

## REGENERASI TANAMAN LADA MELALUI KULTUR JARINGAN<sup>1)</sup>

### PLANT REGENERATION OF PEPPER BY TISSUE CULTURE

Deden Sukmadjaja, I. Mariska dan E. Gati

#### ABSTRACT

Tissue culture in papper (*Piper nigrum*) can be used in multiplication of new or introduced varieties and to provide in vitro culture for other research such as protoplast culture. A series culture of lateral buds and leaf tissues. The first experiment was carry out to induce shoot growth and multiplication derived from lateral buds. The explant was planlet on basal media (MS, MS 1/2 and MS 1/4) which was respectively enriched wth the combination of BAP (0.1; 0.5; 1.0; 3.0 and 5.0 mg/l) with IBA (0.1 and 1.0 mg/l). The second experiment was carry out to induce root growth by applying IBA (0.0; 0.1; 0.5; and 1.0 mg/l) and IAA (0.1 and 1.0 mg/l). The third experiment tried to produce planlet from leaf tissues. The tissue was cultured in the media enriched with 2.4 D at the concentration of 1.0; 2.0; 4.0 and 8.0 mg/l and BAP of 0.0; 1.0; 5.0 and 10.0 mg/l. Result showed that MS or MS 1/2 as basal media did not affect the number of shoots produced. The use of BA of 10.0 mg/l tended to inhibit the growth of multiple shoot and leaves of the culture. The application different auxines at different concentrations would affect the growth of roots.

#### RINGKASAN

Kultur jaringan pada tanaman lada (*Piper nigrum* L.) dipakai untuk membantu menyediakan bahan tanaman terutama dari varietas/klon unggul yang baru dilepas atau diintro-duksi serta untuk penyediaan biakan in vitro yang berguna bagi tujuan penelitian kultur jaringan lainnya seperti perbaikan tanaman (melalui kultur dan fusi protoplast). Perlakuan macam media dasar yang terdiri dari MS, MS 1/2 dan MS 1/4 yang ditambahkan kombinasi zat pengatur tumbuh

1) Disampaikan pada Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Bopolimer Untuk Industri  
PAU Bioteknologi IPB, Bogor, 10 - 11 Desember 1991.

2) Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri

BAP (0.1, 0.5, 1.0, 3.0 atau 5.0 mg/l) dengan IBA (0.0, 0.1, 0.5 atau 1.0 mg/l) dan NAA (0.1 atau 1 mg/l) untuk menginduksi dan merangsang pertumbuhan akar. selain itu telah dicobakan pula penggunaan bahan tanaman dari jaringan daun untuk diregenerasikan menjadi tanaman pada media tumbuh yang diperkaya dengan 2.4 D (1.0, 2.0, 4.0 dan 8.0 mg/l) dan BAP (0, 1.0, 5.0 atau 10.0 mg/l). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap jumlah tunas dan daun yang dihasilkan. Penggunaan BA konsentrasi tinggi (10 mg/l) cenderung menghambat pembentukan tunas ganda dan pertumbuhan daun. Penggunaan jenis dan konsentrasi auxin akan mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan akar. Penggunaan IBA cenderung memberikan penampilan akar yang baik dengan jumlah yang cukup banyak dibanding tanpa IBA. Sedangkan penggunaan NAA menghasilkan penampilan akar yang kurang baik (abnormal). Penggunaan jaringan daun sebagai eksplan pada kombinasi BA dan 2.4 D yang dicobakan umumnya dapat membentuk kalus, tetapi masih sukar beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

#### PENDAHULUAN

Tanaman lada (*piper nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman rempah yang mempunyai peranan cukup penting bagi Indonesia. Berbagai upaya telah dilakukan dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman lada. Diantaranya melalui penggunaan varietas dan bahan tanaman (bibit) yang dianjurkan.

Dalam usaha penyediaan bibit. tentunya akan menjadi masalah jika diperlukan bibit dalam jumlah yang banyak dan bebas dari penyakit. Terutama jika diperlukan tanaman dari varietas/klon unggul yang dianjurkan.

Saat ini teknologi kultur jaringan dapat diharapkan peranannya dalam usaha membantu masalah tersebut di atas dengan beberapa keuntungan, antara lain lebih cepat, bebas dari penyakit, hemat dalam pemakaian bahan tanaman dan areal serta tidak tergantung dari musim. Penggunaan teknik kultur jaringan akan lebih dirasakan manfaatnya dalam membantu penyediaan bahan tanaman dari tanaman yang baru diintroduksi atau varietas/klon unggul yang baru dilepas.

Keberhasilan teknik *in vitro* dalam usaha penyediaan bahan tanaman ini salah satunya ditentukan oleh komposisi media tumbuh yang digunakan dalam meregenerasikan organ atau jaringan menjadi tanaman (George dan Sherrington, 1984).

Selain untuk tujuan perbanyakan tanaman teknik kultur jaringan dapat dipakai dalam usaha perbaikan tanaman melalui kultur dan fusi protoplast. Akan tetapi keberhasilan tujuan ini akan tergantung pada beberapa faktor diantaranya kemampuan jaringan tanaman tersebut mempunyai respon untuk beregenerasi menjadi tanaman. Kemampuan tanaman untuk beregenerasi dapat ditentukan oleh media tumbuh yang digunakan, dan hal ini merupakan langkah awal yang cukup penting untuk dipelajari dan diteliti.

Chua dan Thalib (1985) telah melakukan percobaan pada tanaman lada dengan hasil yang terbaik untuk pertunasan adalah media yang diberi BAP 0.1 mg/l dan untuk perakaran media yang mengandung NAA atau senyawa fenol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan organ dan jaringan tanaman lada untuk beregenerasi menjadi tanaman dalam berbagai media tumbuh.

#### BAHAN DAN METODA

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang satu buku dan daun dari tanaman lada varietas Lampung Daun Lebar (LDL).

Sterilisasi eksplan batang satu buku dilakukan berturut-turut dengan menggunakan  $\text{HgCl}_2$  0.2% selama 15 menit, Clorox 20% selama 10 menit dan dibilas dengan akuades steril 3 kali.

Percobaan terdiri dari tiga macam, yaitu percobaan I, II dan III.

### Percobaan I

Percobaan I dilakukan untuk mengetahui pengaruh media dasar dan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA terhadap eksplan batang satu buku.

Perlakuan media dasar yang dicobakan adalah komposisi garam makro MS dan modifikasi dari konsentrasinya (MS 1/2 dan MS 1/4). Ketiga media dasar yang dicobakan tersebut ditambahkan vitamin group B dan gula 30 g/l. Media dibuat padat dengan menambahkan agar Oxoid 7.4 g/l, pH media dibuat antara 5.5 - 5.7 dengan menggunakan KOH 1 N atau HCl 1 N.

Zat pengatur tumbuh yang dicobakan sebagai perlakuan adalah BAP (0.1, 0.5, 1.0, 3.0 atau 10.0 mg/l) yang dikombinasikan dengan IBA (0.1 atau 1.0 mg/l). Percobaan disusun secara faktorial dengan rancangan lingkungan acak lengkap.

Tunas yang dihasilkan dari percobaan I ini digunakan sebagai eksplan pada percobaan II.

### Percobaan II

Percobaan II dilakukan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh auksin terhadap induksi dan pertumbuhan akar dari tunas yang dihasilkan pada percobaan I.

Media dasar yang digunakan dalam percobaan ini adalah MS ditambah IBA (0, 0.1, 0.5 atau 1.0 mg/l) dan NAA (0.1 atau 1.0 mg/l).

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah dan penampilan akar yang dihasilkan.

Daun yang tumbuh dari percobaan II digunakan sebagai eksplan dalam percobaan III.

### Percobaan III

Percobaan III dilakukan untuk mengetahui respon jaringan daun terhadap media tumbuh yang dicobakan.

Media tumbuh yang dicobakan adalah media MS ditambah 2.4-D (1.0, 2.0, 4.0 atau 8.0 mg/l) yang dikombinasikan dengan BAP (0, 1.0, 5.0 atau 10.0 mg/l).

Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan jaringan (kalus, tunas atau akar yang dihasilkan).

Kultur dari ketiga percobaan tersebut di atas disimpan dalam ruangan dengan temperatur antara 25° - 27°C, di bawah intensitas cahaya sebesar 1000 - 2000 lux selama 16 jam sehari.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Percobaan I

Hasil pengamatan kultur jaringan hingga umur 2 bulan menunjukkan bahwa penggunaan unsur makro dari media dasar MS dan MS 1/2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap jumlah tunas dan daun yang dihasilkan (Tabel 1 dan Tabel 3). Sedangkan penggunaan garam organik 1/4 dari konsentrasi normal (M 1/4) cenderung menghambat pertumbuhan organ tunas dan daun.

Media MS merupakan salah satu media yang kaya akan garam makro terutama unsur nitrogen. Menurut Gamborg et al. (1976), pertumbuhan sel secara optimum tergantung kepada tersedianya garam anorganik. Respon positif pertumbuhan sel tersebut dapat dipengaruhi oleh peningkatan atau pengurangan konsentrasi garam makro terutama N yang tersedia dalam media.

Tabel 2 dan Tabel 4 menunjukkan pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan IBA terhadap jumlah tunas dan daun yang dihasilkan. Penggunaan BAP 0.1 + IBA 1.0 dan BAP 0.5 + IBA 0.1 memberikan jumlah tunas dan daun yang terbaik.

Sedangkan penggunaan BAP pada konsentrasi tinggi (10 mg/l) cenderung menghambat pertumbuhan tunas dan daun. BAP merupakan sitokinin sintetis yang mempunyai daya rangsang

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap jumlah tunas lada yang dihasilkan, 2 bulan setelah tanam

Media dasar	Jumlah tunas
MS	4.45 a
MS 1/2	4.50 a
MS 1/4	2.20 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Tabel 2. Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap jumlah tunas lada yang dihasilkan, 2 bulan setelah tanam

Zat pengatur tumbuh (mg/l)	Jumlah tunas
BAP 0.1 + IBA 0.1	3.58 ab
0.5 + 0.1	4.42 a
1.0 + 0.1	3.75 ab
3.0 + 0.1	3.25 bc
10.0 + 0.1	2.67 c
BAP 0.1 + IBA 1.0	4.50 a
0.5 + 1.0	4.00 ab
1.0 + 1.0	3.83 ab
3.0 + 1.0	3.92 ab
10.0 + 1.0	3.25 bc

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi media dasar MS terhadap jumlah daun lada yang dihasilkan, 2 bulan setelah tanam

Media dasar	Jumlah tunas
MS	5.11 a
MS 1/2	5.90 a
MS 1/4	2.85 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Tabel 4. Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap jumlah duan lada yang dihasilkan, 2 bulan setelah tanam

Zat pengatur tumbuh (mg/l)	Jumlah tunas
BAP 0.1 + IBA 0.1	5.33 ab
0.5 + 0.1	7.17 a
1.0 + 0.1	5.92 ab
3.0 + 0.1	3.00 cd
10.0 + 0.1	3.08 c
BAP 0.1 + IBA 1.0	5.08 bc
0.5 + 1.0	5.00 bc
1.0 + 1.0	4.92 bc
3.0 + 1.0	3.92 bcd
10.0 + 1.0	3.0b cd

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

yang kuat dalam menginduksi tunas. Prawiranata dkk. (1981) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi rendah dapat merangsang pertumbuhan tanaman tetapi dalam konsentrasi yang tinggi akan menghambat pertumbuhan dan bahkan dapat mematikan.

## Percobaan II

Tabel 5 menunjukkan pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap pembentukan akar setelah kultur berumur 1.5 bulan. Walaupun penggunaan IBA 1.0 mg/l dan NAA 0.1 mg/l menunjukkan jumlah akar yang sama, tetapi dari penampilannya tampak berbeda. Akar yang dibentuk oleh kultur pada media yang diperkaya IBA tampak lebih baik dibanding dengan NAA 0.1 mg/l maupun 1.0 mg/l yang tampak lebih pendek dan membengkok. Ini diduga karena NAA merupakan auksin sintetik yang terlalu kuat dalam menginduksi akar pada tanaman lada. Hal yang sama terjadi pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Mariska dkk. (1989) dalam usaha menginduksi dan menumbuhkan akar gerbera dengan menggunakan NAA dan IAA. hal yang berbeda dengan hasil penelitian dari Chua dan Talib (1985) dimana perakaran yang terbaik didapatkan pada media yang diberi NAA atau senyawa fenol.

Tabel 5. Pengaruh auksin terhadap rata-rata jumlah dan penampilan akar lada, 1.5 bulan setelah tanam

Auksin (mg/l)	Jumlah Akar	Penampilan
IBA 0	2.50	normal
0.1	3.00	normal
0.5	3.12	normal
1.0	5.50	normal
NAA 0.1	5.43	abnormal/pendek & gemuk
1.0	3.67	abnormal/pendek & gemuk



Perlakuan medium untuk induksi serta pertumbuhan akar akan menentukan keberhasilan proses aklimatisasi planlet dapat hidup dalam lingkungannya yang baru di luar botol kultur (mosella, 1974).

### Percobaan III

Tabel 6 menunjukkan pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh 2.4-D dan BAP yang ditambahkan pada media dasar MS terhadap pertumbuhan eksplan daun lada. Sampai umur 2 bulan proses dediferensiasi dan diferensiasi yang mengarah pada pembentukan akar terjadi pada media dengan penambahan

Tabel 6. Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan dan perkembangan jaringan daun lada, umur 2 bulan

Zat pengatur tumbuh (mg/l)	Kalus			Jumlah tunas	Jumlah akar
	Tumbuh (%)	Ukuran	Warna		
2.4-D 1 + BAP 0	75	sedang	Agak kuning	-	4
2 + 0	50	sedikit	Agak kuning	-	1
4 + 0	50	sedikit	Kuning	-	-
8 + 0	50	sedikit	Kuning	-	-
2.4-D 1 + BAP 1	50	sedikit	Putih kekuningan	-	-
2 + 1	50	sedikit	Putih	-	-
4 + 1	25	sedikit	Putih kekuningan	-	-
8 + 1	25	sedikit	Kuning	-	-
2.4-D 1 + BAP 5	12.5	sedikit	Kuning	-	-
2 + 5	0	-	-	-	-
4 + 5	0	-	-	-	-
8 + 5	0	-	-	-	-
2.4-D 1 + BAP 10	0	-	-	-	-
2 + 10	0	-	-	-	-
4 + 10	0	-	-	-	-
8 + 10	0	-	-	-	-

2.4-D 1 dan 2 mg/l. Sedangkan perlakuan lain hanya terjadi proses dediferensiasi (pembentukan kalus) dengan penampilan yang berbeda terutama warna. Bahkan pemberian BAP konsentrasi tinggi 5 dan 10 mg/l mengakibatkan eksplan tidak memberikan respon untuk tumbuh.

Diduga tidak terjadinya tunas disebabkan karena konsentrasi zat pengatur tumbuh 2.4-D dan BAP yang belum tepat. Dapat pula disebabkan karena masih berlakunya tahap berikutnya yaitu pemindahan kultur pada media baru yang hanya mengandung BA atau kinetin tanpa 2.4-D. Percobaan ini masih dilanjutkan dengan memakai berbagai macam perlakuan.

#### KESIMPULAN

Media dasar MS 1/2 lebih efisien digunakan dalam pembentukan organ tunas ganda dan daun.

Penggunaan zat pengatur tumbuh berperan penting dalam mengarahkan pembentukan organ dari kultur tanaman lada. Dan penggunaan BAP konsentrasi tinggi 10 mg/l) cenderung menghambat pertumbuhan dan perkembangan kultur.

Penggunaan IBA pada konsentrasi 1.0 mg/l lebih efektif dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan akar.

Masih harus dicari komposisi media tumbuh yang cocok untuk memacu regenerasi dari jaringan daun lada.

# DAFTAR PUSTAKA

- Chua Beng Khoon and S. S. Talib (1985). Effect of naphthalene ecetis acid and two phenolic substance on rooting of pepper shoots cultured *in vitro*. madi Res. Bull., 13, 1:108-110.
- Gamborg, O. L., T. Murashige, T. A. Thorpe and I. K. Vasil. 1976. Plant tissue culture media. *In vitro*. Vol 12(7):473-478.
- George, f., and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Eastern Press, Reading, Berks. England. 907p.
- Mariska, I., E. Gati dan D. Sukmadjaja. 1989. Perbanyak mikro secara klonal pada tanaman gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Bull. Penelitian Hortikultura. Vol. XVII (4):34-43.
- Mosella, L. C. 1979. L'utilisation de l'apex caulinaire comme moyen d'elimination de deu types, de virions chez le Pecher (*Prunus persica* (L) BATSCH). These Docteur Ingenieur en Agronomie, Mention Phytotechnie, USTL, Montpellier. 202p.
- Prawiranata, W., S. Harran dan P. Tjondronegoro. 1981. Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan. Jilid II. Dep. Botani, Fakultas Pertanian. IPB.