



**RESPON 2,4-D DAN BAP TERHADAP INDUKSI TUNAS PADA  
TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Nama : Naufal Cahya Kurniawan**

**NIM : 181510801008**

**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN PERKEBUNAN**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2022**



**RESPON 2,4-D DAN BAP TERHADAP INDUKSI TUNAS PADA  
TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia*)**

**SKRIPSI**

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Program Sarjana pada Program Studi Ilmu Pertanian (S1)  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

**Nama : Naufal Cahya Kurniawan**

**NIM : 181510801008**

**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN PERKEBUNAN**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2022**

### PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT atas ridho, berkah, dan rahmat-Nya, serta shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada kanjeng Nabi Muhammad SAW. Saya dapat menyelesaikan skripsi sebaik mungkin dengan lancar. Karya tulis ini kupersembahkan kepada:

1. Kedua orang tua saya, Bapak Gatot Kurniawan dan Ibu Harlik Purnamawati, serta kakak saya Adina Mutiara Kurniawan yang telah mendukung dan memotivasi dalam proses penyelesaian tugas akhir;
2. Seluruh pihak pengajar yang telah medidik dan membimbing saya selama pengembangan diri, terutama Bapak Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D sebagai dosen pembimbing skripsi dan Dwi Erwin Kusbianto S.P., M.P sebagai dosen pembimbing akademik;
3. Seluruh teman-teman yang telah membantu dan memotivasi;
4. Almamater Fakultas Pertanian yang saya banggakan.

**MOTO**

“Ikatlah dulu untamu itu kemudian baru engkau bertawakal”

(HR. At-Tirmidzi)

“Tidak ada progres jika tidak ada pergerakan”



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naufal Cahya Kurniawan

NIM : 181510801008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah dengan judul “**Respon 2,4-D Dan Bap Terhadap Induksi Tunas Pada Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*)**” adalah benar-benar hasil karya sendiri dan bukan karya jiplakan, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2022

Yang menyatakan,

Naufal Cahya Kurniawan

NIM 181510801008

**SKRIPSI**

**RESPON 2,4-D DAN BAP TERHADAP INDUKSI TUNAS PADA  
TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia*).**

Oleh:

**Naufal Cahya Kurniawan**

**NIM. 18151801008**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Skripsi: Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D

NIP. 196504261994031001

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Respon 2,4-D Dan Bap Terhadap Induksi Tunas Pada Tanaman Vanili (*Vanilla Planifolia*)”. Telah diuji dan disahkan pada:

Hari :

Tanggal :

Tempat :

Dosen Pembimbing Skripsi

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.

NIP. 196504261994031001

Dosen Penguji II

Dosen Penguji I

Dwi Erwin Kusbianto, S.P., M.P.

NIP 199202252019031014

Ayu Puspita Arum, S.TP., M.Sc.

NIP 199009212019032024

Mengesahkan

Dekan

Prof. Dr. Ir. Soetriono, M.P.

NIP. 196403041989021001

**RINGKASAN**

**Respon 2,4-D Dan BAP Terhadap Induksi Tunas Pada Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*);** Naufal Cahya Kurniawan; 181510801008; Program Studi Ilmu Pertanian; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Tanaman vanili di Indonesia berdasarkan lahan yang tersedia, memungkinkan dilakukan peningkatan produksi melalui perluasan areal tanam atau peremajaan tanaman. Kendala yang dihadapi pada rantai budidaya vanili yaitu dalam penyediaan bibit yang memiliki kendala. Perbanyakan secara generatif memiliki kendala rendahnya kemampuan perkecambahan yaitu sebesar 9,9% dan perbanyakan secara vegetatif memiliki kendala lambatnya tingkat perbanyakan. Adanya teknologi kultur jaringan dapat mengatasi keterbatasan yang terjadi pada perbanyakan secara konvensional. Penggunaan hormon dalam teknologi kultur jaringan pada umumnya dilakukan untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan vanili. Sehingga efisien waktu dalam penyediaan bibit vanili.

Penelitian ini menggunakan RAL 2 faktor yaitu BAP 3 taraf dengan konsentrasi 0 ppm, 0,5 ppm dan 1 ppm, serta 2,4-D 3 taraf dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hormon yang diberikan. Pengaruh hormon diamati menggunakan variabel kedirian tunas, panjang tunas dan persentase hidup. Adapun variabel pengamatan yang bersifat kualitatif yaitu histologi.

Hasil data yang diperoleh menunjukkan berbeda nyata dalam analisa anova. Perlakuan yang terbaik dihasilkan pada perlakuan kombinasi BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm (K2D1). Hal tersebut didukung dengan kedirian tunas yaitu pada hari ke-7, panjang tunas 0,5 mm dan 100% eksplan hidup. Hasil pengamatan histologi juga dapat membuktikan pembentukan tunas dengan melihat struktur dan bentuk sel pada eksplan.

**SUMMARY**

**Response of 2,4-D And BAP To Shoot Induction In Vanilla Plants (*Vanilla planifolia*);** Naufal Cahya Kurniawan; 181510801008; Study Program Agricultural Science; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Vanilla plants in Indonesia are based on available land, allowing for increased production through expansion of planting areas or plant rejuvenation. Constraints faced in the vanilla cultivation chain are in the supply of seeds that have problems. Sexual propagation has problems with low germination ability, which is 9.9% and vegetative propagation has problems with slow propagation rates. The existence of tissue culture technology can overcome the limitations that occur in conventional propagation. The use of hormones in tissue culture technology is generally done to stimulate the growth and development of vanilla. So it is time efficient in providing vanilla seeds.

This study used 2 factors RAL, namely BAP 3 levels with concentrations of 0 ppm, 0.5 ppm and 1 pm, and 2,4-D 3 levels with concentrations of 0.5 ppm, 1 ppm and 1.5 ppm. This study aims to determine the effect of the given hormone. The effect of hormones was observed using the variables of shoot early, shoot length and live percentage. The observational variable that is qualitative is hisology.

The results of the data obtained showed a significant difference in the ANOVA analysis. The best treatment resulted in the combination treatment of 0.5 ppm BAP and 0.5 ppm 2,4-D (K2D1). This was supported by the early shoots, namely on the 7th day, the shoot length was 0.5 mm and 100% of the explants were alive. The results of histological observations can also prove the formation of shoots by looking at the structure and shape of the cells in the explants.

## PRAKATA

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT atas ridho, berkah, dan rahmat-Nya, serta shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada kanjeng Nabi Muhammad SAW. Saya dapat menyelesaikan skripsi berjudul “**Respon 2,4-D Dan BAP Terhadap Induksi Tunas Pada Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*)**” dengan baik sebagai syarat menyelesaikan Program Studi Ilmu Pertanian (S1). Penyelesaian skripsi ini juga tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak, diantaranya:

1. Keluarga yang telah mendukung dan memotivasi dalam proses pembelajaran hingga akhir;
2. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D selaku dosen pembimbing skripsi yang telah mendampingi dalam proses penyelesaian tugas akhir;
3. Ayu Puspita Arum, S.TP., M.Sc selaku dosen penguji 1 yang telah memberi saran dalam penyusunan tugas akhir;
4. Dwi Erwin Kusbianto S.P., M.P selaku dosen penguji 2 dan pembimbing akademik yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi;
5. Budi Kriswanto, S.P., M.P selaku Teknisi Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah mengarahkan dalam penggunaan alat laboratorium;
6. Laboratorium Kultur Jaringan Ilmu Pertanian Fakultas Jember dan Laboratorium Kultur Jaringan Agronomi Fakultas Jember yang telah memfasilitasi penelitian;
7. Seluruh teman-teman yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian;
8. Semua pihak lain yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.

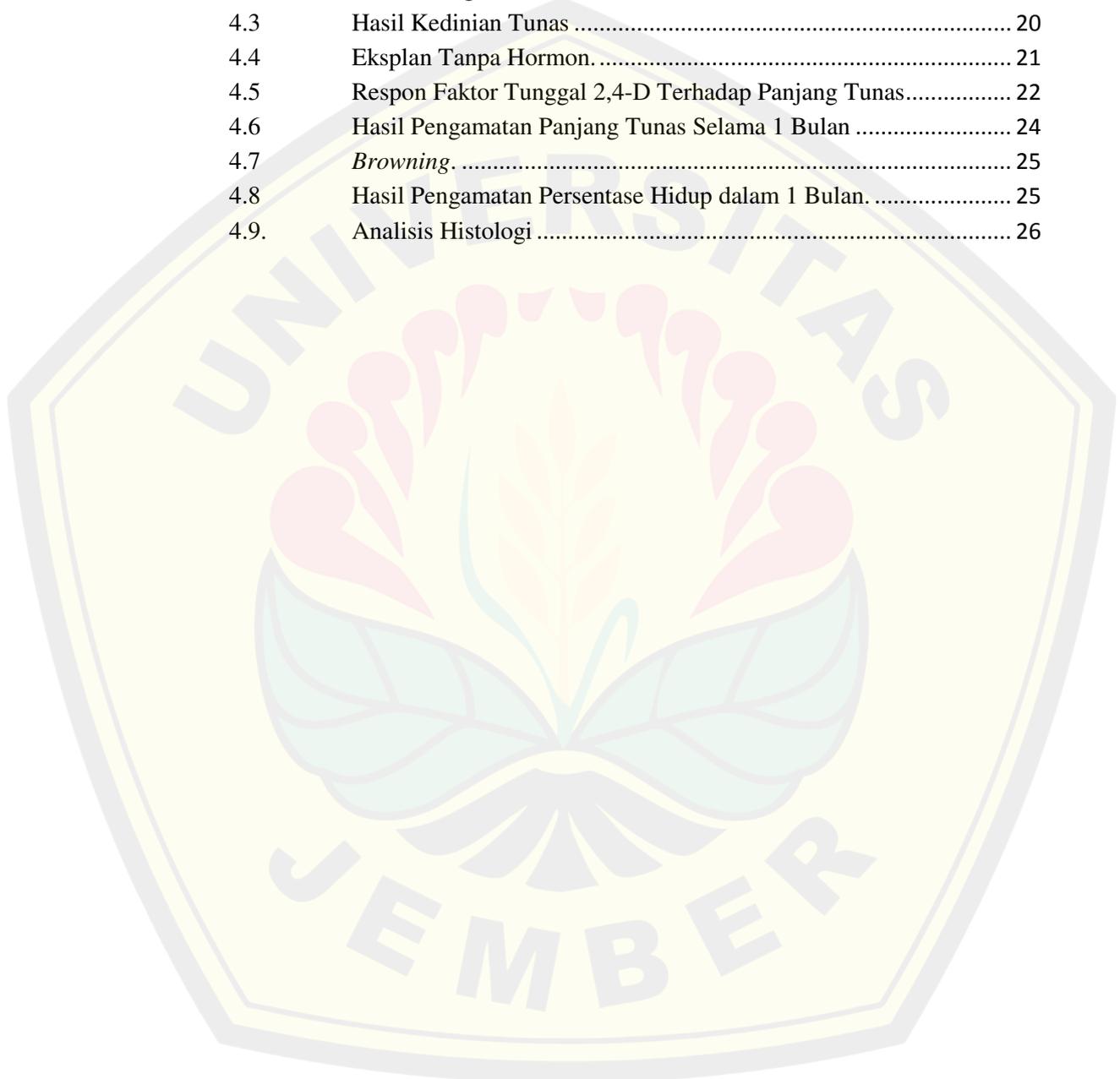
**DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL.....	i
PERSEMBAHAN .....	ii
MOTO.....	iii
PERNYATAAN .....	iv
SKRIPSI .....	v
PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
SUMMARY .....	viii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	3
1.3.1 Tujuan .....	3
1.3.2 Manfaat.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Botani Tanaman Vanili .....	5
2.2 Teknik In Vitro (Kultur Jaringan) .....	6
2.3 Kondisi Inkubasi .....	6
2.4 Zat Pengatur Tumbuh .....	7
2.5 Sterilisasi Alat dan Media.....	9
2.6 Eksplan .....	9
2.7 Sterilisasi Eksplan .....	9
2.8 Embriogenesis Somatik.....	10
2.9 Hipotesis.....	11
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	12

3.1	Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2	Variabel Penelitian .....	12
3.2.1	Variabel Bebas.....	12
3.2.2	Variabel Terikat .....	12
3.2.3	Variabel Kontrol .....	12
3.3	Definisi Operasional .....	12
3.4	Alat dan Bahan .....	13
3.4.1	Alat Penelitian .....	13
3.4.2	Bahan Penelitian .....	13
3.5	Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.5.1	Rancangan Percobaan.....	13
3.5.2	Prosedur Penelitian.....	14
3.5.3	Variabel Pengamatan .....	16
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	17
4.1	Perkembangan Eksplan.....	18
4.2	Kedinian Tunas.....	20
4.3	Perlakuan Tunggal Hormon 2,4-D.....	22
4.4	Panjang Tunas .....	23
4.5	Persentase Hidup .....	24
4.1	Histologi .....	26
BAB 5.	PENUTUP .....	28
5.1	Kesimpulan.....	28
5.2	Saran .....	28
DAFTAR	PUSTAKA .....	29
LAMPIRAN	.....	36

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Hal</b>
4.1	Bahan Tanam.....	17
4.2	Perkembangan Eksplan.....	19
4.3	Hasil Kedinian Tunas .....	20
4.4	Eksplan Tanpa Hormon.....	21
4.5	Respon Faktor Tunggal 2,4-D Terhadap Panjang Tunas.....	22
4.6	Hasil Pengamatan Panjang Tunas Selama 1 Bulan .....	24
4.7	<i>Browning</i> .....	25
4.8	Hasil Pengamatan Persentase Hidup dalam 1 Bulan. ....	25
4.9.	Analisis Histologi .....	26



**DAFTAR LAMPIRAN**

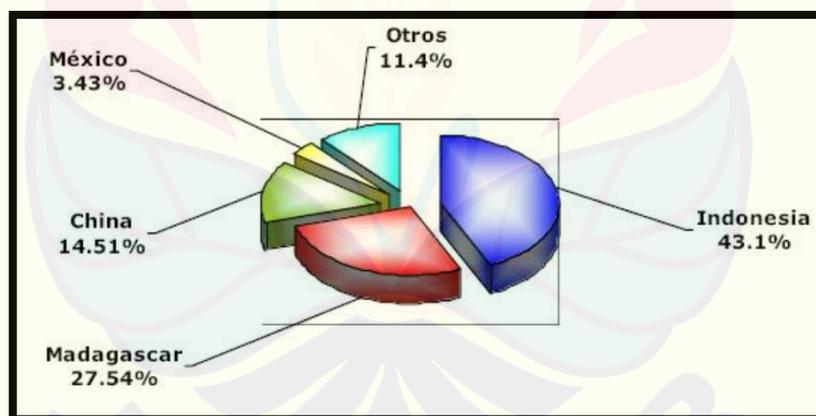
<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>	<b>Hal</b>
1	Dokumentasi Penelitian .....	36
2	Hasil Analisis Data.....	37



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Vanili (*Vanilla planifolia*) merupakan tanaman perkebunan yang memiliki harga jual tinggi. Indonesia termasuk kedalam penghasil dan pemasok vanili terbesar didunia. Rantai perdagangan pada komoditas vanili menjadikan vanili sebagai salah satu komoditas perkebunan yang ikut andil dalam penunjang ekonomi negara. Indonesia dapat menjadi penghasil vanili karena adanya dukungan dari petani dan lingkungan yang dapat memberikan potensi dalam pengembangannya. Negara yang juga melakukan ekspor vanili yaitu Madagascar, Papua New Guinea, United States of America, Germany, France, Comoros, Canada, Singapore, India, Uganda, French Polynesia, Belgium, New Zealand dan Mexico. Negara yang mengimpor vanili yaitu United States of America, France, Germany, Canada, Japan, United Kingdom, Singapore, Switzerland, Australia, Denmark dan Netherlands.



Gambar 1.1 Distribution of Vanilla World Production in 2003  
Sumber : (Medina dkk., 2009)

Tanaman vanili pada umumnya dapat dilakukan perbanyakan secara generatif dan vegetatif. Petani pada umumnya melakukan perbanyakan secara vegetatif karena benih vanili sangat kecil, memiliki cadangan yang sedikit dan

kulit yang keras. Perbanyakkan secara vegetatif banyak diadopsi oleh petani pada umumnya karena teknik tersebut dirasa mudah dilakukan (Tombe dkk, 2001). Menurut Yeh dkk. (2021), biji vanili dapat disemaikan, namun memiliki persentase rendah. Biji vanili pada umur 45 hari setelah semai memiliki daya kecambah 9,9%. Semakin lama umur biji vanili setelah semai maka kemampuan daya berkecambah semakin menurun. Kendala yang dihadapi petani ketika melakukan perbanyakkan secara stek yaitu terjadinya pembusukan pada batang. Busuk ini dapat terjadi karena adanya luka yang dihasilkan dari bekas pemotongan (Nurholis, 2017). Kasus tidak munculnya akar setelah dilakukan penanaman juga terjadi karena pada intinya untuk mendukung munculnya perakaran dan tunas secara normal, maka dari segi lingkungan juga harus mendukung. Kegagalan saat perbanyakkan inilah yang menyebabkan kendala pada saat dilakukannya pengembangan perluasan komoditas vanili.

Perbanyakkan vanili secara stek juga terkendala dalam hal penggunaan batang yang jumlahnya terbatas. Sultur yang digunakan untuk bahan tanam kurang lebih sepanjang 1 meter. Ruas stek yang dapat ditanam langsung dianjurkan yaitu mempunyai 5 buku, namun jika bahan terbatas penggunaan stek pendek dengan jumlah 1 – 3 buku dapat dilakukan. Penggunaan stek pendek tidak dapat ditanam langsung pada kebun karena dilakukan penyemaian terlebih dahulu hingga memiliki 5 – 7 buku (Supardi dan Silvester, 2010). Menurut Palama dkk. (2010), perbanyakkan vanili secara stek memiliki laju perbanyakkan yang lambat dan menurunkan kualitas produksi tanaman induk.

Kultur jaringan merupakan teknik yang dapat dimanfaatkan untuk penyediaan bibit vanili secara berkelanjutan, namun teknik ini hanya dapat dilakukan oleh orang yang memiliki keahlian dan pada umumnya belum dapat dilakukan petani secara mandiri. Kultur jaringan melakukan perbanyakkan secara in vitro dimana lingkungan mikro dapat diatur sedemikian rupa. Adanya teknik kultur jaringan ini dapat membebaskan bibit dari patogen (Azizi dkk., 2017). Sehingga permasalahan abiotik dan biotik yang ditemukan pada saat perbanyakkan secara stek dapat dibebaskan dengan perbanyakkan secara kultur jaringan. Berdasarkan obeservasi lapang penyakit dikomersial persemaian menunjukkan

sekitar 36,9% tanaman mati melalui layu fusarium, yang menyebabkan kerugian ekonomi dalam menyediakan bibit di Sumatera Selatan seluas 1.324.653 hektar (Soleha dkk., 2022).

Perbanyakan secara kultur jaringan ini juga dapat mengatasi keterbatasan bahan tanam, dimana keterbatasan bahan tanam pada komoditas vanili ini dapat menyebabkan kendala dalam proses pengembangan komoditas vanili. Kultur jaringan dapat dikatakan dapat mengatasi keterbatasan bahan tanam dikarenakan eksplan dengan ukuran  $\pm 1$  cm dapat digunakan untuk mendapatkan individu baru (Setiawati dkk., 2020).

Zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan memiliki peran dalam hal mempercepat dan merangsang perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin. Jenis hormon yang dapat digunakan dalam menginduksi tunas yaitu kombinasi 2,4-D dan BAP. Penggunaan auksin (2,4 D) dan sitokinin (BA atau kinetin) akan memaksimalkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam menginduksi tunas. Menurut Ashraf dkk. (2014), Hormon sitokinin jenis BAP memiliki efektivitas dalam menginduksi dan multiplikasi tunas. berdasarkan penelitian penelitian Halim dkk. (2017), 1 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP dapat merespon pembentukan tunas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka terdapat rumusan masalah yaitu:

1. Bagaimana respon vanili ketika dilakukan perbanyakan secara *In Vitro* dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP?

## 1.3 Tujuan dan Manfaat

### 1.3.1 Tujuan

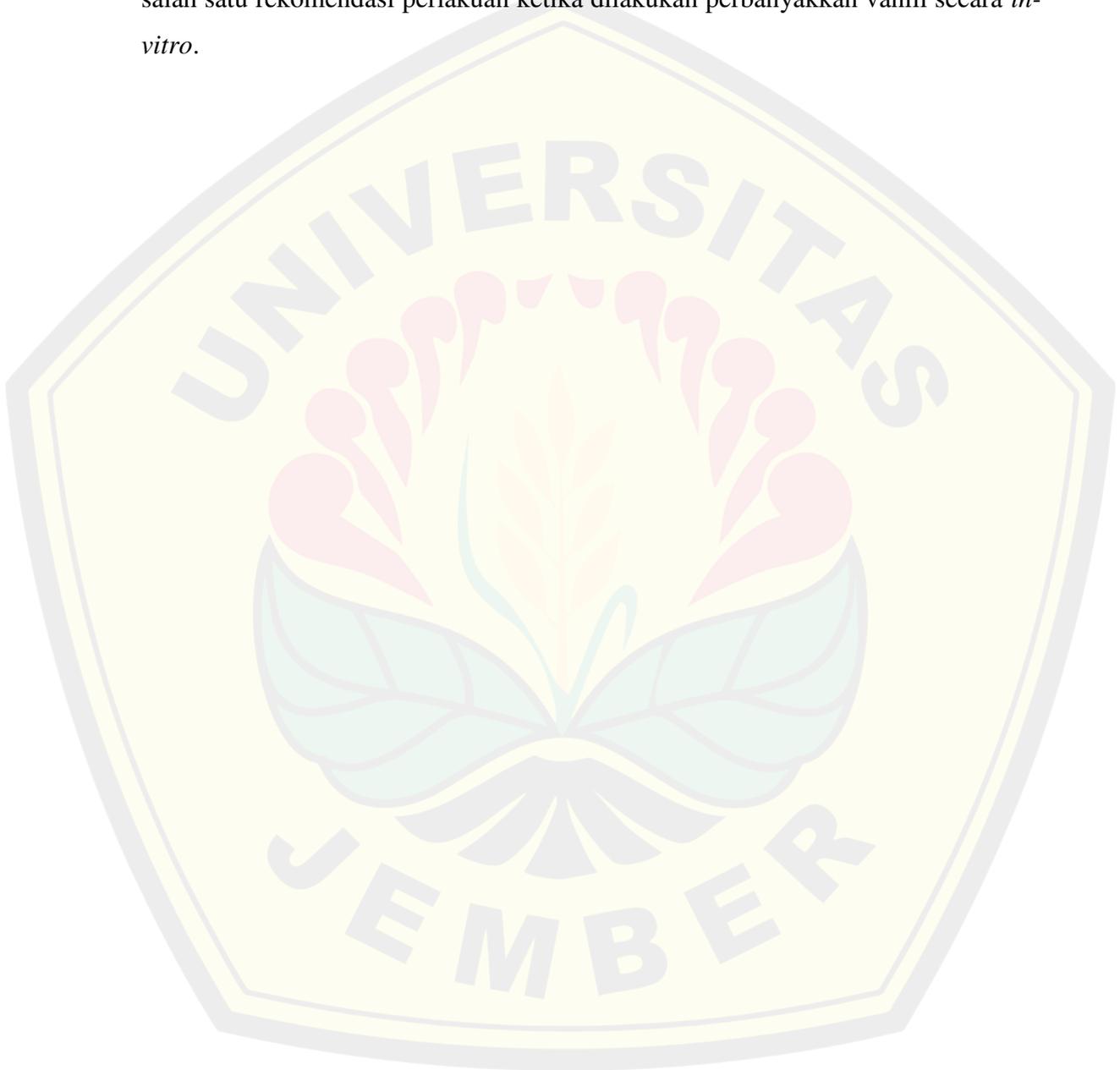
Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui konsentrasi yang tepat senyawa 2,4 D dan BAP dalam pembentukan tunas.

2. Mengetahui laju pemanjangan tunas dalam penggunaan hormon 2,4-D

1.3.2 Manfaat

Penelitian ini mampu memberikan informasi mengenai pemberian hormon yang lebih efisien dalam segi waktu, sehingga penelitian dapat digunakan sebagai salah satu rekomendasi perlakuan ketika dilakukan perbanyakan vanili secara *in-vitro*.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Vanili

Tanaman vanili merupakan tanaman rambat yang memiliki 700 genus dan 20.000 spesies. Tanaman vanili diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Klas	: Angiospermae
Sub Klas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Orchidales
Famili	: Orchidaceae
Genus	: Vanilla
Species	: Vanilla planifolia Andrews

Vanili merupakan tanaman yang merambat dimana pada setiap buku dapat memunculkan akar. Berdasarkan letaknya perakaran vanili dibagi 2 yaitu sebagai akar pelekat dan akar yang menyerap air dan unsur hara dalam tanah. Perakaran yang berada dibawah tanah merupakan perakaran yang digunakan sebagai penyerapan air dan unsur hara untuk kebutuhan hidup dan perakaran yang keluar pada setiap buku merupakan perakaran yang digunakan untuk melekat pada batang tanaman lain atau sejenisnya yang digunakan tanaman vanili untuk merambat. Sifat dari vanili yang menumpang pada tanaman sehingga tanaman vanili dapat disebut dengan tumbuhan epifit. Tanaman vanili memiliki batang berbentuk silinder dan berbuku-buku. Permukaan batang licin dan memiliki diameter 1-2 cm. Tunas vanili yang memanjang dan tumbuh menjadi batang muda berwarna hijau muda dan dengan seiring bertambahnya hari batang muda tersebut menua dengan warna yang berubah menjadi hijau tua. Panjang ruas berkisar antara 5-15 cm dan dapat sulur dapat memanjang hingga 50 meter. Daun vanili tumbuh pada setiap buku dengan posisi berselang seling dan memiliki bentuk daun jorong memanjang. Bunga vanili muncul pada ketiak daun. Panjang bunga 5-8 cm dan pertandan mencapai 30 bunga. Penyerbukan bunga vanili pada umumnya dilakukan dengan bantuan manusia dan juga dapat dengan bantuan

aktivitas serangga. bunga vanili tidak dapat melakukan penyerbukan sendiri karena adanya lidah bunga yang menutupi kepala putik. Proses penyerbukan kemudian akan menghasilkan buah, dimana buah vanili berbentuk kapsul dengan panjang 10-15 cm dan diameter 5-15 mm (Tombe dkk, 2001).

## **2.2 Teknik In Vitro (Kultur Jaringan)**

Kultur jaringan merupakan perbanyakan vegetatif pada tanaman yang memanfaatkan bagian tanaman seperti batang, akar, daun, sel dan jaringan lainnya secara aseptik. Teknik perbanyakan ini dapat menekan pertumbuhan patogen pada bibit yang dihasilkan dan tanpa menggunakan indukan yang banyak. Tahapan kultur jaringan yaitu pembuatan media, inisiasi, sterilisasi, multiplikasi, pengakaran dan aklimatisasi. Pembuatan media yaitu penyiapan media untuk kultur jaringan dimana media yang digunakan telah mengandung bahan pendukung seperti hormon, nutrisi, agar, garam mineral, vitamin, gula, dan zat lainnya yang dibutuhkan dalam mendukung pertumbuhan eksplan untuk tumbuh dan berkembang selama proses in vitro. Inisiasi merupakan kegiatan pengambilan eksplan dari pohon induk. Sterilisasi merupakan kegiatan yang dilakukan untuk membebaskan alat, bahan, kondisi laboratorium, eksplan, tempat inisiasi dan pekerja dari mikroorganisme yang dapat mengganggu dalam proses kultur jaringan. Multiplikasi merupakan tahapan dalam memperbanyak jumlah planlet secara in vitro. Pengakaran merupakan proses yang dilakukan untuk menumbuhkan akar pada tanaman kultur. Aklimatisasi merupakan pemindahan planlet yang awalnya berada didalam botol menuju lingkungan bebas. Keberhasilan proses kultur jaringan dipengaruhi oleh genotip tanaman, media kultur, lingkungan tumbuh dan kondisi eksplan (Basri, 2016).

## **2.3 Kondisi Inkubasi**

Cahaya merupakan faktor penting dalam budidaya in vitro. Waktu paparan cahaya, intensitas cahaya dan komposisi spektralnya sangat penting. Respon terhadap cahaya bervariasi tergantung pada sumber eksplan. Informasi dalam kebanyakan laporan, induksi kalus dilakukan dalam gelap, tetapi ada beberapa

laporan bahwa mereka menggunakan cahaya untuk proliferasi kalus dan pemeliharaan. Tidak seperti induksi kalus, cahaya memainkan peran penting untuk regenerasi tanaman dan untuk diferensiasi organ dan jaringan, keberadaan cahaya diperlukan (Forooghian dan Shahin, 2013).

Suhu inkubasi yang diperlakukan setiap spesies untuk proses kultur jaringan berbeda-beda. Penentuan suhu ruang ini didasari oleh habitat tanaman. Suhu inkubasi untuk tanaman yang tinggal di daerah panas berkisar  $25-27^{\circ}\text{C}$ , sementara untuk tanaman yang tinggal di tempat dingin suhu yang diberikan akan lebih rendah. Penentuan suhu memiliki pengaruh dalam proses fisiologi tanaman. Penggunaan suhu tinggi tidak disarankan karena dapat menyebabkan enzim-enzim terdenaturasi dan kehilangan fungsinya (Ajijah dkk., 2020). Penggunaan suhu  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  pada ruang inkubasi dengan tipe tanaman tropis dan subtropis diharapkan dapat memaksimalkan pertumbuhan eksplan.

#### **2.4 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh dapat mempengaruhi percepatan dalam pembentukan tunas. Keberadaan zat pengatur tumbuh dalam tanaman dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tanaman. Pengaruh jumlah konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda pada setiap tanaman, jenis tanaman bahkan antar varietas dalam satu spesies. Makin tingginya konsentrasi zat pengatur tumbuh maka organogenesis embrio dapat terhambat (Purba dkk., 2017).

Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur jaringan pada umumnya yaitu jenis auksin dan sitokin. Konsentrasi rasio auksin dan sitokinin dalam tujuan pembentukan kalus yaitu rasio auksin seimbang dengan sitokinin maka eksplan akan tumbuh kalus. Jika rasio auksin lebih rendah dari sitokinin maka organogenesis akan cenderung mengarah pada tunas, sebaliknya jika rasio lebih tinggi daripada sitokinin maka organogenesis akan cenderung dalam pembentukan akar (Ariati dkk., 2012).

Golongan auksin seperti NAA, IAA, IBA, dan 2,4 D berfungsi dalam meningkatkan tekanan osmotik, permeabilitas sel, mengurangi tekanan pada dinding sel, meningkatkan plastisitas dan mengembangkan dinding sel, serta

meningkatkan sintesis protein. Golongan sitokinin seperti Kinetin, BAP atau BA berfungsi dalam pembelahan sel. 2,4 D merupakan zat pengatur tumbuh golongan auksin yang memiliki daya aktivitas kuat, sehingga pada konsentrasi rendah dapat menginduksi kalus endosperm (Widiastoety, 2014). Sitokinin merupakan golongan zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk merangsang pembentukan tunas (morfogenesis), pembelahan sel (sitokinesis) dan berpengaruh terhadap metabolisme sel. Berdasarkan Lestari (2011), Hormon sitokinin digunakan untuk menginduksi tunas dan hormon auksin digunakan untuk menginduksi akar. Namun, keduanya sering dibutuhkan tergantung dengan perbandingan/ratio sitokinin terhadap auksin ataupun sebaliknya.

Penelitian dalam induksi kalus lebih banyak keberhasilan menggunakan eksplan nodus dibanding dari daun, namun terdapat salah satu penelitian yang menjelaskan bahwa dengan penambahan 2,4-D dan BAP dalam induksi kalus dari eksplan daun muda lebih baik dibandingkan dengan menggunakan eksplan nodus. Eksplan daun dan nodus vanili dikultur pada Media basal MS dilengkapi dengan 2,4-D atau NAA dikombinasi dengan 2.22  $\mu$ M BAP. Eksplan dibiakkan pada media tanpa zat pengatur tumbuh gagal menghasilkan kalus dari kedua jenis eksplan. Baik 2,4-D dan NAA efektif dalam menginduksi pembentukan kalus ketika digunakan dalam kombinasi dengan BAP. Sementara 2,4-D dihasilkan lebih tinggi frekuensi pembentukan kalus dari NAA, persentase respon tidak berbeda secara signifikan antara ini dua jenis auksin. Respon kalus bervariasi antar nodal dan eksplan daun juvenil masing-masing sebesar 35% dan 60% (Janarthanam dan S. Seshadri, 2008).

Penambahan 2,4-D dalam media kultur akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid. Pemberian sitokinin dalam kultur jaringan berperan penting dalam memicu pembelahan sel dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan. Pemberian hormon BAP dan 2,4-D pada umumnya berdasarkan penelitian banyak diperuntukkan dalam menginduksi kalus. Terbentuknya tunas juga dapat memungkinkan dalam penggunaan hormon BAP dan 2,4-D. Menurut

Yanti & Mayta (2021), faktor hormon endogen juga mempengaruhi respon yang terjadi. Penggunaan 1 mg/l BAP tidak menghasilkan kalus. Hal tersebut dapat diduga karena hormon endogen dengan hormon yang diberikan belum seimbang sehingga terjadi embriogenesis somatik secara langsung.

## 2.5 Sterilisasi Alat dan Media

Autoklaf merupakan alat yang digunakan untuk tujuan membebaskan suatu benda dari protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, dan virus. Spora bakteri yang paling tahan panas diharuskan terbunuh dalam autoklaf dengan panas dan lama yang telah diatur. Suhu yang digunakan dalam sterilisasi tabung reaksi yang berisi 10 ml medium cair membutuhkan waktu 10-15 menit pada suhu 121°C, sedangkan jumlah medium yang sama ditempatkan dalam 10 wadah berukuran 1 liter akan membutuhkan waktu 20-30 menit untuk menjamin tercapainya sterilisasi (Istini, 2020).

## 2.6 Eksplan

Eksplan merupakan bagian dari tanaman yang akan digunakan sebagai bahan tanam kultur jaringan. bagian tanaman yang banyak mengandung persediaan makanan serta bahan yang digunakan untuk pertumbuhan maka lebih mudah untuk beregenerasi dibandingkan dengan bagian tanaman yang kurang mengandung bahan makanan (Marthani dkk., 2016).

## 2.7 Sterilisasi Eksplan

Bahan yang digunakan dalam proses sterilisasi yaitu seperti hipoklorit, alkohol, batisida dan fungisida. Waktu perendaman dan bahan yang digunakan memiliki pengaruh yang berbeda pada setiap spesies tanaman. Waktu pengaplikasian natrium hipoklorit mempengaruhi kondisi eksplan. Singkatnya waktu perendaman menyebabkan eksplan rentan terhadap patogen, semakin lama perendaman menyebabkan tergangungnya perkembangan eksplan yang ditandai dengan *browning*. Natrium hipoklorit banyak digunakan karena efektif dalam membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Alkohol

membunuh bakteri dengan mekanisme denaturasi protein sel bakteri. Waktu perendam eksplan dengan alkohol 70% tidak mempengaruhi warna eksplan (Setiani dkk., 2018).

## 2.8 Embriogenesis Somatik

Kultur jaringan merupakan teknologi yang digunakan sebagai perbanyakan tanaman, dimana terdapat proses pembentukan embrio yang berasal dari jaringan somatik. Proses terjadinya embrio dari jaringan somatik ini disebut dengan embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik merupakan tahapan dari sel somatik tumbuhan yang kemudian mengalami dediferensiasi menjadi sel embrionik yang totipoten yang mampu berkembang menjadi tanaman utuh (Guan dkk., 2016). Embriogenesis somatik berdasarkan fase pembentukannya dibagi menjadi dua yaitu embriogenesis secara langsung dan embriogenesis secara tidak langsung. Perbedaan dari kedua hal tersebut yaitu pada proses embriogenesis somatik secara tidak langsung, maka eksplan tannaman akan pengkalusan terlebih dahulu. Berbeda dengan embriogenesis somatik tidak langsung, embriogenesis somatik secara langsung dalam fase perkembangannya eksplan akan langsung membentuk jaringan somatik (Pardede dkk., 2021). Kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir yang awalnya merupakan jaringan penutup luka, dimana sel-sel yang pada awalnya dorman (*quiscent*) terdiferensiasi kembali (*dediferensiasi*). Dediferensiasi terjadi karena sel-sel tumbuh (jaringan), yang secara alamiahnya bersifat autotrof dikondisikan menjadi heterotrof dengan cara memberikan nutrisi yang cukup kompleks di dalam medium kultur, sehingga sel-sel membelah secara tidak terkendali membentuk massa sel yang tidak terorganisir (kalus) (Rusdianto dan Ari, 2003). Kalus berdasarkan tekstur dan komposisi sel dibedakan menjadi dua yaitu kalus kompak dan remah. Kalus kompak yaitu kalus yang mempunyai tekstur padat dan keras yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat. Kalus remah yaitu memiliki tekstur yang lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak (Wijawati dkk., 2019).

Tahapan embriosomatik tidak langsung yang dimulai dari fase inisiasi dan poliferasi embrio, pendewasaan embrio, perkecambahan embrio dan aklimatisasi

lebih memiliki banyak tahap jika dibandingkan dengan embriogenesis somatik secara langsung. Embriogenesis secara langsung lebih disukai karena dapat menekan permasalahan yang terjadi ketika proses pembentukan benih somatik (Sukmadjaja, 2005). Selain memiliki fase yang lebih pendek, hasil dari pembentukan tunas ganda secara langsung memiliki genetik yang lebih stabil jika dibandingkan dengan penunasan dari proses kalus. Maka hal tersebut dapat memperkecil terjadinya variasi somaklonal (Endang G Lestari, 2011).

## 2.9 Hipotesis

Berdasarkan literatur yang ditemukan maka terdapat dugaan sementara yaitu:

1. Pemberian 2,4-D dan BAP pada media kultur jaringan dapat menginduksi pembentukan tunas secara *in vitro*.
2. Konsentrasi 2,4-D mempengaruhi laju pemanjangan tunas.

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang berjudul “Respon 2,4-D Dan BAP Terhadap Induksi Kalus Pada Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*)” akan dilaksanakan pada bulan November hingga selesai bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Universitas Jember Kampus Bondowoso.

### 3.2 Variabel Penelitian

#### 3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu BAP dan 2,4 D. Konsentrasi BAP yaitu 0 ppm, 0,5 ppm dan 1 ppm. Konsentrasi 2,4 D yaitu 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm.

#### 3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kedinian tunas, panjang tunas, persentase hidup dan histologi.

#### 3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini yaitu ukuran botol kultur, media MS, volume media, pH, suhu, cahaya, dan waktu pengamatan.

### 3.3 Definisi Operasional

1. 2,4 D merupakan hormon auksin yang sering digunakan dalam induksi kalus. 2,4-D efektif untuk merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus (Rasud dkk., 2019) BAP merupakan kelompok sitokinin yang memiliki fungsi mempercepat pertumbuhan tunas dan pembelahan sel (Nursyamsi dkk., 2007).
2. Planlet merupakan tanaman yang tumbuh dalam keadaan in vitro. Planlet merupakan hasil lanjutan dari pertumbuhan eksplan yang dikulturkan.

3. Kultur jaringan merupakan metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman dan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Putriana dkk., 2019).

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang diperlukan dalam penelitian yaitu timbangan digital, magnetic stirrer, autoklaf, meja kerja steril (laminar), kompor, pH meter, mikropipet, gelas ukur, gelas beker, botol kultur jaringan, cawan petri, skalpel, spatula, pinset, bunsen, gunting eksplan, kamera dan alat tulis.

#### 3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu eksplan tanaman vanili, plastik wrap, kertas label, media MS (*Murashige and Skoog*), aquades, gula, NaOH, HCl, agar, alkohol, spirtus, BAP dan 2,4-D.

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Rancangan Percobaan

Percobaan dilaksanakan dengan menggunakan metode RAL pola faktorial dengan 2 faktor yang diuji. Adapun model linier RAL faktorial dan faktor uji sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \pi + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = nilai pengamatan pada satuan percobaan ke k, yang memperoleh taraf ke i faktor A, taraf ke j faktor B

$\pi$  = Nilai tengah umum

$A_i$  = Pengaruh taraf ke i faktor A

$B_j$  = Pengaruh taraf ke j faktor B

$(AB)_{ij}$  = Pengaruh interaksi taraf ke i faktor A dan taraf ke j faktor B

$\epsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat percobaan dari satuan percobaan ke k yang memperoleh taraf ke i faktor A, taraf ke j faktor B

Faktor pertama yaitu BAP dengan 3 taraf yaitu:

- a. (K1) : 0 ppm
- b. (K2) : 0,5 ppm
- c. (K3) : 1 ppm.

Faktor kedua yaitu 2,4 D dengan 3 taraf yaitu:

- a. (D1) : 0,5 ppm
- b. (D2) : 1 ppm
- c. (D3) : 1,5 ppm

Kombinasi perlakuan yang diujikan berdasarkan kedua faktor yang telah ditentukan didapati 9 perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Adapun denah percobaan Rancangan Acak Lengkap yaitu sebagai berikut:

ULANGAN 1			ULANGAN 2			ULANGAN 3		
K1D3	K3D1	K2D1	K1D1	K2D1	K1D3	K3D1	K3D3	K1D2
K2D3	K1D2	K1D1	K2D2	K3D2	K3D1	K1D1	K2D3	K3D2
K2D2	K3D3	K3D2	K2D3	K1D2	K3D3	K2D2	K1D3	K2D1

Data yang diperoleh kemudian diolah dan dianalisis menggunakan ANOVA (*Analisis of Variance*) pada taraf 5%. ANOVA digunakan untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang diberikan terdapat pengaruh yang berbeda atau tidak. Perlakuan yang datanya menunjukkan perbedaan yang nyata maka akan dilakukan pengujian lanjut dengan cara uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada taraf 5%.

### 3.5.2 Prosedur Penelitian

- a. Pembuatan Media
  - Timbang bubuk MS, agar, gula, BAP dan 2,4 D sesuai takaran yang ditentukan.

- Larutkan bubuk MS, BAP, gula dan 2,4 D yang telah ditimbang menggunakan aquades
  - Cek pH larutan menggunakan pH meter hingga pada rentang 5,6 – 5,9. Jika larutan terlalu basa maka tambahkan HCl, jika larutan terlalu asam tambahkan NaOH.
  - Masukkan bubuk agar sebagai pematat dan kemudian masak hingga mendidih
  - Larutan media yang telah mendidih kemudian dimasukkan kedalam wadah steril yang akan digunakan untuk penanaman eksplan
- b. Sterilisasi eksplan Vanili
- Luar Laminar
    1. Cuci eksplan dengan deterjen dan rendam tween 20 (2 tetes/liter) selama 10 menit
    2. Bilas air 3 kali
    3. Rendam dengan fungisida 0,4% selama 15 menit
    4. Bilas menggunakan air
    5. Rendam alkohol 70% selama 1 menit
  - Dalam Laminar
    1. Rendam clorox 20% dengan tambahan 2 tetes tween 20 selama 20 menit
    2. Bilas aquades 3 kali
- c. Inokulasi
- Potong eksplan dengan ukuran  $\pm 1$  cm
  - Tanam eksplan pada media yang telah disiapkan dan tutup rapat dengan plastik wrap
  - Simpan di ruang inkubasi
- d. Inkubasi
- Inkubasi dilakukan pada ruangan  $25 \pm 1$  °C dengan 16 jam pencahayaan dan 8 jam tanpa pencahayaan.

### 3.5.3 Variabel Pengamatan

#### a. Data kuantitatif :

##### 1. Kedinian Tunas

Pengamatan dihitung dari selesai inokulasi eksplan pada media MS hingga eksplan memperlihatkan gejala tumbuh tunas.

##### 2. Panjang Tunas

Pencatatan panjang dilakukan pada minggu ke-4. Pengambilan data panjang tunas dilakukan untuk mengetahui pengaruh dan hubungan pemberian perlakuan hormon terhadap pemanjangan tunas.

##### 3. Persentase Hidup

Konsentrasi hormon yang terlalu tinggi bagi tanaman dapat menyebabkan kematian, hal tersebut dikarenakan sifat hormon yang awalnya mendorong perkembangan dan pertumbuhan akan berubah menjadi *toxic*. Maka dari itu variabel persentase eksplan hidup dilakukan dalam hal pengamatan.

#### b. Data Kualitatif:

##### 1. Histologi

Pengamatan sel secara mikroskopik disebut dengan histologi. Histologi dilakukan dengan tujuan mengetahui struktur sel dalam membentuk bagian tanaman.

**BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kultur jaringan merupakan perbanyakan tanaman secara *in-vitro*. Sumber eksplan yang digunakan merupakan tanaman vanili yang ditanam pada polybag dengan media tanam campuran tanah dan pasir. Tanaman vanili diletakkan dibawah naungan berupa waring. Perawatan tanaman induk meliputi pemeliharaan tanaman dan pembersihan lingkungan sekitar yang dilakukan secara berkala dengan tujuan tanaman dapat tumbuh dan terbebas dari hama dan penyakit. Penyemprotan fungisida dan bakterisida dilakukan sebanyak 1 minggu sekali. Pemilihan fungisida sistemik dan bakterisida sistemik yang diaplikasikan pada vanili induk, diperuntukkan sebagai penanggulangan penyebab penyakit yang telah menyebar secara sistemik. Pada gambar dibawah dapat dilihat contoh bahan tanam yang digunakan.



Gambar 4.1 Bahan Tanam, (A) Tanaman Induk, (B) Eksplan.

Sulur vanili tanaman induk yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.1 dengan pengambilan bagian buku vanili sebagai eksplan. Sebelum digunakan sebagai eksplan, sulur vanili dilakukan sterilisasi terlebih dahulu sesuai dengan metode sterilisasi yang telah ditentukan. Pengupayaan vanili terbebas dari penyakit sangat diperhatikan guna menekan terjadinya kontaminasi saat eksplan telah melalui proses inokulasi. Kegiatan tersebut dilakukan karena salah satu penyebab terjadi kegagalan dalam kultur jaringan yaitu adanya kontaminasi pada

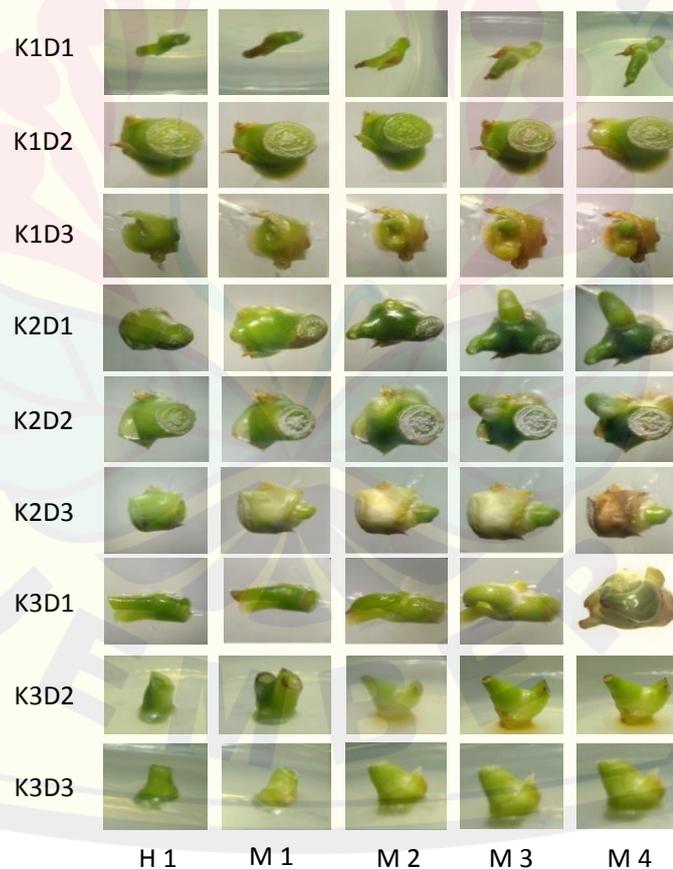
eksplan, namun bahan kimia yang digunakan perlu diperhatikan untuk menghindari *browning* pada eksplan (Sugiari dkk., 2020).

Eksplan buku dengan ukuran  $\pm 1$  cm dapat tumbuh dan berkembang karena sel menyerap air dan unsur hara yang terdapat pada media tanam. Kemampuan difusi, osmosis dan tekanan turgor merupakan kemampuan yang menyebabkan jaringan tanaman dapat menyerap air dan nutrisi (Sriyanti, 2000). Tanaman dalam fase pertumbuhan membutuhkan unsur mineral yang terdiri dari hara makro dan mikro, sumber karbon, vitamin dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Tanaman membutuhkan 14 unsur esensial agar proses pertumbuhan normal. 14 unsur esensial yang dibutuhkan tanaman yaitu nitrogen, potasium, kalsium, fosfor, magnesium dan sulfur (Rudiyanto dkk., 2018). Penggunaan MS sebagai media dasar dilakukan untuk memenuhi kebutuhan eksplan selama proses pertumbuhan dan perkembangan. Pemilihan media MS sebagai media dasar tanaman in-vitro karena media MS mengandung  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;  $\text{KI}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Murashige dan Folke, 1962).

#### **4.1 Perkembangan Eksplan**

Perkembangan organogenesis dapat dilihat pada Gambar 4.2. Berdasarkan Gambar 4.2, pada hari ke-1 eksplan belum menunjukkan perkembangan yang jelas. Warna coklat pada bekas irisan mulai terlihat pada hari ke-1. Warna coklat yang timbul pada hari ke-1 tidak menyebabkan kematian pada eksplan. Hal tersebut dapat dilihat pada minggu ke-1, eksplan dapat berlangsung hidup dan mulai menunjukkan respon hormon. Menurut Wang dkk. (2016), Timbulnya warna coklat pada bekas irisan merupakan proses adaptasi eksplan terhadap stres luka. pencoklatan juga dapat diasumsikan sebagai respon fisiologi tanaman langsung oleh tekanan lingkungan seperti suhu, tekanan osmotik dan cekaman hara. Bagian eksplan yang memudar disebabkan oleh adanya benda panas yang berkontak langsung dengan eksplan. Penggunaan scalpel dan pinset yang dipanaskan terlebih dahulu menggunakan bunsen merupakan alat yang selalu

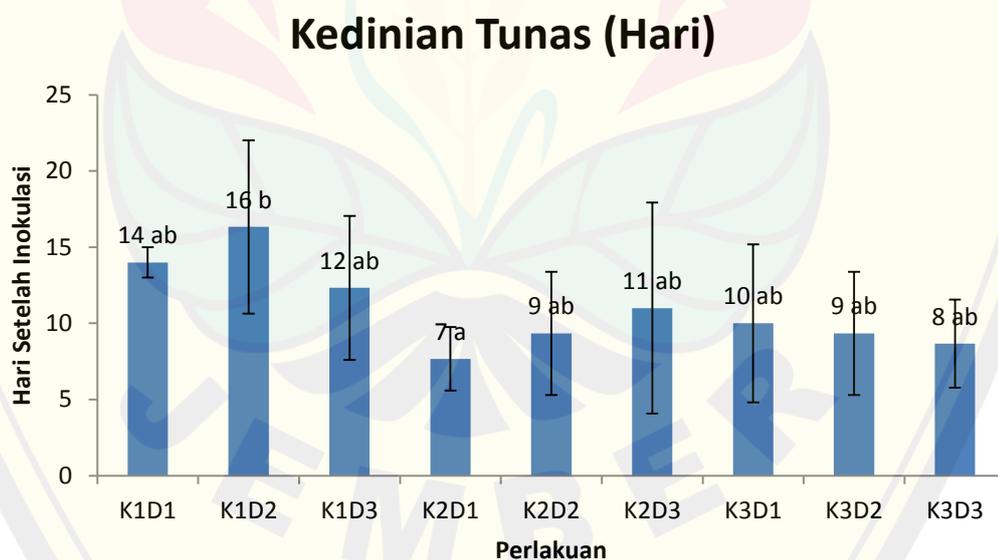
digunakan dalam inokulasi. Penggunaan scalpel dan pinset yang belum sepenuhnya dingin akan menyebabkan memudarnya bagian irisan eksplan. Terjadinya pemudaran warna eksplan ini tidak mempengaruhi pertumbuhan eksplan (Saepudin dkk., 2020). Benjolan dan lengkungan pada bagian eksplan mulai terlihat pada minggu ke-1. Perubahan bentuk fisik yang terjadi pada eksplan merupakan proses perkembangan. Perkembangan yang tampak pada eksplan menunjukkan bahwa unsur hara pada media dapat terserap oleh eksplan dengan baik. Ketersediaan air dan nutrisi yang diserap oleh eksplan dengan adanya pengaruh pemberian 2,4-D menyebabkan pembelahan dan perbanyakan sel yang menyebabkan eksplan membengkak (Rasud dan Bustaman, 2020). Bagian sisi eksplan yang membengkak akan menjadi titik bakal tunas. Fase pemanjangan tunas terjadi pada minggu ke-2 hingga minggu ke-4.



Gambar 4.2 Perkembangan Eksplan. (H1) Hari ke-1. (M2) Minggu ke-2. (M3) Minggu ke-3. (M4) Minggu ke-4.

Pengamatan dilakukan selama empat minggu dengan pengambilan dokumentasi secara berkala pada setiap minggunya. Pengambilan gambar secara berkala dilakukan untuk mengetahui embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik berdasarkan terbentuknya dibedakan menjadi dua yaitu secara langsung dan tidak langsung. Embriogenesis somatik secara langsung adalah embrio yang muncul dari sel pre-embriodik secara langsung dalam jaringan somatik. Embriogenesis somatik tidak langsung adalah jaringan sel somatik yang melalui pembentukan kalus terlebih dahulu dan dilakukan diferensiasi menjadi embrio (Ibrahim dkk., 2018). Kalus dapat terbentuk karena adanya rangsangan terhadap bekas luka dan protoplas mengalir keluar sehingga membentuk kalus. Terjadinya kontak antara sel-sel eksplan dengan media akan mendorong menjadi sel meristem yang selanjutnya aktif membelah yang bertujuan untuk menutup luka. Kalus yang dihasilkan merupakan bentuk pekaan pada jaringan dan respon terhadap hormon (Cahyati dkk., 2016).

#### 4.2 Kedinian Tunas

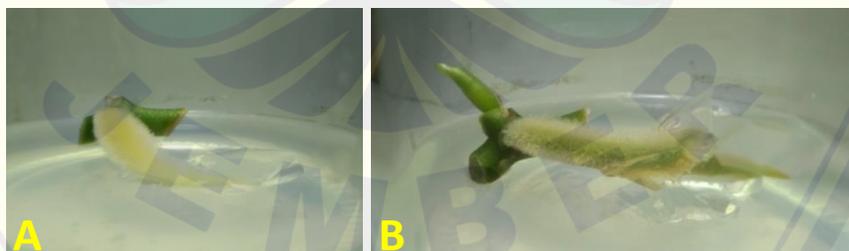


Gambar 4.3 Hasil Kedinian Tunas

Kedinian tunas merupakan awal dari munculnya tunas yang berupa benjolan pada permukaan eksplan. Gambar 4.3 merupakan data berupa diagram

yang menunjukkan waktu kedninan tunas. Perlakuan kombinasi hormon BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm (K2D1) menunjukkan waktu paling singkat dibandingkan dengan perlakuan kombinasi hormon lainnya. Perlakuan dengan kemunculan tunas paling lama yaitu perlakuan dengan kombinasi hormon BAP 0 ppm dan 2,4-D 1 ppm (K1D2).

Singkatnya waktu kemunculan tunas sangat diharapkan mempercepat proses penunasan. Hormon sitokinin dapat mempercepat eksplan dalam proses penunasan. Berdasarkan data penelitian yang diperoleh pada pengamatan kedninan tunas, konsentrasi sitokinin dan auksin yang setara yaitu BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm memiliki waktu kedninan tunas yang lebih cepat. Eksplan tanpa pemberian BAP rata-rata memiliki waktu yang lebih lama jika dibandingkan dengan ekplan yang diberi perlakuan hormon BAP. Menurut Mastuti dkk. (2018), hormon BAP yang merupakan jenis sitokinin dalam proses kultur jaringan dalam aktivitasnya dapat bermanfaat dalam segi penumbuhan tunas. Perlakuan tanpa kandungan sitokinin atau yang lebih rendah kandungan sitokinin maka memperlambat kemunculan tunas. Perlakuan lain yang menunjukkan hasil yang hampir sama dapat diduga karena adanya pengaruh kandungan hormon endogen pada eksplan. Penambahan bubuk murashige & skoog (MS) yang mengandung unsur hara kebutuhan tanaman pada media kultur jaringan menyebabkan media kaya akan nutrisi. Media MS mengandung senyawa nitrogen yang dapat merangsang sintesis sitokinin ketika terserap oleh eksplan (Herni dkk., 2012).

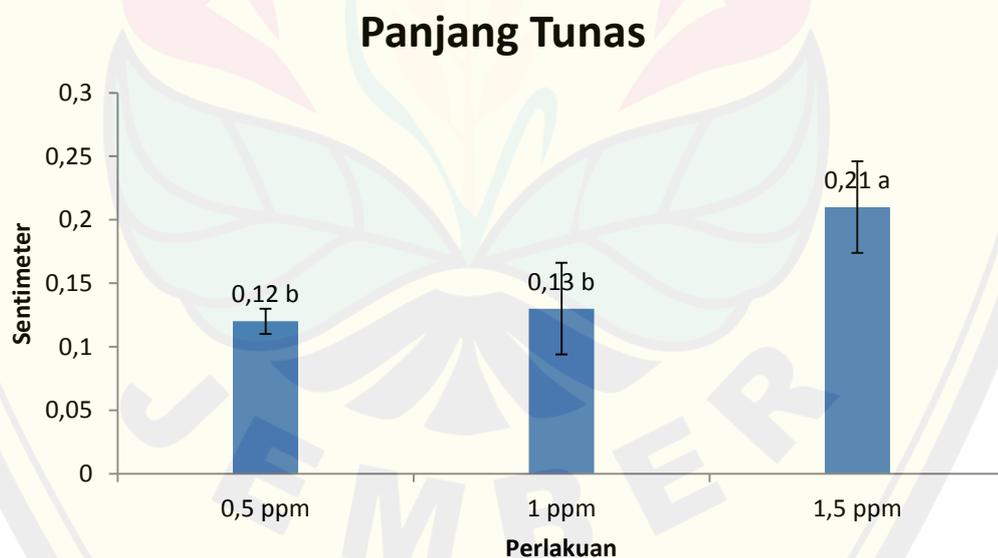


Gambar 4.4 Eksplan Tanpa Hormon, (A) 42 HSI, (B) 66 HSI.

Media MS tanpa penambahan hormon terlihat pada Gambar 4.4 bahwa eksplan muncul tunas setelah kemunculan akar. Perbedaan yang dapat dilihat dari

perlakuan tanpa hormon dengan perlakuan penambahan hormon yaitu proses kemunculan tunas. Eksplan pada media penambahan kombinasi hormon dapat muncul tunas terlebih dahulu dikarenakan adanya penghambatan pada proses perakaran. Kedirian tunas antara media MS tanpa perlakuan hormon dan media MS dengan perlakuan hormon dapat dilihat dari segi waktu. Kedirian tunas pada eksplan dengan perlakuan penambahan hormon dapat muncul dalam hitungan kurang dari 30 hari setelah inokulasi. Berbeda dengan perlakuan dengan kombinasi hormon, eksplan pada media MS tanpa perlakuan hormon terlihat proses kemunculan tunas pada bulan ke 2. Hal tersebut dapat menjadi bukti bahwa eksplan pada media MS dengan penambahan kombinasi hormon 2,4 D dan BAP memiliki perkembangan awal yang lebih condong pada pembentukan tunas. Penggunaan sitokinin dengan konsentrasi 1 – 10 ppm dapat memacu pembentukan tunas, namun menghambat pertumbuhan akar (Rahman dkk., 2021).

#### 4.3 Perlakuan Tunggal Hormon 2,4-D



Gambar 4.5 Respon Faktor Tunggal 2,4-D Terhadap Panjang Tunas

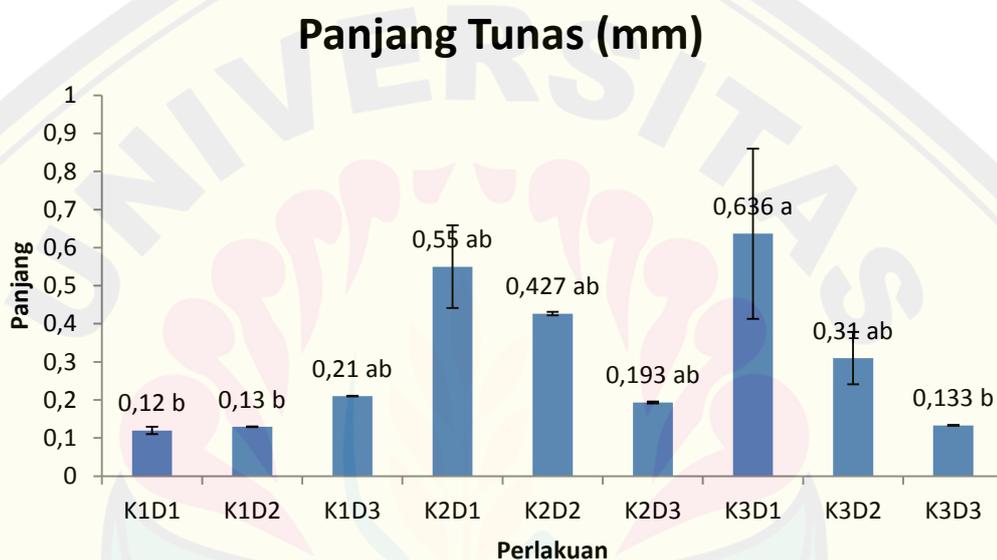
Terbentuknya tunas pada tanaman, terlihat ketika terjadi pemanjangan pada bagian hipokotil. Pada Gambar 4.6 dapat terlihat bahwa pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 1,5 ppm memiliki interaksi yang berbeda dibandingkan perlakuan 2,4-D 0,5 ppm dan 1 ppm. Menurut Ma dan Gang (2019), Auksin mampu mempromosikan pemanjangan sel hipokotil. Konsentrasi 2,4-D 0,5 ppm dan 1 ppm memiliki interaksi tidak berbeda. Sehingga dapat dilihat pemberian hormon tunggal 2,4-D konsentrasi 1,5 ppm dapat memanjangkan tunas lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian konsentrasi 0,5 ppm dan 1 ppm.

#### **4.4 Panjang Tunas**

Data pada Gambar 4.6 merupakan data panjang tunas yang membandingkan antara perlakuan hormon tunggal dan kombinasi. Hasil data panjang tunas yang diolah menggunakan anova menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5%. Perlakuan dengan kombinasi hormon BAP 1 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm (K3D1) memiliki ukuran tunas yang lebih panjang dari perlakuan lainnya. Jika dilakukan perbandingan antara perlakuan faktor tunggal dan perlakuan kombinasi, terdapat persamaan pada beberapa perlakuan. Perlakuan K1D1 dan K1D2 berdasarkan statistik memiliki panjang yang tidak berbeda jika dibandingkan dengan perlakuan kombinasi K2D1, K2D2, K2D3, K3D2 dan K3D3.

Berdasarkan data yang dimuat pada diagram panjang tunas, eksplan dengan konsentrasi 2,4-D lebih rendah dibandingkan Konsentrasi BAP yang diberikan memiliki ukuran tunas yang lebih panjang. Keberadaan BAP sebagai hormon sitokinin dapat membantu menekan penghambatan pemanjangan tunas akibat adanya aktivitas 2,4-D sebagai auksin yang menghambat pemanjangan tunas. Menurut Arimarsetiowati & Fitria (2012), pemanjangan tunas pada eksplan tanpa perlakuan hormon lebih cepat dibandingkan pada eksplan dengan perlakuan hormon. Konsentrasi berbagai jenis auksin justru menghambat pemanjangan tunas. Hormon auksin dalam pengaplikasiannya lebih baik dikombinasikan dengan hormon lain untuk tujuan mengoptimalkan pertumbuhan. Auksin yang tinggi dapat mempromosikan transkripsi inhibitor pensinyalan sitokinin AHP6, yang menutup lingkaran interaksi (Bishopp dkk., 2011). Menurut Hussain dkk.

(2021), Sitokinin memiliki peran sebagai pembentuk dan pemeliharaan pembelahan dan proliferasi sel. Auksin dilaporkan mengaktifkan Arabidopsis Response Regulator 7 (ARR7) dan ARR15, yang bertindak sebagai pensinyalan penghambat sitokinin. Laporan ini menunjukkan peran langsung auksin yang bertindak secara antagonis dengan pensinyalan sitokinin. Sementara lonjakan sitokinin yang tinggi dapat melawan efek penghambatan auksin dan mengatur secara negatif sinyal auksin.



Gambar 4.6 Hasil Pengamatan Panjang Tunas Selama 1 Bulan

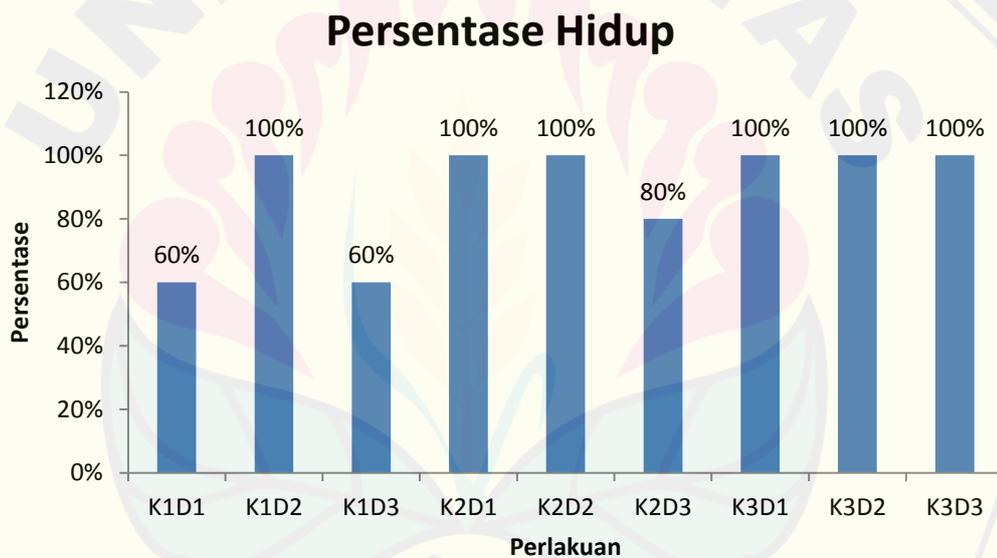
#### 4.5 Persentase Hidup

*Browning* merupakan sebutan dari eksplan yang mengalami perubahan warna menjadi coklat. Kematian pada eksplan terjadi karena eksplan mengalami penyebaran 100% *browning*. *Browning* dapat disebabkan oleh rangkaian proses inokulasi. Saat proses inokulasi terjadi pemotongan eksplan dan meninggalkan luka pada eksplan. Luka potongan menyebabkan metabolisme *reactive oxygen species* tidak seimbang dan hilangnya keutuhan membran sel yang berdampak pada tertimbunnya senyawa fenolik yang berlebihan. Senyawa fenolik yang berlebihan akan menyebabkan pencoklatan pada jaringan (Rudnik, 2013). Eksplan yang

mengalami browning tidak semuanya mengalami kematian. Beberapa eksplan yang mengalami browning mampu memperahankan kelangsungan hidup. Sehingga kemampuan setiap eksplan tidak dapat disamakan. (Harahap dkk., 2020).



Gambar 4.7 *Browning*, (A) 1 HSI, (B) 7 HSI.

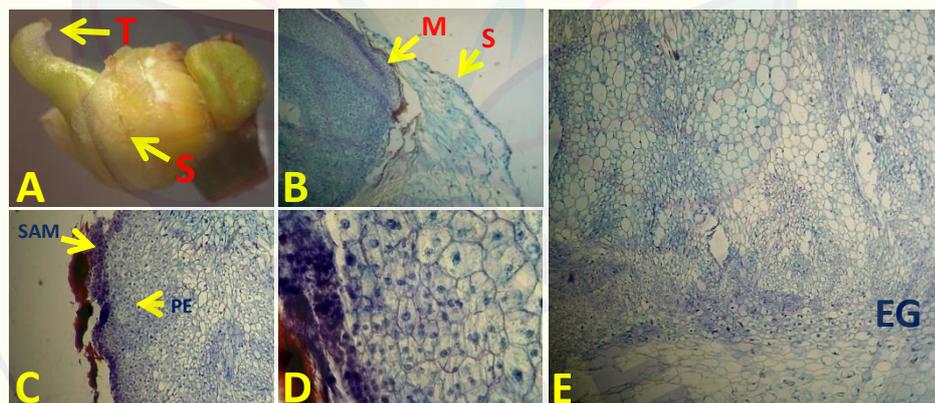


Gambar 4.8 Hasil Pengamatan Persentase Hidup dalam 1 Bulan.

Pengamatan persentase eksplan yang hidup dilakukan secara kasat mata melalui gejala yang ditimbulkan. Eksplan yang mengalami browning seperti Gambar 4.7 B dengan penyebaran 100% dalam waktu beberapa hari setelah inokulasi dianggap mengalami kematian. Berdasarkan Gambar 4.8 terdapat 3 perlakuan yang memiliki data persentase hidup tidak mencapai 100%. Perlakuan kombinasi BAP 0 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm (K1D1) dan perlakuan kombinasi BAP

0 ppm dan 2,4-D 1,5 ppm (K1D3) berdasarkan data yang didapat persentase hidup sebesar 60%, sementara perlakuan kombinasi BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 1,5 ppm (K2D3) sebesar 80%. *Browning* dapat terjadi karena adanya aktifitas senyawa fenol dan produksi gas ethylene. Senyawa fenol yang menyebabkan pencoklatan dapat terjadi karena pecahnya vakuola sel yang mengakibatkan teroksidasi senyawa fenol yang tersimpan pada vakuola. Penggunaan hormon 2,4-D yang terlalu tinggi dapat menyebabkan browning pada eksplan. Hormon 2,4-D juga dapat menstimulasi produksi gas ethylene yang menyebabkan pencoklatan (Fitroh dkk., 2018). Menurut Manjunatha dkk. (2012), jaringan tanaman memiliki kemampuan dalam merespon cekaman etilen, namun memiliki perbedaan dalam kecepatan merespon. Ada banyak sinyal yang mengatur produksi etilen dan persepsinya di berbagai organ tumbuhan. NO (*Nitric Oxide*) merupakan salah satu molekul yang berpartisipasi memberikan sinyal dalam menekan efek etilen secara langsung. NO (*Nitric Oxide*) adalah molekul bioaktif yang dapat mengatur produksi etilen melalui dua mekanisme yaitu penghambatan stoikiometrik secara langsung atau menekan enzim biosintetik etilen.

#### 4.1 Histologi



Gambar 4.9. Analisis Histologi: A. Eksplan; B. Bagian Sel Seludang (S) dan Jaringan Meristem (pembesaran 40x); C. Pro-embrio (PE) dan Shoot Apikal Meristem (SAM) pembesaran 40x; D. Pro-embrio perbesaran 400x; E. Embriogenik (EG) pembesaran 40x.

Analisis histologi merupakan pengamatan secara mikroskopis untuk mengetahui struktur jaringan. Pada Gambar 4.8 B dapat terlihat perbedaan

struktur jaringan seludang (S) dan jaringan meristem (M). Sel pada jaringan seludang lebih besar dari jaringan meristem. Besarnya jaringan sel seludang dikarenakan terjadi pembengkakan pada area tersebut. Sel dapat membesar dikarenakan adanya penyerapan air ke bagian vakuola (Cosgrove, 1993). Menurut Nonami (1998), Pemanjangan sel jelas terkait dengan seberapa banyak air yang terserap dan setiap kali proses pertumbuhan terjadi, penyerapan air diperlukan untuk mempertahankan ekspansi sel. Sel meristem (M) yang dapat dilihat pada Gambar 4.8 B, merupakan sel yang aktif membelah. Sel meristem juga disebut dengan sel punca (Krishnamurthy dkk., 2015). *Shoot Apical Meristem* (SAM) pada Gambar 4.8 C merupakan zona produksi sel. Sel pada daerah SAM belum memiliki fungsi khusus. Sel akan terdiferensiasi dengan adanya sinyal lokal (Klawe dkk., 2020). Pengamatan pada gambar 4.8 C juga terlihat proembrio yang mengalami proses pembelahan. Menurut Peris dkk. (2010) sel apikal akan menghasilkan proembrio bulat 8 sel. Pengamatan posisi embriogenik dapat dilihat pada gambar 4.8 E, bahwa sel embriogenik memiliki ukuran kecil dan memiliki inti sel yang terlihat jelas. Menurut Utami dkk. (2007), sel-sel embriogenik tersusun dari sel-sel kecil, inti sel yang terlihat jelas, sitoplasma padat dan menyerap warna kuat.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang diperoleh berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, yaitu:

1. Kombinasi 2,4-D dan BAP dapat menginduksi tunas vanili secara *in-vitro*.
2. Perlakuan hormon 2,4-D secara tunggal mempengaruhi laju pertumbuhan tunas, namun kombinasi dengan BAP pada perbandingan konsentrasi 2,4-D lebih tinggi menyebabkan penghambatan pemanjangan tunas.

### 5.2 Saran

Beberapa perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP terjadi interaksi yang bersifat negatif. Interaksi negatif yang ditimbulkan yaitu adanya hormon dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat aktivitas hormon lainnya. Sehingga pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan analisa kembali mengenai peluang hormon menyebabkan penghambatan. Agar tidak terjadi sifat antagonis antar hormon. Kombinasi 2,4-D dan BAP yang direkomendasikan dalam menginduksi tunas vanili yaitu konsentrasi BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 0,5 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajjah, N., D. Ireng, Yudiwanti, dan Roostika. 2020. PENGARUH suhu inkubasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik purwoceng (pimpinella pruatjan molk.). *JURNAL LITTRI*. 16(2):56–63.
- Ariati, S. N., Waeniati, Muslimin, dan S. I Nengah. 2012. Induksi kalus tanaman kakao (*theobroma cacao* l.) pada media ms dengan penambahan 2, 4-d, bap dan air kelapa. *Jurnal Natural Science*. 1(1):74–84.
- Arimarsetiowati, R. dan A. Fitria. 2012. Pengaruh penambahan auxin terhadap pertunasan dan perakaran kopi arabika perbanyak somatic embriogenesis. *Jurnal Pelita Perkebunan*. 28(2):82–90.
- Ashraf, M. F., A. A. Maheran, K. Nurashikin, dan I. Ismanizan. 2014. Effect of cytokinin types, concentrations and their interactions on in vitro shoot regeneration of *chlorophytum borivilianum* sant. & fernandez. *Electronic Journal of Biotechnology*. 17(6):275–279.
- Azizi, A. A. A., R. Ika, dan E. Darda. 2017. Multiplikasi tunas in vitro berdasarkan jenis eksplan pada enam genotipe tebu (*saccharum officinarum* l.). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 23(2):90–97.
- Basri, A. H. H. 2016. Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyak tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensia*. 10(1):64–73.
- Bishopp, A., H. Hanna, E.-S. Sedeer, W. Dolf, S. Ben, F. Jiri, B. Eva, P. M. Ari, dan H. Yka. 2011. A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots. *Current Biology*. 21(11):917–926.
- Cahyati, S., N. I. Mayta, dan L. Wahyu. 2016. Induksi tunas dari eksplan kotiledon dan epikotil in vitro jeruk siam (*citrus nobilis* lour.) asal kampar pada media ms. *Jurnal Riau Biologia*. 1(5):31–38.
- Cosgrove, D. J. 1993. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake, and hydraulic

conductance. *International journal of plant sciences*. 154(1):10–21.

Fitroh, A. I., D. Rindang, A. W. I Ketut, dan Y. Hestin. 2018. Pengaruh 2,4-d terhadap induksi kalus daun stroberi (*fragaria sp.*) dengan media alternatif nutrisi hidroponik ab mix. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 7(3):304–315.

Forooghian, S. dan E. Shahin. 2013. An evaluation of effects of plant growth regulators and light on callus induction for varieties of potatoes. 13(8):1129–1134.

Guan, Y., G. L. Shui, F. F. Xiao, dan H. S. Zhen. 2016. Application of somatic embryogenesis in woody plants. *Frontiers in Plant Science*. 7:1–12.

Halim, R., A. Begüm, dan G. Aynur. 2017. In vitro regeneration of vanilla (*vanilla planifolia l.*). *Journal of Applied Biological Sciences*. 11(1):5–10.

Harahap, F., K. H. Nikmatul, D. Ely, P. Dirga, S. Herbert, Rosmayati, R. Suci, F. Z. Periseuein, dan F. M. H. Rifa. 2020. The ability of pineapple callus regeneration (*ananas comosusl.*) from sipahutar north sumatra indonesia with in vitro culture. *Journal of Physics: Conference Series*. 1485(1):1–10.

Herni, S., M. Soedarjo, Suryawati, dan B. Winarto. 2012. Studi pengaruh substitusi hara makro dan mikro media ms dengan pupuk majemuk dalam kultur in vitro krisan. *Jurnal Hortikultura*. 21(4):334–341.

Hussain, S., N. Satyabrata, Z. Junhua, I. A. R. Muhammad, S. Muhammad, L. Gaojie, dan H. Hongwei. 2021. Auxin and cytokinin interplay during leaf morphogenesis and phyllotaxy. *Plants*. 10(1732):1–14.

Ibrahim, M. S. D., S. H. RR, Reflinur, dan Sudarsono. 2018. INDUKSI embrio somatik sekunder kopi arabika dan deteksi keragaman somaklonal menggunakan marka ssrs / induction of secondary somatic embryos of arabica coffee and detection somaclonal variation using ssrs marker. *Jurnal LITTRIS*. 24(1):11–20.

Istini. 2020. Pemanfaatan plastik polipropilen standing pouch sebagai salah satu

kemasan sterilisasi peralatan laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(3):41–46.

Janarthanam, B. dan S. Seshadri. 2008. Plantlet regeneration from leaf derived callus of vanilla planifolia andr. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 44:84–89.

Klawe, F. Z., S. Thomas, B. Peter, G. Christophe, U. L. Jan, dan M.-C. Anna. 2020. Mathematical modeling of plant cell fate transitions controlled by hormonal signals. *PLoS Computational Biology*. 16(7):1–21.

Krishnamurthy, K. V., B. Bir, A. S. John, dan V. Padma. 2015. Meristems and their role in primary and secondary organization of the plant body. *Plant Biology and Biotechnology*. 1:1–151.

Lestari, Endang Gati. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1):63–68.

Lestari, Endang G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1):63–68.

Ma, L. dan L. Gang. 2019. Auxin-dependent cell elongation during the shade avoidance response. *Frontiers in Plant Science*. 10:1–8.

Manjunatha, G., J. G. Kapuganti, L. Veeresh, A. M. Luis, dan B. Neelwarne. 2012. Nitric oxide counters ethylene effects on ripening fruits. *Plant Signaling and Behavior*. 7(4):476–483.

Marthani, Q. K., U. A. Yustinus, dan E. S. R. 2016. KALOGENESIS eksplan setengah biji koro benguk (*mucuna pruriens* l.) secara in vitro menggunakan bap dan naa. *Life Science*. 5(1):72–78.

Mastuti, L., P. S. Rosita, dan L. A. Sepdian. 2018. Multiplikasi tunas tanaman kapas (*gossypium* spp.) varietas kanesia 15 menggunakan kombinasi bap dan naa secara in vitro. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*. 2(2):171–181.

Medina, J. D. L. C., C. R. J. Guadalupe, dan S. G. Hugo. 2009. Post-harvest operations -wheat. *Food and Agriculture Organization of the United Nation*. 50.

Murashige, T. dan S. Folke. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15:473–497.

Nonami, H. 1998. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research*. 111(3):373–382.

Nurholis. 2017. Perbanyak tanaman panili (*vanilla planifolia andrews*) secara setek dan upaya untuk mendukung keberhasilan serta pertumbuhannya. *Agrovigor*. 10(2):149–156.

Nursyamsi, Suhartati, dan Abd. Qudus T. 2007. Pengaruh zat pengatur tumbuh pada perbanyak jati muna secara kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 4(4):385–390.

Palama, T. L., M. Patrice, F. Isabelle, H. C. Young, B. Emmanuel, G.-S. Joyce, B. Muriel, P. Bertrand, V. Robert, dan K. Hippolyte. 2010. Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *vanilla planifolia* (orchidaceae): proteomic and metabolic responses at early stage. *BMC Plant Biology*. 10(82):1–18.

Pardede, Y., M. Exsyupransia, dan R. S. Boy. 2021. Pengaruh hormon terhadap induksi embrio somatik kacapiring (*gardenia jasminoides*) dan potensi aplikasinya dalam pembuatan benih sintetik. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 6(3):162–177.

Peris, C. I. L., H. R. Eike, dan W. Dolf. 2010. Green beginnings — pattern formation in the early plant embryo. *Current Topics in Developmental Biology - Volume 91*. 91:1–27.

Purba, R. V., Y. Hesti, dan G. A. I Nyoman. 2017. Induksi kalus eksplan daun tanaman anggur (*vitis vinivera* L.) dengan aplikasi 2, 4-d secara in vitro. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 6(2):218–228.

Putriana, Gusmiaty, M. Restu, Musriati, dan N. Aida. 2019. Respon kinetin dan

tipe eksplan jabon merah (*antiocephalus macrophyllus* (roxb.) havil) secara in vitro. *Jurnal Biologi Makassar*. 4(1):48–57.

Rahman, Nurhamidar, H. Fitriani, Nurhaidar Rahman, dan N. S. Hartati. 2021. Pengaruh beragam zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus organogenik dari ubi kayu (*manihot esculenta crantz*) genotipe gajah dan kuning. *Jurnal ILMU DASAR*. 22(2):119–126.

Rasud, Y. dan Bustaman. 2020. In vitro callus induction from clove (*syzigium aromaticum* l.) leaves on medium containing various auxin concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(1):67–72.

Ru, Z., L. Yanyan, X. Chuangjun, dan L. Ling. 2013. Polyphenol oxidase (ppo) in early stage of browning of phalaenopsis leaf explants. *Journal of Agricultural Science*. 5(9):57–64.

Rudiyanto, W. H. Betalini, dan M. E. Tri. 2018. Pengaruh modifikasi  $kh_2po_4$ ,  $nh_4no_3$  dan sukrosa terhadap pertumbuhan tunas serta pembentukan umbi mikro taka (*tacca leontopetaloides*) secara in vitro. *Jurnal Biologi Indonesia*. 14(1):11–21.

Rusdianto dan I. Ari. 2003. INDUKSI kalus embriogenik pada wortel (*daucus carota* l.) menggunakan 2, 4- dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-d). *Bionature*. 13(2):136–140.

Saepudin, A., Y. Yanto, dan N. A. Rida. 2020. Pertumbuhan eksplan in vitro anggrek hibrida dendrobium pada beberapa media dasar dan konsentrasi air kelapa. *Media Pertanian*. 5(2):97–115.

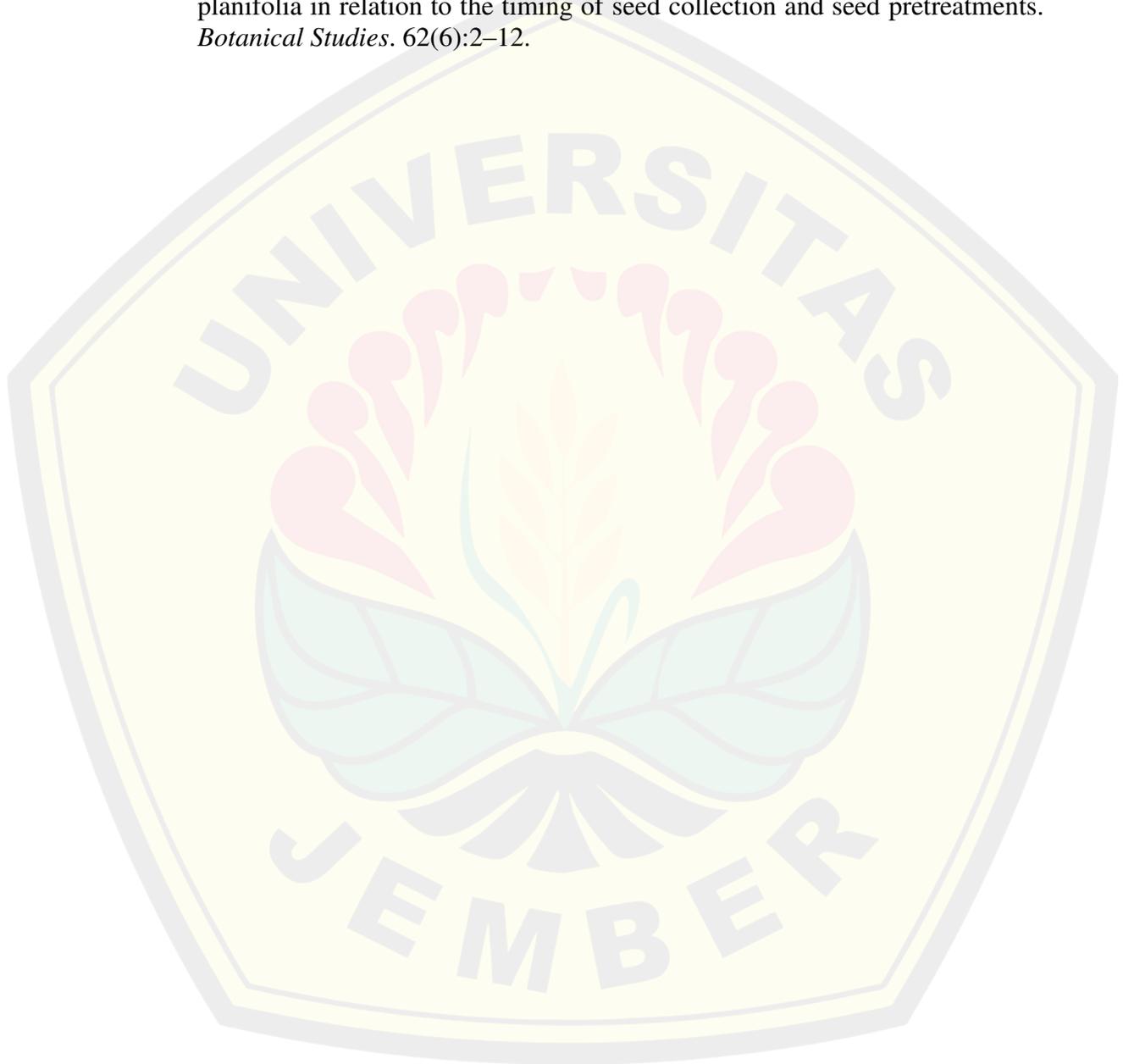
Setiani, N. A., N. Fitri, dan A. Dewi. 2018. Pengaruh desinfektan dan lama perendaman pada sterilisasi eksplan daun sukun (*artocarpus altilis* (parkinson ex. f.a zorn) fosberg). *Biotropika - Journal of Tropical Biology*. 6(3):78–82.

Setiawati, T., N. A. Annisa, dan N. Mohamad. 2020. INDUKSI kalus krisan (*chrysanthemum morifolium* ramat var. tomohon kuning) dengan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-d) dan 6-benzylaminopurine (bap) pada kondisi pencahayaan berbeda. *Jurnal Pro-Life*. 7(1):13–26.

- Soleha, S., M. Ahmad, S. Suwandi, K. Sabaruddin, dan P. Rahmat. 2022. The identification and pathogenicity of fusarium oxysporum causing acacia seedling wilt disease. *Journal of Forestry Research*. 33(2):711–719.
- Sriyanti, D. P. 2000. Pelestarian tanaman nilam (pogostemon heyneanus benth.) melalui kultur mikrostek - pdf download gratis.pdf. *Journal BioSMART*. 2(2):21–25.
- Sugiari, L. P., S. Made, dan D. Rindang. 2020. Induksi tunas tanaman rasberi hitam (rubus occidentalis l.) melalui direct organogenesis secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 9(4):299–308.
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis somatik langsung pada tanaman cendana. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 10(1):1–6.
- Supardi, P. N. dan S. Silvester. 2010. PENGARUH waktu perendaman stek batang vanili dalam zat pengatur tumbuh rootone – f terhadap pertumbuhan vanili (vanilla planifolia andrews). *AGRICA*. 3(2):86–98.
- Tombe, M., Y. M, Wiratno, H. Endang, H. Tatang, Taryono, dan A. M. Rival. 2001. *Budidaya Panili*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Utami, E. S. W., S. Issirep, Taryono, dan S. Endang. 2007. EMBRIOGENESIS somatik anggrek bulan phalaenopsis amabilis (l.) bl: struktur dan pola perkembangan. *Berkala Penelitian Hayati*. 13(1):33–38.
- Wang, Y., W. Yiting, L. Kunfeng, S. Xijiao, dan C. Jianping. 2016. Characterization and comparative expression profiling of browning response in medinilla formosana after cutting. *Frontiers in Plant Science*. 7:1–16.
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan planlet anggrek mokara. *Jurnal Hortikultura*. 24(3):230–238.
- Wijawati, N., A. H. Noor, M. Fajar, M. Khoirul, A. Y. Ulung, dan W. Talitha. 2019. Pertumbuhan kalus rejasa (elaecarpus grandiflorus) dari eksplan tangkai daun pada kondisi gelap. *Life Science*. 8(1):17–24.

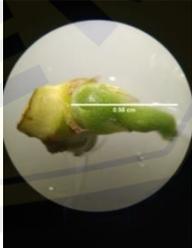
Yanti, D. dan N. I. Mayta. 2021. Shoots induction of nodes (*citrus microcarpa bunge.*) with addition 6- benzyl amino purine (bap) by in vitro: induksi tunas dari eksplan nodus jeruk kasturi (*citrus microcarpa bunge.*) dengan penambahan 6- benzyl amino purine (bap) secara in vitro. *Biospecies*. 14(1):53–58.

Yeh, C. H., Y. C. Kai, dan I. L. Yung. 2021. Asymbiotic germination of *vanilla planifolia* in relation to the timing of seed collection and seed pretreatments. *Botanical Studies*. 62(6):2–12.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian

	
Penimbangan Bahan Pendukung Media	Pemberian Hormon
	
Penyesuaian pH Larutan	Sumber Eksplan
	
Mencuci Eksplan	Inokulasi
	
Pengamatan pada Ruang Inkubasi	Pengukuran Panjang Tunas

## Lampiran 2 Hasil Analisis Data

### A. Kedinian Tunas

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
		1	2	3		
K1	D1	14	15	13	42	14
	D2	10	18	21	49	16,33333
	D3	16	7	14	37	12,33333
K2	D1	7	10	6	23	7,66667
	D2	7	7	14	28	9,33333
	D3	7	19	7	33	11
k3	D1	7	16	7	30	10
	D2	7	14	7	28	9,33333
	D3	12	7	7	26	8,66667
Total		87	113	96	296	

### Analisis Ragam

SK	db	JK	KT	F HIT	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
K	2	20978,96	10489,48	476,7946	3,37	5,53	**
D	2	17828,96	8914,481	405,2037	3,37	5,53	**
KD	4	38769,56	9692,389	440,5631	2,74	4,14	**
GALAT	16	352	22				
TOTAL	26	538,963					

### Uji Lanjut DMRT

Perlakuan	Rata-rata	DMRT+Rata-rata	Simbol
K2D1	7,66667	15,78529	A
K3D3	8,66667	17,18066	AB
K2D2	9,33333	18,09375	AB
K3D2	9,33333	18,26165	AB
K3D1	10	19,05289	AB
K2D3	11	20,14225	AB
K1D3	12,33333	21,54599	AB
K1D1	14	23,26682	AB
K1D2	16,33333		B

**B. Panjang Tunas**

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
		1	2	3		
K1	D1	0,12	0,13	0,11	0,36	0,12
	D2	0,17	0,1	0,12	0,39	0,13
	D3	0,17	0,24	0,22	0,63	0,21
K2	D1	0,49	0,98	0,18	1,65	0,55
	D2	0,37	0,52	0,39	1,28	0,426667
	D3	0,26	0,17	0,15	0,58	0,193333
k3	D1	0,56	0,1	1,25	1,91	0,636667
	D2	0,68	0,11	0,14	0,93	0,31
	D3	0,1	0,14	0,16	0,4	0,133333
Total		2,92	2,49	2,72	8,13	

**Analisis Ragam**

SK	db	JK	KT	F HIT	F Tabel		NOTASI
					5%	1%	
K	2	12,94287	6,471433	84,2726	3,37	5,53	**
D	2	19,96638	9,983189	130,0035	3,37	5,53	**
KD	4	33,75751	8,439378	109,8997	2,74	4,14	**
GALAT	16	1,228667	0,076792				
TOTAL	26	2,130267					

**Uji Lanjut DMRT**

Perlakuan	Rata-rata	DMRT+Rata-rata	Simbol
K1D1	0,12	0,599654	B
K1D2	0,13	0,633013	B
K3D3	0,133333	0,650905	B
K2D3	0,193333	0,720825	AB
K1D3	0,21	0,744851	AB
K3D2	0,31	0,850131	AB
K2D2	0,426667	0,970957	AB
K2D1	0,55	1,09749	AB
K3D1	0,636667		A