



Research Article

Kajian Penggunaan BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Kultur In vitro Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews.) pada Fase Akhir Subkultur

*Assessment of BAP and NAA on In vitro Culture of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews.) at The Final Stage of Subculture*

Nada Hanik Andriyani*, Syaiful Anwar, dan Florentina Kusmiyati

Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Sudarto No. 13, Tembalang, Semarang 50275, Indonesia

*Corresponding author: nada.hanika@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of research was to examine BAP and NAA on in vitro culture of vanilla at final stage of subculture. The research was carried out in October 2021 – January 2022 at the Tissue Culture Laboratory of Balai Benih Tanaman Perkebunan, Salatiga. This research used a 3x4 factorial complete randomized design with 4 replicates. The first factor is the BAP concentration levels at 0, 1 and 2 mg/l. The second factor is the concentration of NAA at 0, 1, 2 and 3 mg/l. The parameters of initiation root period, number of roots, root length, shoot length and number of leaves obtained were analyzed for variance; if it had an effect, it was continued with DMRT. Data on the number of shoots was analyzed descriptively. The results showed an interaction between the additions of BAP and NAA on root length and number of leaves. The addition of BAP significantly affects the number of roots and shoot length, and the highest results were achieved at concentration of 0 mg/l. The NAA concentration had a significant effect on the initiation root period and shoot length that was best achieved at 0 mg/l.

Keywords: *endogenous hormone, habituation, root, shoot*

PENDAHULUAN

Vanili merupakan komoditas tanaman perkebunan yang bernilai ekonomi tinggi karena dapat menghasilkan vanillin. Perbanyakan vanili umumnya secara vegetatif konvensional dengan stek batang, namun tingkat kecepatan perbanyakannya rendah serta membutuhkan waktu dan tenaga lebih banyak (Inderiati *et al.*, 2019). Oleh karena itu, diperlukan teknik perbanyakan yang lebih efektif dan efisien. Teknik kultur *in vitro* dinilai sebagai metode yang paling tepat karena mampu memproduksi bibit berkualitas secara massal dalam waktu relatif lebih singkat (Gantait dan Kundu, 2017).

Secara umum, tahapan dalam perbanyakan *in vitro* yaitu inisiasi, multiplikasi, pengakaran dan aklimatisasi. Tunas yang terbentuk dari tahap inisiasi diperbanyak jumlahnya pada tahap multiplikasi dengan beberapa kali proses subkultur. Eksplan vanili dapat disubkultur sebanyak kurang lebih enam kali. Fase subkultur 1 – 5 berfokus pada pembentukan dan pertumbuhan tunas. Sementara itu, fase terakhir pada subkultur ke-6 bertujuan untuk menginisiasi pertumbuhan akar dan mendorong pemanjangan tunas yang tumbuh menghasilkan daun sehingga didapatkan planlet lengkap sebelum

ditanam secara *ex vitro* pada tahap aklimatisasi. Kualitas akar yang terbentuk berpengaruh terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan planlet selama aklimatisasi (Mirani *et al.*, 2017).

Penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dengan jenis dan konsentrasi yang tepat diperlukan untuk memacu pertumbuhan planlet secara optimal. Salah satu ZPT dari golongan sitokinin yang sering digunakan yaitu *6-Benzylaminopurine* (BAP) karena dinilai efektif untuk menginduksi regenerasi pucuk tunas. Mekanisme kerja BAP dalam pembentukan tunas dengan memacu sintesis protein sehingga mendorong pembelahan pada sel-sel meristem yang menyebabkan terbentuknya tunas baru (Erawati *et al.*, 2020). *Naphthaleneacetic Acid* (NAA) merupakan auksin yang berperan dalam pembentukan akar. Auksin meningkatkan pertumbuhan akar dengan memacu pembentangan pada jaringan korteks, floem dan kambium sehingga sel-sel sklerenkim menjadi rusak yang memacu keluarnya akar dan mendorong pemanjangan sel (Prabaninggar *et al.*, 2021).

Penggunaan NAA 1 mg/l pada media akhir subkultur vanili mampu menginduksi pembentukan akar tercepat dan menghasilkan jumlah akar terbanyak serta panjang tunas tertinggi (Hasnu dan Tanti, 2017). Subkultur vanili pada media dengan kombinasi penggunaan BAP 2 mg/l dan NAA 1 mg/l mampu menghasilkan panjang tunas tertinggi dan jumlah daun terbanyak (Sharma dan Sunil, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh konsentrasi BAP dan NAA terhadap pertumbuhan kultur *in vitro* tanaman vanili pada fase akhir subkultur.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 – Januari 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Benih Tanaman Perkebunan (BBTP), Kota Salatiga, Jawa Tengah.

Materi penelitian

Bahan penelitian yaitu planlet vanili berusia 6 bulan hasil subkultur ke-5 yang berasal dari Balai Benih Tanaman Perkebunan Kota Salatiga, larutan stok media MS, BAP, NAA, akuades, alkohol 70%, alkohol 96%, HCL 1 N, NaOH 1N, arang aktif, agar dan sukrosa. Alat yang digunakan yaitu *laminar air flow* (LAF), *autoclave*, cawan petri, *scalpel*, pinset, *hot plate magnetic stirrer*, timbangan analitik, bunsen, gelas beker, gelas ukur, pH meter, botol kultur, *plastic wrap*, tisu, label, alat tulis dan kamera

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan faktorial 3 x 4 dengan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) diulang 4 kali sehingga diperoleh 48 satuan percobaan. Faktor pertama konsentrasi BAP dengan 3 taraf yaitu B0: 0 mg/l; B1: 1 mg/l; B2: 3 mg/l. Faktor kedua konsentrasi NAA dengan 4 taraf yaitu N0: 0 mg/l; N1: 1 mg/l; N2: 3 mg/l; N3: 3 mg/l.

Tahap penelitian meliputi sterilisasi alat dan ruang kerja, preparasi larutan stok, preparasi media MS, subkultur, pemeliharaan dan pengamatan. Alat dan botol dicuci dengan sabun, kemudian disterilisasi dengan *autoclave*. Permukaan meja kerja dan dinding kaca LAF disemprot alkohol 70% kemudian dilap dengan tisu. Lampu UV pada LAF dinyalakan selama minimal 2 jam sebelum digunakan. Larutan stok dibuat sesuai komposisi media *Murashige and Skoog* (MS). Pembuatan larutan stok ZPT 100 mg/l dilakukan dengan menimbang BAP dan NAA masing-masing 0,01 g dilarutkan dengan lalu NaOH 1 N, kemudian ditambah akuades hingga volume larutan mencapai 100 ml.

Pembuatan media dengan memasukkan larutan stok MS, stok BAP dan NAA sesuai konsentrasi perlakuan serta akuades ke dalam gelas beker. Keasaman larutan media diatur pada kisaran angka 5,7 – 5,8. Bubuk agar 8 g/l ditambahkan lalu dipanaskan dengan *hot plate magnetic stirrer* hingga mendidih. Media dituang ke dalam botol kultur dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 2,5 jam.

Subkultur dilakukan dengan mengeluarkan planlet dari botol lalu media yang masih menempel, daun dan akar yang tumbuh dibersihkan. Eksplan dipotong dari bagian batang dengan panjang 2 cm

dan terdapat 1 buku. Eksplan ditanam pada media perlakuan dengan 1 botol berisi 1 buah eksplan kemudian disimpan dalam ruang inkubasi dengan pencahayaan pada suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$.

Data jumlah tunas dianalisis secara deskriptif. Data waktu muncul akar, jumlah akar, panjang akar, panjang tunas dan jumlah daun dianalisis ragam untuk melihat pengaruh perlakuan, apabila berpengaruh dilanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* dan untuk melihat pola respon dengan uji Polinomial Orthogonal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Akar

Hasil analisis ragam (Tabel 1) menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan BAP dan NAA terhadap waktu muncul akar. Perlakuan NAA memberikan pengaruh nyata terhadap waktu muncul akar, sedangkan perlakuan BAP tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap waktu muncul akar. Hal ini sesuai dengan penelitian Divakaran *et al.* (2015) bahwa penggunaan BAP secara tunggal menghambat laju pembentukan akar vanili, namun di sisi lain dapat meningkatkan jumlah tunas. Didukung pendapat Juras *et al.* (2019) bahwa sitokinin pada media perakaran dapat menghalangi efek rangsangan dan biosintesis auksin endogen dalam membentuk akar.

Tabel 1. Waktu Muncul Akar pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|--------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- (hari) ----- | | | | |
| 0 | 9 | 30 | 28 | 22 | 22 |
| 1 | 13 | 37 | 28 | 17 | 24 |
| 2 | 25 | 26 | 26 | 26 | 26 |
| Rata-rata | 16 ^c | 31 ^a | 27 ^{ab} | 22 ^b | |


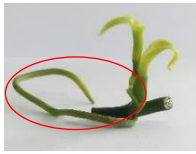
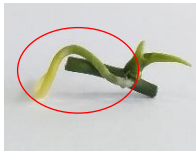
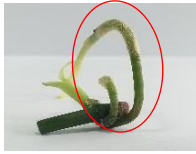
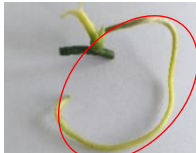
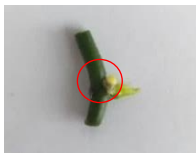

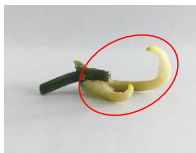
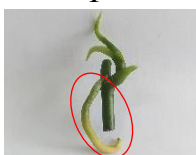



Keterangan: Superskrip berbeda pada baris rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Perlakuan NAA 0 mg/l mampu membentuk akar tercepat pada 16 hari setelah kultur dibandingkan NAA 1, 2 dan 3 mg/l. Berbeda dengan hasil Hasnu dan Tanti (2022) bahwa pemberian NAA 1 mg/l memunculkan akar tercepat setelah $5,8 \pm 0,48$ hari kultur, namun peningkatan konsentrasi di atas 1 mg/l pada taraf 1,5, 2, dan 2,5 mg/l akan memperlambat munculnya akar. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil subkultur berulang pada media MS dengan menambahkan BAP 4,5 mg/l + NAA 0,465 mg/l pada tahap inisiasi dan subkultur 1 – 4 (± 20 bulan sejak inisiasi tunas), serta IAA 1,75 mg/l pada subkultur ke-5 (± 6 bulan). Akumulasi ZPT auksin dari subkultur terdahulu diduga meningkatkan konsentrasi auksin endogen sehingga perlakuan kontrol mampu memunculkan akar tercepat. Sesuai dengan penelitian Jadid *et al.* (2015) media tanpa penambahan auksin mampu membentuk akar dikarenakan kandungan IAA endogen yang diperlukan untuk menstimulasi pembentukan akar sudah cukup tersedia di dalam eksplan.

Jumlah Akar

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa pemberian BAP berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah akar, namun konsentrasi NAA dan interaksi perlakuan BAP dan NAA tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah akar planlet vanili.

Tabel 2. Jumlah Akar pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|---|---|--|---|----------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- buah ----- | | | | |
| 0 |  |  |  |  | 2 ^a |
| 1 |  |  |  |  | 1 ^b |
| 2 |  |  |  |  | 1 ^b |
| Rata-rata | 1 | 1 | 1 | 2 | |

Keterangan: Superskrip berbeda pada kolom rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)


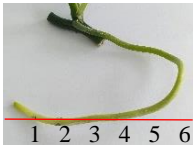
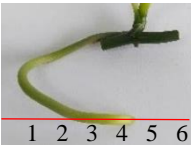

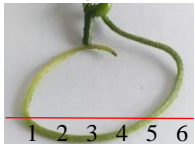
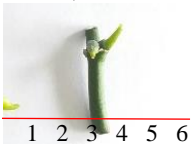
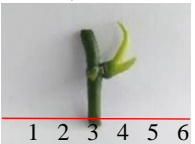

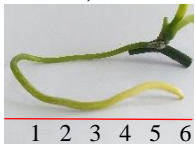
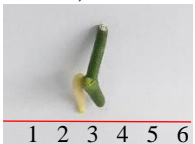
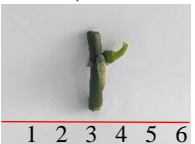
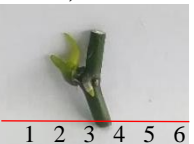
Perlakuan BAP 0 mg/l menghasilkan jumlah akar terbanyak dibandingkan BAP 1 dan 2 mg/l. Akar terbanyak dihasilkan pada perlakuan kontrol disebabkan auksin yang terkandung dalam eksplan mampu mendorong diferensiasi sel membentuk akar. Sejalan dengan penelitian Zuraida *et al.* (2013) bahwa subkultur akhir vanili pada media tanpa auksin mampu menghasilkan jumlah akar tertinggi ($2,9 \pm 0,12$ akar) karena auksin endogen dapat bekerja lebih baik saat eksplan ditanam pada media kontrol. Penambahan BAP 1 dan 2 mg/l menurunkan jumlah akar karena sitokinin menekan pembentukan akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Schaller *et al.* (2015) bahwa sitokinin mengganggu peran auksin dalam pembentukan akar dengan menghambat pembelahan antiklinal pada sel perikel yang mengawali pembentukan akar lateral. Pertumbuhan akar dipengaruhi oleh auksin yang ditranspor secara polar karena adanya protein PIN-FORMED (PIN). Menurut Jing dan Strader (2019) sitokinin menghambat ekspresi protein PIN-FORMED (PIN) sehingga distribusi auksin dalam pembentukan primordia akar menjadi terganggu.

Perlakuan NAA tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah akar. Berbeda dengan hasil Tan *et al.* (2011) bahwa penambahan NAA mampu meningkatkan jumlah akar vanili dalam waktu yang singkat. Hal ini dikarenakan tidak terjadi keseimbangan antara auksin endogen dengan penambahan NAA. Sesuai pendapat Aprinda *et al.* (2022) bahwa penambahan auksin tidak diperlukan jika konsentrasi auksin endogen sudah mencukupi untuk pertumbuhan akar, karena auksin eksogen yang melebihi kebutuhan tanaman akan menyebabkan ketidakseimbangan interaksi dengan auksin endogen.

Panjang Akar

Hasil analisis ragam (Tabel 3) menunjukkan terdapat interaksi antara perlakuan BAP dan NAA terhadap parameter panjang akar. Perlakuan BAP 0 mg/l dengan aplikasi NAA 0 mg/l menunjukkan respons panjang akar terbaik sama dengan NAA 1 mg/l, namun lebih tinggi dibandingkan NAA 2 dan 3 mg/l. Panjang akar tertinggi perlakuan BAP 1 mg/l yaitu setelah ditambahkan NAA 0 mg/l dan lebih tinggi dibandingkan NAA 1, 2 dan 3 mg/l. Perlakuan BAP 2 mg/l menghasilkan panjang akar tertinggi pada penambahan NAA 0 mg/l dan lebih tinggi dibandingkan NAA 1, 2 dan 3 mg/l.

Tabel 3. Panjang Akar pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|--|--|---|--|-------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- cm ----- | | | | |
| 0 |  1 2 3 4 5 6 12,98 ^a |  1 2 3 4 5 6 8,40 ^{ab} |  1 2 3 4 5 6 5,63 ^{bc} |  1 2 3 4 5 6 6,65 ^{bc} | 8,41 ^a |
| 1 |  1 2 3 4 5 6 13,43 ^a |  1 2 3 4 5 6 0,30 ^e |  1 2 3 4 5 6 0,45 ^e |  1 2 3 4 5 6 3,43 ^{cd} | 4,40 ^b |
| 2 |  1 2 3 4 5 6 3,95 ^{cd} |  1 2 3 4 5 6 0,60 ^e |  1 2 3 4 5 6 0,60 ^e |  1 2 3 4 5 6 2,03 ^{de} | 1,79 ^c |
| Rata-rata | 10,12 ^a | 3,10 ^{bc} | 2,23 ^c | 4,03 ^b | |

Keterangan: Superskrip berbeda pada matriks interaksi, baris atau kolom rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Respons panjang akar perlakuan BAP konsentrasi 0, 1 dan 2 mg/l cenderung sudah responsif pada penambahan NAA 0 mg/l. Penambahan auksin pada setiap subkultur akan berpengaruh terhadap perlakuan auksin saat digunakan pada fase akhir subkultur karena terjadi peningkatan akumulasi auksin secara endogen di dalam eksplan. Sesuai hasil penelitian Oliveira *et al.* (2013) bahwa setelah 60 hari dikulturkan pada media akhir subkultur tanpa auksin, planlet vanili mampu menghasilkan panjang akar terbaik (7,9 cm) karena auksin endogen yang diperlukan untuk perakaran sudah mencapai tingkat optimal. Hasil panjang akar pada perlakuan BAP 0 mg/l dengan penambahan NAA 2 dan 3 mg/l serta perlakuan BAP 1 dan 2 mg/l dengan penambahan NAA 1, 2 dan 3 mg/l lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol. Menurut Kartiman *et al.* (2018), akumulasi auksin yang tinggi akibat penambahan NAA dapat menghambat pemanjangan akar karena konsentrasi auksin endogen berlebih dapat menyebabkan pemendekan sel-sel.

Faktor eksplan yang telah mengalami subkultur berulang diduga juga mengubah eksplan menjadi terhabituasi sehingga pada media tanpa penambahan NAA tetap mampu menstimulasi pemanjangan akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Mangena *et al.* (2020) menyatakan bahwa pertumbuhan pada fase akhir subkultur dapat dipengaruhi oleh kondisi eksplan yang mengalami habituasi akibat subkultur berkelanjutan yang berlangsung lama sehingga kultur yang awalnya membutuhkan penambahan auksin atau sitokinin untuk pertumbuhan dan pembentukan organ menjadi tidak memerlukannya karena biosintesis endogen pada jaringan mengarah ke keadaan autotropik atau mandiri.

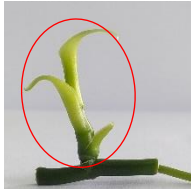
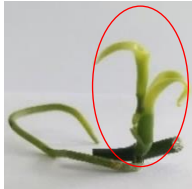







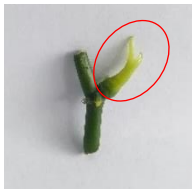


Tunas yang dihasilkan pada setiap perlakuan berjumlah sama yaitu satu, artinya semua perlakuan yang diuji belum efektif untuk meningkatkan jumlah tunas. Hal ini sesuai dengan pendapat Erawati *et al.* (2020) bahwa tumbuhnya tunas pada setiap perlakuan dikarenakan eksplan dari bagian ruas batang telah memiliki calon tunas aksilar pada tiap bukannya, sehingga tunas akan tetap dapat tumbuh meskipun ditanam pada media kontrol. Pemberian BAP dan NAA belum mampu menggandakan tunas dikarenakan pengaruh dominansi apikal. Sesuai pendapat Prabaninggar *et al.* (2022), aktivitas auksin endogen berlebih pada pucuk tunas memberikan pengaruh dominansi apikal

yang kuat sehingga pertumbuhan tunas apikal lebih dominan dan pembentukan tunas aksilar terhambat.

Jumlah Tunas

Data jumlah tunas (Tabel 4) menunjukkan semua perlakuan mampu menumbuhkan tunas baik dengan penambahan maupun tanpa penambahan BAP dan NAA.

Tabel 4. Jumlah Tunas pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|--|--|---|--|-----------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- buah ----- | | | | |
| 0 |  |  |  |  | 1 |
| 1 |  |  |  |  | 1 |
| 2 |  |  |  |  | 1 |
| Rata-rata | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Pengaruh lain yang menyebabkan tidak terbentuknya multi tunas dikarenakan terjadi penurunan kemampuan multiplikasi pada fase subkultur yang ke-6. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Solano *et al.* (2019) menyatakan bahwa bahwa daya multiplikasi tunas vanili cenderung meningkat dari subkultur 1 – 5, kemudian mengalami penurunan pada subkultur 6 – 10. Frekuensi subkultur juga berpengaruh terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Ramírez-Mosqueda *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa jumlah dan panjang tunas pada kultur vanili akan semakin berkurang seiring dengan meningkatnya jumlah subkultur yang dilakukan.

Panjang Tunas

Hasil analisis ragam (Tabel 5) menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan BAP dan NAA terhadap panjang tunas. Perlakuan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap panjang tunas. Perlakuan NAA berpengaruh nyata terhadap panjang tunas. Panjang tunas setelah 70 hari kultur pada perlakuan BAP 1 dan 2 mg/l sama, namun lebih rendah dibandingkan BAP 0 mg/l yang memberikan hasil tertinggi. Sesuai dengan penelitian Oliveira *et al.* (2013) bahwa perlakuan kontrol menghasilkan panjang tunas vanili tertinggi pada 90 hari kultur, namun secara signifikan mengalami penurunan seiring peningkatan konsentrasi BAP 1, 2 dan 3 mg/l. Didukung Qomariah dan Semiarti (2019) bahwa penambahan sitokinin dapat menekan konsentrasi auksin pada daerah meristem apikal dan menghambat kerja auksin dalam pemanjangan sel sehingga menyebabkan tunas yang dihasilkan cenderung lebih pendek dibandingkan pada perlakuan kontrol.

Tabel 5. Panjang Tunas pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- (cm) ----- | | | | |
| 0 | 3,80 | 3,10 | 2,18 | 2,58 | 2,91 ^a |
| 1 | 2,40 | 0,75 | 1,48 | 1,10 | 1,43 ^b |
| 2 | 2,53 | 1,08 | 1,05 | 0,78 | 1,36 ^b |
| Rata-rata | 2,91 ^a | 1,64 ^b | 1,57 ^b | 1,48 ^b | |

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris atau kolom rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Perlakuan NAA 0 mg/l menghasilkan panjang tunas tertinggi dibandingkan NAA 1, 2 dan 3 mg/l yang memberikan respons sama, artinya tidak memberikan efek pada panjang tunas. Penambahan NAA menekan pemanjangan tunas disebabkan konsentrasi auksin endogen sudah optimal untuk pembelahan dan pemanjangan sel. Hal ini sesuai pendapat Hasnu dan Tanti (2022) konsentrasi NAA yang melebihi kebutuhan tanaman dapat menghambat pertumbuhan, sebaliknya konsentrasi di bawah optimum tidak efektif untuk meningkatkan pertumbuhan. Hasil tertinggi saat eksplan dikulturkan pada media tanpa hormon juga mencirikan habituasi. Hal ini sesuai pendapat Mariani *et al.* (2014) bahwa setelah durasi kultur yang lama, habituasi terutama dengan auksin (NAA) dan sitokinin (BAP) sangat mungkin bisa terjadi sehingga jaringan tanaman mampu tumbuh dan beregenerasi pada media tanpa penambahan hormon.

Jumlah Daun

Hasil analisis ragam (Tabel 6) menunjukkan terdapat interaksi antara perlakuan BAP dan NAA terhadap parameter panjang akar. Perlakuan NAA 0 mg/l setelah ditambahkan BAP 0, 1 dan 2 mg/l menunjukkan respons jumlah daun yang sama, artinya tidak memberikan efek pada jumlah daun. Perlakuan NAA 1 mg/l menghasilkan jumlah daun terbanyak dengan aplikasi BAP 0 mg/l namun lebih tinggi dibandingkan perlakuan BAP 1 dan 2 mg/l. Jumlah daun terbanyak perlakuan NAA 2 mg/l setelah ditambahkan BAP 0 mg/l sama dengan BAP 1 mg/l, namun lebih tinggi dibandingkan BAP 2 mg/l. Jumlah daun perlakuan NAA 3 mg/l menunjukkan respons terbanyak pada penambahan BAP 0 mg/l yang sama dengan BAP 1 mg/l dan lebih tinggi dibandingkan BAP 2 mg/l.

Tabel 6. Jumlah Daun pada Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA

| BAP (mg/l) | NAA (mg/l) | | | | Rata-rata |
|------------|--------------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| | ----- (buah) ----- | | | | |
| 0 | 4 ^a | 4 ^{ab} | 3 ^{ab} | 3 ^{abc} | 3 ^a |
| 1 | 2 ^{abcd} | 0 ^e | 2 ^{bcd} | 1 ^{cde} | 1 ^b |
| 2 | 2 ^{abcd} | 1 ^{de} | 0 ^e | 0 ^e | 1 ^b |
| Rata-rata | 3 ^a | 2 ^{bc} | 2 ^b | 1 ^c | |

Keterangan: Superskrip berbeda pada matriks interaksi, baris atau kolom rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Jumlah daun perlakuan NAA 1 mg/l menghasilkan respons terbanyak dengan penambahan BAP 0 mg/l. Berbeda dengan penelitian Sharma dan Sunil (2017) bahwa media NAA 1 mg/l yang ditambahkan BAP 2 mg/l mampu menghasilkan daun vanili terbanyak (5,90 helai) dibandingkan perlakuan kontrol yang tidak menumbuhkan daun. Perlakuan NAA 1 mg/l dengan penambahan BAP

1 mg/l serta perlakuan NAA 2 dan 3 mg/l dengan penambahan BAP 3 mg/l menghasilkan daun lebih sedikit dibandingkan dengan penambahan BAP 0 mg/l. Sitokinin endogen yang terkandung dalam eksplan diduga sudah mencukupi untuk memacu pembelahan dan diferensiasi sel menjadi tunas dan organ daun. Hal ini sesuai dengan Nuraini *et al.* (2022) bahwa tingginya konsentrasi sitokinin dapat menghambat komponen pertumbuhan tunas seperti jumlah daun. Hasil jumlah daun berbanding lurus dengan panjang tunas. Sesuai pendapat Ayele *et al.* (2017) bahwa panjang tunas berkorelasi positif dengan jumlah daun, dan jumlah daun berkorelasi positif dengan jumlah buku dimana semakin panjang tunas yang tumbuh maka jumlah daun dan jumlah buku yang terbentuk juga akan semakin banyak.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa interaksi perlakuan BAP 0, 1 dan 2 mg/l setelah penambahan NAA 0 mg/l mampu merespons panjang akar tertinggi. Interaksi antara perlakuan NAA 1, 2 dan 3 mg/l setelah ditambahkan BAP 0 mg/l mampu merespons jumlah daun terbanyak, sementara penambahan NAA 0 mg/l menunjukkan respons jumlah daun yang sama. Perlakuan BAP 0 mg/l menghasilkan respons tertinggi pada parameter jumlah akar dan panjang tunas. Konsentrasi NAA 0 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk mempercepat waktu muncul akar dan meningkatkan panjang tunas. Perlakuan BAP dan NAA belum mampu meningkatkan jumlah tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aprinda, O., L. Lizawati, dan E. Eliyanti. 2022. Induksi akar pada eksplan tunas anggrek (*Dendrobium* var. Airy Beauty) secara *in vitro* dengan penambahan naphthalene acetic acid (naa) dan 6-benzyl amino purin (bap). *J. Agroecotania*. 5(1):27-39. doi: <https://doi.org/10.22437/agroecotania.v5i1.22825>
- Ayele, Y. B., W. Tefera dan K. Bante. 2017. Enhanced protocol development for *in vitro* multiplication and rooting of vanilla (*Vanilla planifolia* Andr.) Clone (Van. 2/05). *Biotechnology J. International*. 18(3):1-11. doi: <https://doi.org/10.9734/BJI/2017/33726>
- Divakaran, M., K. N. Babu, P. N. Ravindran, K. V. Peter, A. J. Plant dan S. Res. 2015. Biotechnology for micropropagation and enhancing variations in *Vanilla*. *Asian J Plant Sci Res*. 5(2):52-62.
- Erawati, D. N., U. Fisdiana dan M. Kadafi, M. 2020. Respons eksplan vanili (*Vanilla planifolia*) dengan stimulasi bap dan naa melalui teknik mikropropagasi. *J. of Applied Agricultural Sciences*. 4(2):146-153. doi: <https://doi.org/10.25047/agriprima.v4i2.362>
- Gantait, S. dan S. Kundu. 2017. *In vitro* biotechnological approaches on *Vanilla planifolia* Andrews: advancements and opportunities. *Acta Physiologiae Plantarum*. 39(9):1-19. doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2462-1>
- Hasnu, S. dan B. Tanti. 2022. Multiple shoot induction and regeneration of *Vanilla borneensis* rolfe-a critically endangered orchid of assam, india. *Plant Science Today*. 9(1):96-104. doi: <https://doi.org/10.14719/pst.1292>
- Inderiati, S., Ratnawati dan Since. 2019. *In vitro* propagation of vanilla (*Vanilla Planifolia* Andr.) on different concentration of cytokinins. *J. Ilmiah Terapan Budidaya dan Pengelolaan Tanaman Pertanian dan Perkebunan*. 8(1):14-17.
- Jadid N., T. Nurhidayati dan Priyono. 2015. *In vitro* clonal propagation of *Vanilla planifolia* Andrews using microshoot-derived node explants. *J. of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5(6):105-110.
- Jing, H., dan L. C. Strader. 2019. Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development. *International J. of Molecular Sciences*. 20(3):5-12. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20030486>
- Juras, M. C. R., J. Jorge, R. Pescador, W. D. M. Ferreira, V. Tamaki dan R. M. Suzuki. 2019. *In vitro* culture and acclimatization of *Cattleya xanthina* (Orchidaceae), an endangered orchid of the

- Brazilian Atlantic Rainforest. Rodriguésia, 70:2-11. doi: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201970014>
- Kartiman, R., D. Sukma, S. I. Aisyah dan A. Purwito. 2018. Multiplikasi in vitro anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) pada perlakuan kombinasi naa dan bap. J. Bioteknologi dan Biosains Indonesia. 30(5):75-87. doi: <https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i1.2908>
- Mangena, P. 2020. Benzyl adenine in plant tissue culture-succinct analysis of the overall influence in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] seed and shoot culture establishment. J Biotech Res, 11:23-24.
- Mariani, T. S., M. Febrina dan A. Wicaksono. 2014. Study on multiplication and germination of protocorm-like bodies (plb) in *Phalaenopsis* sp. Asian J. of Applied Sciences. 2(3):318-322.
- Mirani, A. A., A. A. Abul-Soad dan G. S. Markhand. 2017. In vitro rooting of *Dendrobium nobile* orchid: multiple responses to auxin combinations. Notulae Scientia Biologicae. 9(1):84-88. doi: <https://doi.org/10.15835/nsb919894>
- Muller, D. T., K. Waldie, J. P. Miyawaki, C. W. To, J. J. Melnyk, T. Kieber, Kakimoto dan O. Leyser. Cytokinin is required for escape but not release from auxin mediated apical dominance. The Plant J. 2(82):874–886. doi: <https://doi.org/10.1111/tpj.12862>
- Nuraini, A., E. Aprilia, M. Murgayanti dan A. P. Wulandari. 2022. Pengaruh konsentrasi *Benzylaminopurine* terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar rami klon lokal wonosobo secara in vitro. J. Kultivasi, 21(2):166-172. doi: <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v21i2.36540>
- Oliveira, S. O. D., R. M. Sayd, T. A. Balzon dan J. E. Scherwinski-Pereira. 2013. A new procedure for *in vitro* propagation of vanilla (*Vanilla planifolia*) using a double-phase culture system. Scientia Horticulturae. 161:204-209. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.039>
- Prabaninggar, R. A., E. R. Sasmita dan E. Wahyurini. 2021. *In vitro* micro-cutting of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews.) in different naa and bap. J. Techno. 7(1):27-36.
- Qomariah, U. K. N. dan E. Semiarti. 2019. Propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb. f. dengan benziladenin secara in vitro. Agrosaintifika. 1(1):14-21.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., L. G. Iglesias-Andreu, E. Favián-Vega, J. A. Teixeira da Silva, O. R. Leyva-Ovalle dan J. Murguía-González. 2019. Morphogenetic stability of variegated *Vanilla planifolia* Jacks. plants micropropagated in a temporary immersion system (TIB®). Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali. 30(3):603-609. doi: <https://doi.org/10.1007/s12210-019-00813-9>
- Schaller, G. E., A. Bishopp dan J. J. Kieber. 2015. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. The Plant Cell. 27(1):44-63. doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.114.133595>
- Sharma, R. U. B. Y. Dan B. Sunil. 2017. Influence of explants type and plant growth regulators on *in vitro* multiple shoot regeneration of *Vanilla planifolia*. International J. of Agricultural Science and Research. 7(2):189-196.
- Solano, M. C. P., J. S. Ruíz, M. T. G. Arnao, O. C. Castro, M. E. G. Tovar dan J. J. B. Bello. 2019. Evaluation of *in vitro* shoot multiplication and ISSR marker based assessment of somaclonal variants at different subcultures of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks). Physiology and Molecular Biology of Plants. 25(2):561-567. doi: <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00645-9>
- Tan, B. C., C. F. Chin dan P. Alderson. 2011. An improved plant regeneration of *Vanilla planifolia* Andrews. Plant Tissue Culture and Biotechnology. 21(1):27-33. doi: <https://doi.org/10.3329/ptcb.v21i1.9560>
- Zuraida, A. R., K. H. F. L. Izzati, O. A. Nazreena, W. S. W. Zaliha, C. M. Z. C. Radziah, Z. Zamri dan S. Sreeramanan. 2013. A simple and efficient protocol for the mass propagation of *Vanilla planifolia*. American J. of Plant Sciences. 4 (9):1685-1692. doi: <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.49205>