



Pengaruh pemberian thidiazuron dan NAA pada media MS terhadap regenerasi eksplan nodal vanili (*Vanilla Planifolia Andrews*) secara in vitro

The effect of giving thidiazuron and NAA in MS media on the regeneration of vanilla nodal explants (Vanilla Planifolia Andrews) in vitro

Muhammad Ikrom Ardyansah¹, Dwi Erwin Kusbianto^{1*}, Hasbi Mubarak Suud¹, Muhammad Ghufon Rosyady¹

¹Program Studi Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jln. Kalimantan No. 37

Kampus Tegal Bojo, Jember, Jawa Timur, 68121, Indonesia

*corresponding author: dwiania@rocketmail.com

Received: 25th August, 2024 | accepted: 29th October, 2024

ABSTRAK

Vanili adalah komoditas dengan nilai ekonomi tinggi yang diklasifikasikan ke dalam keluarga *Orchidaceae*. Salah satu masalah dalam budidaya vanili adalah bibit dan tanaman induk yang tidak sehat akibat infeksi *Fusarium oxysporum*. Perbanyak tanaman secara in vitro menjadi salah satu alternatif karena memanfaatkan bagian kecil dari tanaman pada media steril sehingga menjadi tanaman yang sehat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh Thidiazuron dan NAA terhadap respon pertumbuhan eksplan nodus vanili (*Vanilla planifolia Andrews*) secara in vitro. Metode penelitian ini menggunakan RAL yang terdiri dari dua faktor. Thidiazuron pada konsentrasi 0, 0,5, dan 1 ppm dikombinasikan dengan NAA pada konsentrasi 0, 1, 2 ppm. Data dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat signifikan 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan tingkat signifikan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara pemberian thidiazuron dan NAA terhadap respon eksplan nodal vanili (*Vanilla planifolia Andrews*) secara in vitro berpengaruh nyata terhadap variabel panjang tunas dan panjang akar. Simpulannya, perlakuan kombinasi konsentrasi thidiazuron 0,5 ppm dan NAA konsentrasi 1 ppm (T1N1) menunjukkan tren terbaik.

Kata Kunci: Kultur jaringan; NAA ; thidiazuron; ZPT

ABSTRACT

Vanilla is a commodity with high economic value that belongs to the Orchidaceae family. One of the problems in vanilla cultivation is unhealthy seedlings and mother plants due to *Fusarium oxysporum* infection. In vitro plant propagation is an alternative because it uses a small part of the plant on sterile media so that it becomes a healthy plant. The objective of this study was to determine the effect of thidiazuron and NAA on the growth response of vanilla (*Vanillaplanifolia Andrews*) node explants in vitro. This research method uses RAL, which consists of two factors. Thidiazuron at concentrations of 0, 0.5, and 1 ppm combined with NAA at concentrations of 0, 1, 2 ppm. The data were analyzed by ANOVA at 5% level of significance, followed by BNT (Least Significant Difference) test at 5% level of significance. The results showed that the interaction between the administration of thidiazuron and NAA on the response of vanilla (*Vanilla planifolia Andrews*) nodule explants in vitro had a significant effect on the variables of shoot length and root length. In conclusion, the combined treatment of thidiazuron concentration 0.5 ppm and NAA concentration 1 ppm (T1N1) showed the best trend.

Keywords: growth hormone; NAA; tissue culture; thidiazuron

PENDAHULUAN

Zat vanilin yang terkandung dalam tanaman vanili dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang antara lain kosmetik, obat-obatan hingga industri makanan dan minuman (Setame dkk., 2020). Melihat manfaat dari vanili, tanaman ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Akan tetapi kebutuhan akan produk olahan vanili cukup banyak namun tidak seimbang dengan tingkat produktivitas yang dihasilkan karena terdapat kendala dalam budidaya vanili di Indonesia.

Satu dari sekian banyak permasalahan dalam pembudidayaan vanili adalah bibit dan tanaman induk yang tidak sehat karena infeksi *Fusarium oxysporum*. Penyakit ini dapat menginfeksi keseluruhan bagian tanaman vanili sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada budidaya tanaman sebesar 85% (Salfiani & Paserang, 2022). Selain infeksi penyakit, tingkat produktivitas

tanaman vanili memiliki kendala pada perbanyakan generatif. Menurut pendapat Yeh *et al.*, (2021) setelah penyerbukan biji vanili yang berusia 45 hari ketika disemai mempunyai daya kecambah 9,9%.

Alternatif dari permasalahan ini dapat menggunakan teknik perbanyakan tanaman secara in vitro dikarenakan proses penanaman bagian kecil dari tanaman ke dalam media buatan dan lingkungan terkontrol yang dapat tumbuh menjadi tanaman utuh dan sehat. Tanaman vanili yang diperbanyak secara in vitro mampu menghasilkan tanaman vanili dengan jumlah yang banyak dan dalam waktu relatif singkat. Interaksi dan keseimbangan dari Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan kunci pertumbuhan dan organogenesis pada tanaman yang dikultur secara in vitro (Untung dan Fatimah, 2001). Sitokinin dan auksin adalah dua golongan ZPT yang sering diaplikasikan dalam kultur jaringan (Wahyuni, dkk.,

2019). Jenis ZPT yang mengandung sitokinin dan auksin salah satunya adalah Thidiazuron dan NAA.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al.* (2011) menyebutkan bahwa pengaplikasian NAA dengan konsentrasi 1 mg/liter mampu menunjang pertumbuhan akar rata-rata sepanjang 4,4 cm setelah 4 minggu dengan tingkat keberhasilan sebesar 88,33%. Pernyataan ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Lee-espinoza *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa pertumbuhan akar eskplan vanili hanya dipengaruhi oleh NAA pada konsentrasi 0,44 μM . Dalam penelitian Erşen *et al.* (2011) menyebutkan bahwa pengaplikasian thidiazuron dengan NAA pada daun *Astragalus cariensis* dapat meningkatkan regenerasi tunas adventif dari daun dan tangkai tanaman.

Pengaplikasian thidiazuron dengan konsentrasi rendah memiliki hasil yang lebih baik pada induksi kalus daripada pengaplikasian konsentrasi yang tinggi. Pada penelitian Oláh *et al.* (2003) menyatakan bahwa mengkombinasikan thidiazuron dan NAA dengan konsentrasi rendah dari pada thidiazuron saja memiliki tingkat regenerasi yang lebih baik. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Erşen *et al.* (2011) menyatakan bahwa tunas adventif daun dan tangkai daun *Astragalus cariensis* beregenerasi secara optimal dari kombinasi NAA dan thidiazuron. Jika dibandingkan dengan IBA, atau IBA yang dikombinasikan dengan NAA, thidiazuron mampu menstimulasi

multiplikasi lebih baik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh Thidiazuron dan NAA terhadap respon pertumbuhan eksplan nodus vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) secara in vitro.

METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 9 perlakuan, yang diperoleh dari konsentrasi thidiazuron 0, 0,5, dan 1 ppm dan konsentrasi NAA 0, 1, dan 2 ppm. Setiap perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Sehingga terdapat 27 satuan percobaan.

1. Alat dan Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam kegiatan penelitian, yaitu tanaman vanili, media MS, bubuk agar, gula pasir, ZPT thidiazuron dan NAA, aquadest, alkohol 96%, alkohol 70%, detergen cair, Mankozeb 80%, Natrium hipoklorit 5%, spirtus, Hcl dan NaOH. Sedangkan alat yang digunakan antara lain yaitu cawan petri, alat-alat diseksi, batang pengaduk, pH meter, gelas ukur, pipet, botol kultur, timbangan analitik, autoklaf, stirer, lampu bunsen, korek api, tisu, spon, sikat pembersih kecil, sprayer, rak kultur, lemari pendingin, oven, kertas label, plastik, alumunium foil, wrap plastik, AC, dan LAF.

2. Prosedur

Pembuatan Media MS

Dilakukan penimbangan serbuk MS sebanyak 4,43 g, gula 35 g, dan bacto agar 7,5 g. Setelah itu MS dan

gula dimasukkan kedalam gelas beker dan ditambahkan aquades sebanyak 1000 ml dan dihomogenkan dengan stirer. pH diukur menggunakan pH meter pada 5.6 - 5.8. Jika pH melebihi 5,8 maka berikan HCL namun jika pH kurang dari 5,6 maka diberikan NaOH. Setelah itu sebanyak 7,5 g bacto agar ditambahkan kedalam larutan. Larutan yang telah homogenkan kemudian dituang ke dalam botol tanam setelah ditambahkan Thidiazuron dan NAA dengan konsentrasi sesuai perlakuan. Sterilisasi media dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 1 jam.

Sterilisasi

Eksplan vanili direndam dalam air detergen selama 30 menit dan bilas dengan air bersih. Kemudian masukkan eksplan kedalam fungisida dengan dosis 4g/l selama 1 jam kemudian dibilas dan dimasukkan kedalam botol steril. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan membungkus alat diseksi, cawan petri, botol kultur, gelas ukur yang telah dicuci bersih kemudian di bungkus dengan menggunakan kertas atau alumunium foil, kemudian kloroks, aquades, dan alkohol dalam botol kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 1 jam dengan suhu 121°C.

Inokulasi

Inokulasi dilakukan di dalam LAF (laminar air flow). Alat-alat dan bahan seperti aquades, kloroks, dan alkohol yang telah disterilasi beserta tisu dan bunsen disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol selanjutnya dimasukkan ke dalam LAF, kemudian lakukan penyinaran UV selama 45 menit. Setelah penyinaran UV, selanjutnya masukkan eksplan tanaman vanili yang disemprot alkohol terlebih dahulu ke dalam LAF. Eksplan kemudian disterilkan kembali di dalam LAF dengan cara mengocok eksplan ke dalam aquades selama 1 menit, lalu eksplan dikocok ke dalam kloroks 20% (Natrium hipoklorit 5%) selama 5 menit, kemudian bilas dengan aquadest sebanyak 3 kali (Ayele *et al.* 2017). Eksplan dari nodus vanili yang telah steril tersebut ditempatkan di dalam petridish dan dipotong 1,5 cm (Tan *et al.* 2010) dengan bantuan pinset untuk kemudian ditanam pada medium MS sesuai perlakuan. Setiap botol kultur berisi 1 eksplan (Ayele *et al.*, 2017).

Inkubasi

Periode inkubasi dilakukan dengan menjaga suhu pada angka 26°C, dengan lama pencahayaan 16 jam dan 8 jam gelap. Untuk kelembaban relatif 60-70%. Pengaturan lama pencahayaan dapat dilakukan dengan menggunakan stop kontak timer.

Pengamatan

Sampel eksplan vanili yang telah ditanam masing-masing dilakukan pengamatan untuk mengetahui respon akibat pemberian konsentrasi kombinasi thidiazuron dan NAA terhadap variabel kecepatan respon, persentase eksplan hidup, persentase respon, panjang tunas, panjang akar, dan histologi. Pengamatan dilakukan setiap 1 minggu sekali selama waktu penelitian.

3. Variabel Pengamatan

Kecepatan respon eksplan, baik berupa kalus, tunas atau akar.

Kecepatan respon eksplan dihitung sejak pertama munculnya kalus, tunas, atau akar.

Persentase eksplan hidup

Persentase hidup dihitung dengan rumus

$$\frac{\sum \text{Eksplan Hidup}}{\sum \text{Awal Tanam}} \times 100\%, \dots\dots\dots(1)$$

dimana eksplan hidup yang dihitung adalah setiap kombinasi perlakuan yang hidup dibagi dengan jumlah total dari keseluruhan kombinasi perlakuan dari eksplan yang ditanam selama penelitian. Terdapat 12 eksplan yang ditanam untuk setiap kombinasi perlakuan sehingga didapat populasi eksplan sebanyak 108 botol.

Persentase Respon

Persentase respon menghitung respon dari setiap perlakuan dan

dinyatakan dalam bentuk persen. Persentase respon dihitung dengan rumus

$$\frac{\sum \text{Eksplan Respon}}{\sum \text{Eksplan Hidup}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

dimana eksplan respon yang dihitung adalah setiap kombinasi perlakuan yang respon dibagi dengan jumlah total dari keseluruhan kombinasi perlakuan dari eksplan yang ditanam selama penelitian. Terdapat 12 eksplan yang ditanam untuk setiap kombinasi perlakuan sehingga didapat populasi eksplan sebanyak 108 botol.

Panjang Tunas

Panjang tunas dihitung diakhir waktu penelitian. Pengukuran panjang tunas dibantu dengan aplikasi imageJ.

Panjang akar

Panjang akar dihitung diakhir waktu penelitian. Pengukuran panjang akar dibantu dengan aplikasi imageJ.

Histology eksplan

Eksplan vanili yang memiliki respon terbaik selanjutnya dilakukan analisis histologi di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Universitas Jember.

4. Analisis Data

Data hasil pengamatan kemudian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variant*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika data berbeda nyata dilanjutkan

dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Tekecil) dengan taraf kepercayaan 95 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam yang dilakukan pada seluruh variabel

pengamatan disajikan pada **Tabel 1**. Dari **Tabel 1** menunjukkan bahwa hasil interaksi pemberian thidiazuron dan NAA, pengaruh utama thidiazuron dan pengaruh utama NAA

Tabel 1.

Rangkuman Hasil Sidik Ragam (F-hitung) pada Semua Variabel Pengamatan

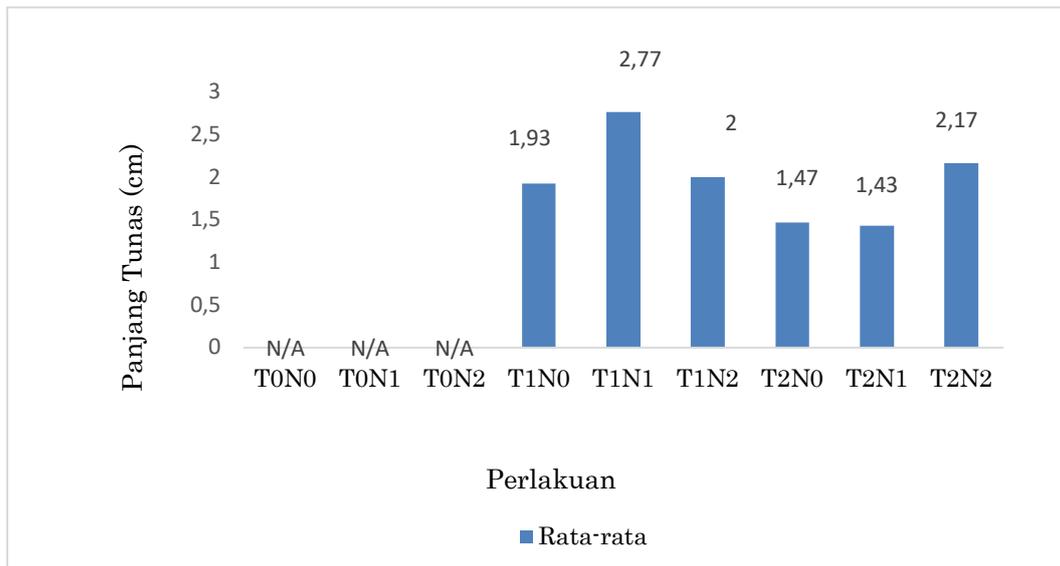
No	Variabel Pengamatan	Nilai F-hitung		
		Thidiazuron (T)	NAA (N)	Interaksi (T x N)
1.	Kedinian Respon (Hari)	0,22 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,40 ^{ns}
2.	Persentase Hidup (%)	2,33 ^{ns}	0,33 ^{ns}	1,83 ^{ns}
3.	Persentase respon (%)	1,94 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,50 ^{ns}
4.	Panjang tunas (cm)	137,74 ^{**}	1,21 ^{ns}	2,94 [*]
5.	Panjang akar (cm)	14,42 ^{**}	3,49 ^{ns}	4,01 [*]

Interaksi perlakuan pemberian thidiazuron dan NAA berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan panjang tunas dan panjang akar namun berpengaruh tidak nyata terhadap variabel pengamatan kedinian respon, persentase hidup, dan persentase respon. Pengaruh utama pemberian thidiazuron berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan panjang tunas dan panjang akar sedangkan pada variabel pengamatan kedinian respon, persentase hidup, dan persentase respon berpengaruh tidak nyata. Pengaruh utama pemberian NAA

berpengaruh tidak nyata terhadap semua variabel pengamatan.

1. Panjang Tunas

Panjang tunas tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan thidiazuron 0,5 ppm dan NAA 1 ppm (T₁N₁) yang menunjukkan rata-rata sebesar 2,77 cm. Hasil Pada **Gambar 1** menunjukkan bahwa semua kombinasi perlakuan tanpa pemberian thidiazuron 0 ppm (T₀N₀, T₀N₁, T₀N₂) menunjukkan nilai rata-rata sebesar 0 cm pada perkembangan panjang tunas.



Gambar 1. Rata-Rata Panjang Tunas Vanili

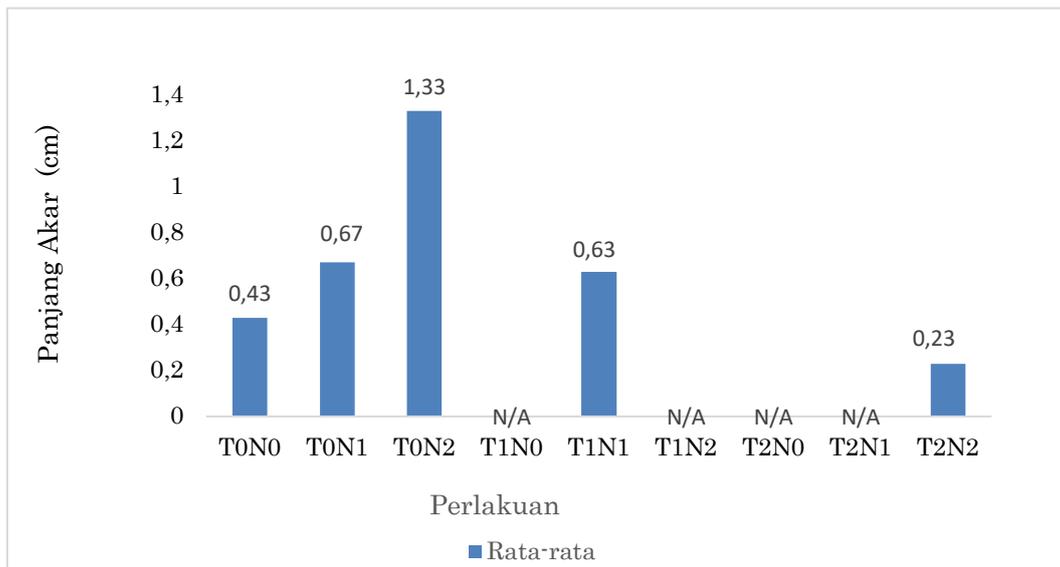
Hasil menunjukkan kemiripan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Febriyanti (2015) didalam penelitiannya dijelaskan bahwa pada perlakuan thidiazuron 0 ppm, kalus tidak mampu untuk tumbuh hingga akhir penelitian. Hal ini diduga karena eksplan tidak mendapatkan asupan hormon dari media kultur jaringan, sedangkan hormon endogen dalam eksplan tidak mampu mencukupi kebutuhan dalam menginduksi munculnya kalus pada eksplan.

Keseimbangan hormon antara auksin dan sitokinin adalah salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Hasil ini diperkuat dengan pernyataan dari Sarianti *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa induksi tunas tidak akan terbentuk jika hormon auksin dan sitokinin tidak seimbang. Konsentrasi thidiazuron yang optimal memiliki fungsi penting dalam membantu persebaran NAA

selain itu NAA juga lebih difokuskan terhadap sel-sel yang memiliki sifat totipotensi tinggi (Ningrum *et al.*, 2017). Hasil yang serupa ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Kishor dan Devi (2009) dimana dilaporkan bahwa kombinasi konsentrasi thidiazuron 0,5 ppm dan konsentrasi NAA 1 ppm dapat menghasilkan tunas mikro/bibit anggrek hibrida dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi lainnya.

2. Panjang Akar

Panjang akar tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan thidiazuron 0 ppm dan NAA 2 ppm (T₀N₂) yang menunjukkan nilai rata-rata sebesar 1,33 cm. Hasil pada **Gambar 2** menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan thidiazuron 0 ppm dan NAA 2 ppm (T₀N₂) memberikan panjang akar terbaik sebesar 1,33 cm meskipun tanpa adanya ZPT thidiazuron sebagai sitokinin tambahan.



Gambar 2. Rata-Rata Panjang Akar Vanili

Pada penelitian yang dilakukan oleh Restanto *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa pengaplikasian thidiazuron 0 ppm (kontrol) menunjukkan terbentuknya sistem perakaran pada tanaman yang memiliki rerata jumlah akar 5,3 dan rerata panjang akar 16,5 cm, sedangkan eksplan yang diberikan thidiazuron dalam media tidak menunjukkan terbentuknya sistem perakaran. Hal ini sesuai dengan penelitian (Ahmad *et al.*, 1996) yang menyatakan Meskipun TDZ merupakan sitokinin yang paling aktif untuk pertunasan tetapi hormon ini juga dapat menghambat suatu sistem perakaran pada tanaman anggrek. Hal ini juga didukung oleh penelitian (Parveen dan Shahzad, 2010) bahwa TDZ sangat dominan pada induksi tunas *Cassia sophera* dan tidak berpengaruh pada system perakaran.

Pemberian NAA bermanfaat dalam inisiasi pemanjangan sel dan memacu protein tertentu yang berada pada membran plasma sel tanaman untuk memompa ion H^+ ke dinding sel. Ion H^+ berperan dalam aktifnya enzim tertentu sehingga mampu memutus beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Hal ini menyebabkan masuknya air secara osmosis sehingga terjadi pemanjangan sel tanaman (Ningrum *et al.*, 2017). Peningkatan protein karena aktivitas NAA juga memberikan andil dalam pertumbuhan eksplan karena memberikan tambahan sumber tenaga. Menurut Yuniati *et al.*, (2018) aktivitas sitokinin dipengaruhi oleh auksin dalam merangsang pembelahan sel.

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa pada kombinasi perlakuan thidiazuron 0,5

ppm dan NAA 2 ppm (T_1N_2) memberikan panjang akar sebesar 0 cm. Meski terdapat ZPT sitokinin dan auksin dalam media kultur jaringan namun eksplan tidak mampu memunculkan akar baru. Hal ini diduga karena bekas sayatan dari eksplan mengalami browning. Hasil ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.*, (2015) yang menyatakan dugaan dalam hasil penelitiannya yaitu browning yang terjadi dibagian sayatan bawah eksplan menjadi faktor yang menyebabkan eksplan tidak dapat membentuk akar. Faktor lain yang diduga menjadi penyebab tidak terbentuknya akar potongan bagian batang yang diharapkan menjadi tempat munculnya akar memiliki jarak terlalu pendek.

3. Kedinian Respon

Pada variabel kedinian respon menunjukkan pemberian thidiazuron dan NAA memberikan hasil tidak berpengaruh yang diduga dikarenakan sitokinin eksogen belum mempengaruhi pembelahan awal tunas. Hal ini dikarenakan belum terjadi interaksi antara eksplan dan sitokinin eksogen sehingga eksplan menggunakan sitokinin endogen untuk memacu inisiasi tunas. Hal ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Erawati *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa pada eksplan tanaman vanili pemberian BAP dan NAA tidak mempengaruhi kecepatan respon dikarenakan eksplan bersumber dari ruas batang yang setiap eksplan sudah

mempunyai calon mata tunas pada tiap ruas.

4. Persentase Respon

Pada variabel persentase respon menunjukkan pemberian thidiazuron dan NAA memberikan hasil tidak berpengaruh. Kemampuan eksplan untuk respon pada penelitian ini tidak dipengaruhi oleh penambahan ZPT eksogen. Cadangan makanan pada eksplan dan nutrisi yang ada didalamnya diduga dapat mencukupi kebutuhan eksplan untuk pembentukan tunas ataupun akar. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Erawati *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa ZPT eksogen tidak mempengaruhi pembentukan tunas eksplan vanili.

5. Persentase Hidup

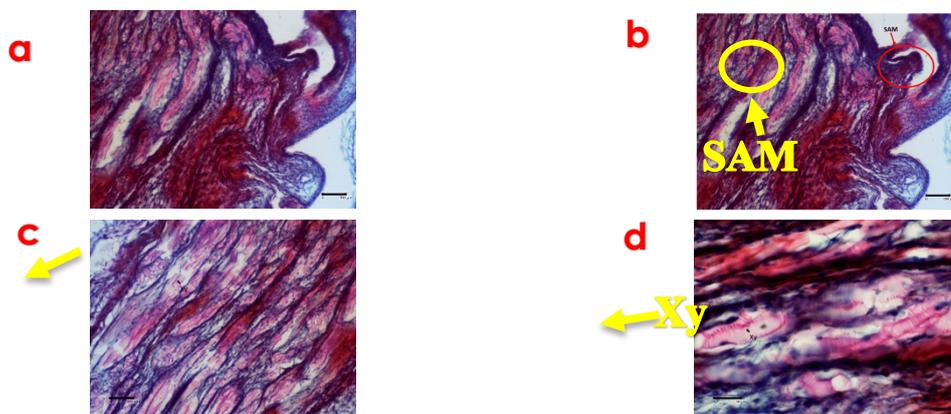
Persentase hidup eksplan dipengaruhi oleh tingkat kontaminasi yang menginfeksi eksplan. Kontaminasi dapat disebabkan oleh jamur maupun bakteri (Heriansyah *et al.*, 2020). Jamur dan bakteri dapat berasal dari sumber eksplan itu sendiri yang diperoleh dari pohon induk dari alam yang sejak awal membawa spora maupun benih jamur dan bakteri. Hal ini menyebabkan saat eksplan diinokulasi spora dan benih jamur dapat tumbuh dan merusak eksplan (Rahmadi *et al.*, 2020). Selain itu kematian eksplan juga dapat disebabkan karena browning. Browning dapat terjadi pada saat proses inokulasi. Pada

proses inokulasi terjadi penumpukan senyawa fenolik yang berlebihan karena metabolise *reactive oxygen species* tidak seimbang dan keutuhan sel menghilang. Hal ini terjadi karena eksplan dilukai pada proses pemotongan sebelum diinokulasikan dan terjadilah browning pada jaringan eksplan (Kusbianto *et al.*, 2022). Diketahui bahwa aktivitas produksi gas ethylen dan senyawa fenol dapat menyebabkan browning. Vakuola yang menyimpan senyawa fenol

teroksidasi karena pecahnya vakuola sel sehingga menyebabkan browning (Fitroh *et al.*, 2018).

6. Histologi Eksplan

Analisis histologi eksplan tanaman vanili dilakukan pada 2 bulan setelah tanam. Terlihat pada **Gambar 4B** pada penampang bujur kalus tampak meristem apikal ujung batang (*Shoot Apical Meristem*) yang dijumpai pada bagian tepi kalus dan pada **Gambar 4C** terlihat terdapat sel penyusun xilem.



Gambar 4. Histologi Tunas Vanili In Vitro, a) SAM = Shoot Apical Meristem (perbesaran 100x), b) SAM = Shoot Apical Meristem (perbesaran 400x), c) Xy = Xylem (perbesaran 100x), d) Xy = Xylem (perbesaran 400x).

SAM (*Shoot Apical Meristem*) atau tunas dapat ditingkatkan pertumbuhannya dengan pemberian konsentrasi thidiazuron yang tepat (Ningrum *et al.*, 2017). Sedangkan pada **Gambar 4C** terlihat pada bagian badan kalus tampak sel sel penyusun xilem (trakea) dengan penebalan dinding spiral. Trakea merupakan salah satu sel penyusun xilem yang memiliki ciri dimana sel-selnya memiliki bentuk silinder yang saat dewasa sel ini

akan mati yang kemudian bagian ujungnya akan bersatu sehingga membentuk tabung yang berfungsi untuk menyalurkan air (Hapsari *et al.*, 2018).

Pengangkutan air dan beberapa nutrisi terlarut seperti ion organik dan mineral dari akar ke seluruh tanaman merupakan fungsi dari xilem tanaman. Seperti yang diketahui dengan adanya sel sel penyusun xilem menandakan

bahwa mulai terbentuknya sistem perakaran pada kalus. Pada penelitian yang dilakukan oleh Munthe (2022) pada tanaman vanili menjelaskan bahwa NAA adalah ZPT jenis auksin yang memiliki fungsi dalam menstimulasi perakaran. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya dari Tan *et al.*, (2011) yang menyatakan NAA dengan konsentrasi 1 mg/l mampu menginduksi akar eksplan vanili dengan persentase 88,3% yang menghasilkan rata-rata panjang akar sebesar 4,4 cm dalam waktu 4 minggu.

SIMPULAN

Interaksi antara pemberian thidiazuron dan NAA terhadap respon eksplan nodal vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) secara *in vitro* berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan panjang tunas dan panjang akar. Perlakuan konsentrasi thidiazuron 0,5 ppm + NAA 1 ppm dan perlakuan thidiazuron 1 ppm + NAA 2 ppm menunjukkan tren terbaik pada panjang tunas. Perlakuan thidiazuron 0 ppm + NAA 2 ppm dan perlakuan thidiazuron 0,5 ppm + NAA 1 ppm menunjukkan tren terbaik pada panjang akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, J., & Rahman, A. (2018). The effect of different nutrient media on *in vitro* shoot and root proliferation of *vanilla planifolia*. *African Journal of Biotechnology*, 17(39), 1241–1246. <https://doi.org/10.5897/AJB2018.16610>
- Anwar, A., Rizwan, M., Aldywaridha, & Gunawan, I. (2021). Pemberian BAP dan NAA pada media MS terhadap pertumbuhan planlet anggrek (*Dendrobium bifalce*) secara *in vitro*. *AGRILAND Jurnal Ilmu Pertanian*, 9(3), 104–109. <https://jurnal.uisu.ac.id/index.php/agriland>
- Asra, R., Samarlina, R. A., & Silalahi, M. (2020). Hormon tumbuhan. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699
- Basri, A. H. H. (2016). Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensia*, 10(6), 64–73.
- Chen, J. T., & Chang, W. C. (2001). Effects of auxins and cytokinins on direct somatic embryogenesis on leaf explants of oncidium "gower ramsey." *Plant Growth Regulation*, 34(2), 229–232. <https://doi.org/10.1023/A:1013304101647>
- Daivu, R. (2022). Pengaruh kombinasi ZPT IAA dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan vanili (*vanilla planifolia andrews*) secara *in vitro*. *AGROPROSS*. 207–214. DOI : 10.25047/agropross.2022.290
- Erawati, D. N., Fisdiana, U., & Kadafi, M. (2020). Respon eksplan vanili (*Vanilla planifolia*) dengan stimulasi BAP dan NAA melalui teknik mikropropagasi. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 4(2), 146–153.
- Erişen, S., Atalay, E., & Yorgancilar, M. (2011). The effect of thidiazuron on the *in vitro* shoot development of endemic *astragalus cariensis* in turkey. *Turkish Journal of Botany*, 35(5), 521–526. <https://doi.org/10.3906/bot-1009-74>
- Febriyanti, D. D. (2015). Pengaruh konsentrasi hormon TDZ (thidiazuron) terhadap pembentukan somatik embriogenesis gaharu (*gyrinops versteegii* (gilg domke) melalui teknik *in vitro* dan pemanfaatannya sebagai karya ilmiah populer. (Skripsi, Universitas Jember, Jember, Indonesia). Diakses dari

- <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/67010>
- Fitroh, A. I., Rindang, D., I Ketut, A. W. & Hestin, Y. (2018). Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus daun Stroberi (*Fragaria sp.*) dengan media alternatif nutrisi hidroponik AB Mix. *EJurnal Agroekoteknologi Tropika*, 7(3), 304–315.
- Hapsari, A. T., Darmanti, S., Hastuti, E. D., (2018). Pertumbuhan batang, akar dan daun gulma katumpangan (*Pilea microphylla* (L.) Liebm.) *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(1), 79-84
- Hapsoro, D., & Yusnita. (2018). *Kultur jaringan: teori dan praktik*. Cetakan pertama. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Heriansyah, P., Indrawanis, E., Agroteknologi, J., Islam, U., & Singingi, K. (2020). Uji tingkat kontaminasi eksplan anggrek *Bromheadia finlysoniana* L.miq dalam kultur in-vitro dengan penambahan ekstrak tomat. 18(2), 223–232. <https://doi.org/10.32663/ja.v>
- Jainol, J. E., & Gansau, J. A. (2017). Embryogenic callus induction from leaf tip explants and protocorm-like body formation and shoot proliferation of dimorphorchis lowii: borneon endemic orchid. *Agrivita*, 39(1), 1–10. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v39i1.895>
- Jamaludin, J., & Ranchiano, M. G. (2021). Pertumbuhan tanaman vanili (*Vanilla planifolia*) dalam polybag pada beberapa kombinasi media tanam dan frekuensi penyiraman menggunakan teknologi irigasi tetes. *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 9(2), 65–72. <https://doi.org/10.25181/jaip.v9i2.1867>
- Kieber, J. J., Schallerb, G. E., Carolina, U. N., Biologi, D., & Hill, C. (2014). *Sitokinin*. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>
- Kusbianto, D. E., Kurniawan, N. C., Arum, A. P., & Restanto, D. P. (2022). Respon BAP dan 2,4-D terhadap induksi tunas tanaman vanili (*Vanilla planifolia*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(2), 82–87. <https://doi.org/10.31186/jipi.24.2.82-87>
- Lee-espinosa, H. E., Biolo, F. C., Lagunacerda, A., El, C., Agri, F. C., Auto, U., Mijangos-corte, J. O., & Barahona-pe, L. F. (2008). In vitro clonal propagation of vanilla (*Vanilla planifolia* 'Andrews'). *Hortscience*, 43(2), 454–458. <http://hortsci.ashspublications.org/content/43/2/454.full.pdf>
- Mose, W., Daryono, B. S., Indrianto, A., Purwantoro, A., & Semiarti, E. (2020). Direct somatic embryogenesis and regeneration of an Indonesian orchid *Phalaenopsis amabilis* (L.) blume under a variety of plant growth regulators, light regime, and organic substances. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(4), 509–518.
- Munthe, J.S.S., E. Hadipoentyanti., S. Suhesti., A. Lestari., N. Widyodaru., dan A. S. (2022). Respon eksplan vanili (*Vanilla planifolia* Andrews.) terhadap pemberian kinetin dan NAA (Naphthalene Acetic Acid) secara in vitro. *Agrohita*, 7(2), 218–225.
- Nanda, N., Hermanto, B., & Sudirman, A. (2020). Sistem pakar diagnosis penyakit pada tanaman vanili menggunakan metode Dempster-Shafer berbasis web. *Jurnal Komputasi*, 8(1), 91–102. <https://doi.org/10.23960/komputasi.v8i1.2352>
- Ningrum, E. F. C., Rosyidi, I. N., Puspasari, R. R., & Semiarti, E. (2017). Perkembangan awal protocorm anggrek *Phalaenopsis amabilis* secara in vitro setelah penambahan zat pengatur tumbuh α -Naphthaleneacetic Acid dan thidiazuron. *Biosfera*, 34(1), 9. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2017.34.1.393>
- Nurchayani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B., & Suharyanto, E. (2012). Penekanan

- perkembangan penyakit busuk batang vanili (*Fusarium Oxysporum* F.Sp. *Vanillae*) melalui seleksi asam fusarat secara in vitro. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 12(1), 12–22. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11212-22>
- Nurholis. (2017). Perbanyak tanaman panili (*Vanilla planifolia* Andrews) secara setek dan upaya untuk mendukung keberhasilan serta pertumbuhannya. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 10(2), 149–156. <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v10i2.4242>
- Nurmaningrum, D., Nurchayati, Y., Setiari, N., Biologi, P. S., Biologi, D., Sains, F., & Diponegoro, U. (2017). Mikropropagasi tunas alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada kombinasi benzil amino purin (BAP) dan thidiazuron (TDZ). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 2(2), 211–217.
- Oláh, R., Szegedi, E., Ruthner, S., & Korbuly, J. (2003). Thidiazuron-induced regeneration and genetic transformation of grapevine rootstock varieties. *Vitis*, 42(3), 133–136.
- Parveen, S., & Shahzad, A. (2010). TDZ-induced high frequency shoot regeneration in *Cassia sophera* Linn. via cotyledonary node explants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16(2), 201–206. <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0022-x>
- Pyati, A. N. (2022). Perbanyak anggrek (*Dendrobium ovatum* (L.)) secara in vitro melalui embriogenesis somatik. *Kultur Jaringan Tumbuhan & Biotek*. 32(1), 53–66.
- Ramadhan, M. F., Setyorini, E., Rachmawati, N., & Andrianti, E. (2019). *Ayo berkebun vanili*.
- Rahmadi, A.N., Wicaksana, B., Nurhadi, E., Suminar S.R.T., Pakki., dan Mubarak, S. (2020). Optimasi teknik sterilisasi dan induksi tunas tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr) ‘Kamajaya’ lokal cimahi secara in vitro. *Jurnal Kultivasi*, 19(1), 1083–1088.
- 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), 176–185. <https://doi.org/10.32528/agr.v16i1.1561>
- Restiani, R., Semiarti, E., & Indrianto, A. (2016). Konservasi anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) melalui mikropropagasi pada berbagai medium kultur. *Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education)*, 393–404. [http://symbion.pbio.uad.ac.id/prosiding/prosiding/ID_320-Ratih Restiani-Revisi_Hal 393-404.pdf](http://symbion.pbio.uad.ac.id/prosiding/prosiding/ID_320-Ratih%20Restiani-Revisi_Hal%20393-404.pdf)
- Robert, John H. D. dan L. W. (1986). Experiments in plant tissue culture. *FEBS Letters*.200(1). [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(86\)80556-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)80556-7)
- Salfiani, A., & Paserang, A. P. (2022). Pengaruh kombinasi IAA (Indole-3-Acetic Acid) dan BAP (6-Benzylaminopurine) terhadap Inisiasi tanaman vanili (*Vanilla planifolia* Andrews). *Biocelebes*, 15(2), 157–166. <https://doi.org/10.22487/bioceb.v15i2.15782>
- Sari, H. S., Murni Dwiati, & Iman Budisantosa. (2015). Efek NAA dan BAP terhadap pembentukan tunas, daun, dan tinggi tunas stek mikro *Nepenthes ampullaria* Jack. *Biosfera*, 32(3), 195–201.
- Sarianti, J., Zulaikha, S., Wulandari, M. A., Silva, S., Rizky, Z. N., Yachya, A., (2022) Pengaruh 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan benzyl amino purine (Bap) terhadap induksi tunas dari eksplan folium dan petiolus *communis* tanaman duku (*Lansium domesticum* Corr.) *Stigma*, 15(2), 52–59.

- Semiarti, P. D. K. dan E. (2016). Pengaruh thidiazuron dan naphthalene acetic acid untuk induksi embriogenesis somatik dari daun anggrek *Phalaenopsis "Sogo Vivien"*. *JJBS: Jordan Journal of Biological Sciences*, 07(1), 1–23.
- Setame, M., Nusantari, A., & Condro, N. (2020). Identifikasi cendawan penyebab penyakit busuk sulur dan daun tanaman vanili (*Vanilla Planifolia* Andrews). *Jurnal Dinamis*, 17(1), 129–132.
- Sujjaritthurakarn, P., & Kanchanapoom, K. (2011). Efficient direct protocorm-like bodies induction of dwarf dendrobium using thidiazuron. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(4), 88–92.
<https://doi.org/10.15835/nsb346356>
- Tan, B. C., Chin, C. F., & Alderson, P. (2011). Optimisation of plantlet regeneration from leaf and nodal derived callus of *Vanilla planifolia* Andrews. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 105(3), 457–463.
<https://doi.org/10.1007/s11240-010-9866-6>
- Yuniati, F., Haryanti, S., Prihastanti, E., Biologi, P. S., Biologi, D., Diponegoro, U., Biologi, D., Diponegoro, U., & Bulu, R. (2018). Pengaruh hormon dan ukuran eksplan terhadap pertumbuhan mata tunas tanaman pisang (*Musa paradisiaca* var . raja bulu) secara in vitro. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(1), 20-28.