

## Perbanyak Tanaman Apel (*Malus sp*) Batang Bawah Secara *In Vitro* : Pengaruh Jenis Media dan ZPT

### Propagation *In Vitro* Of Apple Plant (*Malus sp*) Rootstock: Effects Of Type Media and PGR

Rayhanah Azzahra<sup>1\*)</sup>, Darmawan Saptadi<sup>1)</sup>, dan Baiq Dina Mariana<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Brawijaya University  
 Jl. Veteran, Malang 65154, Indonesia

<sup>2)</sup> Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Jeruk dan Buah Sub Tropika (Balitjestro)  
 Jl. Raya Tlekung No. 1 Beji, Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur 65327

\*Email: [Rayhanahazzahra@gmail.com](mailto:Rayhanahazzahra@gmail.com)

#### ABSTRAK

Apel merupakan buah komersial yang diminati untuk budidaya. Apel biasanya diperbanyak secara vegetatif dengan menggunakan stek, cara ini terkendala dengan penyediaan batang bawah karena biji apel sulit dikecambahkan. Persediaan batang bawah dapat dilakukan secara vegetatif dengan kultur *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui media dasar dan kombinasi ZPT sitokinin BA dan giberelin GA3 terbaik untuk regenerasi apel. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juli 2017 di Balitjestro. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 jenis media dasar dan faktor kedua kombinasi ZPT sitokinin BA dan giberelin GA3. Data disajikan dalam bentuk grafik dari Microsoft Excel. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan dua media dan konsentrasi ZPT yang digunakan hanya bisa menghasilkan kalus dari eksplan daun apel batang bawah, sehingga tidak didapatkan media dan konsentrasi yang cocok untuk pertumbuhan eksplan daun apel batang bawah. Namun, media MSV semua eksplan menghasilkan kalus, sedangkan media DKW pada perlakuan DBG2 dan DBG3 tidak menghasilkan kalus.

Kata kunci: Apel, Kalus *In Vitro*, Media dan ZPT.

#### ABSTRACT

Apple is a commercial fruit of interest for cultivation. Apples are usually propagated vegetative by using cuttings, this way is constrained by the provision of rootstocks because apple seeds are difficult to be added. Lower stem stock can be done vegetative with *in vitro* culture. The purpose of this research is to know the basic and combination of PGR BA and GA3 for regeneration of apple. This research was conducted from March to July 2017 at Balitjestro. The research used Factorial Randomized Completely Randomized Design with 2 basic media types and second factor combination of PGR BA + GA3. The data is presented in graphical form from Microsoft Excel. The result of this research can be concluded that the treatment of two media and concentration of ZPT used can only produce callus from explant of apple root of rootstock, so there is no media and concentration suitable for growth of apple leaf of apple rootstock. However, MSV media all explants produce callus, whereas DKW media on DBG2 and DBG3 treatment does not produce callus.

Keywords: Apple, Callus, *In Vitro*, Media, and PGR.

#### PENDAHULUAN

Apel merupakan buah yang kaya akan vitamin C, setengah dari kandungan

vitamin C apel terletak pada kulitnya. Manfaat pada buah apel baik untuk kesehatan manusia dan pengobatan serta pencegahan beberapa penyakit seperti terjadinya resiko kanker, penyakit jantung, asma dan diabetes (Boyer and Liu, 2014).

Kebutuhan buah apel di Indonesia cukup meningkat setiap tahunnya. Produksi dalam negeri belum mampu mengimbangi kebutuhan akan buah apel, sehingga impor merupakan satu-satunya jalan yang ditempuh untuk mengatasi masalah tersebut. Produksi apel di Indonesia juga mengalami peningkatan dan penurunan pada tahun 2008-2014 (Dirjen Hortikultura, 2015).

Benih apel mempunyai kemampuan perkecambahan rendah dan termasuk dalam benih rekalsitran. Rendahnya perkecambahan pada apel ini mengakibatkan rendahnya benih apel yang tersedia jika diperbanyak secara generatif. Oleh karena itu, persediaan benih ini dapat dilakukan secara vegetatif. Perbanyak vegetatif pada apel biasanya dilakukan dengan teknik penempelan (okulasi), sambungan (grafting) atau stek. Kendala pada perbanyak okulasi atau grafting adalah penyediaan batang bawah apel yang masih kurang. Perkecambahan yang sulit dan penyediaan benih untuk batang bawah yang banyak adalah kendala dari perbanyak secara vegetatif sehingga digunakan teknik kultur jaringan sebagai alternatif penyediaan benih batang bawah.

Keuntungan penggandaan bibit melalui kultur jaringan yaitu dapat memperoleh bahan tanaman dalam jumlah banyak, seragam, dan bebas OPT sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyak selanjutnya (Lestari, 2011). Perbanyak dengan kultur jaringan perlu ditujukan untuk penyediaan batang bawah apel secara masal yang dapat digunakan sewaktu-waktu.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan mempunyai kemampuan untuk membantu pembelahan sel. ZPT sangatlah penting dalam komponen media dan diperlukan dalam kombinasi media (Ghanbari, 2004). Penggunaan konsentrasi ZPT pada media berbeda bisa mempengaruhi pertumbuhan eksplan yang

digunakan dan penggunaannya tergantung pada tujuan yang ingin dicapai.

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Balitjestro pada bulan Maret-Juli 2017. Bahan yang digunakan adalah daun berukuran 0.5 cm, daun berasal dari planlet batang bawah apel lokal berumur 6 bulan setelah inokulasi dan bahan kimia pembuatan media dan ZPT sitokinin BA dan giberelin GA3. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, botol kultur, timbangan analitik, bunsen, *Laminar Air Flow*, scapel dan mata pisau, pinset, *petridish*, mikroskop, dan rak kultur.

Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah 2 media yaitu media MSV (Murashige and Skoog modifikasi Van Der Salm) dan DKW (Driver & Kuniyaki Walnut) dan faktor kedua adalah konsentrasi ZPT dengan 5 (lima) kombinasi BA+GA3 (mg/l). Setiap perlakuan dalam satu ulangan terdapat 3 *petridish* yang ditanam 15 eksplan daun. Pengamatan dalam penelitian ini dilakukan dengan 2 (dua) cara kualitatif dan kuantitatif, yaitu Waktu inisiasi kalus (His), Presentase jumlah kalus, Ukuran kalus (mm), Tekstur kalus, Warna kalus, dan Vigor kalus. Data yang diperoleh akan dianalisis ragam dan apabila hasil tidak memenuhi asumsi untuk dianalisis ragam maka akan ditampilkan dalam bentuk grafik dari Microsoft Excel.

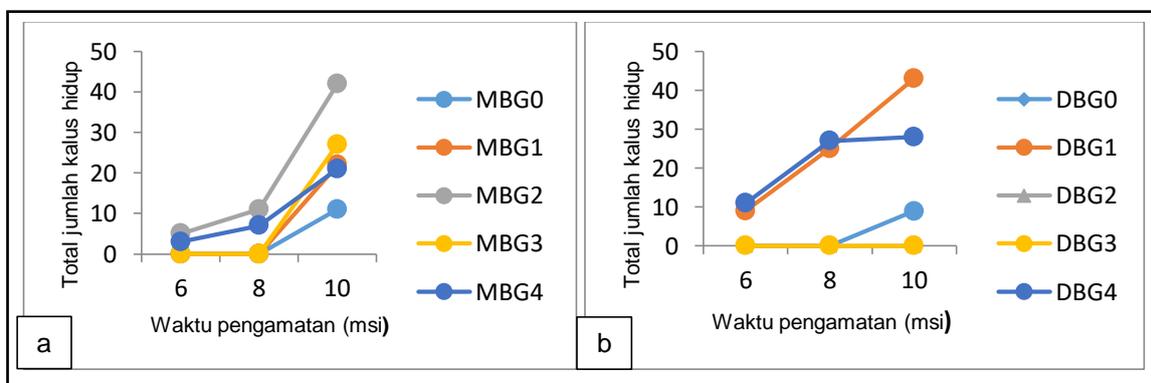
**Tabel 1.** Kombinasi Perlakuan

No	Konsentrasi BA+ GA3	Media Dasar	
		MSV	DKW
1	0+0 mg/l	MBG0	DBG0
2	0.5+0.1 mg/l	MBG1	DBG1
3	1.5+0.1 mg/l	MBG2	DBG2
4	0.5+0.3 mg/l	MBG3	DBG3
5	1.5+0.3 mg/l	MBG4	DBG4

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

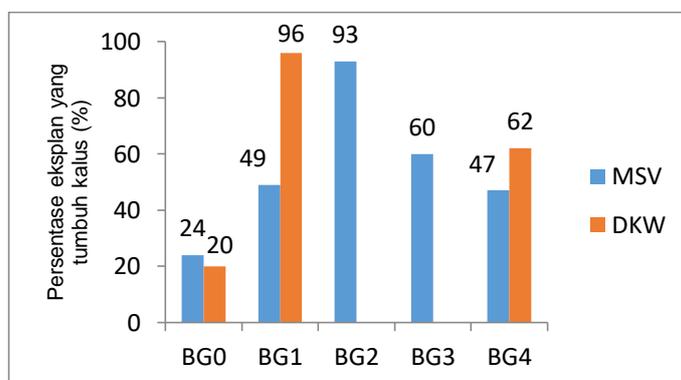
Eksplan daun apel batang bawah selama 10msi (minggu setelah inokulasi) hanya dapat membentuk kalus, inisiasi kalus pada perlakuan media MSV dan media DKW terjadi awal terjadi pada 6 msi. Perbedaan perlakuan pada setiap media menghasilkan inisiasi pada setiap waktu yang berbeda pula (Gambar 1). Pada media MSV perlakuan MBG2 mengalami proses pertumbuhan kalus yang paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya dengan prestase 93% dan paling rendah 24%. Pada media DKW perlakuan DBG1 mengalami proses pertumbuhan kalus yang paling tinggi dengan persentase 96% lebih besar dari media MSV dan yang paling rendah dengan persentase 20% (Gambar 2). Kalus yang dihasilkan pada tahap induksi kalus

masih terbatas karena tidak semua bagian eksplan memberikan respon dan membentuk kalus, hal ini karena ukuran eksplan yang kecil. Menurut Sintinjak (2015) kondisi eksplan yang kecil dan tipis memiliki jumlah sel yang lebih sedikit sehingga jumlah sel kurang mencukupi untuk membelah hanya mampu beradaptasi dengan lingkungan meskipun ditambahkan zat pengatur tumbuh sulit untuk beregenerasi menjadi kalus. Inisiasi kalus awal terjadi pada 6 MSI munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih bening seperti titik-titik air/lendir pada bekas irisan eksplan dan sayatan di permukaan eksplan yang kemudian berkembang menjadi bulatan-bulatan kecil yang jelas dan agregat kalus (Waryastuti, 2017).



**Gambar 1.** Jumlah kalus pada waktu berbeda dengan media dan konsentrasi ZPT

Keterangan : a) Media MSV b) DKW



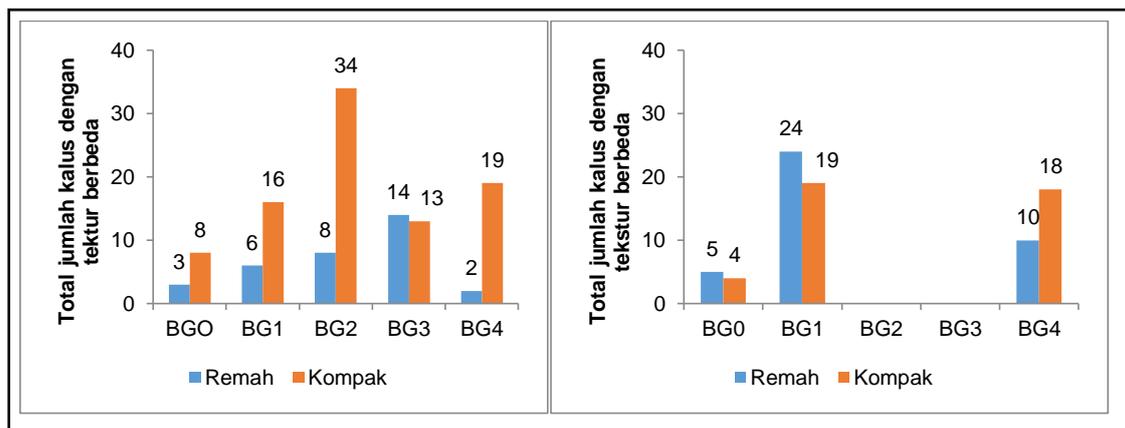
**Gambar 2.** Presentase Jumlah Kalus pada media MSV dan DKW

Pada media Pada media DKW perlakuan DBG2 dan DBG3 tidak mengalami pertumbuhan kalus. Berdasarkan hasil pengamatan bahwa pada ke dua media umumnya memiliki tekstur kalus kompak (Gambar 3). Kalus memiliki dua tipe yaitu, remah dan kompak (Gambar 4). Pada penelitian ini, jalur kultur in vitro melalui jalur torganogenesis tidak langsung, hal ini dikarenakan sebelum terbentuknya tunas melewati fase pembentukan kalus. Organogenesis tidak langsung merupakan proses pembentukan tunas adventif melalui pembentukan kalus terlebih dahulu. Tekstur pada kalus dikelompokkan menjadi 2 yaitu remah dan kompak. Kalus dengan bentuk yang remah biasanya tidak berair dan berwarna kehijauan. Sedangkan kalus kompak adalah kalus yang sulit untuk diregenarasikan dengan tanda tanda berair, berwarna kuning pucat dan tidak memiliki struktur globular (Sukmadjaja, 2012).

Rata rata kalus yang didapat dari hasil penelitian adalah bertekstur kompak. Kalus tipe kompak umumnya mempunyai

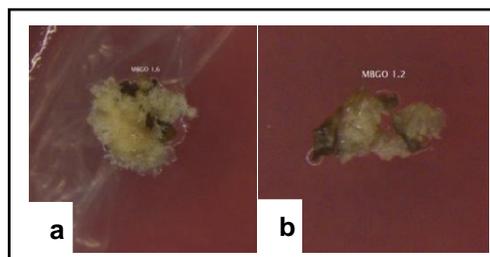
pertumbuhan yang lambat, namun pertumbuhan kalus yang lambat pada tipe kompak ini bisa berpotensi atau berkembang menjadi organ (organogenesis), misalnya pembentukan akar dan tunas (Wahyuni *et al.*, 2013). Kalus yang baik diasumsikan memiliki tekstur remah (friable). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel.

Pada kalus kompak dapat dihasilkan metabolit sekunder lebih tinggi daripada kalus remah dan kalus yang remah baik untuk upaya dilakukan subkultur dan perbanyakkan. paling lambat, varietas tersebut juga Indikator perkembangan eksplan warna pada kalus merupakan gambaran bahwa kalus yang terbentuk sel selnya masih aktif membelah atau mati, sehingga warna kalus berkaitan dengan kemampuan kalus untuk tumbuh menjadi tunas.



**Gambar 3.** Total jumlah tekstur kalus pada media

Keterangan : a) Media MSV b) DKW



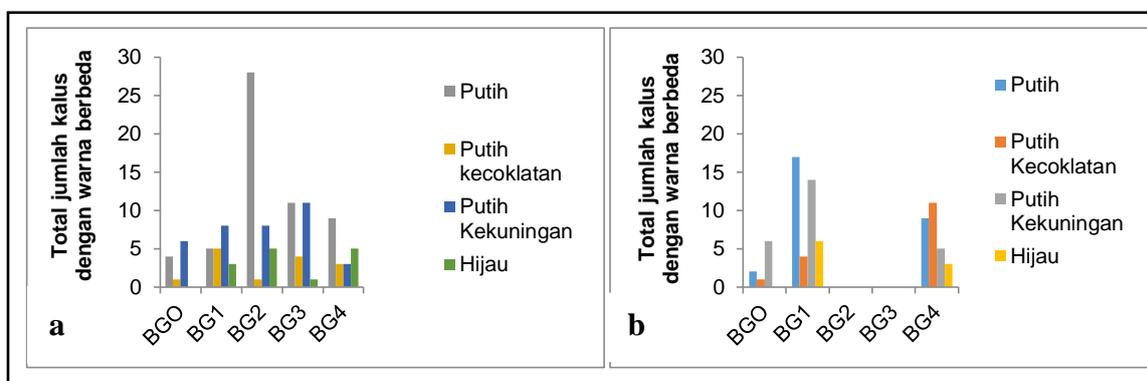
**Gambar 4.** Tekstur Kalus

Keterangan : a) Kalus Remah b) Kompak

Eksplan hidup ditandai dengan eksplan yang berwarna segar, tidak terkontaminasi, dan tidak mengalami pencoklatan. Hasil pengamatan jumlah warna kalus pada media dan perlakuan yang berbeda disajikan pada Gambar 5. Kalus memiliki penampilan berwarna putih, putih kekuningan, putih kecoklatan, dan hijau (Gambar 6). Kalus berwarna putih adalah warna kalus yang dominan dihasilkan pada penelitian ini. Kalus pada eksplan batang bawah dengan pengamatan vigor diperoleh hasil bahwa rata-rata dari media MSV dan DKW memiliki vigor dengan kualitas yang rendah untuk melanjutkan pertumbuhan (Gambar 7). Selama masa perkembangan kalus di media tanam, kalus mengalami degradasi fisiologis atau penurunan tingkat fisiologis tanaman ditandai dengan sebagian warna kalus berwarna kecoklatan dan kering sehingga kalus memiliki kondisi

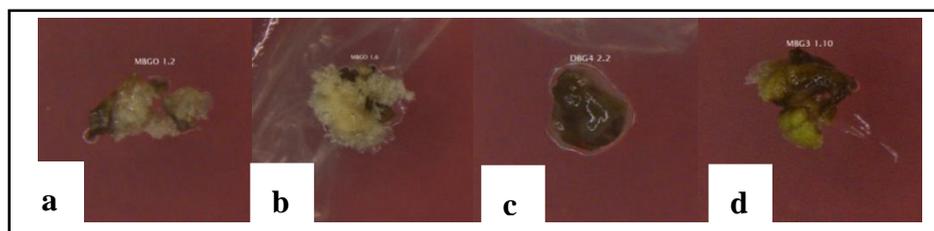
dengan vigor yang rendah, walaupun dominan kalus berwarna putih. Hal ini diakibatkan bertambahnya umur pada kalus. Lizawati (2012) warna coklat disebabkan oleh semakin bertambahnya umur atau jaringan kalus. Kalus yang berwarna putih kekuningan juga warna kalus yang baik karena menandakan sel kalus aktif membelah (Sorentina *et al.*, 2013). Warna hijau kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan, selain adanya kandungan klorofil dengan warna hijau mampu beregenerasi dengan baik dan sel nya aktif membelah (Lizawati, 2012).

Pada media MSV dan DKW diperoleh kalus terpanjang pada media MSV dengan perlakuan MBG1 yaitu 1.84 mm, sedangkan pada media DKW kalus terpanjang diperoleh pada perlakuan DBG0 yaitu 1.68 mm (Gambar 8).



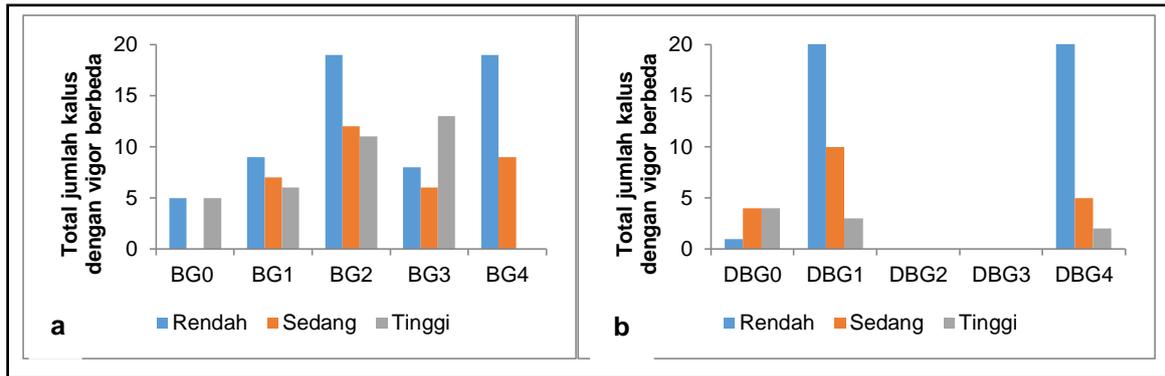
**Gambar 5.** Total jumlah kalus dengan warna berbeda

Keterangan : a) Media MSV b)DKW



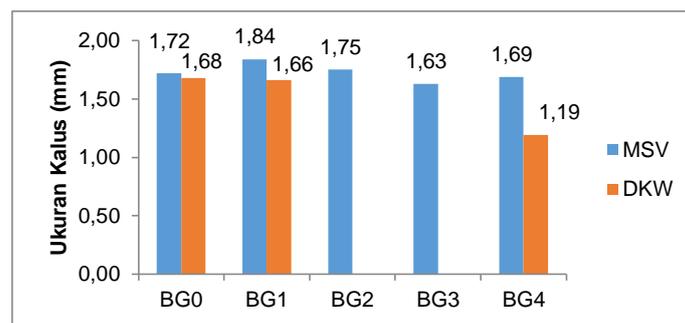
**Gambar 6.** Warna pada Kalus

Keterangan : a) Kalus putih b) putih kekuningan c) putih kecoklatan d) hijau



**Gambar 7.** Grafik jumlah kalus dengan vigor yang berbeda

Keterangan : a) Media MSV b) DKW



**Gambar 8.** Ukuran kalus pada media MSV dan DKW

Eksplan daun apel batang bawah mudah mengalami pencoklatan (*browning*) dan kematian dibandingkan dengan tunas apel karena eksplan daun memiliki jaringan yang tipis dan rentan terhadap pelukaan sehingga mempengaruhi fungsi fisiologis eksplan. Sitinjak (2015) eksplan yang terlalu kecil memiliki kandungan metabolit yang tidak mencukupi untuk mengimbangi zat pengatur tumbuh yang diberikan oleh media sehingga hanya mampu beradaptasi dan memberikan respon pembengkakan saja dan pada akhirnya eksplan mengalami kematian.

Zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini adalah BA dan GA3, berdasarkan hasil yang didapat bahwa konsentrasi 1.5 BA + 0.1 GA3 mg/l pada media MSV menghasilkan kalus dengan presentase tertinggi sedangkan pada media DKW di dapatkan jumlah kalus dengan presentase tertinggi pada konsentrasi 0.5 BA mg/l + 0.1 GA3 mg/l. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Dastrejed *et al.* (3013) bahwa pada perlakuan 1.5 mg/l BA + 0.1 mg/l GA dapat menghasilkan jumlah tunas

dan daun tertinggi namun terdapat rendahnya tingkat. Pertumbuhan yang lambat pada eksplan daun apel batang ini karena adanya kombinasi sitokinin yang ditambahkan GA3 karena penambahan GA3 mencegah pembentukan tunas. Hal ini sesuai dengan Lance *et al.* (1976) Ketika GA3 ditambahkan pada media kultur jaringan, dapat mengurangi atau mencegah pembentukan akar, tunas, atau bryos era somatik, meskipun sebaliknya juga telah terlihat beberapa endogen GA3 untuk pertumbuhan kalus normal.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bahwa perlakuan dua media dan konsentrasi ZPT yang digunakan hanya bisa menghasilkan kalus dari eksplan daun apel batang bawah, sehingga tidak didapatkan media dan konsentrasi yang cocok untuk pertumbuhan ekplan daun apel batang bawah. Namun, media MSV semua eksplan menghasilkan kalus, sedangkan media DKW pada perlakuan DBG2 dan

DBG3 tidak menghasilkan kalus. Pada media MSV Perlakuan MBG2 total kalus hidup tertinggi dengan prestase 93%. Pada media DKW perlakuan DBG1 total kalus hidup tertinggi dengan prestase 96%. Kalus yang didapat pada kedua media mempunyai rata-rata tipe kalus kompak yang berpotensi menjadi organ (organogenesis) dan kalus remah berpotensi menjadi embryogenesis, sehingga pada kalus kompak dapat dihasilkan metabolit sekunder lebih tinggi daripada kalus remah dan kalus yang remah baik untuk upaya dilakukan subkultur dan perbanyakan tanaman. Kalus remah terbanyak didapat pada media DKW dan kalus kompak terbanyak didapat pada media MSV.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak Balitjestro, Batu yang telah menyediakan biaya dan memfasilitasi untuk membantu pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Boyer, J. and L. H. Rui. 2004.** Apple Phytochemicals and their Health Benefits. *Nutrition Journal*. 3(1): 3-5.
- Dirjen Hortikultura. 2015.** Statistik Hortikultura Tahun 2014. Kementerian Pertanian. p 102. Jakarta.
- Dastjerd, H. Z., Z. Jabbarzadeh, and R. J. Marandi. 2013.** Interaction Effects of Chitosan, Benzyladenine, and Gibberellic Acid on in Vitro Proliferation of M26 Apple Rootstock. Iran. *Horticulture Environment Biotechnol*. 54 (6) : 538-547.
- Ghanbari, A. 2014.** Impacts of Plant Growth Regulators and Culture Media on In Vitro Propagation of Three Apple (*Malus domestica* Borkh.) Rootstocks. Iran. *Journal of Genetic and Plant Breeding*. 3 (1): 11-20.
- Lance, B., R. C. Durley, D. M. Reid, T. A. Thorpe, and R.P. Pharis. 1976.** Metabolism of [<sup>3</sup>H]Gibberellin A20 in Light- and Dark-grown Tobacco Callus Cultures. Canada. *Plant Physiol*. 58 (1): 387-392.
- Lestari, G. E. 2011.** Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. Bogor. *Jurnal AgroBiogen*. 7 (1) : 63-68.
- Lizawati. 2012.** Induksi Kalus Embrionik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) dengan Penggunaan 2,4 D dan TDZ. *Progam Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Jambi*. 1 (2): 85-87.
- Sitinjak, M. A., Novaliza, M, dan Fatonah. S. 2012.** Induksi Kalus dari Eksplan *In Vitro* Keladi Tikus (*Typhonium* sp) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Jurnal Biologi*. 8 (1): 32-39.
- Sorentina. M. S. M., Haliani, Muslimin, Suwastika N. I. 2013.** Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu Pada Medium MS dgn Penambahan 2,4-D (2,4-Asam Dikloropenoksi Asetat) dan Air Kelapa. *Online Jurnal of Natural Science*. 2 (2) : 55-63.
- Sudarmadji. 2003.** Penggunaan Benzi Amino Purine Pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*. 8(1): 8-10.
- Sukmadjaja, D., dan A. Mulyana. 2011.** Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*. Bogor. *Jurnal AgroBiogen*. 7(2) : 106-118.
- Yelnititis. 2012.** Pembentukan Kalus Remah Dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6 (3) : 181-194.