PERTUMBUHAN IN VITRO TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia* Andr.) PADA PEMBERIAN KINETIN DAN TANPA KINETIN

TUGAS AKHIR

Oleh:

RATNAWATI
1522040084

JURUSAN BUDIDAYA TANAMAN PERKEBUNAN
PROGRAM STUDI BUDIDAYA TANAMAN PERKEBUNAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PANGKEP
2018

HALAMAN PENGESAHAN

PERTUMBUHAN IN VITRO TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia* Andr.) PADA PEMBERIAN KINETIN DAN TANPA KINETIN

TUGAS AKHIR

Oleh :

RATNAWATI
1522040084

Tugas Akhir ini Sebagai Syarat untuk menyelesaikan Studi pada Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh:

Pembimbing I,	Pembimbing II,
Sitti Inderiati, S.P. M.Biotech	Ir. Erna Halid, M.Si
NIP 197101051998022001	NIP 196811221998022001

Mengetahui:

Direktur,	Ketua Jurusan,
Dr. Ir. H. Darmawan, MP	Dr. Junaedi, S.P.,M.P
NIP 196702021998031002	NIP197208242005011002

Tanggal Lulus : 25 Juli 2018

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Judul :Pertumbuhan In Vitro Tanaman Vanili Pada Pemberian Kinetin Dan Tanpa Kinetin

Nama :Ratnawati

NIM :1522040084

Program Studi :Budidaya Tanaman Perkebunan

Jurusan :Budidaya Tanaman Perkebunan

Menyetujui,
Tim Penguji :

1. Sitti Inderiati, S.P., M.Biotech (.....)
2. Ir. Erna Halid, M.Si (.....)
3. Muhammad Yusuf, S.P., M.Si (.....)
4. Abdul Mutalib, S.P.,M.P (.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Budidaya tanaman perkebunan

Dr. Junaedi, SP.,M.Si
NIP 197208242005011002

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tugas akhir ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pangkep, 6 Juli 2018

Yang membuat peryataan,

Ratnawati

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan, rahmat dan hidayah-Nya yang dilimpah kan kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul: Pertumbuhan In Vitro Tanaman Vanili pada Pemberian Kinetin dan Tanpa Kinetin.

Laporan Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi pada Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep. Terimakasih penulis ucapkan pada Ibunda, Ayahanda dan segenap keluarga yang selalu membantu, serta kepada Sitti Inderiati, SP., M.Biotech. dan Ir. Erna Halid, M.Si. yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan studi.

Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga saran dan kritik sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan ini. Akhirnya dengan segala kerendahan hati penulis berharap semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca terutama praktisi kultur jaringan tanaman.

Pangkep, 06 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Hal.

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PENGESAHAN ii

HALAMAN PERSETUJUAN iii

HALAMAN PERNYATAAN iv

KATA PENGANTAR v

DAFTAR ISI vi

DAFTAR LAMPIRAN viii

RINGKASAN ix

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Tujuan dan Kegunaan 2

II. TINJAUAN PUSTAKA 3

III. METODOLOGI

3.1.Waktu danTempat 6

3.2. Alat dan Bahan 6

3.3. Metode Pelaksanaan 6

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil 9

4.2. Pembahasan 9

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan 12

5.2. Saran 12

DAFTAR PUSTAKA 13

LAMPIRAN 15

RIWAYAT HIDUP 18

DAFTAR LAMPIRAN

Hal.

1. Komposisi Media Murashige and Skoog (MS) dan ZPT..... 16

2. Gambar organogenesis langsung kultur vanili 17

RINGKASAN

Ratnawati, 1522040084 : Pertumbuhan In Vitro Tanaman Vanili Pada Pemberian Kinetin Dan Tanpa Kinetin, dibimbing oleh Sitti Inderiati dan Erna Halid.

Vanili merupakan salah satu tanaman industri penghasil vanilin yang digunakan sebagai penambah aroma pada industri makanan dan minuman. Perbanyakan tanaman vanili dapat dilakukan secara kultur jaringan untuk memperoleh bibit tanaman yang sehat dalam jumlah banyak. Tujuan percobaan ini adalah untuk membandingkan pertumbuhan kultur vanili dalam media tumbuh yang dilengkapi sitokinin dan tanpa zat pengatur tumbuh. Tunas pucuk dan ruas batang vanili digunakan sebagai eksplan dan dikultur dalam media MS yang dilengkapi kinetin 1 mg/l dan dalam media tanpa kinetin. Data diperoleh setelah sub kultur pertama yang dilakukan sebulan setelah penanaman. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi kinetin 1 mg/l menghasilkan organogenesis langsung membentuk tunas, daun, dan akar. Eksplan vanili yang ditanam dalam media tanpa ZPT tidak memperlihatkan pertumbuhan sampai akhir percobaan.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Vanili (*Vanilla planifolia* Andr.) adalah salah satu tanaman industri penting sebagai sumber pendapatan petani dan devisa negara. Tanaman vanili merupakan penghasil vanillin ($C_3H_8O_3$) yang digunakan sebagai bumbu penyedap rasa, aroma dan selera (*flavoring substance*). Vanilin digunakan secara luas sebagai *flavour* kue, coklat, dan minuman, bahan campuran untuk kosmetik, parfum, dan digunakan pada industri obat-obatan sebagai antioksidan (Neelannavar *et al*., 2011; Jadid *et al*., 2015)**.**

Indonesia merupakan salah satu negara produsen vanili selain India dan Madagaskar. Vanilin Indonesia dikenal memiliki kualitas yang baik sehingga peluang pasar bagi komoditas vanili Indonesia masih terbuka luas dengan semakin meningkatnya permintaan seiring bertambahnya jumlah penduduk dunia (Erona, 2016).

Semakin berkembangnya usaha di bidang pertanian menyebabkan kebutuhan bibit semakin meningkat. Melalui perbanyakan secara generatif dan vegetative biasa, sulit untuk memenuhi kebutuhan bibit yang sangat banyak dengan waktu relatif cepat. Dengan demikian, dibutuhkan alternatif perbanyakan yang dapat menghasilkan bibit yang sehat dalam jumlah yang banyak dan dapat diproduksi setiap waktu tanpa harus menunggu musim tertentu.

Perbanyakan tanaman vanili menggunakan bahan tanam yang sedikit untuk menghasilkan tanaman baru secara massal dan bebas penyakit dapat diperoleh melalui kultur jaringan atau secara in vitro (Fitriani *et al*. 2007). Metode perbanyakan tersebut memerlukan media tumbuh sintetik yang

mengandung nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan hingga membentuk plantula atau plantlet. Selain nutrisi, dalam media tumbuh ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) atau hormon tumbuh yang dapat memacu pertumbuhan dan mengarahkan organogenesis.

1.2 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan percobaan kultur vanili adalah membandingkan pertumbuhan eksplan vanili pada media yang ditambahkan ZPT sitokinin (Kinetin) dan tanpa ZPT. Kegunaan sebagai metode memperoleh bibit vanili secara massal dan aseptik yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan tanam.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) merupakan tanaman budidaya yang mempunyai nilai jual tinggi, sehingga masyarakat menyebutnya sebagai "Emas Hijau" (Sobran, 2015). Tanaman vanili berasal dari benua Amerika dan telah dikembangkan di negara-negara tropis termasuk di India, Madagaskar dan Indonesia (Jadid *et al*., 2015).

Vanili merupakan jenis tanaman anggrek yang tumbuh memanjat dengan batang dan daun yang sekulen, memiliki akar udara (aerial roots) pada ruas-ruas batang. Biji vanili umumnya tidak mengalami germinasi sehingga tanaman tersebut utamanya diperbanyak secara vegetatif melalui setek batang. Cara perbanyakan tersebut menghasilkan bibit dalam jumlah sedikit dan tingkat pertumbuhan yang lambat. Selain itu setek sepanjang 60 – 120 cm per batang dapat menganggau pertumbuhan tanaman induk (Palama *et al*., 2010). Masalah tersebut merupakan tantangan untuk memproduksi bibit vanili yang cukup untuk memenuhi permintaan natural vanillin yang terus meningkat. Untuk itu, dibutuhkan metode perbanyakan yang efisien dan efektif untuk menghasilkan bibit vanili yang cepat dan massal. Metode tersebut adalah perbanyakan secara in vitro atau mikropropasi (Tan *et al*., 2011; Neelannavar *et al*., 2011; Jadid *et al*., 2015).

Aplikasi teknik kultur jaringan bertujuan untuk eliminasi suatu penyakit atau produksi bibit bebas penyakit, kelestarian plasma nutfah, memperoleh varietas unggul dan produksi senyawa metabolit sekunder. Oleh karena itu, teknik kultur jaringan sangat penting diterapkan dalam perbanyakan tanaman baik untuk tanaman pertanian maupun tanaman perkebunan (Basri, 2016).

Selain untuk perbanyakan, kultur in vitro telah digunakan untuk menghasilkan bibit vanili yang bebas penyakit. Penggunaan kultivar vanili yang tahan penyakit busuk batang dengan hasil tinggi diharapkan merupakan alternatif pengendalian penyakit yang penting. Planlet vanili yang tahan terhadap infeksi penyakit busuk batang telah diinisiasi dan diseleksi secara in vitro dalam medium MS (Nurcahyani, 2013).

Kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya (Agustina *et al*. 2004). Teknik ini dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Berbagai jenis eksplan (tunas pucuk, buku ke1 dan ke-2 dari pucuk dan daun) dari tanaman vanili dikulturkan melalui perlakuan dalam media MS yang ditambah agar 8 g/l, sukrosa 30 g/I dan vitamin (Ajijah *et.al*.2010).

Untuk mendapatkan bibit vanili yang baik secara in vitro perlu diperhatikan media yang digunakan. Kultur in vitro vanili telah sukses dilakukan menggunakan media dasar MS yang dilengkapi hormon tumbuh atau zat pengatur tumbuh (ZPT). Jadid *et al*. (2015) menggunakan media MS yang diperkuat dengan kombinasi ZPT Kinetin dan IAA. Hasil kultur in vitro tersebut diperoleh persentase pertumbuhan eksplan tertinggi (95%) dalam media MS yang dilengkapi Kinetin 1 mg/l + IAA 0.75 mg/l, namun jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada media yang mengandung kinetin 0.75 mg/l.

Kultur in vitro vanili sebelumnya menghasilkan rata-rata 4.7 tunas per eksplan dan rata-rata 4.5 daun per tunas dalam media MS yang mengandung 1.5 mg/l BAP (Neelannavar *et al.,* 2011). Hasil serupa dilaporkan oleh Tan *et al*.

(2011) yaitu rata-rata jumlah tunas vanili 5.03 pada meedia MS + BAP 1 mg/l dan percentase eksplant yang bertunas tertinggi (95%) pada media yang dilengkapi BAP 0.5 mg/l. Percobaan terakhir tersebut juga melaporkan hasil kultur yang lebih baik melalui penggunaan sitokinin jenis BAP dibandingkan dengan sitokinin jenis kinetin.

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman juga sangat penting, yaitu untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar serta pembentukan kalus. Ada dua golongan zat pengatur tumbuh tanaman yang sering digunakan dalam kultur jaringan, yaitu sitokinin dan auksin. Beberapa ZPT sintetik yang merupakan golongan sitokinin antara lain BA (benzil adenin), kinetin (furfuril amino purin), BAP (Bensil Aminopurin), dan zeatin. ZPT golongan auksin antara lain IAA (Indole Acetic Acid), NAA (Naphtalene Acetic Acid), dan IBA (Indole Butiric Acid).

Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas pada umumnya digunakan sitokinin sedangkan untuk pembentukan akar atau pembentukan kalus digunakan auksin. Namun, sering pula digunakan keduanya tergantung pada perbandingan atau ratio sitokinin terhadap auksin daan sebaliknya. Adanya salah satu zat pengatur tumbuh tertentu dapat meningkatkan daya aktivitas zat pengatur tumbuh lainnya. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat untuk masing-masing tanaman tidak sama karena tergantung pada genotipe serta kondisi fisiologi jaringan tanaman (Lestari, 2011).

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Percobaan dilaksanakan pada Januari sampai April 2018 di laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene dan Kepulauan.

3.2Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, pinset, stirrer, pH meter, *hot plate magnetic stirer*, timbangan analitik, microwave, oven, autoklaf, laminar air flow cabinet (LAFC), bunsen, pinset, scalpel, mikropipet, dan spatula.

Bahan-bahan yang digunakan adalah eksplan vanili yang ditanam di medium Murashige dan Skoog (MS). Kinetin, bacto agar (pemadat), sukrosa, casein hydrolisate, eritromycin, alkohol, aquadest, spiritus, aluminium foil, dan karet gelang.

3.3 Metode Pelaksanaan

Percobaan kultur vanili menggunakan media MS yang ditambahkan ZPT kinetin sebagai perlakuan dan sebagai pembanding digunakan media MS tanpa penambahan ZPT. Kinetin digunakan dengan konsentrasi 1 mg/l (KN_1). Tiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali atau lima botol dan setiap botol terdiri atas 2 eksplan sehingga terdapat 10 unit percobaan.

a. Pembuatan larutan stok

Unsur hara makro dilarutkan dalam air steril atau aquades dengan volume kurang dari 500 ml dan diaduk diatas hot plate dengan menggunakan magnetic strirer, setelah larut, volume air ditambah hingga mencapai 500 ml. Langkah yang sama juga dilakukan untuk membuat larutan stok mikro (unsur hara mikro). Myoinosotol, vitamin B1, dan FeSO4 + Na2EDTA masing-masing dilarutkan dalam 100 ml air steril. Kinetin dilarutkan dengan air steril dengan konsentrasi 1 mg/l (1000 ppm) dengan volume akhir 100 ml. Kinetin dicampurkan kedalam media tanam dengan konsentrasi sesuai perlakuan.

b. Pembuatan Medium MS

Medium MS digunakan sebagai media tanam yang dibuat menggunakan larutan stok seperti yang telah dijelaskan sebelumnya (Jenis dan komposisi lengkap penyusun medium MS tertera pada Lampiran 1). Untuk satu liter medium, terdiri dari 50 ml larutan hara makro,5 ml larutan hara mikro, 10 ml larutan FeSO4 + NaEDTA, 10 ml Myinositol,dan 1 ml Vitamin. Larutan ditambahkan gula (sukrosa) sebanyak 35 gram dan casein hidrolisat 1 gram. Volume dicukupkan 1000 ml setelah semua komponen tercampur dengan baik dan pH diukur menggunakan pH meter pada 5.6 - 5,8. Jika pH melebihi 5,8 maka berikan HCL namun jika pH kurang dari 5,6 maka diberikan NaOH. Kemudian ditambahkan bacto agar sebanyak 7,5 gram, dan terakhir dipanaskan di dalam *microwave* sampai mendidih. Larutan kemudian dituang ke dalam botol tanam setelah ditambahkan ZPT dengan konsentrasi sesuai perlakuan. Media tanam tersebut disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 121˚C selama 30 menit.

c. Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah tunas dan ruas batang vanili yang masih muda berwarna hijau terang yang direndam dalam air sabun selama 30 menit. Setek batang tersebut dipotong diantara ruas agar tidak terlalu panjang dan mudah untuk tahap sterilisasi berikutnya. Potongan ruas direndam dalam clorox selama 11 menit dan dicuci dua kali menggunakan air steril sebelum direndam dalam alkohol 70% selama 10 menit. Eksplan kemudian dibilas sebanyak 3 kali menggunakan air steril. Eksplan vanili yang telah steril tersebut ditempatkan di dalam petridish dan dipotong 2-3 cm dengan bantuan pinset untuk kemudian ditanam pada medium MS sesuai perlakuan.

Penanaman dilakukan secara aseptic di dalam LAFC menggunakan media MS yang dilengkapi kinetin 1 mg/l dan media MS tanpa penambahan ZPT. Sub kultur dilakukan 30 hari setelah penanaman dengan memindahkan kultur ke media baru yang komposisinya sama dengan media penanaman.

d. Parameter Pengamatan

Komponen pertumbuhan yang diukur adalah kecepatan bertunas yang dihitung berdasarkan jumlah hari yang dibutuhkan oleh eksplan untuk menghasilkan tunas. Jumlah tunas per eksplan, jumlah daun per tunas dan jumlah akar per tunas. Ketiga komponen tersebut dihitung dan diukur pada akhir percobaan (sebulan setelah sub kultur).