

Research Article



Perbedaan Pengaruh *2,4-Dichlorophenoxyacetic acid* dan *Salicylic Acid* Terhadap Produksi Biomassa Kultur Suspensi Sel *Zingiber officinale* var. *Rubrum*

Frida Kunti Setiowati*, Nina Aulia Rahmah Permatasari

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Malang, East Java, Indonesia

Email: frida.fmipa@um.ac.id*

Penerbit	ABSTRACT
Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang PGRI Kediri	<p>Optimizing the type of growing substance for red ginger cell suspension culture needs to be done because of the limitations of field-scale red ginger production. This study compares the effects of 2,4-D and salicylic acid separately on red ginger cell suspension cultures. The research was carried out using experimental methods. The second subculture of the red ginger cell suspension, whose growth curve was known, was given 2,4D and salicylic acid separately at 1, 2, and 3 ppm concentrations in Murashige & Skoog basal medium. This study revealed that a 3 ppm concentration of 2,4-D was more effective than salicylic acid in increasing wet weight, dry weight, and settled cell volume.</p> <p>Key words: red ginger, cell suspension, 2,4D, salicylic acid.</p>
	ABSTRAK
	<p>Optimasi jenis zat tumbuh untuk kultur suspensi sel jahe merah perlu dilakukan karena keterbatasan produksi jahe merah skala lapang. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh 2,4D dan asam salisilat secara terpisah terhadap kultur suspensi sel jahe merah. Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimen. Subkultur kedua suspensi sel jahe merah yang telah diketahui kurva pertumbuhannya diberi 2,4D dan asam salisilat secara terpisah dengan konsentrasi 1,2, dan 3 ppm pada medium cari MS basal. Penelitian ini mengungkapkan bahwa 3 ppm konsentrasi 2,4D lebih efektif dibandingkan asam salisilat dalam meningkatkan berat basah, berat kering, dan Settled Cell Volume.</p> <p>Kata kunci: jahe merah, suspensi sel, 2,4D, asam salisilat.</p>

PENDAHULUAN

Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) merupakan salah satu tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi dan manfaat yang tinggi dalam mengatasi berbagai gangguan kesehatan. Nama jahe merah mengacu pada warna ungu kemerahan yang sebagian disebabkan oleh akumulasi antosianin pada rimpang jahe (George et al., 2022). Rimpang jahe merah mengandung senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan varietas jahe biasa (*Zingiber officinale* Roscoe) dan jahe putih kecil (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) (Eritja, 2014, Juariah et al., 2024). Senyawa 6-gingerol dan 6-shogaol terutama bermanfaat sebagai antioksidan dan anti-inflamasi (Hendra et al., 2022), antibakteri dan anti tumor (Shaukat et al., 2023). Senyawa golongan flavonoid dan fenolik bermanfaat sebagai antioksidan (Aini Dania et al., 2024; Rukhayyah et al., 2022). Selain itu minyak esensial zingiberene berkontribusi pada

kualitas aromatik dan terapeutik (Batubara et al., 2023). Beragam kandungan senyawa aktif pada jahe merah menjadikannya sebagai bahan baku potensial dalam industri obat-obatan, kosmetik dan makanan.

Tingginya permintaan akan bahan baku jahe merah, terutama untuk keperluan farmasi dan pangan fungsional, mendorong pengembangan teknik produksi yang lebih efisien dan berkelanjutan. Budidaya jahe merah secara konvensional memiliki resiko tinggi terhadap patogen *Phythium* spp. dan *Ralstonia solanacearum* penyebab busuk rimpang (Miri, 2020). Selain itu diperlukan waktu yang cukup lama untuk pemanenan, yaitu sekitar 10-15 bulan.

Salah satu pendekatan yang banyak dilakukan untuk memenuhi permintaan pasar yang meningkat adalah melalui kultur suspensi sel, yaitu metode perbanyak sel-sel tanaman dalam medium cair dalam kondisi terkontrol untuk memproduksi biomassa dan senyawa bioaktif. Kultur suspensi sel memiliki keunggulan yaitu waktu pertumbuhan yang lebih cepat. Komposisi medium dan jenis zat pengatur tumbuh akan menentukan keberhasilan kultur suspensi sel (Fidemann et al., 2018). Dengan mengoptimalkan kultur suspensi jahe merah, produksi biomassa dapat dilakukan secara berkelanjutan tanpa bergantung pada ketersediaan tanaman utuh dari lingkungan.

Eksplan kalus jahe merah digunakan sebagai sumber sel yang diinokulasikan dan dikembangkan dalam media cair, yang memungkinkan pembentukan sel-sel baru dapat tumbuh dengan cepat. Pemberian 2,4-D dan asam salisilat sangat penting untuk meningkatkan produksi biomassa sel. 2,4-D merupakan hormon auksin yang dapat merangsang pembelahan sel dan mempercepat pertumbuhan kalus, yang selanjutnya meningkatkan jumlah dan aktivitas sel dalam kultur suspensi (Karami et al., 2023). Asam salisilat yang berfungsi sebagai regulator metabolik, dapat meningkatkan ketahanan sel terhadap stres lingkungan, sehingga dapat memperbaiki aktivitas metabolik dalam sel (Chauhan et al., 2023).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang efektivitas 2,4D dan asam salisilat dalam mengoptimalkan produksi biomassa sel jahe merah dalam kultur suspensi sel. Informasi tersebut diperlukan dalam rangka penyediaan biomassa sel jahe merah untuk keperluan bidang farmasi. Selain itu, informasi tersebut juga dapat digunakan dalam propagasi tanaman jahe merah.

METODE PENELITIAN

Establishment Kultur Suspensi Sel

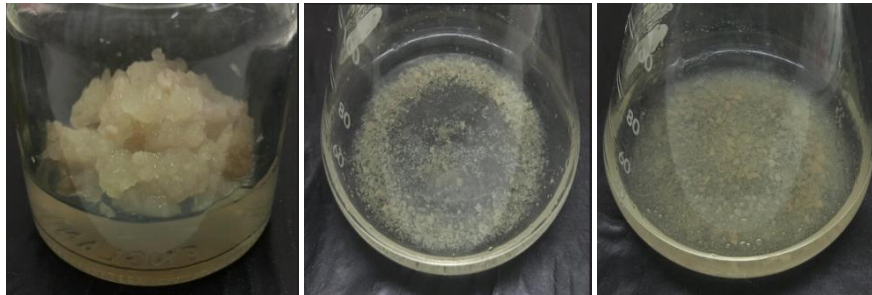
Kalus diinduksi dari eksplan tunas jahe merah yang diperoleh dari petani di daerah Malang Jawa Timur. Kultur suspensi sel dikembangkan dari kalus jahe merah umur 3 minggu. Kalus remah sebanyak 1 g ditransfer secara aseptik ke dalam 25 ml medium cair Murashige & Skoog (MS) basal. Kultur suspensi sel diinkubasi menggunakan *rotary shaker* pada kecepatan 100 rpm, suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pada kondisi terang. Subkultur dilakukan terhadap suspensi sel dengan cara mentransfer 1 g massa sel dari kultur sebelumnya ke dalam 25 ml medium cair MS baru. Kultur suspensi sel hasil multiplikasi selanjutnya akan digunakan pada perlakuan pemberian 2,4D dan asam salisilat.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Kultur

Sebelum dilakukan tahapan pemberian 2,4D dan asam salisilat, terlebih dahulu dibuat kurva pertumbuhan kultur suspensi sel. Pengukuran massa sel metode *Settled Cell Volume* (SCV). Pengukuran SCV dilakukan setiap 3 hari selama 3 minggu sampai pertumbuhan mengalami penurunan. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui umur kultur yang optimum guna memperoleh waktu pemanenan biomassa.

Perlakuan Pemberian 2,4D dan Asam Salisilat

2,4D dan asam salisilat secara terpisah ditambahkan dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 1, 2, 3 ppm ke media kultur suspensi. Medium cair MS tanpa penambahan 2,4D dan asam salisilat digunakan sebagai kontrol. Kultur suspensi sel akan dipanen dan dianalisis pada umur 21 hari untuk mendapatkan kinetika pertumbuhan kultur suspensi sel. Pengaruh pemberian 2,4D dan asam salisilat pada kultur suspensi sel dievaluasi berdasarkan pertumbuhan kultur suspensi sel. Variabel yang diamati biomassa sel yang meliputi berat basah, berat kering, dan *settled cell volume* (Loyola-Vargas & Ochoa-Alejo, 2012).



Gambar 1. Inisiasi dan pemeliharaan kultur suspensi sel jahe merah. tunggal, a) jahe merah, b) kalus jahe merah, b) kultur suspensi sel umur 0 hari, c) kultur suspensi sel umur 21 hari.

Analisis Data

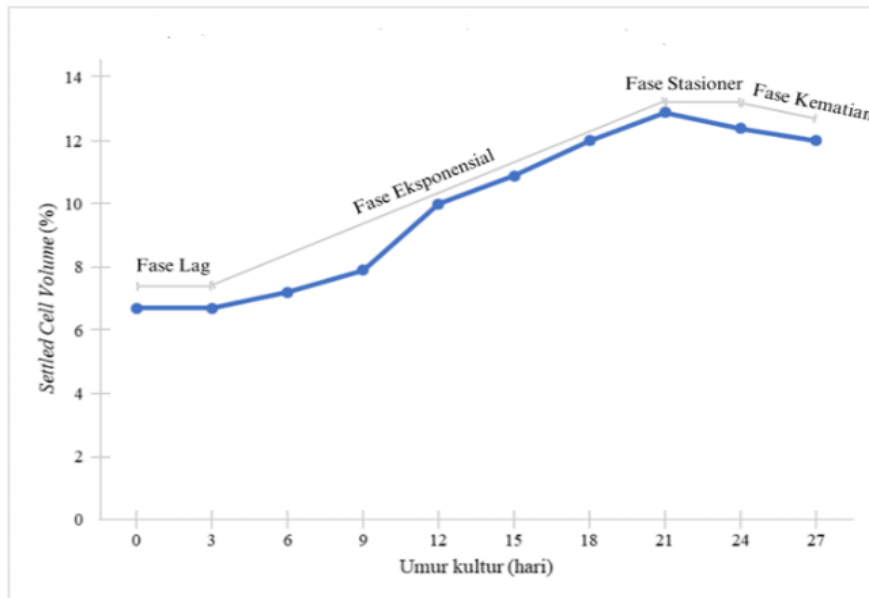
Data berupa berat basah, berat kering, dan *settled cell volume* dianalisis hasil perlakuan penambahan 2,4D dan asam salisilat dianalisis terpisah. Setiap data dianalisis dengan Analisis Ragam ANAVA yang dilanjutkan Uji Duncan dengan taraf 5%. Data disajikan dalam bentuk grafik agar dapat diinterpretasikan secara mudah efek 2,4D dan asam salisilat.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Kalus *friable* jahe merah dengan warna putih kekuningan digunakan untuk inisiasi kultur suspensi sel. Kalus *friable* memungkinkan massa sel lebih mudah terdispersi ketika dimasukkan ke dalam medium cair. Dispersi sel yang baik diperlukan dalam kultur suspensi sel, karena mendukung homogenitas dan pertumbuhan sel secara optimal dalam medium (Tsolmon et al., 2020) Inisiasi dilakukan dengan memindahkan kalus ke dalam medium cair MS. Pada kultur suspensi umur 0 hari, kalus yang dipindahkan masih berupa agregat sel dengan granula yang agak besar. Agregat sel perlahan hancur membentuk remahan sel yang berwarna kuning pucat dan menjadi seragam pada umur kurang lebih tiga minggu. Metode *Settle Cell Volume* (SCV) digunakan untuk mengukur pertumbuhan suspensi sel, yaitu dengan mencatat jumlah fraksi sel yang terendapkan setiap tiga hari sekali selama 27 hari.

Kurva pertumbuhan kultur suspensi sel jahe merah menunjukkan pola pertumbuhan sigmoid. Pola tersebut diawali dengan fase lag. Pada fase ini sel mulai membelah, kemudian diikuti oleh fase eksponensial, yang ditandai dengan laju pembelahan sel maksimum dan diakhiri dengan fase stasioner, yaitu sel berhenti mengalami pembelahan (Gambar 1). Fase lag ditunjukkan pada kultur suspensi sel awal hingga hari ke-6. Fase pertumbuhan terjadi mulai hari ke-6 hingga hari ke-21. Pada inkubasi hari ke-21, terjadi peningkatan fraksi sel sekitar 2 kali lipat. Fase stasioner terjadi sekitar hari ke-21 hingga

ke-24. Setelah hari ke-24, secara bertahap terjadi penurunan massa sel. Berdasarkan kurva pertumbuhan yang diperoleh, pemanenan biomassa sel dilakukan pada kultur suspensi berumur 3 minggu, yaitu pada akhir fase pertumbuhan eksponensial atau sebelum kultur memasuki fase stasioner. Pengukuran pertumbuhan kultur suspensi sel sangat penting untuk memastikan reproduktifitas kultur suspensi sel.



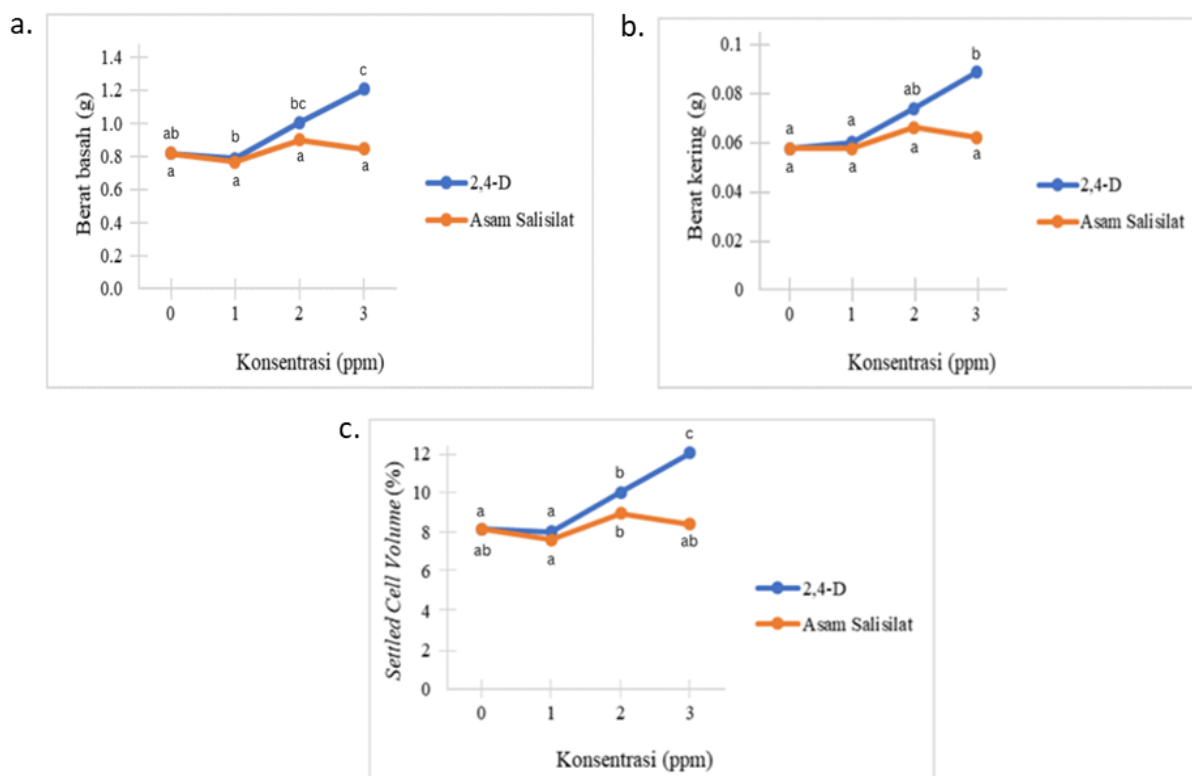
Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Kultur Suspensi Sel Jahe Merah

Eksplan kalus jahe merah dapat meningkatkan biomassa sel dalam kultur suspensi, terutama karena kondisi pertumbuhan yang dioptimalkan dan pemilihan eksplan yang tepat. Kalus yang berasal dari tunas jahe merah menghasilkan akumulasi biomassa dan kinetika pertumbuhan ketika dikultur dalam kondisi tertentu. Pemberian 2,4-D dan asam salisilat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan sel yang meliputi berat basah, berat kering, dan *Settled Cell Volume* (SCV), memberikan pola respons yang berbeda terhadap peningkatan konsentrasi kedua senyawa (Gambar 2).

Gambar 2a menunjukkan pengaruh konsentrasi 2,4-D dan asam salisilat terhadap berat basah. Secara keseluruhan, berat basah meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi kedua senyawa. Pada perlakuan 2,4-D, berat basah cenderung meningkat secara signifikan, dengan nilai tertinggi sekitar 1,21 g pada konsentrasi 3 ppm. Sebaliknya, asam salisilat juga meningkatkan berat basah, tetapi dengan pola yang lebih lambat, dan hasil tertinggi terlihat pada konsentrasi 2 ppm, yaitu sekitar 0,9 g. Pemberian 2,4-D menunjukkan pengaruh yang lebih besar terhadap peningkatan berat basah pada semua konsentrasi. Penelitian yang telah berhasil dilakukan terhadap peningkatan biomassa sel antara lain pemberian 1 mg/L 2,4-D dan 5 mg/L 2-iP ditemukan paling efektif untuk meningkatkan akumulasi biomassa pada kultur suspensi kurma (*Phoenix dactylifera* L.) (Al-Khayri & Naik, 2022) dan pemberian 4,52 μ M 2,4-D secara signifikan meningkatkan berat basah dan kering biomassa pada kultur suspensi sel *Capsicum annuum* cv. Etna (ALVES DOS SANTOS & SOUZA, 2019)

Pola yang sama juga terlihat pada berat kering yang dihasilkan (Gambar 2b). Peningkatan konsentrasi 2,4-D menghasilkan berat kering tertinggi sebesar 0,08 g pada konsentrasi 3 ppm, dengan perbedaan yang signifikan antar konsentrasi. Sebaliknya, asam salisilat lebih stabil tanpa peningkatan

yang signifikan, dengan berat kering tertinggi pada konsentrasi 2 ppm, yaitu 0,063 g. Sementara itu, pada *Settled Cell Volume* (SCV), pemberian 2,4-D juga menunjukkan pengaruh yang lebih besar dibandingkan asam salisilat (Gambar 2c). Semakin bertambahnya konsentrasi 2,4-D, menghasilkan peningkatan prosentase SCV yang signifikan, dengan nilai tertinggi sebesar 12% pada konsentrasi 3 ppm. Sebaliknya, asam salisilat menghasilkan SCV yang cenderung stabil, dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 2 ppm, namun tetap lebih rendah dibandingkan 2,4-D. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa 2,4-D lebih baik dibandingkan asam salisilat dalam meningkatkan berat basah, berat kering, dan SCV, terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi.



Gambar 2. Pengaruh 2,4-D dan asam salisilat terhadap pertumbuhan sel. a) berat basah, b) berat kering, c) *Settled Cell Volume*. Huruf yang sama pada warna grafik yang yang sama menandakan tidak berbeda secara signifikan pada taraf Uji Duncan 5%

Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan, juga berdampak terhadap peningkatan berat basah, berat kering, dan SCV kultur suspensi sel jahe merah. Dalam kultur suspensi jahe merah, 2,4-D mendukung pertumbuhan dengan memperbanyak jumlah sel dan memperbesar ukuran sel, sehingga menghasilkan peningkatan massa sel. 2,4-D memainkan peran penting dalam merangsang pembelahan sel, memperbesar ukuran sel, dan memicu pembentukan kalus (Gatz et al., 2017). Asam salisilat juga berperan dalam peningkatan pertumbuhan sel, baik berat basah, berat kering maupun SCV karena perannya sebagai molekul sinyal penting dalam tanaman yang mengatur berbagai proses fisiologis dan biokimia. Asam salisilat merangsang terjadinya pembelahan dan pembesaran sel dengan mengaktifkan jalur transduksi sinyal serta meningkatkan keseimbangan air dan sintesis protein dalam sel (Li et al., 2022). Asam salisilat juga meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yang membantu mengurangi stres oksidatif sehingga metabolisme sel berjalan lebih optimal (Liang et al., 2023). Selain itu, asam salisilat

juga mendukung regulasi metabolisme primer, seperti sintesis karbohidrat dan protein, yang diperlukan untuk pertumbuhan jaringan, serta metabolisme sekunder yang penting untuk adaptasi dan pertahanan tanaman (Salinas et al., 2024).

Dibandingkan dengan asam salisilat, 2,4-D memiliki pengaruh yang lebih baik dalam mendukung pertumbuhan dan peningkatan biomassa. Hal ini disebabkan karena peran 2,4-D sebagai auksin sintetik yang secara spesifik mengatur proses penting dalam pembelahan dan pembesaran sel, serta metabolisme primer. Sebaliknya, asam salisilat berperan lebih pada peningkatan perlindungan dan pertahanan tanaman, sehingga dampaknya pada biomassa tidak sebesar pada 2,4-D.

SIMPULAN

2,4-D memiliki pengaruh yang lebih besar dibandingkan asam salisilat dalam meningkatkan berat basah, berat kering, dan Settled Cell Volume (SCV). Konsentrasi 2,4-D sejumlah 3 ppm secara signifikan meningkatkan ketiga parameter tersebut. Sebaliknya, asam salisilat memberikan efek yang lebih lambat dan stabil, dengan hasil tertinggi pada konsentrasi 2 ppm, tetapi tetap lebih rendah dibandingkan 2,4-D.

RUJUKAN

- Aini Dania, I., Rusdiana, R., S. Rambe, A., Harahap, U., Effendy, E., & Novziransyah, N. (2024). Active Compounds of Red Ginger as Antioxidant Activity in the Supplementation and Treatment of Depression. *Qubahan Academic Journal*, 4(1), 177–184. <https://doi.org/10.48161/qaj.v4n1a208>
- Al-Khayri, J. M., & Naik, P. M. (2022). Influence of 2iP and 2,4-D Concentrations on Accumulation of Biomass, Phenolics, Flavonoids and Radical Scavenging Activity in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Cell Suspension Culture. *Horticulturae*, 8(8), 683. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080683>
- ALVES DOS SANTOS, M. R., & SOUZA, C. (2019). Effect of 2,4-D and BA on the establishment of cell suspension from nodes and internodes of *Capsicum annum* cv. Etna. *International Journal for Innovation Education and Research*, 7(5), 55–61. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol7.iss5.1460>
- Batubara, I., Badrunanto, -, Wahyuni, W. T., & Farid, M. (2023). Combination of Extraction and Distillation Red Ginger Rhizome on the Composition of Active Compounds and Tyrosinase Inhibitory Activity. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 13(2), 431–437. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.13.2.17606>
- Chauhan, A. P. S., Yadav, S. K., Parihar, C., Sharma, S., Kushwah, N., & Bagri, U. S. (2023). Role of Salicylic Acid in Mitigating Stress and Improving Productivity of Crops. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(22), 579–588. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i224168>
- Fidemann, T., de Araujo Pereira, G. A., Heluy, T. R., Gallego, R. B., Bertão, M. R., da Silva, R. M. G., & Fernández Núñez, E. G. (2018). Handling culture medium composition for optimizing plant cell suspension culture in shake flasks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 133(1), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1368-3>
- Gatz, A., Tomaszewska-Sowa, M., & Figas, A. (2017). Changes accompanying proliferative capacity and morphology of *Nicotiana tabacum* L. callus in response to 2,4-D. *Acta Agrobotanica*, 70(4). <https://doi.org/10.5586/aa.1725>

- Hendra, R. J., Rusdi, R., Asra, R., & Misfadhila, S. (2022). Phytochemical and Traditional Uses of Red Ginger: A Review (*Zingiber officinale* var. *rubrum*). *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(3), 50–55. <https://doi.org/10.36349/easjpp.2022.v04i03.002>
- Karami, O., de Jong, H., Somovilla, V. J., Villanueva Acosta, B., Sugiarta, A. B., Ham, M., Khadem, A., Wennekes, T., & Offringa, R. (2023). Structure–activity relationship of 2,4-D correlates auxinic activity with the induction of somatic embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 116(5), 1355–1369. <https://doi.org/10.1111/tpj.16430>
- Li, A., Sun, X., & Liu, L. (2022). Action of Salicylic Acid on Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.878076>
- Liang, Y., Li, D., Sheng, Q., & Zhu, Z. (2023). Exogenous Salicylic Acid Alleviates NO₂ Damage by Maintaining Cell Stability and Physiological Metabolism in *Bougainvillea × buttiana* ‘Miss Manila’ Seedlings. *Plants*, 12(18), 3283. <https://doi.org/10.3390/plants12183283>
- Loyola-Vargas, V. M., & Ochoa-Alejo, N. (2012). *An Introduction to Plant Cell Culture: The Future Ahead* (pp. 1–8). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-818-4_1
- Miri, S. M. (2020). Micropropagation, Callus Induction and Regeneration of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Open Agriculture*, 5(1), 75–84. <https://doi.org/10.1515/opag-2020-0008>
- Rukhayyah, K. K., Kawareng, A. T., & Sastyarina, Y. (2022). Studi Literatur: Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Menggunakan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 15, 242–245. <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.648>
- Salinas, P., Velozo, S., & Herrera-Vásquez, A. (2024). Salicylic acid accumulation: emerging molecular players and novel perspectives on plant development and nutrition. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae309>
- Shaukat, M. N., Nazir, A., & Fallico, B. (2023). Ginger Bioactives: A Comprehensive Review of Health Benefits and Potential Food Applications. *Antioxidants*, 12(11), 2015. <https://doi.org/10.3390/antiox12112015>
- Tsolmon, M., Oyundari, G., Yu, O., & Senthil, K. (2020). Establishment of callus and cell suspension culture of *Sophora alopecuroides* Linn. for the production of oxymatrine. *Journal of Phytology*, 35–39. <https://doi.org/10.25081/jp.2020.v12.6308>