

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Apel (*Malus sylvestris Mill*)

Apel (*Malus sylvestris Mill*) merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari daerah Asia barat dengan iklim subtropics. Awal tanaman Apel introduksi ke Indonesia oleh Belanda masih banyak yang menyangkan kemungkinan keberhasilan pertumbuhan buah secara maksimal.

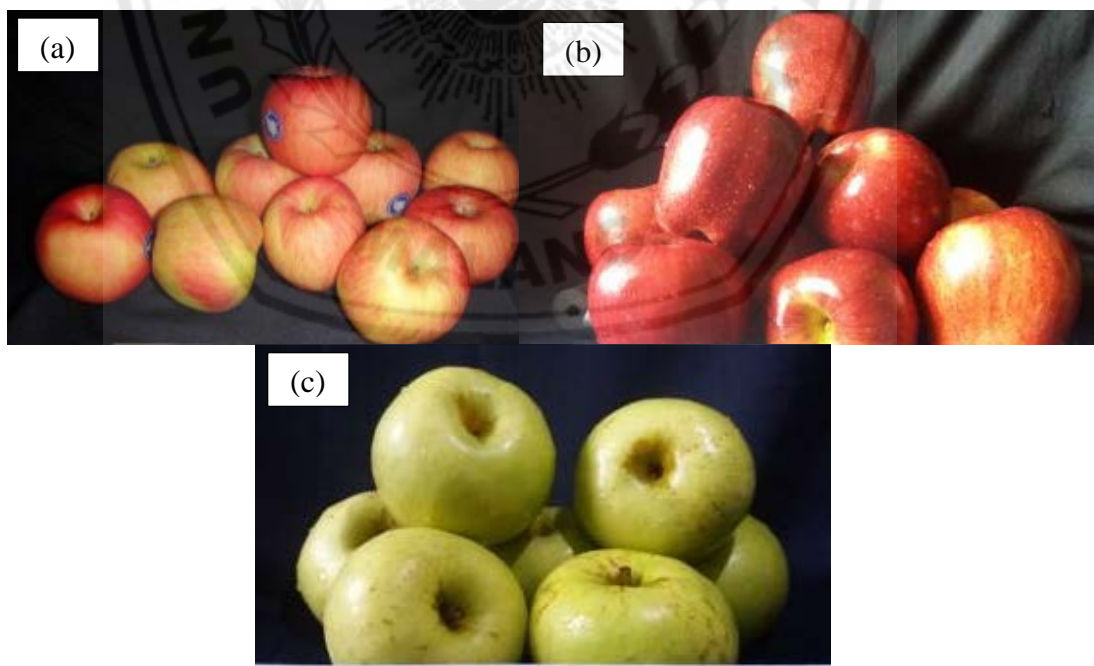
Perkenalan wilayah Malang Raya dengan tanaman Apel dimulai pada tahun 1956 saat seorang peneliti Bapak Widodo membawa bibit Apel ke Jawa Timur dari Cipanas. Setelah melalui beberapa penelitian di daerah Malang Raya akhirnya tanaman Apel menghasilkan buah pada tahun 1962 (Baskara, 2010).

Menurut Warintek (2011), klasifikasi tanaman Apel adalah.

Divisio : *Spermatophyta*
Subdivisio : *Angiospermae*
Klas : *Dicotyledonae*
Ordo : *Rosales*
Famili : *Rosaceae*
Genus : *Malus*
Spesies : *Malus sylvestris Mill*

Tanaman Apel dapat tumbuh dikondisi sub tropis yang memiliki iklim 4 musim, tetapi juga bisa tumbuh di Negara Indonesia. Menurut Baskara (2010) Tanaman Apel dapat tumbuh dan berbuah baik pada ketinggian 800-1200 mdpl yang telah dilakukan penelitian di daerah Malang Raya menunjukkan hasil buah yang tinggi. Curah hujan yang ideal adalah 1000-2600 mm/tahun yang memiliki bulan basah 6-7 bulan dan bulan kering 3-4 bulan.

Tanaman apel memiliki akar tunggang yaitu akar bawah tegak lurus ke dalam tanah berfungsi untuk menyokong tanaman, menyerap unsur hara tanah. Tanaman apel memiliki batang berkayu keras dan kuat. Tanaman ini memiliki kulit yang tebal, berwarna mudah, kecoklatan hingga kuning dan keabu-abuan. Daun tanaman apel memiliki bentuk loong dan oval, memiliki ujung yang runcing. Dan memiliki daun tumpul dan tepi daunnya bergerigi. Tanaman apel memiliki bunga bertangkai pendek, menghadap ketas, berdandan dan pada tiap tandan bunga memiliki 6-7 bunga. Bunga pada tanaman ini tumbuh di ketiak daun, mahkota bunga berwarna putih dan kemerahan. Tanaman apel memiliki buah yang sangat bervariasi yaitu hijau, merah, dan juga kemerahan dengan bentuk oval atau bulat. Buah pada apel memiliki kulit tipis dan kasar serta memiliki pori-pori yang besar. Namun, setelah matang sempurna akan menjadi mengkilat dan juga halus permukaan buah (Baskara, 2010).



Gambar 1. Varietas Apel (a) Fuji, (b) Red Del (Washington), (c) Manalagi

Varietas Fuji (Gambar 1.a) merupakan hasil persilangan antara *Ralls janet* (*Kakko*) dengan *Red Delicious* yang dikembangkan oleh *The Fruit Tree Research Station* (sekarang *National Institute of Fruit Tree Science*) MAFF, Jepang. Varietas ini diberi nama *Fuji* pada tahun 1962 dan diregister dalam Register Pertanian dan Kehutanan sebagai Apel no. 1 Norin. Varietas ini sekarang selain disukai di tempat asalnya Jepang juga telah populer di banyak negara di dunia (Yomusa, 2015).

Apel Fuji memiliki karakter morfologi dari segi perawakan, apel fuji merupakan hibitus jenis pohon dengan kepadatan daun jarang dan tinggi pohon \pm 350 – 400 cm. Dari segi batang, apel fuji memiliki warna batang hijau cokelat dengan permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang tegak dan arah pertumbuhan cabangnya condong. Dari segi daun, apel fuji memiliki duduk daun tersebar dengan posisi daun pada ranting 70° . Daun apel fuji terdapat rambut daun yang banyak dan warna permukaan atas hijau medium sedangkan warna permukaan daun bawah hijau muda serta memiliki keadaan permukaan daun yang berkerut kasar. Daun apel fuji mempunyai bentuk bangun daun bulat telur dengan tepi daun bergerigi, ujung daun meruncing dan pangkal daun runcing. Ukuran daun apel fuji yaitu memiliki panjang daun \pm 8,6 cm, lebar daun \pm 4,8, tebal daun \pm 0,7 cm, tangkai daun \pm 4 cm dan jarak antar nodus \pm 1 cm. Tipe venasi daun fuji yaitu menyirip dengan keadaan tulang daun menonjol dan daging daun yang tipis kertas.

Berat buah sekitar 300 gram, Bentuknya bulat sampai lonjong, berwarna merah sampai coklat kemerahan gelap. Belang jelas dengan warna dasar kuning. Keadaan fusarium layu dan bentuk buah tidak bagus sering terjadi pada beberapa

tahun. Buahnya sangat manis dengan rasa asam sedang, mengandung banyak sari buah dan rasanya enak. Daging buah berwarna putih kekuningan, keras dan agak kasar. Cenderung mengandung banyak air. Kandungan gula sekitar 15%, keasaman 0,4 – 0,5% dan kekerasan daging buah sekitar 15 pounds. Varietas apel ini dapat disimpan lama, sekitar 90 hari pada suhu normal dan sekitar 150 hari pada *cold storage* (Pudjiatmoko, 2008).

Apel Red Delicious (Washington) (Gambar 1.b) Berasal dari Amerika, kulit agak tebal, warna kulit merah hati bergaris-garis, daging buah lunak, berair, rasa manis sedikit asam. Enak dimakan dalam keadaan segar. Kelebihan dari varietas ini adalah tanaman lebih pendek dan dapat tumbuh dan berbuah dengan cepat (Yomusa, 2015). Varietas ini merupakan varietas unggul yang dikembangkan di Amerika. Hal tersebut terbukti dari data U.S Apple Association (2008), yang menyatakan bahwa data produksi nomor satu adalah varietas Red Delicious dengan nilai rata-rata 61,820 (100 42-lb units).

Apel Red Delicious memiliki karakter morfologi dari segi perawakan, apel Red Delicious merupakan hibitus jenis pohon dengan kepadatan daun sedang dan tinggi pohon \pm 450 - 500 cm. Dari segi batang, apel Red Delicious memiliki warna batang cokelat kemerahan dengan permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang tegak dan arah pertumbuhan cabangnya condong. Dari segi daun, apel Red Delicious memiliki duduk daun tersebar dengan posisi daun pada ranting 90° . Daun apel Red Delicious terdapat rambut daun yang jarang dan warna permukaan atas hijau tua sedangkan warna permukaan daun bawah hijau muda serta memiliki keadaan permukaan daun yang berkerut halus. Daun apel Red Delicious mempunyai bentuk bangun daun bulat telur dengan tepi daun bergerigi,

ujung daun meruncing dan pangkal daun runcing. Ukuran daun apel Red Delicious yaitu memiliki panjang daun $\pm 8,7$ cm, lebar daun $\pm 4,7$, tebal daun $\pm 0,6$ cm, tangkai daun ± 4 cm dan jarak antar nodus ± 1 cm. Tipe venasi daun Red Delicious yaitu menyirip dengan keadaan tulang daun menonjol dan daging daun yang tipis kertas.

Apel manalagi (Gambar 1.c) paling sering dijumpai berwarna hijau. Rasa daging buahnya manis walaupun belum matang, aromanya kuat, kandungan airnya kurang. Daging buah berwarna putih kekuningan. Bentuk buah agak bulat dengan ujung dan pangkal berlekuk dangkal. Apel ini memiliki produktivitas yang cukup tinggi yaitu antara 10,9 – 58,6 kg/pohon (Dinas Pertanian Kota Batu, 2010). Angka konsumsi apel ini cukup tinggi di kalangan masyarakat dengan nilai mencapai 875 g/orang/bulan (Sumarwan, 2016).

Apel manalagi memiliki karakter morfologi dari segi perawakan, apel manalagi merupakan hibitus jenis pohon dengan kepadatan daun sedang dan tinggi pohon $\pm 470 - 500$ cm. Dari segi batang, apel manalagi memiliki warna batang hijau kuning dengan permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang tegak dan arah pertumbuhan cabangnya condong. Dari segi daun, apel manalagi memiliki duduk daun tersebar dengan posisi daun pada ranting 30° . Daun apel manalagi terdapat rambut daun yang jarang dan warna permukaan atas hijau tua sedangkan warna permukaan daun bawah hijau muda serta memiliki keadaan permukaan daun yang berkerut kasar. Daun apel manalagi mempunyai bentuk bangun daun bulat telur dengan tepi daun bergerigi, ujung daun meruncing dan pangkal daun runcing. Ukuran daun apel manalagi yaitu memiliki panjang daun $\pm 8,8$ cm, lebar daun $\pm 3,4$, tebal daun $\pm 0,5$ cm, tangkai daun $\pm 3,3$ cm dan jarak

antar nodus ± 2 cm. Tipe venasi daun manalagi yaitu menyirip dengan keadaan tulang daun menonjol dan daging daun yang tipis kertas.

Apel Manalagi adalah salah satu dari 2 jenis apel andalan kota Malang. Apel ini memiliki warna buah tetap hijau kekuningan, berbentuk jorong, pangkal dan pucuk berlekuk dalam. Rasa apel ini segar dan mempunyai aroma yang kuat. Daging buahnya berwarna putih halus dan berair. Apel hijau, terutama jenis yang asam banyak diolah lagi dalam industri besar untuk dibuat menjadi produk awetan seperti selai (Hana Fruits, 2013).

Apel manalagi mempunyai rasa manis walaupun masih muda dan aromanya harum. Bentuk buahnya bulat dan kulit buahnya berpori putih. Jika dibungkus kulit buahnya berwarna hijau muda kekuningan, sedangkan jika dibiarkan warnanya akan tetap hijau. Diameter buah berkisar antara 5-7 cm dan berat 75-100 gram/buah (Hapsari, 2015).

Beberapa varietas apel yang digunakan sebagai bahan eksplan yaitu apel fuji, *Gala*, *Red Delicicious*, dan Manalagi.

Perbanyakan tanaman berkayu terdapat beberapa cara perbanyakan secara vegetative, generative, dan kultur in vitro. Perbanyakan secara vegetative seperti okulasi, grafting, dan top working. Okulasi adalah cara penyambungan satu mata tunas sebagai entres (batang atas) dengan batang bawah pada tanaman sejenis (sefamili), bibit okulasi dapat berbuah mulai umur 3 tahun (Nalia, 2010). Grafting (sambung pucuk) adalah suatu seni menyambung bagian dari satu tanaman entres (batang atas) ke bagian tanaman lain batang bawah sedemikian rupa sehingga tercapai persenyawaan dan kombinasi ini terus tumbuh membentuk tanaman baru.

Top working adalah system perbanyakan dengan cara penyambungan pucuk/temple pada bibit muda yang biasa dilakukan, yang membedakan adalah pada kondisi bawahnya sudah berwujud pohon yang besar dengan diameter 25 – 30 cm. Sedangkan pada penyambungan bibit muda atasnya berdiameter 0,5-1 cm (Rebin, 2013).

2.2 Kultur *in vitro*

Kultur *in vitro* tanaman merupakan teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh), serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2003).

Kelebihan dari perbanyakan vegetative adalah membuat bibit dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat, pertumbuhan tanaman yang seragam, menghasilkan gabungan tanaman baru yang mempunyai keunggulan dari segi perakaran dan produksinya, memanfaatkan pohon yang minim produksi diubah menjadi pohon yang lebih produksi (Junior, 2013). Kekurangan dari perbanyakan secara vegetative menggunakan tenaga ahli, memerlukan entres yang lebih banyak, memerlukan perawatan yang intensif, membutuhkan lahan yang luas untuk perbanyakannya (Barnes, 2002).

Kelebihan dari kultur *in vitro* adalah rata-rata multplikasi tinggi, lingkungan dapat dikontrol atau diubah untuk memenuhi kebutuhan spesifik dari tanaman, produksi metabolit skunder, terhindar dari jamur, bakteri, dan virus, karena ditumbuhkan di media yang steril, konservasi spesies tanaman yang terancam, dan membutuhkan lahan yang tidak terlalu luas (Sidhu, 2010).

Kekurangannya adalah membutuhkan biaya yang mahal karena menggunakan teknologi, peralatan dan bahan yang mahal, membutuhkan tenaga ahli, pekerjaan yang sangat banyak, dan membutuhkan listrik tanpa henti.

Teknik kultur jaringan memiliki dua keutamaan utama yaitu untuk memperbanyak cepat dalam jumlah yang banyak dan seragam sesuai induknya, dan untuk menghasilkan bibit yang baru unggul dalam perbaikan tanaman (Matjik, 2005).

Keberhasilan dalam penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan. Hara terdiri dari komponen utama dan komponen tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral, sumber karbon (gula), vitamin dan pengatur tumbuh. Komponen lain seperti senyawa nitrogen organik, berbagai asam organik, metabolit dan ekstrak tambahan tidak mutlak, tetapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyakannya (Wetter dan Constabel, 2001).

Macam-macam dari kultur *in vitro* seperti kultur tunas, kultur kalus, kultur suspensi, kultur protoplas, dan kultur embrio. Kultur tunas adalah kultur jaringan yang menggunakan eksplan yang berasal dari organ tumbuhan yang berupa pucuk bagian mata tunas. Penggunaan mata tunas karena bagian ini termasuk bagian juvenile dan sel-selnya masih aktif membelah sehingga diharapkan eksplan lebih mudah diinduksi (Gunawan, 2004).

Kultur tunas ini merupakan salah satu teknik *in vitro* yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan merangsang munculnya tunas-tunas aksilar dari mata tunas yang dikulturkan. Eksplan yang digunakan dalam kultur tunas

dapat berasal dari tunas lateral, tunas samping atau bagian dari batang yang mengandung satu atau lebih mata tunas (Herawan, 2015).

Kultur tunas adalah jaringan yang muncul pada eksplan dalam beberapa minggu pemindahan ke media pertumbuhan dengan hormone yang cocok. Pembentukan tunas terjadi dari proses diferensiasi sel, yang dikenal sebagai dediferensiasi dan redeferensiasi sel. Hormon pertumbuhan yang berbeda digunakan untuk mereangsang induksi dan perkembangan. Dalam *Cephaelis ipecacuanha* 2,4-D dan NAA bersama dengan kinetin merangsang induksi tunas dan pertumbuhan. Tanaman baru berhasil diregenerasikan dari tunas melalui organogenesis (Sidhu, 2010).

Kultur suspensi terbentuk secara *in vitro* ketika tunas gembur ditanam pada media cair dalam wadah yang sesuai dan terus-menerus diganggu untuk memberikan suspensi sel gratis. Kultur suspensi terdiri dari dua jenis *batch* dan *continue*. Dalam kultur *batch* sebagian dari suspensi sel awal diambil dan di subkultur pada media segar secara berkala. Dalam kultur *continue* media segar ditambahkan kedalam kultur dan sel yang berlebihan suspensi yang ada dikeluarkan pada interval regular. Kultur suspensi secara luas digunakan dalam produksi skala besar dari metabolit sekunder (Sidhu, 2010).

Kultur protoplas adalah sel-sel tanaman di mana dinding sel telah dihapus oleh enzim pencernaan atau proses mekanis. Protoplas diisolasi dengan mencelupkan jaringan tanaman ke dalam larutan hipertonik, menyebabkan membrane plasma menyusut dari dinding sel. Regenerasi tanaman berhasil dicapai oleh kultur protoplas di *A. Judaica* dan *E spinosissimus* (Sidhu, 2010).

Kultur embrio adalah memisahkan embrio yang belum dewasa dan menumbuhkannya secara kultur jaringan untuk mendapatkan tanaman yang viable (Daisy dan Ari, 2004). Memilih embrio sebagai eksplan dikarenakan tersedianya buah, memiliki keseragaman fisiologis tinggi dan dapat dibawa dalam waktu, jarak yang cukup panjang (Teixira, Sondahl dan Kirby, 2004).

Kultur tunas ini merupakan salah satu teknik *in vitro* yang digunakan untuk perbanyakan tanaman dengan merangsang munculnya tunas aksilar dari mata tunas aksilar dari mata tunas yang dikulturkan. Eksplan yang digunakan dalam kultur mata tunas yang digunakan dalam kultur tunas berasal dari tunas lateral, tunas samping atau bagian batang yang mengandung satu atau lebih mata tunas (Herawan, 2015).

Eksplan mata tunas yang telah tumbuh dengan kisaran panjang 2,5 cm-3,5 cm dalam kultur tunas tanaman Cendana (Herawan, 2015). Bahan tanam yang digunakan pada pengaruh komposisi media terhadap inisiasi tanaman Apel *Malus sylvestris* Mill) yaitu, tunas tanaman apel steril yang berasal dari kecambah apel varietas Fuji (Samudin, 2009). Menurut Ghanbari (2014) Eksplan yang digunakan adalah stek tunggal dipilih sebagai eksplan dari 3 apel batang bawah termasuk Azayesh-Esfahan and Morabbaeei-Mashhad (Iranian native cultivars) and M9 sebagai batang bawah kecil. Menurut Medza *dkk* (2013) Eksplan nodal diambil dari setidaknya bibit berusia dua bulan yang telah membentuk jumlah minimal empat node. Semua eksplan khusus dikumpulkan dari luas mulai dari 10 cm dari pangkal batang dan berakhir pada 5 cm dibawah kuncup apikal.

Metode yang digunakan dalam multiplikasi tunas dari hasil penelitian Herawan (2015) dengan menggunakan mata tunas yang telah tumbuh dan

berkembang didalam media induksi. Mata tunas ditumbuhkan selama 4 minggu kemudian disubkultur ke media yang baru. Samudin (2009) dalam inisiasi tanaman apel menggunakan tunas apel yang berasal dari kecambah apel varietas Fuji. Ghanbari (2014) pertumbuhan tanaman pada propagasi batang bawah 3 varietas apel secara *in vitro*, dengan menggunakan eksplan yang tumbuh selama 3 kali sub kultur dan memindahkan seluruh eksplan kultur ke dalam media baru. Selanjutnya tahap pengakaran, menggunakan 2 media yang berbeda yaitu media MS dan $\frac{1}{2}$ MS untuk menumbuhkan akar dari multiplikasi tunas.

Kultur jaringan akan lebih besar persentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan meristem adalah jaringan muda, yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah (Hendrayono dan Wijayanti, 2004). Salah satu bagian jaringan meristem pada tanaman terdapat pada bagian tunas. Eksplan berupa tunas pucuk merupakan eksplan yang paling tinggi persentasenya menghasilkan planlet, terutama jika ditumbuhkan pada media tanpa auksin (Irawati, 2000).

Perbanyak tanaman menurut Widyastuti (2002) dengan teknik *in vitro* memiliki banyak kelebihan yaitu tanaman dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim karena dilakukan diruang tertutup, daya multiplikasi tinggi dari bahan tanaman yang kecil, tanaman yang dihasilkan seragam dan bebas penyakit terutama bakteri dan cendawan.

Kelemahan dari teknik kultur jaringan seperti membutuhkan biaya awal yang relative tinggi untuk laboratorium dan bahan kimia dan dibutuhkan keahlian khusus untuk melaksanakannya (Yusnita, 2003). Menurut Rahardja dan Wahyu

(2003) kendala kultur *in vitro* dalam bahan tanam (eksplan), karena masih adanya cendawan dan bakteri yang masih ada pada jaringan tanaman.

Kultur jaringan Apel dilakukan melalui multiplikasi tunas, organogenesis dan embryogenesis somatic. Prosedur multiplikasi tunas lebih sederhana dan kemungkinan terjadinya keragaman somaklonal lebih rendah dibandingkan dengan organogenesis dan embryogenesis somatic karena digunakan eksplan yang terdeferensiasi. Sebagai bahan eksplan bagi multiplikasi tunas adalah tunas pucuk dan tunas samping (Sumaryono, 2011).

2.3 Multiplikasi Tunas

Multiplikasi adalah kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan pada media. Kegiatan ini dilakukan di laminar flow untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan. Tabung reaksi yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak-rak dan ditempatkan di tempat yang steril dengan suhu kamar. Setelah 1 minggu eksplan dipindahkan dalam media multiplikasi. Eksplan jarak yang telah tumbuh panjang dapat dilakukan pemotongan pada setiap nodusnya, hal ini dilakukan untuk memperanyak jumlah planlet. Media yang diberikan biasanya ditambahkan sitokinin untuk merangsang multiplikasi pucuk (Kristina, 2001).

Proses penggandaan tanaman dimana tanaman dipotong-potong pada bagian tertentu menjadi ukuran yang lebih kecil kemudian ditanam kembali ke media agar yang telah disiapkan. Proses ini dilakukan secara berulang setiap tanggal waktu tertentu. Pada setiap siklusnya tanaman dipotong dan menghasilkan perbanyak dengan tingkat RM (Rate Of Multiplication) tertentu yang berbeda-beda untuk setiap tanaman (Kristina, 2001).

Kemampuan multiplikasi akan meningkat apabila biakan disubkultur berulang kali. Namun perlu diperhatikan, walaupun subkultur dapat meningkatkan faktor multiplikasi dapat juga meningkatkan terjadinya mutasi. Untuk itu, biakan perlu diistirahatkan pada media MS0, yaitu tanpa zat pengatur tumbuh. Biasanya pada jarak sebelum dilakukan induksi akar planlet di pindahkan dalam media MS O guna penetralan dari zpt yang sebelumnya diberikan (Kristina, 2001).

Laju multiplikasi tunas apel dapat ditingkatkan menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin atau kombinasi sitokinin dan auksin sebagai hormone eksogen dalam memacu pembentukan tunas, daun dan ruas tanaman (Samudin, 2009). Multiplikasi tunas atau penggandaan tunas adalah perbanyakan eksplan yang berasal dari inisiasi kultur mata tunas dimana eksplan dapat ditanam pada media yang sama tanpa melalui pemindahan media yang baru. Tahap multiplikasi tunas ini juga merupakan tahap pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar yang tumbuh dari mata tunas adventif secara bersama-sama (Armini *et al*, 2002). Tunas adventif adalah tunas yang tumbuh tidak hanya di ujung batang dan ketiak daun. Tunas ini tumbuh pada bagian yang biasanya tidak bertunas yaitu pada akar dan daun (Cafependidikan, 2016).

2.4 Kombinasi ZPT

2.4.1 Perbandingan Kombinasi ZPT Auksin dan Sitokinin

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mampu mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Santoso dan Fatimah, 2003). Hal serupa dikemukakan oleh Hendaryono dan Wijayanti (2004) zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam

jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai kenaikan volume sel (Hendaryono dan Wijayanti, 2004)

Zat pengatur tumbuh auksin menurut Kusumo (1984) zat yang memiliki sifat khas, yaitu mendorong perpanjangan sel pucuk. Meskipun dapat mempengaruhi proses lain namun pengaruh utamanya adalah memperpanjang sel pucuk. Menurut Hartman dan Kester (2004) auksin berperan dalam mendorong pemanjangan kuncup yang sedang berkemabang. Selain itu auksin juga berperan dalam pemanjangan batang, pertumbuhan, diferensiasi, dan percabangan akar. Jenis auksin yang sering digunakan adalah IBA (*Indolebutyric Acid*) yang dihasilkan secara alami oleh tanaman.

Beberapa peranan ZPT dalam kultur *in vitro* menurut Widyastuti dan Donowati (2001) sebagai berikut :

1. Senyawa sintetik yang disintesa diluar jaringan tanaman dan mempunyai sifat fisiologis dan biokimia yang serupa dengan hormone tanaman adalah ZPT. Hormon tanaman dan ZPT pada umumnya mendorong terjadi sesuatu pertumbuhan dan perkembangan.
2. Peranan auksin dalam kultur *in vitro* terutama untuk pertumbuhan tunas, suspensi sel, dan pertumbuhan akar. Bersama-sama sitokinin dapat mengatur tipe morfogenesis yang dikehendaki.

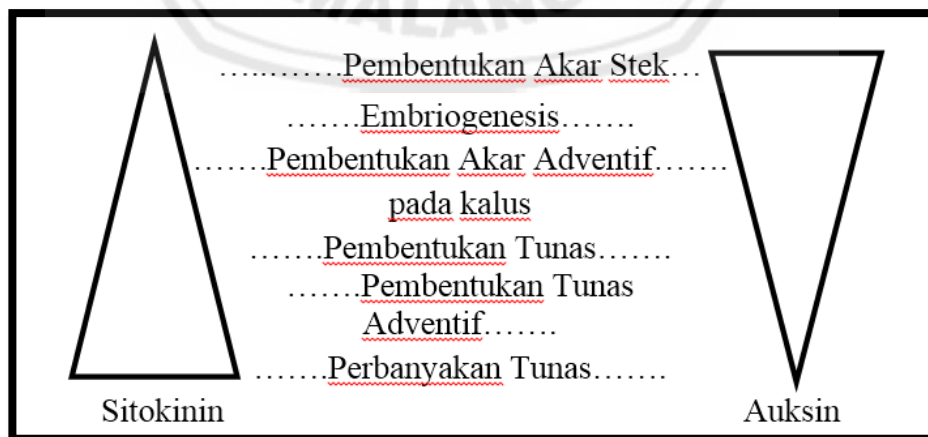
3. Pengaruh sitokinin di dalam kultur *in vitro* antara lain berhubungan dengan proses pembelahan sel, proliferasi tunas ketiak, penghambatan pertumbuhan akar tanaman.

Sitokinin dan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan (Hendaryono dan Wijayanti, 2004). Metode Mohr banyak digunakan pada penelitian terhadap berbagai macam jenis tanaman baik tanaman hias, tanaman buah-buahan, tanaman sayuran maupun tanaman perkebunan. Metode ini bertujuan untuk mengetahui berapa dosis kombinasi terbaik antara zat pengatur tumbuh sitokini dan auksin. Berikut ini disajikan kombinasi kedua macam golongan zat pengatur tumbuh tersebut di dalam metode Mohr.

Tabel 1. Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Golongan Auksin dan Sitokinin dalam Metode Mohr

No	Zat Pengatur	Dosis Kombinasi Perbandingan					
01	Sitokinin	0	1	2	3	4	5
02	Auksin	5	4	3	2	1	0
Hasil Pertumbuhan		Akar saja		Akar dan Tunas		Tunas Saja	

Sumber : Mohr dan Schopfer (2004)



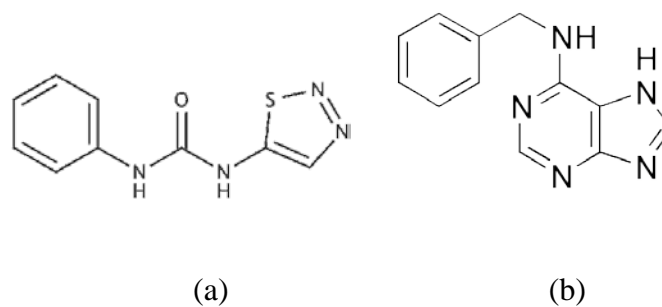
Gambar 2. Pengaruh Perimbangan Auksin dan Sitokinin terhadap Arah Pertumbuhan Jaringan Tanaman pada Kultur Jaringan (Santoso dan

Nursandi, 2003)

Menurut Harahap dan Nusyirwan (2014) hasil penelitian tentang induksi tunas nanas *in vitro* dengan pemberian dosis auksin dan sitokinin yang berbeda, perlakuan yang memperlihatkan kombinasi sitokinin TDZ 4 ppm dan auksin IBA 0,5 ppm, menghasilkan jumlah tunas tertinggi 11,2 tunas pada pengamatan 14 MST.

2.4.2 *Thidiazuron (TDZ) dan indolebutyric acid (IBA)*

Sitokinin berpengaruh terutama pada pembelahan sel dalam pertumbuhan jaringan (Hendaryono dan Wijayanti, 2004). Zat ini mempergiat pembelahan sel. Jelas juga pengaruhnya terhadap pertumbuhan tunas-tunas serta akar-akar. *Thidiazuron (TDZ)* diklasifikan sebagai salah satu dari sitokinin yang menstimulasi banyak respon yang mirip dengan stimulasi dari sitokinin alami. Sebelumnya, potensi TDZ sebagai morfo-regulator telah diamati pada aplikasi kultur jaringan tanaman untuk perkembangan sistem morfogenetik yang dapat dilakukan dengan mudah. Menurut Mok *et al.* (1982) TDZ dapat mematahkan dormansi pada biji. Thidiazuron walaupun dalam konsentrasi kecil dapat menginduksi perkecambahan dengan cepat pada biji. Penelitian Soliman (2013), menyatakan bahwa pada eksplan buah peach, dengan medium yang mengandung 3 mg/l TDZ menghasilkan persentase regenerasi tunas yang paling tinggi, yaitu 64.8 % dengan panjang tunas 1,28 cm. Pemberian TDZ sebesar 5 mg/l menurunkan persentase regenerasi tunas hingga 50.3% pada buah peach (Soliman, 2013). Rumus bangun perbandingan dari ZPT TDZ dan BAP disajikan dalam gambar berikut ini.



Gambar 3. Rumus Bangun (a) TDZ (Glenthams, 2015) dan (b) BAP (Wattimena, 1998)

BAP biasanya digunakan untuk induksi kalus tapi yang terpenting adalah BAP dapat menginduksi pembentukan tunas, pucuk atau kecambah. Selain itu, BAP juga efisien dalam mendorong inisiasi tunas bunga tapi tidak mempengaruhi perkembangan tanaman selanjutnya. TDZ juga memiliki peran sebagai inhibitor sitokinin oksidase yang merupakan enzim menghilangkan keaktifan sitokinin tipe adenin bebas. Thidiazuron merupakan salah satu sitokinin tipe phenylurea sintetik yang memiliki kemampuan lebih baik dalam menginduksi tunas, di antara sitokinin lain seperti zeatin, benzylaminopurin dan kinetin (Mok dan Mok 2001; Kou et al. dalam Kusmianto, 2008).

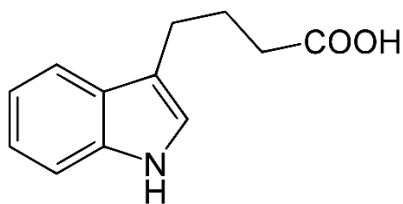
Thidiazuron adalah senyawa yang mirip dengan sitokinin yang dapat menginduksi perbanyakan tunas lebih cepat daripada sitokinin jenis lain (Khawar et al., 2003) dan mempunyai pengaruh yang sangat kuat pada pertumbuhan tanaman, biasanya digunakan secara bersama-sama dengan Benzil Amino Purin (BAP). TDZ sering digunakan untuk memberikan sebuah ‘pemicu awal’ pada kultur baru, terutama tanaman berkayu. Penggunaan TDZ berpengaruh besar pada tanaman berkayu seperti *Azalea*, *Prunus* maupun *Acer*, dan pada spesies berbatang lunak seperti *Asteraceae* dan *Liliaceae* (Pelletier et al., 2004). Pada penelitian sebelumnya (Ardiansyah, 2016) mengatakan bahwa penambahan 3 mg/l

TDZ dapat merangsang tumbuhnya eksplan apel lebih cepat dan menghasilkan tunas yang banyak dan memiliki bobot berat basah yang tinggi.

Sitokinin dan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan (Hendaryono dan Wijayanti, 2004). Kombinasi zat pengatur tumbuh antara grup auksin dan sitokinin dengan metode Mohr merupakan kunci keberhasilan dalam kultur jaringan. Metode Mohr banyak digunakan pada penelitian terhadap berbagai macam jenis tanaman baik tanaman hias, tanaman buah-buahan, tanaman sayuran maupun tanaman perkebunan. Metode ini bertujuan untuk mengetahui berapa dosis kombinasi terbaik antara zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin. Berikut ini disajikan kombinasi kedua macam golongan zat pengatur tumbuh tersebut di dalam metode Mohr.

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan adalah *indolebutyric acid* (IBA), *indoleacetic acid* (IAA) dan *naphthaleneacetic acid* (NAA). IBA dan NAA lebih efektif daripada IAA, sebab keduanya lebih stabil digunakan dalam penyetakan. IBA dan NAA lebih stabil terhadap oksidasi dan cahaya (Zaerr dan Mapes, 1982). Menurut Salisbury dan Ross (2002), NAA lebih efektif dari IAA karena NAA tidak dapat dirusak oleh IAA oksidasi atau enzim lainnya, sehingga bertahan lebih lama. Sedangkan IBA lazim digunakan untuk memacu perakaran dibandingkan dengan NAA atau auksin lainnya. Menurut Ponganan (2004) menjelaskan bahwa NAA dan IBA mempunyai sifat translokasi yang lambat dan persistensi tinggi serta aktivitas yang rendah sehingga selang perakaran cukup besar. Selain itu dalam penelitian ini juga digunakan IAA untuk pengujian. Menurut Wattimena (2001) menjelaskan bahwa IAA merupakan salah satu hormon tumbuh yang berperan untuk memacu

pertumbuhan sepanjang sumbu longitudinal. Hal spesifik yang terlihat berupa peningkatan pembesaran sel yang berlangsung ke segala arah secara isodiametric



Gambar 4. Struktur Kimia Indole Butyric Acid (IBA) (Sumber : George et al., 2008)

IBA merupakan salah satu hormon yang berperan untuk memacu pertumbuhan sepanjang sumbu longitudinal. Hal spesifik yang terlihat berupa peningkatan pembesaran sel yang berlangsung ke segala arah secara isodiametrik. Auksin juga berperan dalam pembelahan dan pembentangan sel (Wattimena, 2001). Kajian dengan menggunakan hormon tumbuh IBA untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan sel sekretori pada kunyit belum dilakukan. Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Azhar (2001) pada tanaman tembakau. Perlakuan pemberian IBA akan berpengaruh terhadap fisiologi sel daun meliputi perubahan jumlah trakea, jumlah stomata, kadar air, kadar nikotin, dan tinggi tanaman.

Menurut Harahap dan Nusyirwan (2014) semakin tinggi konsentrasi sitokinin TDZ yang diberikan akan semakin menurunkan jumlah akar yang terbentuk. Perlakuan TDZ 0 ppm dikombinasikan dengan IBA 1 ppm dengan rata-rata jumlah akar terbentuk 2,4 akar setelah diamati 14 MST.

Eksplan adalah potongan/bagian jaringan yang diisolasi dari tanaman yang digunakan untuk inisiasi suatu kultur in vitro (Gitonga *dkk*, 2010). Eksplan yang digunakan pada teknik mikropropagasi harus bebas dari kontaminan, seperti fungi

dan bakteri. Teknik sterilisasi permukaan banyak yang digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang terdapat pada permukaan eksplan (Ardiansyah *dkk*, 2014).

Pengaruh subkultur berulang kali pada multiplikasi tunas dan pertumbuhan kurang mendapat perhatian. Menurut Naik *dkk* (2013) Melakukan subkultur pada eksplan *Bacopa monnieri* hingga 10 kali subkultur dapat menurunkan pertumbuhan tunas, berat segar, dan berat kering. Subkultur yang optimal dilakukan sebanyak 6 kali, dapat meningkatkan pertumbuhan tunas yaitu sebanyak 79 tunas per eksplan, berat segar yang optimal 2.800 g dan berat kering 0.190 (Naik *dkk*, 2013).

Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur tunas pada tanaman Cendana dari hasil penelitian Herawan (2015) pada tahap perakaran menggunakan media MS + 20 mg/l IBA + 1 mg/l IBA dan 0,01 mg/l NAA menunjukkan bahwa rerata tingkat keberhasilan tertinggi mencapai 40% terhadap klon WS6. Penggunaan larutan garam makro dengan konsentrasi rendah lebih baik dari larutan dengan konsentrasi tinggi dalam menginduksi perakaran. Fatmawati *dkk* (2016) peningkatan multiplikasi jumlah tunas tembakau memiliki hasil yang baik dengan memberikan kombinasi hormon 0,5 ppm IBA dan 2 ppm TDZ dengan menghasilkan jumlah 34 tunas. Sitokinin sangat penting dalam menginduksi tunas tembakau, tetapi keseimbangan antara TDZ dan IBA sangat penting dalam menginduksi tunas. Melalui subkultur tunas apel, dengan memperbanyak dan merangsang pertumbuhan tunas yang berasal dari organ berupa pucuk bagian mata tunas.

Penggunaan TDZ pada tanaman cengkeh dapat meningkatkan inisiasi tunas cengkeh secara *in vitro*. Menurut Haris (2013) penggunaan konsentrasi TDZ yang tepat untuk inisiasi tunas adalah 6 ppm, karena dapat mempercepat pembentukan tunas selama 12 hari. Yatim (2016) dengan menggunakan perbedaan konsentrasi TDZ pada tanaman pisang raja bulu untuk meningkatkan multiplikasi tunas, menunjukkan konsentrasi 3 ppm TDZ memiliki rata-rata jumlah tunas tertinggi yaitu 6,33 tunas dibandingkan konsentrasi yang lain. IBA sebanyak 0,2 ppm pada tanaman tembakau berpengaruh terhadap panjang akar dengan rata-rata 36,02 (Ningsih,2015).

Ghanbari (2014) menunjukkan bahwa media jenis dan batang bawah yang sesuai 1,5 mg L⁻¹ BA menunjukkan tingkat multiplikasi tunas yang maksimum dengan rata 5,45 tunas per eksplan. Keresia *dkk* (2012) pengaruh jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berpengaruh dalam proliferasi tunas apel yaitu pada perlakuan B2 (BPM+1mg/L TDZ). Penggunaan perlakuan B2 menunjukkan hasil yang paling baik dengan jumlah tunas per eksplan sebesar 3,6 tunas.