

## KOMBINASI IAA DAN BAP PADA KULTUR BIJI ANGGUR (*Vitis vinifera*) DALAM MEDIA MURASHIGE & SKOOG (MS)

Nurul Huda Panggabean<sup>1\*)</sup>, Rizky Yuda Pratama<sup>1)</sup>, Alfian Ansyar<sup>1)</sup>, Erika Selviana<sup>1)</sup>,  
Dwi Ratna Anjaning Kusuma Marpaung<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Medan, Sumatera Utara, Indonesia

\*e-mail: nurulhudapanggabean@gmail.com

(Received 03 Mei 2024, Accepted 09 Juli 2024)

### Abstract

Vines are included in the Vitaceae family, plants that have quite high economic potential and public interest in them continues to increase. This research aims to produce quality grape seedlings with a relatively fast tissue culture technique and produce a large quantity of seedlings. The parameters observed in the *Vitis vinifera* plant tissue culture study with a combination of IAA and BAP treatment on MS media were growth time, growth percentage and contamination percentage. The data from the study were analyzed using Analysis Of Variance (ANNOVA) and continued with the Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) test at the level of 5% ( $P < 0.05$ ) on the treatment factors. II treatment showed the fastest germination ability with an average growth time of 9 a. The results of further tests showed that the treatment of administering IAA and BAP hormones into different media was significantly higher than that of the control. The comparison of growing and non-growing plants/cultures is seen from the results of a very high percentage of explant growth (100%), this study still takes a long time in the proliferation of calluses and shoots.

*Keywords: Vitis vinifera, Tissue Culture, IAA, BAP, murashige & skoog*

### Abstrak

Tanaman anggur termasuk dalam family Vitaceae, tanaman yang memiliki potensi ekonomi yang cukup tinggi serta minat masyarakat terhadapnya yang terus meningkat. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan bibit anggur berkualitas dengan teknik kultur jaringan yang relatif cepat dan menghasilkan kuanitas bibit yang besar. Parameter yang diamati pada penelitian kultur jaringan tumbuhan *Vitis vinifera* dengan kombinasi perlakuan IAA dan BAP pada media MS yaitu waktu tumbuh, persentase tumbuh dan persentase kontaminasi. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Analysis Of Variance (ANNOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5% ( $P < 0,05$ ) terhadap faktor perlakuan. Perlakuan II menunjukkan kemampuan berkecambah tercepat dengan rata-rata waktu tumbuh 9 a. Hasil uji lanjut menunjukkan perlakuan pemberian hormon IAA dan BAP ke dalam media berbeda nyata lebih tinggi dibanding kontrol. Perbandingan tanaman/kultur yang tumbuh dan tidak tumbuh dilihat dari hasil persentase pertumbuhan eksplan yang sangat tinggi (100%), penelitian ini masih membutuhkan waktu yang panjang dalam proliferasi kalus dan tunas.

*Kata Kunci: Vitis vinifera, Kultur Jaringan, IAA, BAP, murashige & skoog*

### PENDAHULUAN

Anggur termasuk dalam famili Vitaceae, tanaman ini berasal dari Asia barat dan Eropa. Tumbuhan ini berbentuk semak dengan batang berkayu berbentuk silindris, berwarna kecoklatan, dengan permukaan kasar dan arah tumbuh batang memanjat. Anggur merupakan buah non- klimakterik yang tumbuh pada tanaman merambat berkayu dan meranggas. Metode konvensional dalam memperoleh benih yaitu generatif (biji) dan vegetatif (cangkok atau stek). Anggur merupakan tanaman merambat yang melakukan penyerbukan silang dengan sederhana, daun berlobus, jarang majemuk dengan rangkaian bunga berwarna kehijauan, terdiri dari daging buah dan berbiji empat. Tanaman ini telah

dibudidayakan di Timur Tengah sejak 4000 SM. Proses pengolahan ini segera menyebar ke seluruh dunia dalam waktu singkat, mulai dari wilayah Laut Hitam, Spanyol, Jerman, Perancis, dan Austria. Tanaman anggur sangat kaya akan zat besi beberapa kultivarnya yaitu anggur merah, anggur hijau, dan anggur ungu selain itu buah ini mengandung mineral bermanfaat dalam menyusun sel-sel darah merah dan pengangkut energi. Setelah mengunyah banyak buah anggur atau minum jusnya, kombinasi zat besi dan gula alaminya membuat kita merasa lebih baik. Itu juga murah (Tajuddin et al., 2013).

Etiopia merupakan salah satu negara penghasil anggur dikarenakan iklim yang sangat menguntungkan, hal ini menjadi potensi bagi pemerintahan untuk memperoleh pendapatan negara. Namun perbanyakan anggur secara konvensional masih belum menjanjikan, dikarenakan adanya serangan beberapa penyakit pada tanaman anggur yang diperbanyak secara aseksual konvensional. Selain itu, metode ini tentunya memakan waktu yang cukup lama. Anggur yang ditanam membutuhkan waktu 4 sampai 5 tahun untuk berproduksi melalui perbanyakan stek dikarenakan periode masa remajanya yang Panjang. Metode perbanyakan secara *in vitro* pada anggur memberikan solusi untuk menghasilkan tanaman secara massal dan menghasilkan tanaman bebas penyakit dalam kondisi aseptik. Metode ini memungkinkan untuk memproduksi plantlet dalam ukuran besar dengan fitosanitasi tinggi dan kualitas genetic dalam ruang terbatas, dalam waktu singkat dan terlepas dari musim (Feyissa & Bedada, 2017).

Minat masyarakat Indonesia dalam konsumsi buah anggur cukup besar, sehingga terjadi peningkatan dalam permintaan dan membuka peluang yang tinggi agar tanaman anggur dapat di budidayakan serta dikembangkan diseluruh pelosok negeri. Permintaan yang tinggi terhadap buah anggur, tentunya tidak seimbang dengan ketersediaan bibit yang ada. Hal ini masih menjadi kendala dalam usaha budi daya anggur yakni keterbatasan dalam ketersediaan bibit. Solusi dari permasalahan yang ada yakni pemanfaatan metode yang tentunya mampu memenuhi bibit tanaman tersebut, melalui metode kultur jaringan. Perbanyakan melalui Kultur *in vitro* merupakan metode yang dapat menghasilkan bibit anggur dalam waktu singkat dan dalam jumlah yang besar. Perbanyakan mikro tanaman juga dikenal dengan kultur jaringan tanaman, merupakan teknik yang mengisolasi, mensterilkan, menginkubasi sel, jaringan atau organ tanaman yang terpilih dalam lingkungan aseptik yang mendorong pertumbuhan untuk menghasilkan plantlet dalam jumlah besar. Teknik cloning terisolasi, mengungkapkan bahwa dengan kondisi yang tepat sel somatic dapat berkembang menjadi tumbuhan lengkap. Biji anggur adalah sumber eksplan untuk praktik kultur ini (Mardiyah, 2017). Beberapa penelitian terdahulu juga sudah melakukan teknik kultur jaringan pada tanaman blueberi, tanaman ini terbukti menghasilkan hasil yang sama baiknya atau bahkan lebih baik dibandingkan dengan tanaman yang diperbanyak dengan stek. Penelitian lanjutan dilakukan dengan memperbanyak melalui stek dari tanaman hasil kultur jaringan, menghasilkan tanaman yang memiliki perakaran lebih baik jika dibandingkan dengan stek yang diambil dari tanaman dengan perbanyakan konvensional. Salah satu faktor kunci keberhasilan mikropropagasi spesies tanaman berkayu seperti Ericaceae adalah pengembangan formulasi media alternatif yang sesuai seperti medium tanaman berkayu dan 2 iP (2-isopentenyladenin) merupakan sitokinin unggul untuk spesies ini ( Read & Paek, 2007).

## **METODE**

Penelitian ini mencakup sterilisasi alat dan bahan, persiapan media (pembuatan IAA dan BAP, pembuatan media) serta sterilisasi eksplan. Penelitian ini berlangsung di laboratorium fisiologi tumbuhan Universitas Sumatera Utara.

### **Sterilisasi Alat Dan Bahan**

Sterilisasi dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada perbanyakan dengan teknik kultur jaringan. Adapun tahapan pertama sterilisasi alat dengan perendaman menggunakan detergen untuk peralatan yang dipakai dalam kegiatan ini antara lain : wadah pembiakan kultur, pinset, scapel, *petridish*. Langkah selanjutnya yaitu alat-alat tersebut dibilas menggunakan air mengalir lalu dikeringkan menggunakan tisu. Selanjutnya Alat-alat tersebut dibungkus menggunakan kertas lalu disterilkan dengan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Bahan yang digunakan seperti akuades juga akan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit. Sterilisasi tempat penanaman eksplan yaitu *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) menggunakan sinar Ultra Violet (UV) dan disemprot menggunakan alkohol 70%

#### **Persiapan media IAA dan BAP**

Ditimbang IAA sebanyak 0,01 gram yang dilarutkan kedalam 100 ml akuades sehingga didapat IAA 100 ml dengan konsentrasi 100 ppm. Berikutnya dibagi lagi konsentrasi IAA 100 ppm menjadi 1,5 ppm IAA, 3 ppm IAA, dan 4,5 ppm IAA. Selanjutnya ditimbang BAP sebanyak 0,01 gram yang dilarutkan kedalam 100 ml akuades sehingga didapat BAP 100 ml dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian dibagi lagi konsentrasi BAP 100 ppm menjadi 3 ppm BAP, 6 ppm BAP, dan 9 ppm BAP

#### **Pembuatan Media Persemaian Biji**

Media semai benih menggunakan media MS yang dilengkapi nutrisi makro dan mikro, Myoinositol, vitamin, NaFe-EDTA, dan sukrosa dalam 1 liter aquades. Media ditambah dengan ZPT IAA dan BAP sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan. pH yang dibutuhkan adalah 5,8. Apabila pH larutan di bawah 5,8 ditambahkan dengan NaOH 1 M sedangkan pH larutan di atas 5,8 ditambahkan dengan HCl 1 M. Agar dimasukkan ke dalam larutan sebanyak 0,80 g/L, lalu larutan dipanaskan sampai 11 mendidih. Media dituang ke dalam botol kultur dan masing-masing botol diberi label. Kemudian media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit dan disimpan di ruang kultur pada suhu 25°C sebelum digunakan.

Volume media tanam menentukan waktu dalam tahap sterilisasi. Dianjurkan untuk mengeluarkan media dalam jumlah kecil bila memungkinkan karena banyak komponen media akan terurai jika terkena panas dalam waktu lama. Terdapat beberapa bukti penelitian, menyatakan bahwa media yang terkena suhu 121°C mungkin tidak dapat membentuk gel dengan baik atau mengakibatkan pertumbuhan sel yang buruk.

#### **Sterilisasi Biji Anggur (*Vitis vinifera*)**

Biji diambil dari buah anggur (*Vitis vinifera*) dibersihkan menggunakan air sunlight selama 15 menit, kemudian direndam dengan cairan bayclin dengan konsentrasi 2,65 % dalam waktu 5 menit, lalu dimasukkan lagi ke dalam larutan bayclin konsentrasi 5,25 %, lalu dibilas di air mengalir. Berikutnya biji direndam larutan akuades selama 3 menit, setelah itu ke dalam HgCl<sub>2</sub> selama 10 sekon, lalu ke dalam larutan akuades lagi selama 3 menit, lalu alkohol 70 % selama 2 menit, kemudian larutan akuades lagi selama 5 menit, dan ke dalam larutan akuades lagi selama 5 menit

#### **Penyemaian Biji Anggur (*Vitis vinifera*)**

Biji anggur yang telah steril dibuka menggunakan scapel dengan cara memotong dari bagian pangkalnya kemudian disebar pada media penyemaian kultur sebanyak 70 botol kultur. Kemudian diamati dan disemprot menggunakan alkohol 70% sekali dalam satu hari selama tiga bulan.

#### **Persiapan Media Perlakuan**

Media MS ditambahkan ZPT IAA dan BAP sesuai konsentrasi. Kemudian derajat keasaman larutan diukur menggunakan pH meter dengan pH = 5,8. Jika pH larutan di bawah 5,8 larutan media ditetesi dengan NaOH 1 M sedangkan pH larutan di atas 5,8 ditambahkan dengan HCl 1 M. Agar sebanyak 0,80 g/L diberikan pada media, lalu larutan dipanaskan

sampai mendidih. Kemudian media dituang ke dalam wadah kultur dan diberi label. Sterilisasi media dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi dalam waktu 15 menit dan disimpan di ruang kultur dengan suhu 25 0C sebelum digunakan.

#### **Pemeliharaan Botol Kultur**

Botol kultur diletakkan dan disusun dengan rapi pada rak pemeliharaan sehingga memudahkan dalam pengamatan. Penyemprotan menggunakan alkohol 12 70% pada sekitar botol kultur dilakukan setiap hari selama 3 bulan untuk mengurangi tingkat kontaminasi.

#### **Parameter Penelitian dan Analisis Data**

Indikator yang diukur dalam penelitian ini antara lain : Waktu Tumbuh Eksplan Biji Anggur (*Vitis vinifera*), Persentase Tumbuh, Persentase Kontaminasi. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis Of Variance* (ANNOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5% ( $P < 0,05$ ) terhadap faktor perlakuan.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Parameter yang diamati pada praktikum Kultur in vitro tumbuhan *Vitis vinifera* dengan kombinasi perlakuan IAA dan BAP pada media MS yaitu waktu tumbuh, persentase tumbuh dan persentase kontaminasi dapat dilihat pada tabel berikut. Waktu tumbuh dihitung sejak biji ditanam hingga mengeluarkan plumula atau radikula. Berikut rata-rata waktu tumbuh kultur biji *Vitis vinifera*.

**Tabel 1.** Waktu Tumbuh Eksplan Biji *Vitis vinifera*

Waktu Tumbuh	
Perlakuan	Rata-rata Waktu Tumbuh
I <sup>0</sup> B <sup>0</sup>	24 <sup>d</sup>
I <sub>1</sub>	9 <sup>a</sup>
I <sub>2</sub>	15 <sup>b</sup>
I <sub>3</sub>	20 <sup>c</sup>
B <sub>1</sub>	13 <sup>b</sup>
B <sub>2</sub>	21 <sup>cd</sup>
B <sub>3</sub>	29 <sup>e</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf berbeda, bernilai signifikan ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan tabel 1 perkecambahan embrio biji *Vitis vinifera* diawali oleh pertumbuhan embrio yang berkembang dan kemunculan akar serta pluma dalam satuan HST (Hari Setelah Tumbuh). Proses perkecambahan biji *Vitis vinifera* dapat terlihat dari kemunculan bakal tunas dan bakal akar dari eksplan yang ditanam. Perlakuan I1 memiliki rerataan perkecambahan paling cepat dengan waktu tumbuh 9a. Hasil uji lanjut menunjukkan perlakuan pemberian hormon IAA dan BAP pada media tanam berbeda nyata lebih tinggi jika dibandingkan perkecambahan pada media kontrol.

Menurut Kurniawan (2023), penambahan media MS mengandung hampir semua unsur yang dibutuhkan pada pertumbuhan tunas embrio terutama pada konsentrasi tinggi munculnya plumula. Penambahan konsentrasi media MS pada kultur in vitro yang sangat tinggi menyebabkan terjadinya kerusakan pada jaringan tanaman seperti pecahnya dinding sel (lisis) dan juga plasmolysis. Penambahan dari ZPT IAA dan BAP dengan konsentrasi yang lebih tinggi belum menunjukkan hasil pertumbuhan bakal tunas atau bakal akar yang semakin baik.

Menurut Yulia et al., (2020) perlakuan dengan konsentrasi BAP yang tinggi menimbulkan pengaruh yang tidak baik pada hasil, BAP dengan konsentrasi tinggi berdampak negatif sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Konsentrasi IAA yang tinggi juga dapat berdampak pada terhambatnya proses pembelahan sel, kematian pada tanaman juga dapat terjadi dikarenakan mampu mensintesis ZPT lainnya seperti etilen yang memberikan dampak antagonis dengan auksin. Pemanfaatan IAA sendiri merupakan stimulan untuk pembelahan dan pembesaran sel dan mampu merangsang aktivitas sel dalam jaringan sehingga memiliki peran utama dalam pertumbuhan dan perkembangan.

Menurut avivi (2022) Adanya kombinasi dari ZPT auksin dan sitokinin telah terbukti dengan terbentuknya kalus pada eksplan. Auksin dan sitokinin memiliki peranan masing – masing, dimana dalam proses induksi kalus ZPT yang berperan yaitu auksin dikarenakan fungsinya sebagai stimulan bagi pembelahan dan perbesaran sel, sedangkan sitokinin berperan dalam poliferasi kalus, kombinasi kedua ZPT ini tentunya sangat baik dalam proses pertumbuhan kalus dalam teknik kultur jaringan. Pada awal pembentukan kalus pada ujung eksplan, sel-sel epidermis bagian atas membesar dan membelah dua. Kalus terbentuk ketika tanaman dilukai. Akibatnya, sel rusak dan autolysis (pemecahan) terjadi, dan senyawa dibuat dari sel yang rusak yang merangsang pembelahan sel.

### **Persentase Tumbuh**

Persentase tumbuh menunjukkan banyaknya jumlah kultur biji tanaman anggur yang tumbuh dengan jumlah kultur biji yang ditanam. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa persentase pertumbuhan eksplan tertinggi (100%), pertumbuhan ini membutuhkan waktu yang cukup lama dalam pembentukan kalus dan tunas. Proses induksi kalus diawali dengan adanya pembengkakan eksplan, perubahan warna eksplan serta pemanjangan jaringan. Berdasarkan pengamatan dari hasil penelitian yang dilakukan, munculnya proses browning atau pencokelatan pada bagian eksplan dapat terlihat jelas, biasanya peristiwa ini dapat terjadi pada tahap awal pengkulturan. Pencokelatan biasanya terjadi pada jaringan yang mengalami perlukaan, dalam hal ini perubahan warna tersebut tidak dapat diartikan bahwa eksplan mengalami kematian, hal ini masih ditunjukkan dengan adanya penambahan ukuran eksplan sendiri.

Menurut Budi (2020), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti media tanam yang digunakan dan jenis serta ukuran dari eksplan. Eksplan yang dapat tumbuh dan hidup akan mengalami perkembangan dan berdiferensiasi membentuk tunas, jaringan perakaran dan pembesaran bagian bonggol dan sebahagian kecil pertumbuhan yang statis. Perbesaran eksplan yang dikulturkan merupakan respon awal jaringan atau eksplan, dikatakan terjadi perubahan warna dikarenakan warna awal eksplan itu sendiri pada tahap awal inisiasi pada media berwarna putih kehitaman. Perubahan warna pada eksplan tidak berarti jaringan telah mati karena jaringan masih bertambah besar. Sebaliknya, perubahan warna ini mungkin disebabkan oleh senyawa yang keluar dari jaringan eksplan yang terluka, yang kemudian berubah menjadi cokelat atau browning. Pencokelatan ini biasanya terjadi karena adanya senyawa fenolik yang terakumulasi pada jaringan yang terlukai.

Menurut Marlin (2012) dalam Eriansyah (2014), Pertumbuhan eksplan memerlukan waktu yang lebih lama selama periode kultur. Perubahan warna, pembengkakan, dan pembentukan eksplan adalah tanda pertumbuhan eksplan. Respon perubahan warna diduga disebabkan oleh rangsangan cahaya dan pertumbuhan klorofil. Dengan mengelupasnya seludang satu per satu, eksponen yang hidup ini mulai membuat perbedaan. Secara bertahap, selubung ini akan terbuka hingga mencapai lapisan yang paling dalam dan mulai membentuk tunas. Keberhasilan dalam terbentuknya kalus pada eksplan tentunya tidak hanya dipengaruhi oleh ZPT yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri (endogen) namun juga karena genotype, umur eksplan dan lingkungan eksplan dikulturkan serta sifat respon positif eksplan terhadap media yang diberikan.

### **Persentase Kontaminasi**

Persentase tumbuh menunjukkan banyaknya jumlah kultur biji tanaman anggur yang tumbuh dengan jumlah kultur biji yang ditanam. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa persentase pertumbuhan eksplan tertinggi (100%), pertumbuhan ini membutuhkan waktu yang cukup lama dalam pembentukan kalus dan tunas. Proses induksi kalus diawali dengan adanya pembengkakan eksplan, perubahan warna eksplan serta pemanjangan jaringan. Berdasarkan pengamatan dari hasil penelitian yang dilakukan, munculnya proses browning atau pencokelatan pada bagian eksplan dapat terlihat jelas, biasanya peristiwa ini dapat terjadi pada tahap awal pengkulturan. Pencokelatan biasanya terjadi pada jaringan yang mengalami perlukaan, dalam hal ini perubahan warna tersebut tidak dapat diartikan bahwa eksplan mengalami kematian, hal ini masih ditunjukkan dengan adanya penambahan ukuran eksplan sendiri.

Menurut Budi (2020), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti media tanam yang digunakan dan jenis serta ukuran dari eksplan. Eksplan yang dapat tumbuh dan hidup akan mengalami perkembangan dan berdiferensiasi membentuk tunas, jaringan perakaran dan pembesaran bagian bonggol dan sebahagian kecil pertumbuhan yang statis. Perbesaran eksplan yang dikulturkan merupakan respon awal jaringan atau eksplan, dikatakan terjadi perubahan warna dikarenakan warna awal eksplan itu sendiri pada tahap awal inisiasi pada media berwarna putih kehitaman. Perubahan warna pada eksplan tidak berarti jaringan telah mati karena jaringan masih bertambah besar. Sebaliknya, perubahan warna ini mungkin disebabkan oleh senyawa yang keluar dari jaringan eksplan yang terluka, yang kemudian berubah menjadi cokelat atau browning. Pencokelatan ini biasanya terjadi karena adanya senyawa fenolik yang terakumulasi pada jaringan yang terlukai.

Menurut Marlin (2012) dalam Eriansyah (2014), Pertumbuhan eksplan memerlukan waktu yang lebih lama selama periode kultur. Perubahan warna, pembengkakan, dan pembentukan eksplan adalah tanda pertumbuhan eksplan. Respon perubahan warna diduga disebabkan oleh rangsangan cahaya dan pertumbuhan klorofil. Dengan mengelupasnya seludang satu per satu, eksponen yang hidup ini mulai membuat perbedaan. Secara bertahap, selubung ini akan terbuka hingga mencapai lapisan yang paling dalam dan mulai membentuk tunas. Keberhasilan dalam terbentuknya kalus pada eksplan tentunya tidak hanya dipengaruhi oleh ZPT yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri (endogen) namun juga karena genotype, umur eksplan dan lingkungan eksplan dikulturkan serta sifat respon positif eksplan terhadap media yang diberikan.

### **Persentase Kontaminasi**

Permasalahan yang cukup sering dialami dalam teknik kultur jaringan yaitu kontaminasi. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan presentase eksplan terkontaminasi 82,85% atau sebanyak 58 eksplan. Persentase kontaminasi tersebut tergolong sangat banyak, kontaminasi yang terjadi disebabkan karena eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari biji buah, Kemungkinan besar, bahan tanam tersebut mengandung lebih banyak berbagai kontaminan yang dapat ditemukan baik pada permukaan maupun dalam jaringan, sehingga kontaminasi mikroba pada eksplan belum dieliminasi sepenuhnya. Masih membutuhkan metode dan lanjutan sterilisasi yang tepat untuk eksplan yang digunakan.

Menurut Zulkarnain (2011) dalam Choiri (2019), penyebab utama dalam kontaminasi yang terjadi biasanya berasal dari mikroorganisme berupa jamur dan bakteri. Pada permukaan maupun di dalam jaringan tanaman terdapat mikroorganisme, dan pada umumnya mikroorganisme ini bukan merupakan mikroorganisme yang bersifat patogen. Peristiwa kontaminasi biasanya disebabkan karena agen kontaminan yang bertahan dalam jaringan

tumbuhan mengalami pertumbuhan dikarenakan kondisi sudah menguntungkan untuk proses pertumbuhannya. Agen kontaminasi tidak hanya yang terdapat dalam jaringan tumbuhan itu sendiri melainkan dapat masuk melalui tutup wadah saat proses inkubasi secara langsung.

Menurut Waluyo (2004) dalam Kristina (2017), mikroorganisme penyebab kontaminasi sangat diuntungkan oleh media pada kultur *in vitro*, agen kontaminan ini akan cepat berkembang dan tumbuh serta menutupi permukaan media maupun eksplan yang diperbanyak. Selain itu, karena waktu sterilisasi yang berkurang, mikroba akan menyerang eksplan melalui luka pada bagian eksplan sehingga dapat mengakibatkan kematian jaringan pada eksplan tersebut. Mikroba kontaminan, baik patogen tanaman atau tidak, dapat mempengaruhi perilaku jaringan *in vitro* dengan melepaskan metabolit dan protein yang mempengaruhi jaringan tanaman dan mengubah komposisi dan atau pH media kultur. Mikroba kontaminan dapat menyerang jaringan tanaman yang mengakibatkan hilangnya bahan penelitian yang berharga atau menyebabkan kerugian produksi dalam mikropropagasi (Cassells, 2012).

### Pertumbuhan Eksplan

Pertumbuhan radikula menunjukkan keberhasilan teknik kultur dan kombinasi media yang digunakan. Adanya radikula pada media MS dengan kombinasi IAA dan BAP dapat dilihat dengan pertumbuhan kultur biji pada botol kultur. Berikut hasil yang didapatkan pertumbuhan radikula menunjukkan keberhasilan. Keberhasilan dari proses kultur jaringan dapat dilihat berdasarkan pertumbuhan dan respon eksplan terhadap media pertumbuhan. Eksplan yang menunjukkan kemampuan mengekspresikan totipotensi paling cocok dijadikan sebagai tanaman donor dengan teknik kultur jaringan. Umumnya ruas tanaman vegetatif lebih mudah beregenerasi secara *in vitro* dibandingkan ruas tanaman generatif. Eksplan harus diisolasi dari tanaman sehat dengan pembelahan sel tinggi agar respon terhadap kultur jaringan berhasil, di sisi lain kapasitas regenerasi jaringan dewasa cukup rendah. Secara umum, jaringan dan organ yang masih muda memiliki kapasitas regenerasi yang tinggi dibandingkan jaringan dewasa (Yildiz, 2011).



**Gambar 1.** Pertumbuhan eksplan pada media MS. Gambar A (Pertumbuhan radikula eksplan tampak bawah botol kultur), Gambar B (Pertumbuhan radikula eksplan tampak depan botol kultur).

Menurut Surya et al., (2017) Kondisi fisiologi tanaman induk sangat memengaruhi keberhasilan pertumbuhan eksplan. Misalnya, mata tunas yang masih segar akan meningkatkan keberhasilan bahkan dengan persentase pertumbuhan yang lebih sedikit. Kondisi biji adalah salah satu faktor yang memastikan sterilisasi biji berhasil. Perkecambahan hypogeal terjadi ketika kotiledon atau struktur yang sama (seperti skuletum) berada di media bersama benih. Kecambah ini muncul di atas permukaan media dengan struktur daun lembaga tetap di dasarnya. Tunas dikotil diangkat dari tanah melalui pemanjangan epikotil atau, kadang-kadang, perpanjangan mesokotil. Dalam praktik ini, perkecambahan yang

dimaksud adalah tahap perkecambahan awal, yaitu berupa akar dan daun lembaga. Ketika lembaga di dalam biji menunjukkan ketiga bagian tubuh tumbuhan utama—akar, daun, dan batang—perkecambahan terjadi.

BAP memiliki peran penting dalam menstimulus pembentukan tunas pada kultur in vitro, merupakan sitokinin paling efektif yang dapat menginduksi proliferasi tunas dan banyak digunakan untuk meningkatkan persentase regenerasi kalus membentuk tunas. Setelah tahap pembentukan tunas, maka tunas – tunas yang telah terbentuk akan dikultur untuk pembentukan akar, media MS merupakan media yang sangat banyak digunakan dalam kultur in vitro, media ini mengandung nutrisi makro dan nutrisi mikro serta vitamin yang sangat sesuai untuk perbanyakkan melalui in vitro. Pemanfaatan jumlah media juga mempengaruhi keberhasilan dari propagasi tanaman, menurut Rahayu (2015) pengurangan media dapat mempengaruhi pertumbuhan setelah subkultur. Efektifitas kekuatan media dalam merangsang pertumbuhan akar juga berbeda – beda tergantung genotype tanaman (Hardjo dkk, 2023).

### Pertumbuhan Radikula

Menurut Aziz (2017), Pertumbuhan radikula kultur biji anggur dan jumlah akar yang muncul tidak dipengaruhi oleh pengobatan yang menggabungkan hormon IAA dan konsentrasi BAP yang diberikan. Mungkin ada beberapa alasan mengapa pertumbuhan panjang akar berbeda dari pembentukan jumlah akar. Pertama, karena eksplan masih memiliki kandungan sitokinin yang cukup tinggi dari tahap sebelumnya. Kedua, serapan auksin masing-masing eksplan berbeda-beda dan waktu yang dibutuhkan eskplan untuk mempercepat pertumbuhan dan panjang akar karena IAA.

Tabel 2. Pertumbuhan Eksplan Biji *Vitis vinifera*

	Eksplan													
	I <sup>0</sup> B <sup>0</sup>		I <sub>1</sub>		I <sub>2</sub>		I <sub>3</sub>		B <sub>1</sub>		B <sub>2</sub>		B <sub>3</sub>	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
U1	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U2	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U3	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U4	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U5	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U6	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U7	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U8	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U9	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	
U10	✓		✓		✓		✓		✓		✓		✓	

Menurut Srimaulinda (2021), kemampuan pertumbuhan tanaman untuk tumbuh ditunjukkan dengan adanya radikula yang diperoleh dari media MS dengan kombinasi ZPT yang sesuai antara IAA dan BAP. Panjang akar dan sistem akar yang lebih baik sangat dipengaruhi oleh diferensiasi dari sel – sel akar, pertumbuhan sel akar yang baik memastikan bahwa proses tersebut menyerap air, mineral dan nutrisi. Media yang tidak diberi ZPT menunjukkan hasil panjang radikula yang lebih pendek bahkan jika dibandingkan dengan ZPT endogen. Pertumbuhan tanaman secara alami tentunya dipengaruhi oleh ZPT endogen yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, mulai dari proses inisiasi akar, hingga pemanjangan akar tanaman.pembelahan dari sel – sel meristem akan membentuk kelompok sel – sel kecil yang disebut dengan sel primordial akar, hal ini menunjukkan telah

terjadi proses pembentukan akar. Sel-sel primordial akar akan terus berproliferasi dan berdiferensiasi membentuk ujung – ujung akar dan terus mengalami pertumbuhan menjadi akar dengan ukuran yang lebih panjang. Berdasarkan hasil ini menunjukkan kombinasi yang tepat antara ZPT seperti IAA dan BAP mampu merangsang dan mempercepat pembelahan sel pada meristem akar.

## KESIMPULAN

Perbandingan perlakuan pemberian IAA dan BAP memiliki hasil daya berkecambah paling cepat dengan rata-rata waktu tumbuh 9a pada perlakuan II. Hasil uji lanjut menunjukkan perlakuan pemberian hormon IAA ke dalam media lebih tinggi dari BAP dan juga berbeda nyata lebih tinggi dengan kontrol. Perbandingan tanaman yang tumbuh dan terkontaminasi dapat dilihat dari hasil presentase eksplan terkontaminasi 82,85% atau sebanyak 58 eksplan. Perbandingan tanaman/kultur yang tumbuh dan tidak tumbuh dilihat dari hasil persentase pertumbuhan eksplan yang sangat tinggi (100%), penelitian ini masih membutuhkan waktu yang panjang dalam proliferasi kalus dan tunas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Avivi S, Ubaidillah M, Setiyono, Atiqoh R, 2022. Pengaruh BAP, IAA, dan Jenis Eksplan terhadap Efisiensi Regenerasi Tomat Fortuna 23. *Jurnal Agron Indonesia*. Vol. 50(3): 307-314.
- Aziz AM, Faridah E, Inndrioko S, Herawan T, 2017. Induksi Tunas, Multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke Seara In Vitro. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. Vol. 11(1): 1-13.
- Basri AHH, 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus. *Jurnal Agrica Ekstensia*. Vol. 10(1): 64-73.
- Budi RS, 2020. Uji Komposisi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) pada Media MS Secara in vitro. *Best Jurnal*. Vol. 3(1): 101-111.
- Cassells, A. C. 2012. Pathogen and Biological Contamination Management in Plant Tissue Culture: Phytopathogens, Vitro Pathogens, and Vitro Pests. *Methods in Molecular Biology*, 57–80. doi:10.1007/978-1-61779-818-4\_6
- Choiri H, Suada K, Adiartayasa W, 2019. Kultur Jaringan Tanaman Anthurium (*Anthurium andraenum* var. tropical) pada Media MS dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA. *Jurnal Agroetnologi Tropika*. Vol. 8(3): 248-293.
- Harahap F, Hasanah A, Insani H, Harahap NK, Pinem MD, Edi S, Sipahutar H, Silaban R, 2019. Kultur Jaringan Nanas. Surabaya: Media Sahabat Cendekia.
- Hardjo PH, 2018. Kultur Anggrek; Embriogenesis Somatik *Vanda tricolor* (Lindl.) var. *pallida*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hal. 7-13.
- Hardjo, PH. Wijaya, AN. Savitri, WD. Irawati, F. 2023. Plant Regeneration in *Amorphophallus muelleri* Blume through Organogenic. *Biosaintifika*. Vol 1. 60-66
- Hendarto D, 2019. Tumpas Kanker Dengan Anggur. Yogyakarta. Laksana.
- Kristina M, Oratmangun M, Pandiangana D, Febby E, Kandou, 2017. Deskripsi Jenis-jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA UNSRAT* . Vol. 6(1): 47-52.
- Kurniawan S, Rahayu MS, 2023. Pengaruh Penambahan Ekstrak Buah Pisang dan Daun Kelor ke dalam media terhadap Pertumbuhan Embrio Kelapa (*Cocos nucifera* L.) secara In Vitro. *Jurnal Agrohorti*. Vol. 11(1): 96-103.

- Mahadi I, 2016. Multifikasi Tunas Anggrek Larat (*Dendrobium phalaenopsis* Fitzg) dengan Pemberian Hormon IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Secara In Vitro. *Jurnal Eksakta*. Vol. 2: 1-2.
- Mardiyah, Basri Z, Yusuf R, Hawalina, 2017. Pertumbuhan Tunas Anggur Hitam (*Vitis vinifera* L.) pada Berbagai Konsentrasi Benzylamino Purin dan Indolebutyric Acid. *Jurnal Agroland*. Vol. 24 (3): 181-189.
- Nika SL, Siregar LAM, Karrdhinata EH, 2018. Keberhasilan Terbentuknya Tunas Mikro Anggrek (*Cattleya trianae* Lindl & Rcbj.fil.) in some mediums composition. *Jurnal Agroteknologi FP USU*. Vol. 61:113-117.
- Nurhanis SE, Wulandari RC, Suryantini, 2019. Korelasi Konsentrasi IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Kultur Jaringan Sengon (*Paraserianthes falcataria*). *Jurnal Hutan Lestari*. Vol. 7(2): 857-867.
- Pharmawati M, Defiani MR, 2021. Pembentukan Kalus, Tunas, dan Akar pada Kultur Anggur Bali (*Vitis vinifera* cv Alphonse Lavelle) dengan Pemberian NAA dan Bap. *Jurnal Biologi dan Konservasi*. Vol. 3 (1): 1-10.
- Pratama J, Nilahayati, 2018. Modifikasi Media MS dengan Penambahan Air Kelapa untuk Subkultur I Anggrek *Cymbidium*. *Jurnal Agrium*. Vol. 15 (2): 96-109.
- Setiawati T, Zahra A, Budiono R, Nurzaman M, 2018. Perbanyak In Vitro Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* [L.] cv. Granola) dengan Penambahan Meta-Topolin pada Media Modifikasi MS (Murashige & Skoog).
- Siregar AS, Supriyanto A, 2014. Inisiasi Kultur Meristem Anggur In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Perhorti*. ISBN 978-979-508-017-6.
- Srimaulinda, Nurtjahja K, Riyanto, 2021. Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa dan Air Cucian Beras dan Lama Perendaman Terhadap Perkecambahan Benih Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*. Vol. 3(2): 62-72.
- Surya, M. I., Kurnita, N. I., Setyaningsih, L., Ismaini, L., & Muttaqin, Z. (2017, February). A study on in vitro propagation of *Castanopsis argentea*. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* (Vol. 3, No. 1, pp. 10-15).
- Tajuddin, R., & Suwastika, I. N. 2012. Organogenesis Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.) Pada Medium Ms dengan Penambahan IAA (Indole Acetic Acid) Dan Berbagai Konsentrasi BAP (Benzil Amino Purin). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 1(1).
- Wahyuni H, Wulandari RC, Muflihati, 2019. Konsentrasi IAA (Indole Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purin) pada Kultur Jaringan Ulin (*Eusideroxylon zwageri*). *Jurnal Hutan Lestari*. Vol. 7 (4): 1660-1667.
- Yildiz, M. 2012. The Prerequisite of the succes in plant tissue culture: high frequency shoot regeneration. *Recent Advances in plant in vitro culture*. IntechOpen
- Yulia, Eva, et al., 2020. Respon Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan IAA Terhadap Pertumbuhan Sub-Kultur Anggrek *Cymbidium* (*Cymbidium finlaysonianum* Lindl.) secara in-vitro. *Jurnal Agrium* 17.2