

Pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum* L.) untuk menekan laju pertumbuhan kontaminan pada kultur *in vitro* tanaman kentang (*Solanum tuberosum*)

Hasrawati¹, Masriany^{1*}, Hafsan¹, Fatmawati Nur¹

¹Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

*Corresponding author: Jl. HM. Yasin Limpo 36 Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113
E-mail addresses: masriany.musa@uin-alauddin.ac.id

Kata kunci

Anti kontaminan
Kentang
Kultur in vitro
Lada hitam

Diajukan: 20 Februari 2022
Ditinjau: 1 Maret 2022
Diterima: 26 April 2022
Diterbitkan: 30 April 2022

Cara Sitasi:

H. Hasrawati., M. Masriany., H. Hafsan., F. Nur, "Pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum* L.) untuk menekan laju pertumbuhan kontaminan pada kultur *in vitro* tanaman kentang", *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, vol. 2, no. 1, pp. 15-20, 2022.

A b s t r a k

Kentang (*Solanum tuberosum*) yaitu tanaman pangan yang penting di dunia selain padi dan gandum. Salah satu kendala di Indonesia dalam peningkatan produksi kentang adalah ketersediaan benih yang bermutu yang jumlahnya terbatas dan belum memenuhi kebutuhan petani. Oleh karena itu untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan benih kentang unggul bebas virus yang dihasilkan dari teknik kultur *in vitro* dalam bentuk planlet. Lada hitam (*Piper nigrum* L.) memiliki kandungan senyawa kimia berupa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak lada hitam sebagai antibiotik alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur pada kultur jaringan tanaman kentang. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan 5 perlakuan yaitu K0: Kontrol negatif (Media MS), K1: Media MS dan Novachlor (kontrol positif), K2: Media MS dan ekstrak lada hitam 5 ml/l, K3: Media MS dan ekstrak lada hitam 10 ml/l dan K4: Media MS dan ekstrak lada hitam 15 ml/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak lada hitam yang memberikan pengaruh terbaik adalah ekstrak lada hitam 5 ml/l, yaitu mampu menekan pertumbuhan kontaminan jamur dan bakteri pada kultur *in vitro* tanaman kentang. Studi ini dapat menjadi informasi awal untuk menjadikan ekstrak lada hitam sebagai kandidat antibiotik untuk menekan kontaminan pada kultur tanaman secara *in vitro*.

Copyright © 2022. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

1. Pendahuluan

Kentang (*Solanum tuberosum*) termasuk tanaman pangan yang penting di dunia setelah beras dan gandum. Tanaman kentang merupakan bahan baku industri karena mengandung pati tinggi namun rendah gula dan air. Kebutuhan umbi kentang setiap tahunnya meningkat sejalan dengan berkembangnya industri yang membutuhkan bahan baku kentang. Produksi kentang setiap tahun meningkat, pada tahun 2012 sebesar 1,094,240 ton, pada tahun 2013 menjadi 1,124,282 ton, pada tahun 2014 produksi kentang sangat meningkat 1,347,818 ton namun pada tahun 2015 mengalami penurunan 1,219,270 ton [1].

Di Indonesia produksi kentang hanya mampu memenuhi 10% dari kebutuhan nasional sebesar 14 juta ton/tahun. Hal ini disebabkan ketersediaan bibit yang kurang memadai yaitu hanya 10% dari kebutuhan benih nasional (sekitar 12.000 ton/tahun), termasuk impor. Salah satu faktor lain yang mengakibatkan produksi kentang rendah yaitu penggunaan benih dari hasil panen sebelumnya oleh petani karena harga benih kentang yang bersertifikat yang relatif lebih mahal dibandingkan dengan benih kentang yang dibuat sendiri oleh petani [2]. Benih atau bibit kentang yang bermutu dapat dihasilkan melalui teknik kultur *in vitro*. Perbanyakannya secara *in vitro* dapat dilakukan melalui metode kultur meristem. Kultur

meristem yaitu kultur jaringan tanaman dengan menggunakan jaringan meristematik sebagai eksplan [3]. Kelebihan dari kultur meristem ialah tanaman yang dihasilkan identik dengan induknya dan bebas dari virus karena pembuluh xilem dan floem tidak terdapat pada meristem [4].

Faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah media yang digunakan yaitu media yang terdiri dari berbagai komposisi dan macam unsur hara yang dibutuhkan dalam proses pembentukan tunas secara *in vitro* melalui morfogenesis. Ketepatannya tergantung pada jenis dan konsentrasi yang tepat dari senyawa organik, anorganik dan zat pengatur tumbuh yang digunakan [5]. Proses kultur jaringan membutuhkan kondisi yang steril, karena ketika terjadi kontaminasi maka kultur akan mati atau rusak. Komponen kultur jaringan yang paling rentan terhadap terjadi kontaminasi oleh mikroorganisme yaitu media tumbuh dan eksplan. Kontaminasi merupakan faktor pembatas dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan baik internal maupun eksternal, mikroorganisme yang masuk ke dalam media, organisme yang masuk ke dalam media, botol kultur atau alat-alat tanam yang kurang steril, ruang kerja dan kultur yang mengandung spora di udara ruangan laboratorium dan kecerobohan dalam pelaksanaan [6].

Lada atau disebut juga merica (*Piper nigrum* L.) yang merupakan anggota dari Famili Piperaceae [7]. *Piper nigrum* L. adalah tanaman yang buahnya berfungsi sebagai bahan bumbu masakan dan dikenal juga memiliki efek antibakteri. Lada hitam memiliki kandungan senyawa kimia berupa alkaloid, fenol, kumarin, tannin, saponin, glikosida, flavonoid dan minyak atsiri [8]. Senyawa aktif yang terkandung dalam lada hitam telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan uraian latar belakang, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak lada hitam (*P. nigrum* L.) sebagai antibakteri pada media kultur jaringan tanaman kentang (*S. tuberosum* L.) sehingga bisa dikembangkan sebagai antibakteri alami untuk media kultur jaringan yang bisa meminimalisir resiko terjadinya kontaminasi.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental yang menerapkan prinsip-prinsip laboratorium terutama pengontrolan terhadap hal-hal yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Bibit kentang yang digunakan berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan di UPTD Balai Benih Induk Hortikultura Bonto-Bontoa sedangkan biji lada hitam diperoleh dari pasar tradisional di Desa Batubilaya, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan.

Instrumentasi. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), *rotary evaporator*, *Culti-shaker*, bunsen, *erlenmeyer*, pinset, gunting, botol alkohol, *marker*, oven, botol ukur, *spray alcohol*, cawan petri, *glass beacker*, *wrap*, *autoclave*, neraca analitik, gelas ukur, pengukur pH, batang pengaduk, baskom, kompor, gelas besi, pinset, korek api, kamera dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksplan kentang (*Solanum tuberosum*), ekstrak lada hitam 5 ml/l, 10 ml/l dan 15 ml/l, alkohol 70%, aquades, spiritus, korek api, media Murashige & Skoog (MS), antibiotik Novachlor, agar-agar, gula pasir, NaOH₂, HCl, karet gelang, etanol 96%, masker, label, *handscone*, air, tisu, dan plastik gula.

Pembuatan ekstrak lada hitam. Biji *Piper nigrum* L. ditimbang 100 gram, dihaluskan menggunakan blender, dimasukkan ke dalam tabung *Erlenmeyer*, ditambahkan 900ml etanol 96%, kemudian dikocok sampai homogen, larutan disimpan pada suhu kamar selama 24 jam, lalu disaring dengan kertas filter hingga diperoleh cairan yang bebas dari partikel kasar. Selanjutnya dilakukan evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 65° C (sesuai titik didih etanol) hingga semua

pelarut terpisah dan didapatkan cairan ekstrak yang kental dengan konsentrasi 5 ml, 10 ml dan 15 ml [9].

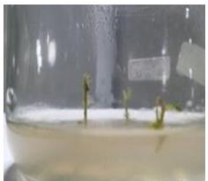


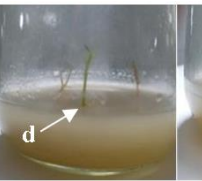
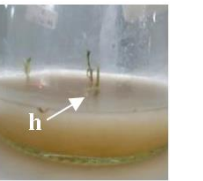
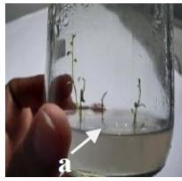



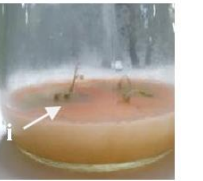
Pembuatan dan sterilisasi media kultur. Media tanam dibuat dengan menggunakan larutan stok yang sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan. Komposisi media MS yang sesuai dengan takaran dan kebutuhan ditambahkan dengan ekstrak lada hitam yang telah disaring sesuai dengan konsentrasi dan ditambahkan dengan gula sesuai dengan takaran ke dalam gelas *beaker*, lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dilakukan pengukuran pH hingga 5,8. Apabilakondisi pH rendah maka ditambahkan NaOH dan bila pH terlalu tinggi maka ditambahkan larutan HCl. Larutan media selanjutnya ditambahkan agar dan dipanaskan. Setelah mendidih, larutan tersebut dituang ke dalam botol kultur dengan ketebalan 20 ml setiap botolnya. Botol yang terisi media lalu ditutup menggunakan penutup plastik dengan erat dan direkatkan dengan karet gelang. Media disterilisasikan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 kg/cm selama 15 menit. Setelah itu, botol ditempatkan pada rak kultur yang telah dimodifikasi [5].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

Pengamatan media kultur jaringan kentang pada media MS dengan penambahan ekstrak lada hitam dengan beberapa konsentrasi menunjukkan bahwa planlet kentang pada media K2 (MS dan ekstrak lada hitam 5 ml/l) menunjukkan pertumbuhan tanpa kontaminan dari minggu 1 hingga minggu 4, baik oleh bakteri maupun jamur sama halnya dengan pertumbuhan kentang pada media K1 (MS dan Novachlor) yang merupakan kontrol positif, sedangkan pertumbuhan kentang pada media K0 (kontrol negatif), K3 (MS dan ekstrak lada hitam 10 ml/l) dan K4 (MS dan ekstrak lada hitam 15 ml/l) menunjukkan terjadinya kontaminasi, baik oleh bakteri maupun jamur (Tabel 1).

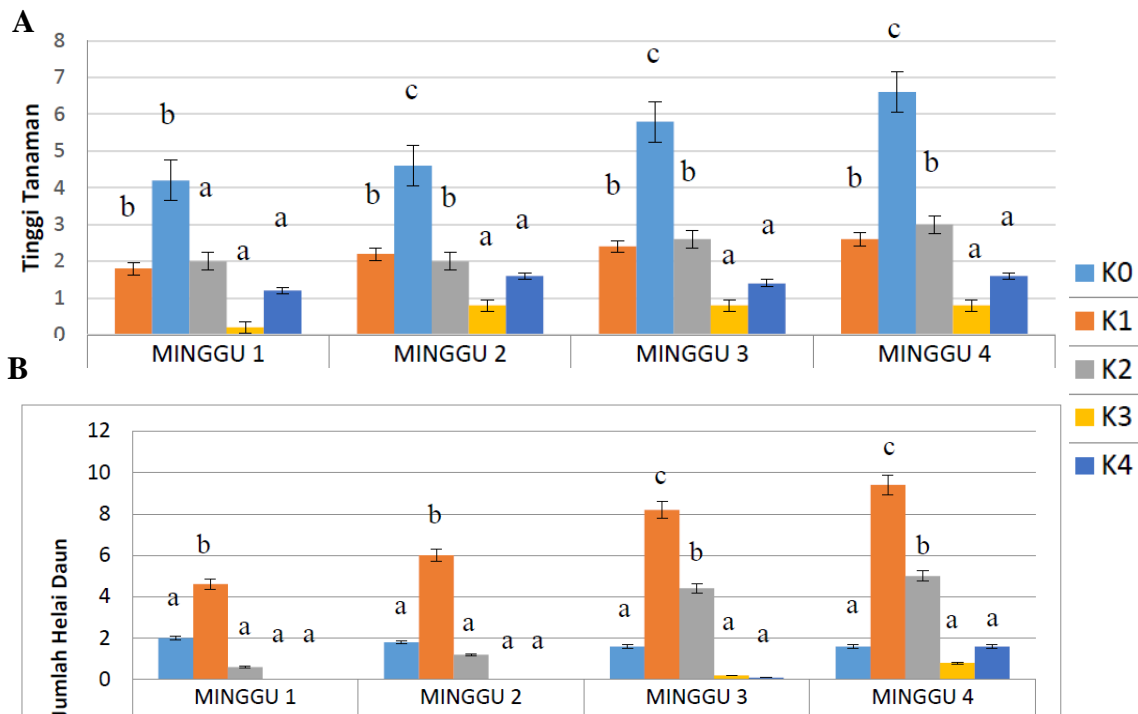
Tabel 1. Pertumbuhan planlet kentang dari minggu pertama hingga keempat pada media MS dengan penambahan ekstrak lada hitam pada berbagai konsentrasi

Perlakuan	K0	K1	K2	K3	K4
Minggu 1					
	Tanpa kontaminan	Tanpa kontaminan		Kontaminan	
Minggu 2					
	Kontaminan	Tanpa kontaminan		Kontaminan	



Keterangan: K0: Kontrol negatif (Media MS), K1: Media MS dan Novachlor (kontrol positif), K2: Media MS dan ekstrak lada hitam 5 ml/l, K3: Media MS dan ekstrak lada hitam 10 ml/l dan K4: Media MS dan ekstrak lada hitam 15 ml/l

Pada penelitian ini selain dilakukan pengamatan kontaminan pada planlet kentang juga dilakukan pengamatan terhadap tinggi tanaman dan jumlah helai daun yang terbentuk untuk melihat pertumbuhan planlet pada masing-masing media yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa meskipun pada media K2 tidak menunjukkan terjadinya kontaminasi bakteri maupun jamur sama halnya dengan media K1 (Tabel 1), namun pertumbuhan planlet pada media K2 lebih rendah dibanding planlet pada media K1 yang menggunakan antibiotik Novachlor dari segi tinggi tanaman dan jumlah helai daun (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik pertumbuhan planlet kentang dari minggu pertama hingga keempat pada media MS dengan penambahan ekstrak lada hitam pada berbagai konsentrasi berdasarkan tinggi tanaman (A) dan jumlah helai daun (B). Keterangan: K0: Kontrol negatif (Media MS), K1: Media MS dan Novachlor (kontrol positif), K2: Media MS dan ekstrak lada hitam 5 ml/l, K3: Media MS dan ekstrak lada hitam 10 ml/l dan K4: Media MS dan ekstrak lada hitam 15 ml/l

3.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan pertumbuhan planlet kentang hingga 4 MST dengan 5 perlakuan untuk melihat adanya pertumbuhan koloni bakteri ataupun jamur sehingga dapat diketahui efektivitas ekstrak lada hitam yang digunakan pada berbagai konsentrasi sebagai antibakteri pada media kultur jaringan. Tabel 1 menunjukkan bahwa pada media K0 (kontrol negatif) terdapat kontaminasi berupa cairan kental yang diduga bakteri pada pengamatan minggu kedua. Hal ini dikarenakan media MS tidak memberikan pengaruh daya hambat pertumbuhan mikroba. Perlakuan K1 (Media MS dan antibiotik Novachlor) tidak terdapat pertumbuhan jamur ataupun bakteri karena pada perlakuan ini mengandung antibiotik, sehingga memberikan pengaruh daya hambat mikroba pada kultur jaringan khusus untuk bakteri berupa senyawa kloramfenikol yang bersifat antibiotik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dian et al. [10] yang menyatakan bahwa kloramfenikol adalah antibiotik yang memiliki dosis tinggi yang bersifat bakterisidal dan aktivitas bakteriostatik yang mampu menghambat sintesis protein.

Penghambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme, terlihat adanya zona hambatan yakni daerah jernih di sekitar daerah yang mengandung zat antibakteri. Perlakuan K2 (Media MS dan ekstrak lada hitam 5 ml/l) menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri ataupun jamur, hal tersebut diduga karena pada konsentrasi tersebut efektif menghambat pertumbuhan kontaminan baik bakteri maupun jamur. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hasriyani [11] yang menyatakan bahwa hasil tes antibakteri menunjukkan ekstrak biji lada hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli*. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Putri et al. [9] bahwa ekstrak lada hitam mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada media. Hal ini disebabkan ekstrak lada hitam mengandung senyawa fitokimia yaitu fenol, alkaloid dan minyak esensial. Fenol dapat merubah struktur tiga dimensi protein menjadi struktur acak, sehingga menyebabkan protein tidak dapat melaksanakan fungsinya. Pada perlakuan K3 (Media MS dan ekstrak lada hitam 10 ml/l) dan K4 (Media MS dan ekstrak lada hitam 15 ml/l) terdapat kontaminasi berupa bakteri dan jamur yang berwarna jingga yang menyelimuti eksplan sehingga pertumbuhan tanaman terhambat dikarenakan nutrisi pada media diserap oleh mikroba. Dengan demikian dari penelitian ini dapat diketahui bahwa dengan penambahan ekstrak lada hitam pada konsentrasi ekstrak lada hitam 5 ml/l memberikan pengaruh daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri ataupun jamur pada tanaman kentang secara in vitro.

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan tinggi tunas pada tanaman kentang setelah diuji ANOVA menunjukkan pertumbuhan pada perlakuan K1 berbeda nyata dengan pertumbuhan tanaman pada perlakuan yang lainnya. Hal ini diduga karena kebutuhan unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman telah terpenuhi sehingga memberikan pengaruh baik terhadap pertumbuhan tinggi tanaman kentang. Hal ini juga dipengaruhi oleh ~~penambahan~~ Novachlor yang menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak dapat mengganggu pertumbuhan tanaman, dalam hal ini tinggi tanaman. Pada perlakuan K3 dan K4 memperlihatkan pertumbuhan tinggi tanaman yang lebih rendah dengan menunjukkan pertumbuhan kerdil, daun berkerut dan berguguran bila dibandingkan dengan K1 dan K2 hal ini diduga karena pada K3 kurangnya kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman untuk berkembang sehingga tanaman mati sedangkan perlakuan K4 nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman tidak terpenuhi sehingga tanaman tidak mengalami pertumbuhan dengan baik. Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak lada hitam terlalu tinggi sehingga senyawa flavonoid tinggi dapat berkoagulasi dengan protein seluler sehingga menyebabkan kematian.

Pengamatan pertumbuhan juga dilakukan dengan mengamati jumlah helai daun pada

tanaman kentang. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan K1 memberi pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman. Hal ini diduga karena tercukupinya unsur hara yang dibutuhkan tanaman untuk tumbuh dengan baik. Jumlah dan rata-rata daun terendah yaitu perlakuan K3 dan K4 (Gambar 2). Dapat dilihat bahwa pada perlakuan K3 tidak dapat tumbuh atau mati dan K4 terjadi penambahan jumlah daun dengan jumlah paling sedikit. Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak lada hitam terlalu tinggi sehingga tanaman tidak dapat tumbuh dengan baik dan ketersediaan unsur hara tidak tercukupi. Konsentrasi ekstrak lada hitam pada perlakuan K3 dan K4 terlalu tinggi, senyawa flavonoid tinggi dapat berkoagulasi dengan protein seluler sehingga menyebabkan kematian pada tanaman. Senyawa flavonoid dengan konsentrasi yang sesuai bermanfaat sebagai regulator fotosintesis pada tanaman [12], namun pada konsentrasi yang terlalu tinggi akan menghambat pertumbuhan tanaman.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak lada hitam berpotensi menjadi antibiotik karena memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba pada tanaman kentang secara *in vitro* pada konsentrasi 5 ml/l namun pertumbuhan eksplan kentang pada media tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan Novachlor sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak lada hitam yang lebih rendah yang diharapkan bisa mendapatkan konsentrasi ekstrak lada hitam terbaik yang tidak hanya bisa menghambat pertumbuhan mikroba patogen pada kultur *in vitro* tanaman kentang namun juga mampu meningkatkan pertumbuhan planlet yang lebih baik sehingga layak dikembangkan sebagai antibiotik alami.

Daftar Pustaka

- [1] Badan Pusat Statistik, *Statistik Tanaman Sayuran dan Buah-buahan Semusim Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik, 2017.
- [2] B. Sayaka and J. Hestina, "Kendala Adopsi Benih Bersertifikat untuk Usahatani Kentang," *Forum Penelit. Agro Ekon.*, vol. 29, no. 1, pp. 27–41, 2011.
- [3] L. Purba *et al.*, "Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Kultur Katumi secara *In Vitro*," *J. Agro*, vol. 4, no. 2, pp. 97–109, 2017.
- [4] M. M. Al-Taleb, D. S. Hassawi, and S. M. Abu-Romman, "Production of Virus Free Potato Plants Using Meristem Culture from Cultivars Grown under Jordanian Environment," *Am. J. Agric. Environ. Sci.*, vol. 11, no. 4, pp. 467–472, 2011.
- [5] E. G. Lestari, *Kultur Jaringan*. Bogor: Penerbit Akademia, 2008.
- [6] T. Wati, I. A. Astarini, M. Pharmawati, and E. Hendriyani, "Perbanyak Begonia bimaensis Undaharta & Ardaka Dengan Teknik Kultur Jaringan," *Metamorf. J. Biol. Sci.*, vol. 7, no. 1, pp. 112–122, 2020, doi: 10.24843/metamorfosa.2020.v07.i01.p15.
- [7] K. Vasavirama and M. Upender, "Piperine: A Valuable Alkaloid from Piper Species," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 6, no. 4, pp. 34–38, 2014.
- [8] G. Nahak and R. K. Sahu, "Phytochemical Evaluation and Antioxidant Activity of Piper cubeba and Piper nigrum," *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 1, no. 8, pp. 153–157, 2011.
- [9] I. Z. Putri, M. C. Effendi, and Sumarno, "Perbedaan Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) dengan Ekstrak Etanol Lada Putih (*Piper nigrum* L.) terhadap *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*," *E-Prodentia J. Dent.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, 2017, doi: 10.21776/ub.eprodentia.2017.001.01.1.
- [10] R. Dian, Fatimawati, and F. Budiarmo, "Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* Yang Diisolasi Dari Plak Gigi terhadap Merkuri dan Antibiotik Kloramfenikol," *J. e-Biomedik*, vol. 3, no. 1, pp. 59–63, 2015, doi: 10.35790/ebm.3.1.2015.6607.
- [11] Hasriyana, A. Zulfa, L. Anggun, and R. Murhayati, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L) terhadap Bakteri *Escherichia coli*," *Indones. J. Farm.*, vol. 5, no. 2, pp. 14–18, 2020, [Online]. Available: <https://ejr.stikesmuhkudus.ac.id/index.php/IJF/article/view/1172>.
- [12] U. Pervaiz *et al.*, "The Role of National Tea Research Institute in Tea Production," *Sarhad J. Agric*, vol. 25, no. 2, pp. 349–353, 2009.