

Optimalisasi Media Kultur Anther Lada (*Piper nigrum* L.) Sebagai Tahap Awal Proses Bioteknologi Perbanyakan Bibit Unggul

*Optimization of Anther Cultur for Pepper (*Piper nigrum* L.) as an Initial Stage in the Biotechnology Process of Superior Seedling Propagation*

Tika Rahma Yunita^{1*}, Muliani¹, Zaenal Mutaqin¹

¹Prodi Budidaya Tanaman Perkebunan, Politeknik Negeri Pontianak, Jalan Ahmad Yani, Pontianak 78124, Kalimantan Barat.

*Co-author: tikarahmayunita.01250688@gmail.com

Article History:

Received : 13-06-2025
 Revised : 25-06-2025
 Accepted : 30-06-2025
 Online : 30-06-2025

Keywords:

Pepper anther;
 Hormones;
 MS media

Abstract: One of breeding activities aimed at increasing the genetic diversity of pepper plants is through anther culture. This study aims to evaluate combination of MS media supplemented with hormones for callus formation from pepper anther explants. The method used was a factorial Completely Randomized Design (CRD), with the first factor being three media compositions: full-strength MS, $\frac{1}{2}$ MS, and $\frac{1}{4}$ MS; and the second factor being five combinations of hormone, namely: A. 0 ppm NAA : 1 ppm BAP; B. 1 ppm NAA : 0 ppm BAP; C. 1 ppm NAA : 1 ppm BAP; D. 2 ppm NAA : 1 ppm BAP; and E. 1 ppm NAA : 2 ppm BAP. The results of this research are a significant contribution to the development of tissue culture-based bioprocess system for producing superior pepper seedling through anther culture technology. The application of $\frac{1}{4}$ MS medium supplemented with 2 ppm NAA and 1 ppm BAP induced callus formation at a rate of 10%.

Kata Kunci:

Anther lada;
 Hormon;
 Media MS

Abstrak: Salah satu kegiatan pemuliaan untuk meningkatkan keragaman tanaman lada adalah dengan kultur anther. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi kombinasi media MS dengan penambahan hormon, pada pembentukan kalus eksplan anther lada. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, faktor pertama adalah 3 komposisi media, yaitu MS, $\frac{1}{2}$ MS, dan $\frac{1}{4}$ MS, dan faktor yang kedua adalah 5 kombinasi penambahan hormon yaitu: A. 0 ppm NAA : 1 ppm BAP; B. 1 ppm NAA : 0 ppm BAP; C. 1 ppm NAA : 1 ppm BAP; D. 2 ppm NAA : 1 ppm BAP dan E. 1 ppm NAA : 2 ppm BAP. Hasil penelitian ini merupakan bagian penting dalam upaya pengembangan sistem bioproses berbasis kultur jaringan untuk memproduksi bibit lada unggul melalui pendekatan teknologi kultur anther. Pemberian media $\frac{1}{4}$ MS ditambah dengan hormon 2 ppm NAA dan 1 ppm BAP mampu membentuk kalus sebesar 10%..



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license

A. LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan produsen lada terbesar kedua setelah Vietnam (FOASTAT, 2022) dan menjadikan lada sebagai salah satu komoditas penting pada sub sektor perkebunan. Produksi lada

di Provinsi Kalimantan Barat pada tahun 2022 sebesar 6.328 ton, dan terjadi penurunan produksi lada di tahun berikutnya (2023) menjadi 4.631 ton (BPS Provinsi Kalimantan Barat, 2025).

Penurunan produksi lada dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti teknik budidaya, hama dan penyakit, serta penggunaan bahan tanam yang unggul melalui pemuliaan tanaman. Lada merupakan tanaman introduksi dan selalu diperbanyak secara vegetatif, sehingga keragaman genetiknya sempit (Meilawati & Manohara, 2016) dan (Wahyuno et al., 2010). Keragaman genetik yang tinggi merupakan modal dasar kegiatan pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas baru, khususnya untuk ketahanan terhadap penyakit busuk pangkal batang (BPB) (Meilawati & Manohara, 2016). Penyakit busuk pangkal batang lada disebabkan oleh cendawan *Phytophthora capsica* Leon, merupakan penyakit utama pada tanaman lada di Sulawesi Tenggara (Agussalim et al., 2016).

Beberapa kegiatan yang dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman tanaman lada adalah melalui iradiasi sinar gamma (Meilawati & Manohara, 2016) persilangan intraspesies maupun antar spesies *Piper* spp. (Wahyuno et al., 2010), dan kultur anther. Kultur anther mempunyai banyak keuntungan untuk program pemuliaan. Salah satu manfaat terpenting adalah produksi galur homozigot dalam satu generasi, kultur anther sangat membantu dalam mempercepat proses pemuliaan dan peningkatan mutu genetik cabai (Grozeva et al., 2021). Kultur anther dapat juga digunakan untuk meningkatkan nilai tanaman seperti pada produksi tanaman homodzigot, produksi tanaman triploid, mutasi, pemetaan gen, produksi tanaman jantan, pemuliaan analitik, produksi galur-galur transgenik yang bersifat homozigot (Rai et al., 2022).

Kultur anther juga dapat menghasilkan galur homodzigot dalam satu generasi, serta melalui metode produksi tanaman haploid atau *double* haploid memiliki peluang dalam seleksi cepat alel resesif (Apriliani, 2024). Potensi anther dalam membentuk menjadi tanaman haploid disebut juga sebagai "*androgenic potential*" merupakan sifat kuantitatif yang dikendalikan oleh gen yang ada didalam inti sel (Rai et al., 2022). Faktor-faktor yang mempengaruhi kultur anther yaitu: genotipe tanaman, pertumbuhan polen, media pertumbuhan, kondisi kultur, dan pre-treatment (Apriliani, 2024). Rai et al., (2022) juga menambahkan faktor yang lain berupa kondisi fisiologi tanaman donor dan faktor dinding anther.

Penelitian mengenai kultur anther lada belum banyak dilaporkan, sehingga diperlukan penelitian mengenai kultur anther lada. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kombinasi media untuk inisiasi kalus pada kultur anther lada. Pengembangan bibit unggul lada melalui teknik kultur anther diharapkan mampu mendukung proses bioproduksi berbasis laboratorium yang dapat ditingkatkan ke skala industri, mengingat kebutuhan akan bibit tahan penyakit dan berkualitas tinggi semakin mendesak.

B. METODE PENELITIAN

1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga lada, media MS, Hormon NAA dan BAP. Penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut: mikroskop, LAF, autoclave, dan cup kultur.

2. Desain Penelitian dan Analisa Data

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, faktor pertama adalah komposisi media MS (MS, $\frac{1}{2}$ MS, dan $\frac{1}{4}$ MS), dan faktor kedua adalah 5 kombinasi pemberian hormon NAA dan BAP:

A. 0 ppm NAA :1 ppm BAP

B. 1 ppm NAA: 0 ppm BAP

- C. 1 ppm NAA: 1 ppm BAP
- D. 2 ppm NAA :1 ppm BAP dan
- E. 1 ppm NAA: 2 ppm BAP

Sehingga didapatkan 15 kombinasi perlakuan, dan setiap perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Pengamatan dilakukan dengan mendata eksplan yang menunjukkan adanya pertumbuhan kalus.

3. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan Alifa, Medan dari bulan Juni 2024 hingga Mei 2025. Penelitian ini diawali dengan pembuatan media yang sesuai perlakuan dan menggunakan 10 ulangan, selanjutnya menyediakan eksplan berupa bunga lada dari tanaman yang sehat, kemudian sterilisasi eksplan menggunakan bayclin 10% selama 10 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Ekplan yang sudah steril kemudian dipotong kecil dan diletakkan diatas tisu steril, kemudian ditanam pada media agar yang sudah dibuat sebelumnya. Eksplan yang sudah ditanam, kemudian disimpan dalam ruang gelap. Pengamatan dilakukan setiap pekan, dengan mendata eksplan yang masih segar dan memisahkan eksplan yang terkontaminasi, serta mendata eksplan yang membentuk kalus.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bunga lada pada perkembangan bunga lada tahap 4, tepatnya tahap penyerbukan dan pembuahan (Quyen et al., 2019). Ditandai dengan warna spike hijau dan putik masih berwarna putih pada sepanjang spike. Sedangkan fase 5 ditandai dengan putik yang sudah berubah warna menjadi coklat, berarti putik tersebut sudah berpindah ke fase berikutnya, dan spike sudah berubah warna menjadi lebih kuning.

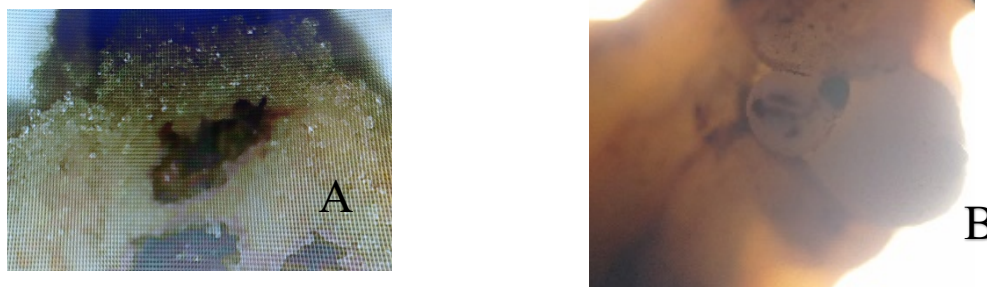
Persentase ekplan yang dapat tumbuh dan berkembang hanya 10% (**Tabel 1**). Hal ini dikarenakan tingginya kontaminasi, serta eksplan yang browning.

Tabel 1. Persentase eksplan yang tidak terkontaminasi hingga minggu ke 12.

Hormon	MS	1/2 MS	1/4 MS
A	10	10	10
B	0	20	20
C	30	10	0
D	10	10	10
E	10	0	0

Kalus merupakan hasil pembelahan sel yang belum terspesialisasi (Teresia et al., 2024). Ketika terjadi luka pada jaringan, maka hormone 2,4-D berdifusi kedalam eksplan sehingga mengaktifkan hormon endogen dari eksplan yang mengakibatkan terjadinya pembelahan pada eksplan, setelah itu hormon endogen dalam eksplan menjadi seimbang sehingga terbentuklah kalus (Khalida et al., 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi media yang menunjukkan adanya pembentukan kalus adalah media $\frac{1}{4}$ MS (gambar 1A). Hal ini sejalan dengan penelitian Kristianto & Setyorini (2021) baik media MS, $\frac{1}{2}$ MS, dan $\frac{1}{4}$ MS dapat digunakan untuk menginduksi kalus pada eksplan daun lada. Asmono et al., (2024) juga melaporkan bahwa media $\frac{1}{2}$ MS memiliki presentase pembentukan kalus paling besar, selain itu, kalus yang terbentuk pada media $\frac{1}{2}$ MS bertekstur remah dan bernodul serta berwarna putih kekuningan dan putih kecoklatan pada eksplan daun kopi seperti yang ditunjukkan **Gambar 1**.



Gambar 1. A. eksplan yang membentuk kalus, B. eksplan yang mengalami pembekakan

Penambahan hormon sintetik memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian hormon alami dalam pembentukan kalus eksplan daun lada (Ramadhani et al., 2023). Semakin tinggi kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam medium menyebabkan laju pertumbuhan kalus semakin tinggi (Mahadi & Sari, 2016).

Penambahan sitokinin dalam media sangat dibutuhkan untuk meningkatkan pembelahan sel, karena sitokinin berperan dalam pembentukan benang gelondong pada tahap metaphase (Mahadi & Sari, 2016). Auksin merupakan senyawa kemis yang mendorong terjadinya pemanjangan sel, pertumbuhan sel, dan perkembangan akar, termasuk salah satunya ialah NAA (1-Naphthalenacetic Acid) (M et al., 2024) dan (Wardana et al., 2024). Penambahan hormon auksin seperti NAA pada media kultur jaringan dapat mempengaruhi kecepatan pembentukan kalus pada eksplan (Wardana et al., 2024).

Mahadi & Sari (2016) melaporkan bahwa peningkatan 2 mg/l 2,4-D dikombinasikan dengan BAP (1 dan 2 mg/l) menghasilkan kalus remah dengan visual yang lebih baik pada tanaman jeruk kasturi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Demikian juga dari hasil penelitian Safitri et al., (2017) bahwa penambahan zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi tinggi (4 mg/l) dan BAP dengan konsentrasi rendah (1,5 mg/l) menghasilkan pembentukan kalus dengan rata-ran tertinggi pada tanaman rosella. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini, bahwa kombinasi hormon 2ppm NAA + 1ppm BAP pada media $\frac{1}{4}$ MS dapat menghasilkan kalus remah berwarna putih (gambar 1A), dan pada perlakuan yang lain menunjukkan adanya pembengkakan pada eksplan yang ditanam. Diperlukan keseimbangan penambahan konsentrasi antara NAA dan BAP pada media, sehingga hormon tersebut dapat bekerja secara optimal dalam merangsang pembelahan dan pemanjangan sel (Wardana et al., 2024).

Formulasi media dan hormon dalam penelitian ini berfungsi sebagai komponen penting dalam sistem bioproses berbasis kultur jaringan, dimana media $\frac{1}{4}$ MS yang diperkaya dengan 2 ppm NAA dan 1 ppm BAP menunjukkan efisiensi tinggi dalam menginduksi pembentukan kalus. Efisiensi ini menjadi parameter awal dalam merancang sistem kultur yang dapat dikembangkan ke skala produksi massal.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur anther meliputi exogenous dan endogenous seperti genotype tanaman, pertumbuhan polen, media pertumbuhan, kondisi kultur, dan pre-treatment (Apriliani, 2024). Tingkat keberhasilan pembentukan kalus dari penelitian ini adalah sebesar 10%, hal menunjukkan peluang untuk optimalisasi lebih lanjut baik melalui peningkatan kondisi sterilisasi maupun modifikasi komposisi media. Dalam konteks bioproses, parameter ini menjadi indikator proses yield yang harus ditingkatkan untuk mencapai kelayakan produksi secara teknik dan ekonomis. Penggunaan media $\frac{1}{4}$ MS dengan kombinasi hormon 2 ppm NAA dan 1 ppm

BAP menunjukkan potensi sebagai protokol awal untuk produksi kalus lada dalam sistem kultur jaringan skala besar, yang merupakan tahapan krusial dalam alur bioproses perbanyakan tanaman.

D. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa Kombinasi media yang menunjukkan pembentukan kalus adalah $\frac{1}{4}$ MS dengan penambahan 2 ppm NAA dan 1 ppm BAP. Penelitian ini mendukung inisiasi sistem produksi kultur anther lada sebagai bagian dari platform bioproses perbanyakan bibit tanaman unggul.

Untuk penelitian selanjutnya diharapkan bisa mencoba beberapa tahap sterilisasi eksplan, sehingga dapat mengurangi tingkat kontaminasi dan juga penelitian selanjutnya dapat difokuskan pada optimalisasi kondisi lingkungan kultur (pH, suhu dan cahaya) serta pengembangan prototipe kultur skala semi-industri sebagai bagian dari penguatan sistem bioproses kultur lada.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Negeri Pontianak yang telah mendanai penelitian ini melalui program pendanaan penelitian terapan tahun 2024.

DAFTAR RUJUKAN

- Agussalim, Raharjo, D., & Asaad, M. (2016). Kajian pengendalian penyakit busuk pangkal batang lada dengan modifikasi iklim mikro. *Jurnal Pengkajian Dan Pengembangan Teknologi Pertanian*, 20(1), 59–67.
- Apriliani, E. (2024). Kultur Anther dalam Produksi Tanaman Haploid: Review. *Agriculture and Biological Technology*, 1(2), 84–96.
- Asmono, S. L., Rahmawati, Husna, H., Sulala, A., Auliya, S., & Cahyono, E. H. (2024). Pembentukan Kalus pada Eksplan Daun Kopi Robusta dan Arabika pada Beberapa Konsentrasi Media MS (Murashige and Skoog) Callus Formation on Robusta and Arabica Coffee Leaf Explants at Various Concentrations of MS (Murashige and Skoog) Medium. *Agropross: National Conference Proceedings of Agliculture*, 574–581. <https://doi.org/10.25047/agropross.2024.775>
- Grozeva, S., Pasev, G., Radeva-ivanova, V., Todorova, V., Ivanova, V., & Nankar, A. N. (2021). Double Haploid Development and Assessment of Androgenic Competence of Balkan Pepper Core Collection in Bulgaria. *Plants*, 10, 2–15. <https://doi.org/10.3390/plants10112414>
- Kristianto, A. D., & Setyorini, T. (2021). Induksi Kalus Eksplan Daun Lada (*Piper nigrum* L.) Pada Modifikasi Media MS dengan Penambahan Hormon NAA dan BAP. *Agritech*, XXIII(2), 160–166.
- M, A. M. I., Subroto, G., Wulanjari, D., & Kusbianto, D. E. (2024). Effect of Planting Media Composition and Synthetic Auxin ZPT on the Growth of Robusta Coffee Cuttings Grafting Seedling (*Coffea canephora*). *Protech Biosystems Journal*, 4(2), 74–83. <http://journal.ummat.ac.id/index.php/protech>
- Mahadi, I., & Sari, Y. (2016). Pengaruh Pemberian Hormon 2 , 4-D dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*). *Jurnal Biogenesis*, 12(2), 99–104.
- Meilawati, N. L. W., & Manohara, D. (2016). Respon Tanaman Lada (*Piper nigrum* L .) Varietas Ciinten Terhadap Sinar Gama. *Jurnal Littri*, 22(2), 71–80. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/littri>
- Quyen, N. T., Hien, T. T. D., Oanh, D. T., Ngoc, N. Q., & Nhung, N. T. (2019). Flower Biology of Black Pepper (*Piper Nigrum*) in Vietnam. *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, November 2019, 19–24. <https://www.researchgate.net/publication/342199964>
- Rai, A. C., Ajay, K., Modi, A., & Singh, M. (2022). *Advances In Plant Tissue Culture*. Andre G. Wolff.

www.bookid.org

- Ramadhani, E., Setyorini, T., & Himawan, A. (2023). Induksi Kalus Eksplan Daun Lada (*Piper nigrum* . L) pada Modifikasi Media MS dengan Penambahan Hormon Sintetik dan Alami. *Agroforetech, 1*(Cmv), 998–1006.
- Safitri, S. K., Siregar, L. A. M., & Lubis, K. (2017). Induksi Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) pada Jenis Eksplan dan Konsentrasi Auksin Yang Berbeda. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU, 5*(3), 593–598.
- Teresia, N., Zakiah, Z., & Turnip, M. (2024). Induksi Kalus dari Hipokotil Belimbing Merah (*Baccaurea angulata*) dengan Penambahan 2 , 4-D (Dichlorophenoxy Acetic Acid) dan BAP (6- Benzyl Amino Purin). *Jurnal Biologi Tropis, 24*(1), 194–203. <http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v24i1.6387>
- Wahyuno, D., Manohara, D., Ningsih, S. D., & Setijono, R. . (2010). Pengembangan Varietas Unggul Lada Tahan Penyakit Busuk Pangkal Batang yang Disebabkan Oleh *Phytophthora capsici*. *Jurnal Litbang Pertanian, 29*(3), 86–95.
- Wardana, R., Mauidah, A. U., Widodo, T. W., & Firgiyanto, R. (2024). Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP Pada Multipikasi Tunas Kentang Merah (*Solanum Tuberosum* L .) secara in Vitro The Effect of Plant Growth Regulator Concentration NAA and BAP on Red Potato Shoot Multiplication (*Solanum tuberosum* L .) in. *Vegetalika, 13*(4), 383–390. doi: <https://doi.org/10.22146/veg.95287>
- .