Bentuk awal antera saat inisiasi dengan bagian tengah belahan antera sedikit terbuka, (b) Antera bengkak dan merekah dengan bagian tengah belahan antera berwarna kuning, (c) Antera muncul pada bagian ujung antera yang merekah dan antera mulai mengering

Warna putih kekuningan ini menunjukkan bahwa kalus yang didapatkan merupakan kalus organogenik (*organogenic callus*), yang dibuktikan dengan respon kalus yang terus mengalami pertambahan ukuran dan massa sel kalus serta bersifat embriogenik, sehingga dapat digunakan untuk regenerasi berikutnya (Savaşkan et al., 1999). Seiring bertambahnya umur, kalus muda yang berwarna putih akan berubah menjadi kehijauan, seperti yang didapatkan (Wang et al., 1973) pada hari ke-33.

Tabel 4. Bentuk Kalus Cabai dengan Lama Praperlakuan Berbeda

Lama Penyimpanan (Jam)	Bentuk Kalus	
	Remah	Kompak
0	-	38,24 %
24	-	50,00 %
48	-	41,18 %
72	-	50,00 %

Pada pengamatan dijumpai antera yang tidak membesar atau tidak pecah meskipun telah diinkubasi selama sepuluh minggu. Beberapa penyebab pollen gagal membentuk kalus ini adalah karena aborsi dini pollen, dan bahkan dalam beberapa situasi, pollen mulai membelah dan memproduksi kalus, tetapi nekrosis atau kematian sel terjadi sangat dini pada proliferasi kalus (Mayakaduwa & Silva, 2018). Selain itu ada juga antera yang membesar namun tidak pecah, hal ini disebabkan perkembangan mikrospora di dalam antera tidak cukup kuat untuk mendorong dinding antera sehingga tidak mampu membuat dinding antera pecah. Mikrospora di dalam antera mengalami perkembangan namun pada beberapa antera terjadi perubahan warna menjadi kecoklatan (*browning*) yang menunjukkan kematian sel dinding antera. Serupa dengan yang dilaporkan Ercan et al., (2006), kalus yang menunjukkan abnormalitas pada antera cabai, sehingga tidak berkembang lebih lanjut, dan secara gradual menjadi kecoklatan. Pada tahap selanjutnya, kalus tersebut mati (Nowaczyk et al., 2009).

SIMPULAN

Praperlakuan dingin dengan lama penyimpanan antera 72 jam adalah yang paling optimal dalam mempercepat tahap

perkembangan kultur antera dan menginduksi pembentukan kalus cabai merah keriting (*Capsicum annuum* L.) pada genotipe lokal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardakani, M. D., Shariatpanahi, M. E., Kafi, M., Kermani, M. J., & Moghadam, M.-R. F. (2015). Microspore Embryogenesis and Haploid Production in Tetraploid Rose Cultivars (*Rosa hybrida* L.) Using Anther and Shed Microspore Culture. *EC Agriculture 2.4*, 413–425. <https://doi.org/10.1177/145507259801500106>
- Arjunappa, H. M., Sateesh, K. P., Rajesh, B., & Premalatha, D. (2016). EFFECT OF GENOTYPE, PRE COLD TREATMENT AND MEDIA ON ANDROGENESIS OF RICE (*ORYZA SATIVA* L.). *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 6(2), 139–144.
- Bhatia, S. (2015). Plant Tissue Culture. In *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9>
- Binzel, M. L., Sankhla, N., Joshi, S., & Sankhla, D. (1996). Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Reports*. <https://doi.org/10.1007/BF00232989>
- Ciner, D. O., & Tipirdamaz, R. (2002). The Effects of Cold Treatment and Charcoal on the In Vitro Androgenesis of Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turkish Journal of Botany*, 26, 131–139.
- Dewi, A. K., & Dwimahyani, I. (2001). Pembentukan Kalus dan Spot Hijau dari Kultur Antera Galur Mutan Cabai Keriting (*Capsicum annuum* L) secara in Vitro. *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian Dan Pengembangan Aplikasi Isotop Dan Radlasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional*.
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveria, E., & Huerta, A. (1997). Androgenesis in *Capsicum annuum* L. - Effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. <https://doi.org/10.21273/jashs.122.4.468>
- Dumas de Vault, R., Chammbonnet, D., & Pochard, E. (1981). Culture in vitro d'anthers de piment (*Capsicum annuum* L.) : amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35 °C. *Agronomie*. <https://doi.org/10.1051/agro:19811006>
- Duncan, E. J., & Heberle, E. (1976). Effect of temperature shock on nuclear phenomena in microspores of *Nicotiana tabacum* and consequently on plantlet production. *Protoplasma*. <https://doi.org/10.1007/BF01276486>
- Ercan, N., Sensoy, F. A., & Sirri Sensoy, A. (2006). Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.06.007>
- George, L., & Narayanaswamy, S. (1973). Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. *Protoplasma*. <https://doi.org/10.1007/BF01275781>
- Germanà, M. A. (2011). Anther culture for haploid and doubled haploid production. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z>
- Hegde, V., Partap, P. S., Yadav, R. C., & Baswana, K. S. (2017). In vitro Androgenesis in *Capsicum* (*Capsicum annuum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.102>
- Hoesen, D., Witjaksono, W., & Sukamto, L. (2008). INDUKSI KALUS DAN ORGANOGENESIS KULTUR IN VITRO *Dendrobium lineale* Rolfe. *Berita Biologi*. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v9i3.790>
- Irikova, T., Grozeva, S., Popov, P., Rodeva, V., & Todorovska, E. (2011). In vitro response of pepper anther culture (*Capsicum annuum* L.) depending on genotype, nutrient medium and duration of cultivation. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. <https://doi.org/10.5504/bbeq.2011.0090>
- Kim, M., Jang, I. C., Kim, J. A., Park, E. J., Yoon, M., & Lee, Y. (2008). Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Reports*. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0442-4>

- Koleva-Gudeva, L. R., Spasenoski, M., & Trajkova, F. (2007). Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.013>
- Kuo, J.-S., Wang, Y., Chien, N., Ku, S., & Hsu, H. (1973). Investigations on the anther culture in vitro of *Nicotiana tabacum* L. and *capsicum annuum* L. *Acta Botanica Sinica*, 33–46.
- Lantos, C., Juhász, A. G., Somogyi, G., Ötvös, K., Vági, P., Mihály, R., Kristóf, Z., Somogyi, N., & Pauk, J. (2009). Improvement of isolated microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of pepper or wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9527-9>
- Lazar, M. D., Schaeffer, G. W., & Baenziger, P. S. (1985). The Physical Environment in Relation to High Frequency Callus and Plantlet Development in Anther Cultures of Wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Chris. *Journal of Plant Physiology*. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(85\)80034-1](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80034-1)
- Mangal, M., & Srivasatava, A. (2019). Exploitation of morphological features of bud and anther development for prediction of stages of microsporogenesis and microgametogenesis in pepper. *Exploitation of Morphological Features of Bud and Anther Development for Prediction of Stages of Microsporogenesis and Microgametogenesis in Pepper*, 57(May), 368–371.
- Mayakaduwa, D. M. R. G., & Silva, T. D. (2018). Anther Culture as a Supplementary Tool for Rice Breeding. In *Rice Crop - Current Developments*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76157>
- Mitykó, J., Andrásfalvy, A., Csilléry, G., & Fári, M. (1995). Anther-culture response in different genotypes and F1 hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Breeding*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb00764.x>
- Morrison, R. A., Koning, R. E., & Evans, D. A. (1986). Anther Culture of an Interspecific Hybrid of *Capsicum*. *Journal of Plant Physiology*, 126(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(86\)80210-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(86)80210-3)
- Muswita. (2011). Induksi Kalus Cabai (*Capsicum annuum* L.) secara in vitro (Induction. *Biospecies*, 4, 6–10.
- Nowaczyk, P., Nowaczyk, L., Olszewska, D., & Krupska, A. (2009). Androgenic response of genotypes selected from *Capsicum annuum* L. × *C. chinense* Jacq. hybrids. In *Acta Physiologiae Plantarum*. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0315-2>
- Olszewska, D., Kisiala, A., Niklas-Nowak, A., & Nowaczyk, P. (2014). Study of in vitro anther culture in selected genotypes of genus *Capsicum*. *Turkish Journal of Biology*. <https://doi.org/10.3906/biy-1307-50>
- Özkum, D., Tipirdamaz, R., & Ellialtioglu, S. (2001). The relationship between the endogenous abscisic acid content of anthers and in vitro androgenesis in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Acta Horticulturae*. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.560.63>
- Ozsan, T., & Onus, A. (2017). In vitro Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anther Culture: Can be Affected Via Vitamins B? *Biotechnology Journal International*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.9734/bji/2017/37102>
- Park, H., Choi, K., & Lee, D. (1992). Effect of explants and growth regulators on somatic embryogenesis and adventitious organogenesis in *Capsicum annuum* L. *Hortscience*, 27, 618.
- Parra-Vega, V., Renau-Morata, B., Sifres, A., & Seguí-Simarro, J. M. (2013). Stress treatments and in vitro culture conditions influence microspore embryogenesis and growth of callus from anther walls of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0242-6>
- Kementerian Pertanian. (2018). *Produksi Cabai Besar Menurut Provinsi, Tahun 2014-2018* (Vol. 2018).
- Popova Irikova, T., Kintzios, S., Grozeva, S., & Rodeva, V. (2016). Pepper (*Capsicum annuum* L.) anther culture: Fundamental research and practical applications. *Turkish Journal of Biology*, 40(4), 719–726. <https://doi.org/10.3906/biy-1506-79>
- Popova, T., Grozeva, S., Todorova, V., Stankova, G., Anachkov, N., & Rodeva, V. (2016). Effects of low temperature, genotype and culture media on in vitro androgenic answer of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(11). <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2294-4>
- Reynolds, T. L. (1984). Callus Formation and Organogenesis in Anther Cultures of *Solanum carolinense* L. *Journal of Plant*

- Physiology*. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(84\)80029-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(84)80029-2)
- Roshany, G., Kalantarai, S., Naderi, R., & Hassani, M. . (2013). Callus formation via anther culture in *Capsicum annuum* L. with differences in genotypes, media and incubation temperature. *Technical Journal of Engineering and Applied Science*, 3(Special), 3847–3853.
- Savaşkan, Ç., Szarejko, I., & Toker, M. C. (1999). Callus production and plant regeneration from another culture of some Turkish Barley cultivars. *Turkish Journal of Botany*.
- Sunderland, N., Huang, B., & Hills, G. J. (1984). Disposition of pollen in situ and its relevance to anther/pollen culture. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/35.4.521>
- Sunderland, N., & Xu, Z. H. (1982). Shed pollen culture in *Hordeum vulgare*. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/33.5.1086>
- Supena, E. D. J., Suharsono, S., Jacobsen, E., & Custers, J. B. M. (2006). Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Reports*. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0028-y>
- Vagera, J., & Havránek, P. (1985). In vitro induction of androgenesis in *Capsicum annuum* L. and its genetic aspects. *Biologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1007/BF02894626>
- Wang, M., Van Bergen, S., & Van Duijn, B. (2000). Insights into a key developmental switch and its importance for efficient plant breeding. In *Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1104/pp.124.2.523>
- Wang, Y., Sun, C., Wang, C., & Chien, N. (1973). The induction of the pollen plantlets of triticale and *Capsicum annuum* from anther culture. *Scientia Sinica*, XVI, 147–151. <https://doi.org/10.1360/ya1973-16-1-147>
- Widiastuti, I. C. ., Wahyuni, D. ., & Purnobasuki, H. (2014). Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Kinetin dan IBA terhadap Kultur Antera Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi*, 1-8.
- Zheng, M. Y. (2003). Microspore culture in wheat (*Triticum aestivum*) - Doubled haploid production via induced embryogenesis. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1023/A:1023076213639>
- Ziauddin, A., & Kasha, K. J. (1990). Long-term callus cultures of diploid Barley (*Hordeum vulgare*). I. Auxin effects on culture initiation and maintenance. *Euphytica*. <https://doi.org/10.1007/BF00037197>