

## **Regenerasi Tanaman Porang (*Amarphopalus onchopillus*) secara In Vitro dengan Eksplan Daun**

*Plant regeneration of Porang (Amarphopalus onchopillus) In Vitro with Leaf Explants*

**Mohammad Nur Khozin\*<sup>1</sup>, Didik Pudji Restanto<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Plant Tissue Culture Laboratory, Agronomy Departement, Faculty of Agriculture University of Jember

<sup>2</sup>Center for Development Advance Sciences and Technology (CDAST) University of Jember

e-mail: \*<sup>1</sup>[nurkhozin@unej.ac.id](mailto:nurkhozin@unej.ac.id)

### **ABSTRAK**

Porang merupakan salah satu komoditas tanaman yang sangat potensial dan prospektif untuk dilakukan pengembangan. Namun dalam kegiatan budidaya masih terkendala dalam penyediaan bibit porang yang kurang sehingga produksi tidak bisa memenuhi permintaan ekspor. sistem regenerasi porang secara in vitro menjadi salah satu alternatif dalam mendukung terhadap upaya produksi bibit porang secara masal serta pemuliaan dengan bioteknologi. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah dalam upaya mendapatkan metode regenerasi porang secara in vitro yang optimal, baik melalui jalur organogenesis maupun embriogenesis somatic memakai eksplan daun dan dengan perbedaan konsentrasi dan jenis ZPT. Penelitian ini dilakukan dengan analisis deskriptif dan visual. Adapun hasil yang didapatkan perlakuan penggunaan ZPT dengan perlakuan K2 dapat merangsang regenerasi eksplan secara somatik embriogenesis dan pemberian ZPT dengan perlakuan K4 dapat merangsang regenerasi eksplan secara organogenesis dengan kecenderungan terbaik .

Kata kunci: Regerasi, Porang, In vitro, Organogenesis, Somatik Embriogenesis

### **ABSTRACT**

*Porang is one of the most potential and prospective plant commodities for development. However, in cultivation activities, there are still constraints in the supply of porang seeds which are lacking so that production cannot meet export demand. Porang regeneration system in vitro is one alternative that supports the efforts of mass production of porang seedlings and breeding with biotechnology. The purpose about this study was for obtain porang regeneration that optimal method in vitro, both through organogenesis and somatic embryogenesis with explant using leaf of porang and with different concentrations and types of PGR. This research was conducted by descriptive and visual analysis. The results obtained that the use of PGR with K2 treatment could stimulate the regeneration of explants by somatic embryogenesis and the administration of PGR with K4 treatment could stimulate the regeneration of explants by organogenesis with the best tendency.*

Keywords: Regeneration, Porang, In vitro, Organogenesis, Somatic Embryogenesis

## PENDAHULUAN

Tanaman porang menjadi tanaman yang potensial dan prospektif untuk dikembangkan (Han & goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee, 2019). Porang memiliki nilai ekonomi yang tinggi dengan kandungan glukomanan sebagai serat pangan yang larut dalam air dan mempunyai sifat hidrokoloid yang kuat serta berkalori rendah yang telah banyak dimanfaatkan dalam industri pangan yang bersifat pangan fungsional seperti jelly yang rendah kalori, beras tiruan dan mie basah rendah kalori, atau tahu jepang (tofu)(Ibrahim, 2019b). Tanaman porang banyak tumbuh di hutan tropis di Indonesia seperti di desa Klangon, Kecamatan Saradan Kabupaten Madiun yang merupakan lokasi sentral produksi porang yang berkualitas. Perkembangbiakan tanaman porang melalui dua teknik yaitu dengan biji dan katak. Biji dan katak pada tanaman porang dihasilkan setahun sekali dan mempunyai masa dormansi yang lama sekitar 6 bulan (panen biji dan katak bulan Mei dan baru bisa berkecambah di bulan November sehingga mejadi permasalahan dalam budidaya tanaman porang dan porang tidak bisa ditanam setiap saat(Ibrahim, 2019a). Lingkungan sangat mempengaruhi pertumbuhan serta perkembangan tanaman (Avivi et al., 2018).

Regenerasi pada kultur jaringan dapat terjadi melalui dua jalur yaitu embriogenesis somatik dan organogenesis (Roostika et al., 2005), baik secara langsung maupun tidak langsung melalui tahap kalus (Ibrahim, 2019a). Embriogenesis somatik merupakan proses membentuk embrio atau calon tanaman yang berasal dari sel soma atau sel yang tidak melalui suatu proses pembuahan. Dapat diartikan juga sebagai proses regenerasi yang terjadi pada eksplan tanaman melalui pembentukan struktur mirip perkembangan embrioid atau embrio dengan asal sel somatik yang sudah terbentuk calon tunas dan akar. Sedangkan pada embriogenesis zygotik proses perkembangan sel somatik membentuk tanaman yang baru dengan melalui pembuahan atau fusi sel gamet. Organogenesis adalah suatu proses perkembangan serta pembentukan tunas atau akar dari jaringan meristem. Proses organogenesis ini dimulai dari perubahan pada sel parenkim yang bersifat tunggal atau kelompok kecil dari sel, yang selanjutnya akan membelah serta menghasilkan masa sel yang bersifat globuler (meristemoid), dan berkembang membentuk primordium akar atau pucuk. peristiwa ini bisa terjadi pada eksplan baik langsung atau tidak langsung dengan melalui pembentukan kalus (Roostika et al., 2005).

Berdasarkan hal tersebut perlunya mengetahui mekanisme regenerasi eksplan terutama memanfaatkan eksplan daun karena daun mempunyai morfologi tipis sehingga memudahkan kontak secara merata permukaan jaringan dengan permukaan media perlakuan, sehingga regenerasi dapat lebih cepat terbentuk (Nurchayati et al., 2018). Penggunaan eksplan daun dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi dan jenis zat pengatur tumbuh sehingga dapat memberikan referensi dan rekomendasi metode regenerasi yang efektif pada tanaman porang.

## METODE PENELITIAN

### **Bahan tanam *in vitro***

Tangkai daun dan daun tanaman porang yang berasal dari biji tanaman porang yang disterilisasi menggunakan alkohol 70 % selama satu menit dan kloroks 20% selama 3 menit dan dibilas menggunakan air steril. kemudian dikulturkan dalam suatu media murashige and skoog (MS). Biji yang tumbuh menjadi plantlet pada bagian daunnya dipakai sebagai bahan tanam atau eksplan. Dan karena daun yang dipakai sudah berasal dari daun *in vitro* sehingga tidak perlu lagi melakukan sterilisasi. Atau tetap dilakukan sterilisasi dengan menggunakan kloroks 20% selama 3 menit kemudian di potong kira2 dengan luasan 1-2 cm<sup>2</sup>.

### **Media tanam dan perlakuan hormon**

Media tanam yang dipakai adalah media Murashige and Skoog (MS) dengan penambahan vitamin dan myoinositol dikombinasi Hormon NAA dan BAP dengan konsentrasi yang berbeda diantaranya; K1= NAA 5,5  $\mu$ M, K2= NAA 20  $\mu$ M, K3= BA 2,22  $\mu$ M, dan K4= NAA 5,5  $\mu$ M + BA 2,22  $\mu$ M. Keasaman pada media dikondisikan dengan pH  $\pm$ 5,8-6,3 dengan penambahan larutan penyangga KOH atau HCl bila terlalu asam atau terlalu basa. Kemudian media diletakkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 2 jam untuk mensterilkan media yang akan dipakai. Untuk merangsang regenerasi media MS diiberi penambahan ZPT sebagai perlakuan. Setiap perlakuan terdapat 3 ulangan dan setiap ulangan terdapat 3 eksplan. Setelah diautoklaf media kultur kemudian diinkubasi dalam ruang ber-AC dengan suhu  $\pm$ 26°C dan pencahayaan lampu TL 40 watt dengan besaran 30  $\mu$ mol/ m<sup>2</sup>/det dalam waktu 16 jam/hari. Subkultur terhadap media dilakukan setiap satu bulan sekali dengan komposisi yang sama.

### **Pengamatan**

Pengamatan terhadap media dan eksplan dilakukan setiap 3 hari sekali terhadap perkembangan pada kultur yang tumbuh, mekanisme regenerasi, waktu yang diperlukan bagi eksplan dalam regenerasi baik organogenesis maupun somatik embriogenesis, baik langsung ataupun tidak langsung.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

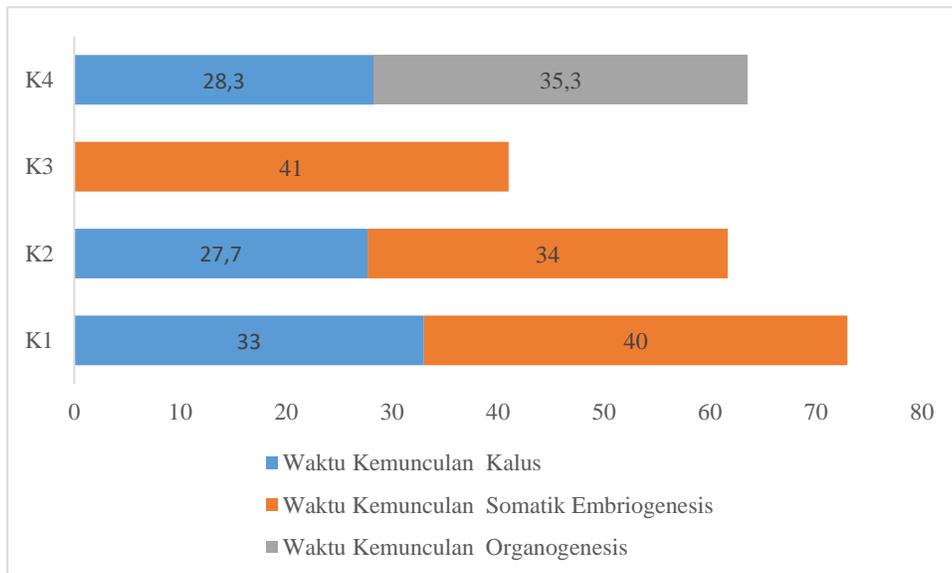
Eksplan merespon adanya pemberian perbedaan perlakuan dengan kecenderungan yang berbeda, respon eksplan daun tanaman porang dimulai dari bagian tangkai daun yang membengkak dan beregenerasi melalui 2 macam regenerasi yaitu somatic embryogenesis dan organogenesis baik secara langsung maupun tidak langsung. Pengaruh konsentrasi Hormon NAA dan BAP menunjukkan kecenderungan yang berbeda. Secara visual ditunjukkan pada hasil pengamatan dari beberapa parameter seperti persentase eksplan yang dapat beregenerasi, mekanisme regenerasi eksplan, kedinihan respon eksplan.

Perbedaan pemberian ZPT mempunyai pengaruh dengan kecenderungan yang berbeda terhadap mekanisme regenerasi eksplan dan persentase eksplan beregenerasi. Terlihat dalam tabel 1 bahwa Regerasi eksplan dapat muncul mekanisme regenerasi melalui dua jalur yaitu organogenesis dan somatik embriogenesis baik secara langsung dan atau tidak langsung dengan perlakuan zat pengatur tumbuh (ZPT) dengan jenis dan konsentrasi yang berbeda-beda. Nampak dalam tabel 1, ZPT dengan Hormon Tunggal Pada perlakuan K1, K2, dan K3 semuanya dapat beregenerasi melalui jalur somatik embriogenesis baik langsung dan atau tidak langsung. Perlakuan K1 merespon dengan regenerasi SE secara tidak langsung dengan melalui fase kalus terlebih dahulu kemudian membentuk embriosomatik sementara perlakuan K3 merespon pemberian ZPT dengan beregenerasi secara tidak langsung dengan tanpa melalui fase kalus yaitu langsung membentuk embriosomatik fase globular. Perlakuan K2 menunjukkan kecenderungan terbaik untuk regenerasi jalur Somatik embryogenesis baik secara langsung dan atau tidak langsung dengan kemunculan 100% artinya semua eksplan yang dikulturkan terdapat respon regenerasi. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan kadar ZPT NAA dalam K2 yang lebih tinggi dibandingkan K1 dan K3 meskipun dengan tidak terdapat penambahan ZPT sitokinin dimana hanya ditambahkan Auksin saja sudah dapat mendapat respon regenerasi (Restanto et al., 2018). Hal ini kemungkinan disebabkan kemampuan setiap eksplan yang berbeda dalam merespon pemberian ZPT serta kadar hormon internal dalam eksplan yang juga mempengaruhi perkembangan eksplan sehingga menghasilkan respon dengan kecenderungan terbaik dalam regenerasi jalur somatik embriogenesis (Aziz et al., 2014). Perlakuan K4 dibandingkan dengan perlakuan yang lain menunjukkan respon paling berbeda terhadap mekanisme regenerasi eksplan, dimana perlakuan K4 dapat meregenerasikan eksplan melalui jalur organogenesis baik secara langsung maupun tidak langsung. Hal ini diduga disebabkan kombinasi antara dua hormon eksternal dengan konsentrasi yang optimum untuk merangsang regenerasi jalur organogenesis (Larasati et al., 2015).

Tabel 1. Pengaruh perlakuan perbedaan ZPT terhadap Mekanisme regenerasi eksplan dan persentase eksplan yang beregenerasi

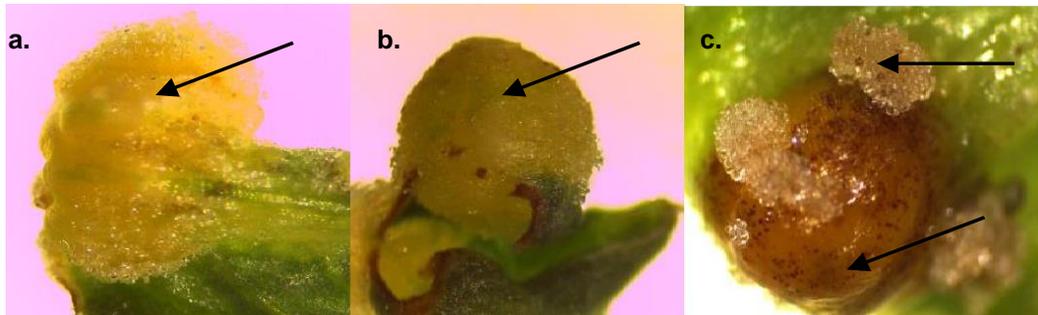
Zat Pengatur Tumbuh	Mekanisme Regenerasi Eksplan	Persentase Eksplan Beregenerasi (%)
NAA 5,5 µM	Somatik Embriogenesis Tidak langsung	33
NAA 20 µM	Somatik Embriogenesis langsung dan atau tidak langsung	100
BA 2,22 µM	Somatik Embriogenesis Langsung	33
NAA 5,5 µM + BA 2,22 µM	Organogenesis langsung dan tidak langsung	100

Berdasarkan persentase eksplan beregenerasi terlihat dalam tabel 1. perlakuan K2 dan K4 juga menunjukkan perlakuan terbaik pada jaur regenerasi masing-masing dengan menunjukkan persentase 100% yang berarti semua eksplan yang dikulturkan dapat beregenerasi baik dengan organogenesis maupun somatic embryogenesis. Hal ini juga kemungkinan disebabkan oleh konsentrasi dan jenis ZPT yang yang lebih optimum terhadap eksplan daun porang ditunjukkan oleh perlakuan K2 dan K4. Karena konsentrasi hormon baik eksternal maupun internal dengan konsentrasi yang sedikit saja sangat mempengaruhi arah pertumbuhan dan perkembangan dari sel maupun jaringan pada tanaman, sehingga selisih konsentrasi dan jenis zpt sangat responsif terhadap eksplan yang dikulturkan (Prayana et al., 2017). Selaras dengan data pada tabel 1 di atas, juga berkorelasi positif dengan rata-rata respon kedinian eksplan dalam beregenerasi yang tampak pada gambar 1. Dalam grafik terlihat bahwa respon setiap eksplan mempunyai kecenderungan yang berbeda terhadap kedinian eksplan beregenerasi. Tampak dalam gambar bahwa pada perlakuan K2 dan K4 menunjukkan respon dengan kecenderungan kedinian tercepat dibandingkan perlakuan K1 dan K3 dengan waktu ± 27-28 hari untuk membentuk kalus dan dalam waktu ± 34-35 hari dapat membentuk embriosomatik untuk perlakuan K2 dan membentuk organ untuk perlakuan K4 .



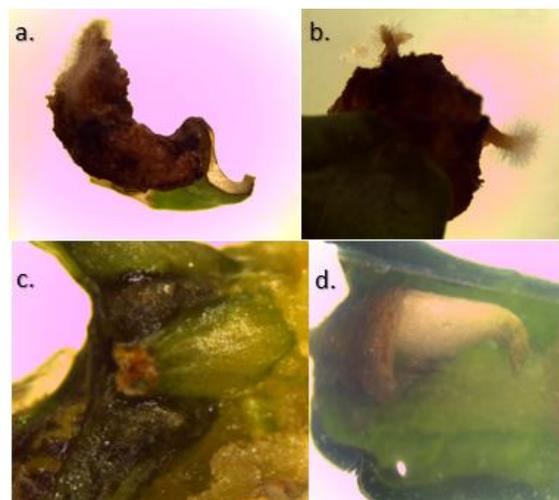
Gambar 1. Pengaruh perbedaan konsentrasi dan jenis ZPT terhadap kedinian eksplan beregenerasi dengan berbagai mekanisme (Hari)

Terlihat dalam gambar 1. Bahwa setelah membentuk kalus semua eksplan dapat beregenerasi ke jalur masing-masing. Tidak stagnan, artinya kalus yang dihasilkan merupakan kalus yang bersifat embriogenik dan bertekstur remah menunjukkan kalus yang terbentuk atas sel-sel tubular yang struktur antar selnya lebih renggang, tidak beraturan serta mudah rapuh (Aziz et al., 2014). lebih cepat merespon dibandingkan kalus kompak dengan sifat tekstur kalus yang terjadi pembelahan dalam fase stasioner yang menyebabkan kalus yang bersifat kompak cenderung akan mengalami kecepatan pembelahan yang lambat dibandingkan kalus bersifat remah yang mempunyai daya poliferasi yang lebih cepat (Restanto et al., 2021). Sehingga biasanya pada kalus yang kompak bisa memproduksi metabolit sekunder dengan jumlah lebih tinggi (Isnaini & Novitasari, 2020).



Gambar 2. Eksplan yang beregenerasi melalui Somatik Embriogenesis pada perlakuan K2=NAA 20  $\mu$ M, 2a. SE secara tidak langsung, 2b. SE secara langsung, 2c. SE secara langsung dan tidak langsung.

Berdasarkan kenampakan visual perlakuan K2 pada Gambar 2 terlihat bahwa respon eksplan menunjukkan regenerasi eksplan dengan jalur somatik embriogenesis dimana gambar 2a menunjukkan somatik embriogenesis secara tidak langsung dengan kenampakan kalus yang bersifat remah, dan gambar 2b menunjukkan somatik embriogenesis langsung yang menunjukkan gambar terbentuknya embriosomatik fase globular. Dan gambar 2c terlihat dalam satu eksplan terdapat kalus dan embriosomatik yang muncul sehingga dengan perlakuan K2 regenerasi SE baik langsung maupun tidak langsung dapat terbentuk dengan waktu yang cepat sehingga menunjukkan perlakuan terbaik untuk jalur regenerasi somatik embriogenesis.



Gambar 3. Eksplan yang beregenerasi melalui Organogenesis pada perlakuan K4= MS + NAA 5,5  $\mu$ M + BA 2,22  $\mu$ M, 2 a dan c. Organogenesis tidak langsung, 2 b dan d. Organogenesis langsung.

Kenampakan yang berbeda terlihat dalam respon eksplan terhadap perlakuan K4, dimana eksplan dapat beregenerasi dengan jalur organogenesis terlihat dalam gambar 3 bahwa pada gambar 3 a dan c tampak bahwa regenerasi organogenesis bersifat tidak langsung karena pembentukan organ masih melalui tahapan kalus (Kurniawan & Widoretno, 2016), dan pada gambar 2 b dan d terlihat bahwa baik organ tunas maupun organ akar langsung terbentuk dari eksplan dan tidak melalui fase kalus. Akan tetapi sifat dari organogenesis bersifat unipolar dimana respon eksplan yang tumbuh hanya satu arah pertumbuhan saja dimulai dengan respon munculnya tunas baru kemudian diinisiasi dengan merangsang pertumbuhan akar ataupun sebaliknya berbeda dengan somatik embryogenesis yang bersifat bipolar dimana perkembangan meristem akar dan tunas dapat terjadi dalam waktu yang sama (Larasati et al., 2015).

### KESIMPULAN

Perbedaan konsentrasi dan jenis eksplan mempunyai pengaruh dengan kecenderungan yang berbeda terhadap semua parameter. Dimana perlakuan K2 menunjukkan kecenderungan terbaik dalam regenerasi melalui somatic embryogenesis dan perlakuan K4 menunjukkan kecenderungan terbaik dalam regenerasi organogenesis

### DAFTAR PUSTAKA

- Avivi, S., Syamsunihar, A., Soeparjono, S., & Chozin, D. M. (2018). Toleransi Berbagai Varietas Tebu terhadap Penggenangan pada Fase Bibit Berdasarkan Karakter Morfologi dan Anatomi. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 46(1), 103. <https://doi.org/10.24831/jai.v46i1.14081>
- Aziz, M. M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. S. (2014). Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara In Vitro Callus. *LenteraBio*, 3(2), 109–114.
- Han, E. S., & goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee, A. (2019). Modul Diseminasi : Budidaya dan Pengembangan Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Sebagai Salah Satu Potensi Bahan Baku Lokal. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. [http://prc.ub.ac.id/files/modul\\_porang.pdf](http://prc.ub.ac.id/files/modul_porang.pdf)
- Ibrahim, M. S. D. (2019a). Conventional Propagation and In Vitro Culture of Iles-Iles (*Amorphophallus* spp.) and Its Development Strategy. *Perspektif*, 18(1), 67.
- Ibrahim, M. S. D. (2019b). PERBANYAKAN ILES-ILES (*Amorphophallus* spp.) SECARA KONVENSIONAL DAN KULTUR IN VITRO SERTA STRATEGI PENGEMBANGANNYA Conventional Propagation and In Vitro Culture of Iles-Iles (*Amorphophallus* spp.) and Its Development Strategy. *Perspektif*, 18(1), 67. <https://doi.org/10.21082/psp.v18n1.2019.67-78>
- Isnaini, Y., & Novitasari, Y. (2020). Regenerasi Tunas Suweg (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson) pada Berbagai Konsentrasi BAP dan NAA dengan Kondisi Penyimpanan Terang dan Gelap. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 4(2), 94–105. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v4i2.375>
- Kurniawan, A. D., & Widoretno, W. (2016). Regenerasi In Vitro Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Jurnal Biotropika*, 4(1), 1–4.
- Larasati, T., Pascasarjana, P., Matematika, F., Ilmu, D. A. N., Alam, P., & Utara, U. S. (2015). ORGANOGENESIS DARI KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) ASAL EKSPLAN (*Elaeis guineensis* Jacq.) ASAL EKSPLAN. *Tesis*, 1–44.
- Nurchayati, Y., Nugroho, L. H., Biologi, D., Biologi, F., & Mada, U. G. (2018). *Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 3 Nomor 1 Februari 2018 Penggunaan Kinetin, Asam Naftalen Asetat, dan Benzil*

*Adenin dalam Induksi Kalus Kecubung ( Datura metel L .) Secara In Vitro Use of Kinetin , Naphthalene Acetate Acid , and Benzyl Adenine in I. 3.*

- Prayana, F. A., Djenal, F., & Wardana, R. (2017). Mikropropagasi Tangkai Daun Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) Secara In Vitro dengan Penambahan ZPT BAP dan NAA. *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1(2), 95–104. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v1i2.45>
- Restanto, D. P., Kriswanto, B., Khozim, M. N., & Soeparjono, S. (2018). KAJIAN THIDIAZURON (TDZ) DALAM INDUKSI PLB ANGGREK *Phalaenopsis* sp SECARA IN VITRO. *Agritrop : Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 16(1), 176. <https://doi.org/10.32528/agr.v16i1.1561>
- Restanto, D. P., Wiranegara, A., Dewanti, P., Kristanto, B., & Avivi, S. (2021). Pengaruh hormon 2 , 4-*dichlorophenoxyacetic acid* Terhadap Induksi Kalus Tanaman *Sorghum* (*Sorghum bicolor* ( L. ). 19(1), 12–18.