

**AGROSAINSTEK****Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian**Website jurnal : <http://agrosainstek.ubb.ac.id>**Research Article****Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Vanili  
(*Vanilla planifolia* Andrews)*****The Effect of 2,4-D and BAP On The Multiplication of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews)*****Didik Pudji Restanto<sup>1,2\*</sup>, Nisma Riyadh Nadiya<sup>1</sup>, Parawita Dewanti<sup>1</sup>,  
Mohammad Nur Khozin<sup>1</sup>, Mohammad Candra Prayoga<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Jl. Kalimantan no 37, Jember, 68121<sup>2</sup>Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.  
Jl. Kalimantan no 37, Jember, 681221.

Received: February 20, 2025/ Received in Revised: October 31, 2025/ Accepted: November 07, 2025

**ABSTRACT**

*Vanilla is a plant that has many benefits, high selling value and potential to be developed. Conventional propagation of vanilla such as through cuttings has not been effective, so a more effective method of propagation is needed, one of which is propagation through tissue culture. In-vitro propagation of vanilla can be through shoot multiplication to produce fast plantlets. One of the successes of shoot multiplication is influenced by the hormone given. This study aims to determine the effect of giving a combination of 2,4-D and BAP on the multiplication of vanilla shoots. The study design used CRD with a combination factor of 2,4-D (concentration 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, and 1.5 mg/L) and BAP (concentration 0.25 mg/L, 0.5 mg/L, and 0.75 mg/L). The explants used were vanilla stem segments. Based on the research results, the combined treatment with concentrations of 2,4-D 1 mg/L and BAP 0.5 mg/L had a very significant effect on the multiplication of vanilla shoots with the fastest emergence of shoots with an average of 6.6 wpt, the highest number of shoots was 7 shoots, and the survival percentage was 100%.*

**Keywords:** *Hormone; In-vitro; Multiplication; Vanilla.***ABSTRAK**

*Vanili adalah tanaman yang memiliki banyak manfaat, nilai jual yang tinggi dan potensi untuk dikembangkan. Perbanyakan vanili secara konvensional seperti melalui stek belum efektif, sehingga perlu metode perbanyakan yang lebih efektif salah satunya perbanyakan melalui kultur jaringan. Perbanyakan vanili secara in-vitro dapat melalui multiplikasi tunas untuk menghasilkan planlet yang cepat. Keberhasilan multiplikasi tunas salah satunya dipengaruhi oleh hormon yang diberikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP pada multiplikasi tunas vanili. Rancangan penelitian menggunakan RAL dengan faktor kombinasi 2,4-D (konsentrasi 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, dan 1,5 mg/L) dan BAP (konsentrasi 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,75 mg/L). Eksplan yang digunakan yaitu ruas batang vanili. Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan kombinasi konsentrasi 2,4-D 1 mg/L dan BAP 0,5 mg/L berpengaruh sangat nyata terhadap multiplikasi tunas vanili dengan kedinian munculnya tunas tercepat dengan rata-rata selama 6,6 mst, jumlah tunas terbanyak 7 tunas, dan persentase hidup sebesar 100%.*

**Kata kunci:** *Hormon; In-vitro; Multiplikasi; Vanilli.*

\*Korespondensi Penulis.

E-mail: [restanto.lemlit@unej.ac.id](mailto:restanto.lemlit@unej.ac.id) (DP Restanto)DOI: <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v9i2.912>

## 1. Pendahuluan

Tanaman vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) adalah tanaman perkebunan yang menghasilkan buah dengan nilai ekonomi tinggi. Buah vanili banyak dimanfaatkan di bidang industri makanan dan minuman (Priefert *et al.*, 2001). Vanili sebagai sumber pendapatan petani dan merupakan komoditas ekspor untuk meningkatkan devisa negara (Nurholis, 2017). Petani vanili memberikan dampak positif terhadap nilai ekspor vanili di Indonesia (Prasaja *et al.*, 2024). Perdagangan vanili Indonesia pada periode 2010-2019 menunjukkan daya saing yang baik dengan nilai rata-rata ISP 0,79 dan nilai rata-rata RCA 5,71 (Dwitama, 2022). Vanili berpotensi untuk dikembangkan dan cocok ditanam pada daerah tropis seperti Indonesia (Rosman, 2015). Permasalahan yang dihadapi pada perbanyakan vanili yaitu viabilitas dan daya kecambah yang rendah (Soch *et al.*, 2023). Kebutuhan vanili yang tinggi perlu diimbangi dengan produksi yang tinggi. Nilai ekspor vanili dari Madagaskar ke Indonesia pada tahun 2022 mencapai 54,7 miliar (Prasaja *et al.*, 2024). Ketersediaan bibit vanili yang sehat menjadi salah satu syarat keberhasilan budidaya vanili (Safitri and Prihastanti, 2023). Ketersediaan bibit vanili merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan produksi vanili. Vanili diperbanyak secara vegetatif menggunakan metode konvensional dengan stek batang (Nurholis, 2017). Menurut Raesita *et al.*, (2023), perbanyakan vanili melalui stek batang potensinya masih rendah, waktu yang cukup lama dan membutuhkan bahan tanam yang banyak. Perbanyakan vanili secara konvensional hanya memiliki laju multiplikasi yang rendah, membutuhkan waktu yang relatif lama dan kurang efektif (Abebe *et al.*, 2009). Pengembangan vanili yang efisien dapat melalui perbanyakan tunas vanili secara *in-vitro*. Mikropropagasi secara *in-vitro* dapat menggunakan eksplan nodal untuk memperbanyak tanaman induk melalui *direct organogenesis* (Anis and Ahmad, 2016).

Perbanyakan vanili melalui *in-vitro* sebagai upaya produksi bibit secara masal atau percepatan penggandaan klon melalui multiplikasi tunas untuk menghasilkan planlet bebas penyakit (Gantait and Kundu, 2017). Multiplikasi tunas adalah metode dalam mikropropagasi untuk menghasilkan tunas yang banyak. Penambahan hormon di dalam media kultur jaringan dapat menginduksi multiplikasi tunas. Jenis dan konsentrasi hormon yang digunakan dapat mempengaruhi arah pertumbuhan atau perkembangan eksplan (Karjadi and Buchory, 2008). Menurut Erawati *et al.* (2020), kombinasi hormon sitokinin dan auksin yang tepat berpengaruh terhadap tinggi tunas tanaman vanili.

Auksin yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan merangsang pembelahan dan pembesaran sel (Timburas *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian Abebe *et al.* (2009), kombinasi hormon sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan auksin (BA 2 mg/L dan NAA 1 mg/L) menunjukkan mampu menghasilkan tunas vanili 5,7 pucuk per eksplan setelah 90 hari setelah tanam. Tingkat multiplikasi tunas yang tertinggi dicapai dengan subkultur berulang pada media MS yang ditambah dengan 2,0 mg/l BA selama 40 hari setelah tanam (Anis and Ahmad, 2016). Penelitian ini mengamati respon penambahan hormon terhadap multiplikasi tunas dengan pendekatan histologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon eksplan terhadap pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan BAP pada multiplikasi vanili.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ekofisiologi dan Kultur Jaringan Tanaman Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember pada bulan Januari sampai dengan Desember 2022. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain eksplan vanili, media MS (Murashige and Skoog), hormon 2,4-D, hormon BAP, sukrosa, dan bahan pendukung lainnya. Peralatan yang digunakan antara lain LAF, autoclaf, mikroskop objektif stereo Leica, dan peralatan kultur lainnya.

### Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap. Perlakuan yang digunakan terdiri dari kombinasi hormon P1=2,4-D 0,5 mg/L + BAP 0,25 mg/L, P2=2,4-D 0,5 mg/L + BAP 0,5 mg/L, P3=2,4-D 0,5 mg/L + BAP 0,75 mg/L, P4=2,4-D 1,0 mg/L + BAP 0,25 mg/L, P5=2,4-D 1,0 mg/L + BAP 0,5 mg/L, P6=2,4-D 1,0 mg/L + BAP 0,75 mg/L, P7=2,4-D 1,5 mg/L + BAP 0,25 mg/L, P8=2,4-D 1,5 mg/L + BAP 0,5 mg/L, P9=2,4-D 1,5 mg/L + BAP 0,75 mg/L. Media kultur yang digunakan yaitu media MS (Murashige and Skoog) dengan penambahan sukrosa 8 g dan hormon sesuai perlakuan.

### Pelaksanaan Penelitian

Eksplan atau bahan tanam yang digunakan pada bagian ruas batang tanaman vanilli. Eksplan nodus berpotensi untuk diregenerasikan membentuk multiplikasi tunas (Pathak and Joshi, 2021). Sterilisasi eksplan dengan mencuci eksplan menggunakan sunlight serta dibilas dengan air mengalir. Eksplan ruas batang yang sudah bersih

kemudian disterilisasi kembali di dalam LAF dengan digojok menggunakan bahan sterilisasi NaOCl 1% selama 5 menit. Sterilisasi dilanjutkan dengan membilas menggunakan etanol 70% (Solano *et al.*, 2019). Kemudian dibilas menggunakan aquadest steril 3 kali. Eksplan dipotong pada bagian ruas batang kemudian ditanam pada media perlakuan untuk multiplikasi membentuk tunas-tunas baru. Eksplan diinkubasi dalam kondisi terang menggunakan penyinaran lampu LED selama 8 jam/hari dan suhu ruang inkubasi 28-30°C.

#### *Variabel Pengamatan*

Variabel pengamatan multiplikasi tunas vanili meliputi kedinian munculnya tunas dengan cara menentukan perhitungan waktu awal munculnya organ tunas pada eksplan yang ditunjukkan dengan kemunculan nodul atau bakal tunas. Pengamatan kedinian munculnya tunas diamati pada minggu pertama hingga minggu munculnya tunas atau paling lambat ke-minggu terakhir pengamatan (minggu ke-12). Pengamatan variabel jumlah tunas di amati dengan menghitung jumlah tunas yang telah terbentuk pada minggu ke-12 atau minggu terakhir. Persentase hidup ditentukan dengan menghitung tunas yang dapat bertahan hidup sampai pengamatan terakhir. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-12 atau minggu terakhir pengamatan. Presentase hidup dihitung dengan cara menghitung jumlah tunas yang bertahan hidup dibagi dengan jumlah keseluruhan eksplan dikalikan 100% untuk memperoleh hasil persentase tumbuhnya tunas. Histologi multiplikasi dengan memilih salah satu sampel terbaik untuk digunakan sebagai pembuatan preparat histologi.

#### *Histologi*

Pengamatan histologi dilakukan pada fase multiplikasi tunas untuk mengetahui struktur sel. Pengamatan histologi dengan membuat preparat dengan tahapan meliputi persiapan sampel. Fixation atau pengawetan sampel menggunakan formaldehide. Fixation dilakukan selama 12-24 jam pada suhu 25-30°C. Kemudian sampel dilakukan dehidrasi menggunakan aseton dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, dan 90%). Setiap konsentrasi dilakukan selama 1 hari. Selanjutnya clearing dengan menggunakan xylol. Pembeningan sampel dilakukan dengan merendam pada xylol selama 15 menit sebanyak 2 kali. Selanjutnya pembedaan sampel yang dikenal dengan istilah impregnation atau embedding dengan memasukkan sampel kedalam parafin cair. Selanjutnya dilakukan blocking menggunakan parafin. Sectioning sampel menggunakan microtom

blade. Sempel yang terpotong di seleksi kemudian sampel dipilih di warnai menggunakan heamatoxylin-eosin (HE). Kemudian perekatan sampel pada kaca slides dan labeling. Selanjutnya dilakukan pengamatan menggunakan microscop binokuler pada pembesaran 100x.

#### *Analisis Data*

Analisis data yang didapatkan dilakukan menggunakan analisis varian (ANOVA), apabila antar perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf kepercayaan 95%. Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi SPSS *statistics* versi 26.

### **3. Hasil**

#### *Pembentukan Kalus Organogenik*

Eksplan nodus atau ruas batang yang diinokulasi pada media MS dengan penambahan kombinasi hormon 2,4-D dan BAP mampu membentuk kalus. Terbentuknya kalus merupakan respon jaringan eksplan terhadap hormon pada media. Kalus yang terbentuk merupakan kalus organogenik yang berkembang dan berregenerasi secara indirect orgaonesesis. Fase-fase yang teramati antara lain fase kalus organogenik, fase koliopitil, dan fase tunas awal.

Kalus yang terbentuk memiliki tekstur kompak berwarna kuning muda dan sedikit keputihan (Gambar 1A). Kalus yang terbentuk tumbuh lambat, tetapi kalus menuju pendewasaan sel. Kemudian kalus terus mengalami pendewasaan sel dengan ukuran yang lebih besar dan warna lebih gelap (Gambar 1B). Kalus organogenik kemudian mulai memunculkan koliopitil sebagai bakal tunas (Gambar 1C). Kemudian diikuti pertumbuhan tunas dan mengalami elongasi atau pemanjangan tunas (Gambar 1D). Tunas yang terbentuk akan mengalami poliferasi sehingga memunculkan tunas yang lebih banyak (Gambar 1E). Tunas yang terbentuk mulai berkembang menjadi bipolar atau memiliki dua arah pertumbuhan yaitu pertumbuhan tunas dan pertumbuhan akar (Gambar 1F). Kalus organogenik yang terbentuk pada media perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP mengalami perkembangan dan memunculkan beberapa tunas-tunas atau mengalami multiplikasi tunas.

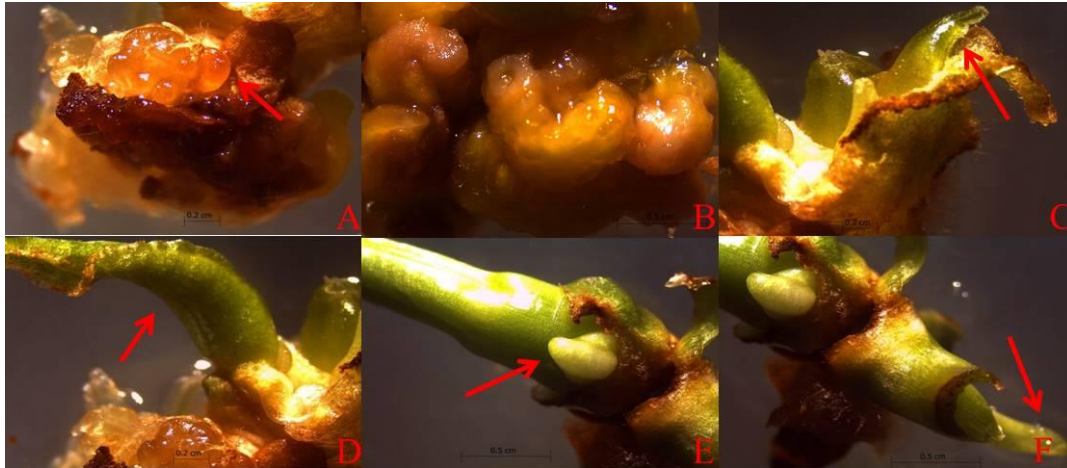
#### *Kedinian Munculnya Tunas*

Kedinian munculnya tunas setiap perlakuan kombinasi hormon menunjukkan respon yang berbeda-beda. Semakin cepat pembentukan tunas maka respon eksplan terhadap hormon yang

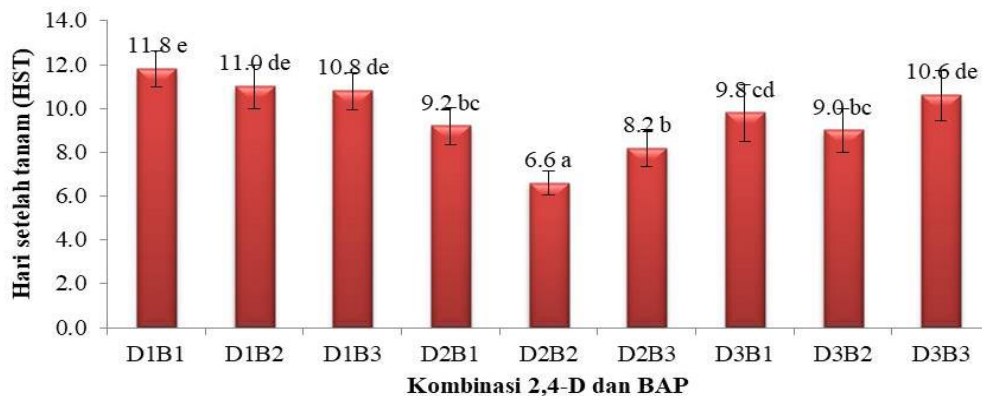
diberikan semakin baik. Penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang tepat akan memunculkan organ tunas yang lebih cepat.

Berdasarkan grafik (Gambar 2), kedinian munculnya tunas terbaik diperoleh dari perlakuan D2B2 kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D 1 mg/L dan BAP 0,5 mg/L yaitu rata-rata selama 6,6 minggu setelah tanam (mst). Hasil tersebut berbeda nyata dengan semua perlakuan kombinasi hormon

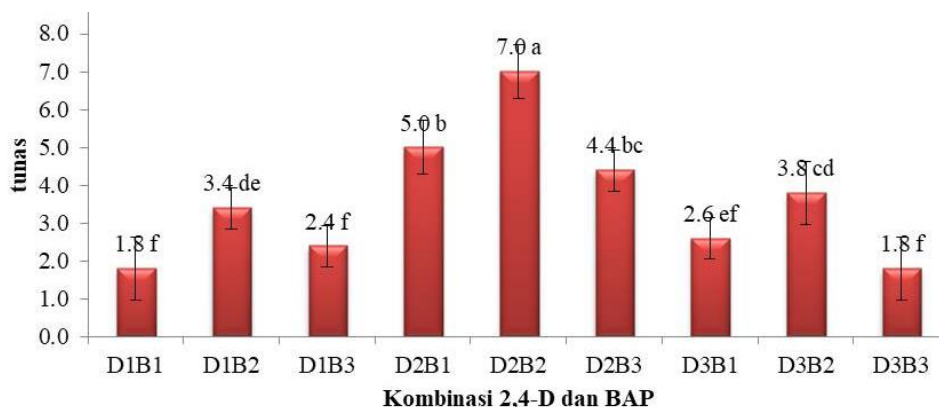
lainnya. Perlakuan D1B1 kombinasi konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L dan BAP 0,25 mg/L menunjukkan waktu munculnya tunas terlama dengan rata-rata selama 11,8 mst. Perlakuan D2B1, D2B2, dan D2B3 merupakan kombinasi hormon BAP 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,75 mg/L dengan hormon 2,4-D 1 mg/L menghasilkan kedinian munculnya tunas relatif lebih cepat yaitu 9,2 mst, 6,6 mst, dan 8,2 mst.



Gambar 1. Direct Organogenesis pada multiplikasi vanili (A) pertumbuhan awal kalus organogenik. (B) kalus organogenik (C) awal munculnya koliptil (D) pertumbuhan tunas (E) tunas baru (F) elongasi tunas dan pertumbuhan akar.



Gambar 2. Grafik rata-rata kedinian munculnya tunas pada multiplikasi vanili.



Gambar 3. Grafik rata-rata jumlah tunas pada multiplikasi vanili.

### Jumlah Tunas

Respon kalus organogenik membentuk tunas setiap perlakuan kombinasi hormon menunjukkan respon yang berbeda-beda. Semakin banyak tunas yang terbentuk menunjukkan bahwa respon pembentukan tunas semakin baik. Kombinasi hormon BAP dan 2,4-D yang tepat menghasilkan jumlah tunas yang banyak terhadap multiplikasi, rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dapat dilihat pada grafik Gambar 3.

Berdasarkan grafik (Gambar 3), jumlah tunas terbanyak diperoleh dari perlakuan D2B2 kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D 1 mg/L dan BAP 0,5 mg/L yaitu rata-rata 7 tunas. Hasil tersebut berbeda nyata dengan semua perlakuan kombinasi hormon lainnya. Jumlah tunas paling sedikit diperoleh dari perlakuan D1B1 (2,4-D 0,5 mg/L dan BAP 0,25 mg/L) dan D3B3 (2,4-D 1,5 mg/L dan BAP 0,75 mg/L) dengan rata-rata jumlah tunas 1,8 tunas. Perlakuan D2B1, D2B2, dan D2B3 yang merupakan kombinasi hormon BAP 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,75 mg/L dengan hormon 2,4-D 1 mg/L diperoleh rata-rata jumlah tunas relatif lebih banyak berturut-turut 5,0 tunas, 7,0 tunas, dan 4,4 tunas.

### Pertumbuhan Tunas

Tunas yang dihasilkan dari multiplikasi masih tergolong sedikit pada pengamatan minggu ke-12. Selain jumlah tunas yang sedikit, pertumbuhan tunas memanjang yang lambat serta belum memunculkan organ daun dan akar pada tunas sampai pada umur 12 mst (Gambar 4). Pemanjangan tunas diperlukan sub kultur pada media baru dengan penambahan hormon yang dapat memicu pertumbuhan tunas yang lebih optimal. Sub kultur dapat memicu pertumbuhan tunas, munculnya daun dan akar.



Gambar 4. Pembentukan tunas pada perlakuan D2B2 (BAP 0,5 mg/L dan 2,4-D 1 mg/L).



Gambar 5. Pembentukan organ daun dan akar setelah subkultur, (A) organ daun pada 2 MST, (B) organ akar pada 6 MST, (C) pertumbuhan planlet pada 14 MST, (D) organ akar pada 14 MST.

Tunas-tunas yang terbentuk dilakukan subkultur pada media MS dengan penambahan hormon sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan hormon auksin yaitu BAP 1 mg/L dan 2,4-D 0,5 mg/L (Gambar 5A). Organ daun dan akar mulai terbentuk pada umur 2 minggu setelah subkultur (Gambar 5B). Tunas terus tumbuh lambat dan semakin bertambah tinggi (Gambar 5C) dan pertumbuhan sistem perakaran semakin bertambah panjang (Gambar 5D).

### Histologi

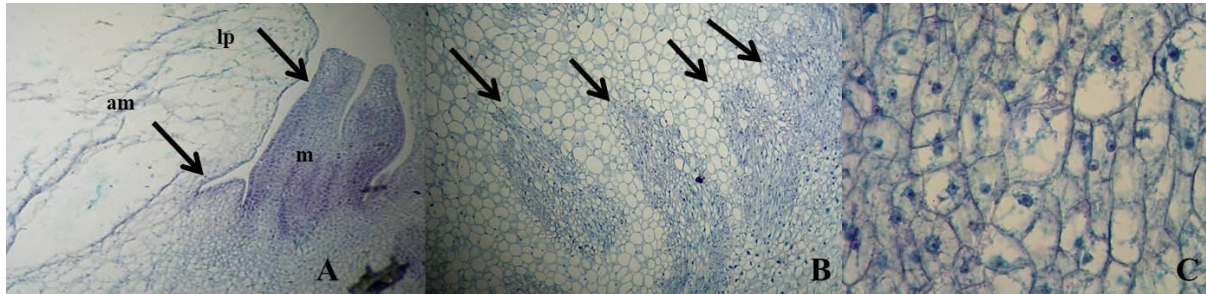
Pengamatan histologi dilakukan pada bagian tunas dan pangkal multiplikasi vanili. Berdasarkan pengamatan histologi dapat diketahui bahwa bakal tunas telah memunculkan primordia daun seperti yang terlihat pada hasil histologi panah lp *leaf primordia* (Gambar 6A). Terdapat aksilar meristem pada tunas yang terbentuk (Gambar 6A). Ujung tunas merupakan jaringan meristem yang aktif membelah. Jaringan meristem dicirikan dengan sel yang berukuran lebih kecil dan aktif terus membelah (Gambar 6C). Sel-sel yang aktif membelah juga ditemui pada pangkal yang mengalami multiplikasi. Seperti yang terlihat pada panah-panah (Gambar 6B) yang merupakan spot-spot sel-sel aktif membelah. Bagian sel-sel yang aktif membelah sebagai pusat pertumbuhan calon tunas-tunas multiplikasi.

Aktivitas sel meristem pada tunas menyebabkan terbentuknya aksilar meristem seperti pada panah am (Gambar 6A). Meristem memiliki sel yang bersifat aktif membelah yang terdapat pada bagian ujung tunas apikal dan tunas



aksilar. Bagian ujung tunas terdapat jaringan meristem yang terus aktif membelah seperti pada panah m (Gambar 6A). Berdasarkan (Gambar 6C) menunjukkan adanya susunan sel yang lebih rapat dengan ukuran relatif lebih kecil, jaringan ini memiliki sel-sel yang terus mengalami pembelahan. Pembelahan sel terus menerus dapat membentuk

perkembangan sel baru. Aktivitas sel meristem yang aktif membelah terdapat pada pangkal tunas yang mengalami multiplikasi ditunjukkan pada (Gambar 6B). Bagian-bagian sel yang aktif mengalami proses pembelahan nantinya membentuk pusat pertumbuhan calon bakal tunas multiplikasi.



Gambar 6. Histologi multiplikasi vanili. (A) histologi tunas pada pembesaran 100x, lp= *leaf primordia*, am= *aksilar meristem*, m= *meristem*. (B) histologi pangkal multiplikasi pada pembesaran 100x. (C) histologi sel meristematik pada pembesaran 100x.

#### 4. Pembahasan

Regenerasi vanili secara *in vitro* pada media MS dengan kombinasi hormon BAP dan 2,4-D teramati terjadi melalui jalur *direct organogenesis* atau pembentukan organ melalui fase kalus organogenik. Menurut Kusbianto *et al.* (2022), pembentukan organ tunas dapat melalui fase pembentukan kalus organogenik. Pada media kultur dan hormon yang tepat kalus organogenik dapat berregenerasi membentuk organ tunas maupun akar (Palama *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Srilestari (2022), penggunaan media MS pada perbanyakan vanili menunjukkan hasil terbaik dibandingkan dengan media B5 dan VW. Nutrisi yang terdapat pada media MS belum mencukupi untuk menginduksi multiplikasi tunas, sehingga diperlukan hormon tambahan. Media MS yang ditambahkan dengan hormon sitokinin dapat memicu munculnya tunas yang banyak (Dwiyani, 2015).

Berdasarkan penelitian ini, eksplan nodus pada media MS dengan kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D 1 mg/L dan BAP 0,5 mg/L membentuk kalus organogenik kemudian menghasilkan jumlah tunas terbanyak rata-rata 7 tunas dan kediniannya munculnya tunas tercepat yaitu 6,6 mst. Berdasarkan penelitian Palama *et al.* (2010), kalus organogenik sub kultur ke media MS dengan penambahan NAA 0,5 mg/L berdiferensiasi membentuk tunas lebih cepat yaitu 15-20 hst. Berdasarkan penelitian Sarita *et al.* (2022), penambahan kinetin 3 mg/L mampu menginduksi tunas vanili tercepat yaitu 13 hari setelah tanam. Konsentrasi BAP dan NAA yang lebih tinggi yaitu 13,32  $\mu$ M BAP dan 13,43  $\mu$ M NAA menunjukkan

respons pertumbuhan kalus menghasilkan jumlah tunas lebih banyak yaitu 14,0 tunas (Janarthanam and Seshadri, 2008).

Hormon sitokinin BAP dapat mempercepat eksplan ruas batang memunculkan tunas, tetapi keberhasilan multiplikasi dipengaruhi pula oleh kemampuan setiap jenis tanaman dan eksplan yang digunakan. Kemampuan vanili beregenerasi dan berdiferensiasi untuk multiplikasi membentuk tunas masih terbatas (Erawati *et al.*, 2021). Menurut Kumar (2014) mengatakan bahwa vanili dapat memiliki kemampuan pembentukan tunas sebesar 95% tunas yang dipengaruhi oleh konsentrasi kinetin dan BAP dengan perbandingan 1:2. Kombinasi BAP 1 mg/L, Kinetin 2 mg/L dan NAA 1 mg/L mampu menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu 5,7 tunas (Kumar, 2014). Berdasarkan penelitian lainnya, penambahan meta topolin dan BAP pada media MS dapat menghasilkan jumlah tunas 5 tunas per eksplan, tunas diperbanyak pada media MS cair yang mengandung meta topolin 0,5 mg/L dan NAA 0,25 mg/L menghasilkan tunas maksimal 62 tunas per eksplan (Manokari *et al.*, 2021).

Beberapa upaya yang telah dilakukan penelitian sebelumnya menunjukkan keberhasilan multiplikasi yang lebih baik. Berdasarkan penelitian Spinoso *et al.* (2017), aplikasi AgNPs 50 mg/L menunjukkan keberhasilan yang signifikan dalam perbanyakan dan pemanjangan tunas vanili mencapai 14,8 tunas dengan panjang tunas 4,7 cm. Berdasarkan penelitian Tan *et al.* (2013), multiplikasi pucuk vanili optimal dapat dipicu dengan penambahan hormon BAP 1 mg/L pada media MS yang ditambahkan SNP (*sodium nitroprusside*) menghasilkan peningkatan

terbentuknya tunas. Oksida nitrat dapat merangsang perkembangan pucuk dan dapat memicu regenerasi tunas adventif (Tan *et al.*, 2013). Metode perendaman menggunakan bioreaktor yang efisien untuk regenerasi tanaman vanilli secara *in-vitro* terus dikembangkan. Metode perendaman menggunakan bioreaktor menghasilkan nilai poliferasi dan perkembangan tunas tertinggi yaitu 11,4 tunas, bobot berat segar dan kering tertinggi (Ramirez-Mosqueda and Bello-Bello, 2021).

Keberhasilan multiplikasi ditandai dengan pertumbuhan tunas baru secara langsung dari setiap eksplan (Hernandez *et al.*, 2020). Pemberian hormon pada media sangat berpengaruh terhadap keberhasilan multiplikasi. Pada penelitian ini pembentukan tunas berhasil dilakukan, namun pembentukan daun dan akar diperlukan sub kultur pada media baru. Nisbah hormon auksin dan sitokinin dapat meningkatkan proses fisiologis dalam memacu awal pertumbuhan tunas (Dwiyani, 2015). Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dapat menginduksi akar yang lebih cepat, sedangkan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dapat menginduksi tunas yang lebih cepat. Berdasarkan penelitian sebelumnya kombinasi dua jenis hormon sitokinin sekaligus yaitu BAP 0,5 mg/L dan kinetin 2 mg/L mampu menghasilkan organ tunas sebanyak 6 pucuk/eksplan selama 56 hari (Erawati *et al.*, 2021). Penambahan hormon sitokinin secara eksogen penting karena hormon sitokinin secara endogen pada vanilli belum cukup untuk menginduksi diferensiasi tunas (Palama *et al.*, 2010). Menurut Erawati *et al.* (2020), hormon BAP dapat menjadi faktor keberhasilan multiplikasi organ tunas vanilli dengan rata-rata jumlah tunas 6,8 tunas/eksplan diperoleh dari media dengan konsentrai hormon BAP yang sesuai dengan media yang tepat. Hal tersebut membuktikan bahwa BAP sangat memiliki peran penting dalam proses fisiologis pertumbuhan tunas. Kombinasi hormon yang diberikan dapat berpengaruh terhadap arah pertumbuhan atau morfogenesis pada kultur Jaringan (Dwiyani, 2015). Penambahan BAP dan 2,4-D yang dikombinasikan pada multiplikasi vanilli hanya menghasilkan tunas-tunas dan belum membentuk organ daun dan akar atau membentuk planlet tanaman utuh. Organ daun dan akar dapat muncul setelah dilakukan sub kultur pada media baru dengan penambahan hormon sitokinin untuk pertumbuhan tunas dan hormon auksin untuk induksi akar. Keberhasilan pembentukan organ akar dipengaruhi oleh hormon auksin. Berdasarkan penelitian Erawati *et al.* (2020), pemberian hormon NAA secara tunggal 0,5 mg/L dapat menginduksi organ akar dengan rata-rata jumlah akar terbanyak yaitu 3 akar/eksplan. Penambahan 1 mg/L BAP

+15% air kelapa menunjukkan hasil terbaik pada multiplikasi nilam dengan waktu respon tercepat 8.7 hari, rata-rata panjang tunas 2.84 cm/eksplan dan rata-rata panjang akar 0.75 cm/eksplan (Kusbianto *et al.*, 2024).

Berdasarkan pengamatan histologi, kalus yang terbentuk terdapat spot-spot sel meristematik yang terus membelah. Sel-sel yang terus membelah berpotensi menjadi bakal tunas baru atau multiplikasi tunas. Hal ini menandakan keberhasilan dalam menginduksi tunas yang banyak. Sel meristem memiliki sel yang aktif membelah pada bagian ujung tunas apikal dan tunas aksilar, sehingga jaringan meristem juga ikut berperan terhadap pemanjangan tunas dan pemanjangan akar (Chika *et al.*, 2021). Sel-sel kalus penting di pelajari lebih lanjut untuk memperbanyak kalus melalui suspensi sel dalam rangka perbanyakan masal dan kemampuan suspensi sel kalus vanilli untuk beregenerasi membentuk planlet beserta media kultur yang optimal.

## 5. Kesimpulan

Kombinasi 2,4-D dan BAP mampu menghasilkan multiplikasi tunas pada *in vitro* tanaman vanilli. Perlakuan kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D 1 mg/L dan BAP 0,5 mg/L berpengaruh sangat nyata terhadap kedinian munculnya tunas tercepat dengan rata-rata selama 6,6 minggu setelah tanam, jumlah tunas terbanyak yaitu 7 tunas, dan persentase hidup sebesar 100%.

## 6. Ucapan Terima Kasih

Terimakasih Kepada Laboratorium Ekofisiologi dan Kultur Jaringan Tanaman Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah mendukung penelitian ini.

## 7. Pernyataan Konflik Kepentingan (*Declaration of Conflicting Interests*)

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi dari artikel ini (*The authors have declared no potential conflicts of interest concerning the study, authorship, and/or publication of this article*).

## 8. Daftar Pustaka

Anis M, Ahmad N. 2016. *Plant tissue culture: Propagation, conservation and crop improvement, Plant Tissue Culture: Propagation, Conservation and Crop Improvement*. Springer. doi: 10.1007/978-981-10-1917-3.

- Abebe Z, Mengesha A, Teressa A, Tefera E. 2009. Efficient in vitro multiplication protocol for *Vanilla planifolia* using nodal explants in Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*. 8(24), pp. 6817–6821.
- Chika S, Kurniawati F, Rahmani TPD. 2021. Kajian Budidaya Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp. dengan Teknik Kultur Meristem serta Pengaruh Penambahan Berbagai Ekstrak terhadap Pertumbuhannya. *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*, (November), pp. 434–441. Available at: <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>.
- Dwitama AG, Darsono, Fajarningsih RU. 2022. Analisis Kinerja Perdagangan Dan Daya Saing Komoditas Vanili Indonesia Di Pasar Internasional Periode 2010-2019. *Agriasta*, 10(2), 43–58.
- Dwiyan R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Cetakan Pertama. Denpasar Barat: Pelawa Sari.
- Erawati DN, Wardati I, Humaida S, Mawadah Y, Ikanafi'ah A, Ryana WM. 2021. Shoots multiplication of vanilla (*Vanilla planifolia*) with benzyl amino purine and kinetin modification. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 672(1), pp. 0–6. doi: 10.1088/1755-1315/672/1/012007.
- Erawati DN, 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), pp. 146–153. doi: 10.25047/agriprima.v4i2.362.
- Gantait S, Kundu S. 2017. In vitro biotechnological approaches on *Vanilla planifolia* Andrews: advancements and opportunities. *Acta Physiologiae Plantarum*. 39(9), pp. 1–19. doi: 10.1007/s11738-017-2462-1.
- Hernandez F, Dolce NR, Flores O, Rascon MP. 2020. Advances in cryopreservation of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks.) shoot-tips: assessment of new biotechnological and cryogenic factors. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 56(2), pp. 236–246. doi: 10.1007/s11627-020-10069-w.
- Janarthanam B, Seshadri S. 2008. Plantlet regeneration from leaf derived callus of *Vanilla planifolia* Andr. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 44(2), pp. 84–89. doi: 10.1007/s11627-008-9123-4.
- Karjadi A, Buchory A. 2008. Sifat Inovasi Dan Aplikasi Teknologi Pengelolaan Terpadu Kebun Jeruk Sehat Dalam Pengembangan Agribisnis Jeruk Di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. *Jurnal Hortikultura*. 18(4), pp. 380–384.
- Kumar NSS. 2014. Induction of vanillin related compounds from nodal explants of *Vanilla planifolia* using BAP and Kinetin. *Pelagia Research Library Asian Journal of Plant Science and Research*. 4(1), pp. 53–61. Available at: [www.pelagiaresearchlibrary.com](http://www.pelagiaresearchlibrary.com).
- Kusbianto DE, Kurniawan NC, Arum A, Restanto DP. 2022. Respon Bap Dan 2,4-D Terhadap Induksi Tunas Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 24(2), pp. 82–87. doi: 10.31186/jipi.24.2.82-87.
- Kusbianto DE, Haliza N, Restanto DP, Wulanjari D, Avivi S, Prayoga MC. 2024. The Effect of Benzyl Amino Purine (BAP) and Coconut Water on the Growth of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews.) In Vitro. *Jurnal Nature Indonesia*. 22(2): 76-83. <https://doi.org/10.31258/jnat/22.2.76-83>
- Manokari M, Priyadharshini S, Jogam P, Dey A. 2021. Meta-topolin and liquid medium mediated enhanced micropropagation via ex vitro rooting in *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 146(1), pp. 69–82. doi: 10.1007/s11240-021-02044-z.
- Nurholis. 2017. Perbanyak Tanaman Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) Secara Setek dan Upaya untuk Mendukung Keberhasilan Serta Pertumbuhannya. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 10(2), pp. 149–156. doi: 10.21107/agrovigor.v10i2.4242.
- Palama TL, Menard P, Fock I, Choi YH, Bourdon E, Govinden J, Bahut M, Payet B, Verpoorte R, Kodja H. 2010. Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae): proteomic and metabolic responses at early stage. *BMC Plant Biology*. 1–18. <https://bmcpplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-10-82>.
- Pathak AR, Joshi AG. 2021. Regeneration of hemidesmus indicus (L.) r. br. using in vitro nodes: An alternative method for efficient multiplication of shoots. *Notulae Scientia Biologicae*. 13(2), pp. 1–8. doi: 10.15835/nsb13210831.
- Prasaja D, Cahyono FK, Hanifa HAI, Nisa SK. 2024. Potensi Indonesia Menjadi Pengekspor Vanili Terbesar Di Dunia. *Journal of Science and Social Research*, 4307(1), 265–272. <http://jurnal.goretanpena.com/index.php/JSSR>
- Priefert H, Rabenhorst J, Steinbuchel A. 2001. Biotechnological production of vanillin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56(3–4), pp. 296–314. doi: 10.1007/s002530100687.
- Raesita D, Timburas, Arthur G, Pinaria, Edy FL. 2023. Pengaruh Beberapa Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Auksin Naa



- (Naphthalene Acetic Acid) Pada Pertumbuhan Akar Stek Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews). *Jurnal Agroekoteknologi Terapan Universitas Sam Ratulangi*. 4(1), pp. 67–73.
- Ramirez-Mosqueda MA, Bello-Bello JJ. 2021. SETIS™ bioreactor increases in vitro multiplication and shoot length in vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. Ex Andrews). *Acta Physiologiae Plantarum*. 43(4), pp. 1–8. doi: 10.1007/s11738-021-03227-z.
- Rosman R. 2015. Status dan strategi pengembangan panili di Indonesia. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Perspektif*. 4(2), pp. 43–54.
- Safitri R, Prihastanti E. 2023. Optimization of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) growth with auxin and *Trichoderma harzianum* combination treatment. *Journal of Applied Horticulture*, 25(3), 238–242. <https://doi.org/10.37855/jah.2023.v25i03.42>
- Soch J, Sonka J, Ponert J. 2023. Acid scarification as a potent treatment for an in vitro germination of mature endozoochorous *Vanilla planifolia* seeds. *Botanical Studies*. 64(1). doi: 10.1186/s40529-023-00374-z.
- Solano MCP, Ruiz JS, Arnao MTG, Castro OC, Tovar MEG, Bello JJB. 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), pp. 561–567. doi: 10.1007/s12298-019-00645-9.
- Spinoso J, Santoscoy AC, Bogdanchikova N, Sato JAP. 2017. Antimicrobial and hormetic effects of silver nanoparticles on in vitro regeneration of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 129(2), pp. 195–207. doi: 10.1007/s11240-017-1169-8.
- Tan BC, Chin CF, Alderson P. 2013. Effects of sodium nitroprusside on shoot multiplication and regeneration of *Vanilla planifolia* Andrews. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 49(5), pp. 626–630. doi: 10.1007/s11627-013-9526-8.
- Timburas RD, Pinaria AG, Lengkong EF. 2023. The Effect Of Several Concentrations Of Growth Regulatory Substance (ZPT) Auxin NAA (Naphthalene Acetic Acid) On The Root Growth Of Vanila (*Vanilla planifolia* Andrew) Cuttings. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 4(1), 67–73. <https://doi.org/10.35791/jat.v4i1.44100>.