

Evaluasi Kultivar Apel dan Zat Pengatur Tumbuh (Sitokinin-Auksin) Terhadap Tingkat Keberhasilan Eksplan Apel Secara *In Vitro*

Evaluation of Apple Cultivars and Growth Regulators (Cytokinin-Auxin) on The Success Rate of Apple Explants In Vitro

Careca Sepdihan Rahmat Hidayatullah¹, Untung Santoso^{1*}, Fatimah Nursandi², Rich Gemilang Simanjuntak¹, Oentari Priliraningrum¹

¹ Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur

² Program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang

*email korespondensi: untungsantoso@umm.ac.id

Info Artikel

Diajukan: 18 Oktober 2024
Diterima: 31 Oktober 2024
Diterbitkan: 29 November 2024

Abstract

Successful in vitro propagation can support the provision of large, fast and highquality apple seeds. Growth regulators commonly used in culture techniques are cytokinins and auxins. the addition of 4 ppm BAP to the culture media can increase the lipid content and biomass 1.26 times higher in microalgae. This study aims to evaluate the ability of apple cultivars and the growth regulators BAP (Benzyl amino purine) and IAA (Indole acetic acid) to regenerate apple shoots in vitro. The experimental design used RAK (randomized block design) 2 factors. The first factor was shoots from four apple cultivars, namely Fuji, Red delicious, gala, and manalagi. The media used were 1) MS + 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 2) MS + 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 3) MS + 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA, and 4) MS + 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA. Based on the percentage of live explants, apple shoots show a relatively high level of success in the Fuji apple cultivar for all BAP-IAA growth regulator compositions, namely 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA, and 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA. Apple cultivars and growth regulators did not show a significant effect on the percentage of live explants, green color of shoots, explant contamination and number of leaves. There is a need for further studies regarding the type of explant with the right type of cytokinin hormone to regenerate green shoots more optimally.

Keyword: Explant; bud color; contamination; growth regulators; in vitro

Abstrak

Keberhasilan perbanyakan secara in vitro dapat menunjang penyediaan bibit apel yang banyak, cepat dan berkualitas. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam teknik kultur adalah sitokinin dan auksin. penambahan BAP 4 ppm pada media kultur dapat meningkatkan kandungan lipid dan biomassa 1,26 kali lebih tinggi pada mikroalga. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan kultivar apel dan zat pengatur tumbuh BAP (Benzyl amino purine) dan IAA (Indole acetic acid) dalam meregenerasi tunas apel secara in vitro. Rancangan percobaan menggunakan RAK (Rancangan acak kelompok) 2 faktor. Faktor pertama berupa tunas dari empat kultivar apel yaitu Fuji, Red delicious, gala, dan manalagi. Media yang digunakan yaitu

1) MS + 3 mg/L BAP + 0,2 mg/L IAA, 2) MS + 6 mg/L BAP + 0,2 mg/L IAA, 3) MS + 3 mg/L BAP + 0,3 mg/L IAA, dan 4) MS + 6 mg/L BAP + 0,3 mg/L IAA. Berdasarkan persentase eksplan hidup tunas apel menunjukkan tingkat keberhasilan yang relative tinggi pada kultivar apel fuji pada semua komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA yaitu 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA, dan 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA. Kultivar apel dan zat pengatur tumbuh tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup, warna hijau tunas, kontaminasi eksplan, dan jumlah daun. Perlu adanya studi lanjut mengenai jenis eksplan dengan jenis hormon sitokinin yang tepat untuk meregenerasi warna hijau tunas lebih optimal.

Kata Kunci: Eksplan; warna tunas; kontaminasi; zat pengatur tumbuh; in vitro

PENDAHULUAN

Apel memiliki lebih dari 20.000 kultivar, meskipun demikian hanya sedikit yang saat ini dibudidayakan secara komersial di seluruh dunia (Juniper et al., 2006). Indonesia mempunyai empat varietas apel yang dikembangkan yaitu Manalagi, Anna, Rome Beauty, dan Wangling (Utomo et al, 2015). Apel berasal dari daerah subtropis sehingga dapat tumbuh dan berbuah baik pada daerah dataran tinggi yang memiliki suhu rendah. Biji yang terdapat pada buah apel umumnya tidak mampu berkecambah pada lingkungan tropis, namun hal tersebut dapat diatasi dengan memanipulasi kondisi lingkungan, seperti perbanyak bibit secara in vitro.

Keberhasilan perbanyak secara in vitro dapat menunjang penyediaan bibit apel yang banyak, cepat dan berkualitas. Keuntungan pemanfaatan proliferasi tunas aksilar yaitu tunas lebih stabil secara genetik dan sangat sedikit atau tidak ada variasi genetik (Ngezahayo dan Liu, 2014). Selain itu kecoklatan pada eksplan yang disebut *browning* menjadi faktor penghambat pertumbuhan sehingga proses inisiasi tunas dari eksplan dapat terhambat diikuti dengan munculnya kalus yang berwarna (Sadat et al., 2018).

Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam teknik kultur adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin merupakan golongan dari zat pengatur tumbuh tanaman. Keberadaannya sebagai senyawa mampu menginduksi pembelahan sel dalam jaringan tanaman (Kaminek, 2015). 6-Benzyl Amino Purine (BAP) merupakan salah satu sitokinin. BAP berperan dalam merangsang pembelahan sel dan akumulasi pigmen fotosintesis (Han et al., 2018). Selain itu BAP memainkan peran penting dalam ontogeni tanaman secara keseluruhan, termasuk pembelahan sel, perkembangan fotomorfogenik, modulasi metabolisme, pembentukan biji dan polong, penuaan, kematian, dan respons terhadap rangsangan lingkungan (Aremu et al., 2020).

Asam indol 3-asetat (IAA) merupakan salah satu jenis zat pengatur tumbuh yang termasuk dalam golongan auksin. IAA berperan dalam mengatur pertumbuhan dan pemanjangan sel. Konsentrasi auksin yang sangat rendah dapat mengatur pembelahan sel, pemanjangan, pembentukan akar adventif, inisiasi kalus, dan induksi embriogenesis. IAA adalah auksin yang paling umum pada tanaman yang mempengaruhi pembelahan sel, inisiasi akar, pembungaan, pembentukan buah, pematangan, penuaan, dan gravitropisme (Talukdar et al., 2022).

Penambahan BAP 1 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan lipid *Chlorella pyrenoidosa* sebesar 14,70 mg/L (Du et al., 2017). Pada penelitian lain, penambahan BAP 4 ppm pada media kultur dapat meningkatkan kandungan lipid dan biomassa 1,26 kali lebih tinggi pada mikroalga (Kokkiligadda et al., 2017). Penyemprotan daun dengan 2,5 ppm IAA menghasilkan tanaman labu musim panas yang lebih tinggi dan hasil buah yang lebih baik. Sebaliknya, IAA pada 5 dan 10 ppm mengurangi tinggi dan hasil tanaman ini (Nassef and El-Aref, 2018).

Sitokinin dan auksin berasosiasi satu sama lain dalam cara yang kompleks untuk mendukung pertumbuhan dan diferensiasi tanaman (Talukdar et al., 2022). Auksin dan sitokinin yang diaplikasikan secara bersamaan memiliki efek antagonis pada tanaman (Jones et al., 2010; Shimizu-Sato et al., 2009). Namun, evaluasi tingkat keberhasilan terhadap efek kombinasi kultivar apel dengan hormon gabungan ini pada keseluruhan tanaman belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan kultivar apel dan zat pengatur tumbuh BAP (Benzyl amino purine) dan IAA (Indole acetic acid) dalam meregenerasi tunas apel secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mitra Anggrek Indonesia (MAI) Jl.Hasanudin 1 No 24 Kecamatan Junrejo, Kota Batu. Rancangan percobaan menggunakan RAK (Rancangan acak kelompok) 2 faktor. Faktor pertama berupa tunas dari empat kultivar apel yaitu Fuji, Red delicious, gala, dan manalagi. Media yang digunakan yaitu 1) MS + 3 mg/L BAP + 0,2 mg/L IAA, 2) MS + 6 mg/L BAP + 0,2 mg/L IAA, 3) MS + 3 mg/L BAP + 0,3 mg/L IAA, dan 4) MS + 6 mg/L BAP + 0,3 mg/L IAA dengan mempertahankan kadar ph antara 5,6 sampai dengan 5,8. Eksplan tunas dari 4 kultivar apel (Fuji, Red Delicious, Gala, dan Manalagi) yang telah berusia 5 bulan. Kombinasi dari perlakuan yaitu 4 x 4: 16 kombinasi dan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Peubah yang diamati yaitu:

- 1) Eksplan hidup (%)

$$\text{Eksplan hidup} = \frac{\text{jumlah eksplan hidup} \times 100\%}{\text{jumlah total eksplan}}$$

- 2) Warna hijau tunas (%)

$$\text{warna hijau tunas} = \frac{\text{jumlah eksplan berwarna hijau} \times 100\%}{\text{jumlah total eksplan}}$$

- 3) Kontaminasi eksplan (%)

$$\text{Kontaminasi eksplan} = \frac{\text{jumlah eksplan terkontaminasi} \times 100\%}{\text{jumlah total eksplan}}$$

- 4) Jumlah daun (helai): menghitung jumlah daun yang telah muncul ditandai dengan daun membuka sempurna pada masing-masing eksplan.

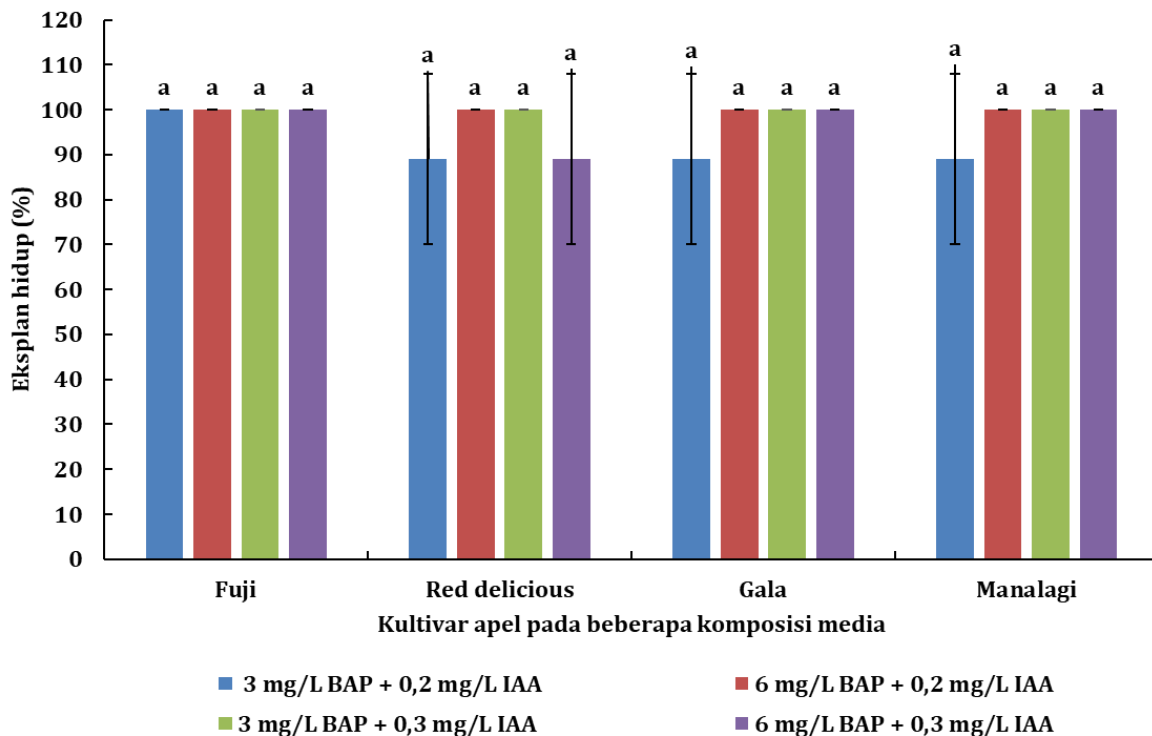
Data dianalisis menggunakan analisis ANOVA yang digunakan untuk mengetahui pengaruh signifikan secara statistik dan kemudian dilanjutkan uji BNJ taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan software Microsoft Excel 2013.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menjelaskan tingkat keberhasilan persentase hidup tunas apel tidak berpengaruh nyata pada perlakuan beberapa kultivar apel dan komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA umur 8 MST secara *in vitro* (Gambar 1). Hal ini menunjukkan tingkat keberhasilan persentase hidup ditentukan oleh tunas beberapa kultivar apel dan komposisi zat pengatur tumbuh.

Berdasarkan persentase eksplan hidup tunas menghasilkan tingkat keberhasilan yang relatif tinggi pada kultivar apel fuji pada semua komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA yaitu 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA, dan 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA. Dibandingkan dengan jenis apel red delicious yang memiliki persentase eksplan

hidup yaitu 89% pada komposisi zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA dan 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA. Kemudian kultivar apel lokal (gala dan manalagi) memiliki persentase eksplan hidup 89% hanya pada komposisi zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA. Hasil ini menjelaskan, kultivar apel fuji memiliki kemampuan beregenerasi dan ketahanan yang baik dibandingkan dengan apel red delicious, gala, dan manalagi pada semua perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA. Keberhasilan persentase hidup eksplan pada metode perbanyakan melalui kultur jaringan tanaman dapat dipengaruhi oleh kultivar (Masoudi et al., 2020), asal eksplan (Lodeta et al., 2019) dan sifat genetik (Kim et al., 2023). Kemudian, eksplan yang termasuk kategori hidup ditandai dengan warna eksplan yang berwarna cerah dan tidak mengalami kontaminasi (Ayundaris et al., 2024), dan beregenerasi (Rachmawati et al., 2016).



Gambar 1. Peubah persentase eksplan hidup beberapa kultivar apel pada komposisi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA pada umur 8 MST. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), ditentukan dengan ANOVA satu arah menggunakan uji Tukey, antara subkultur yang berbeda.

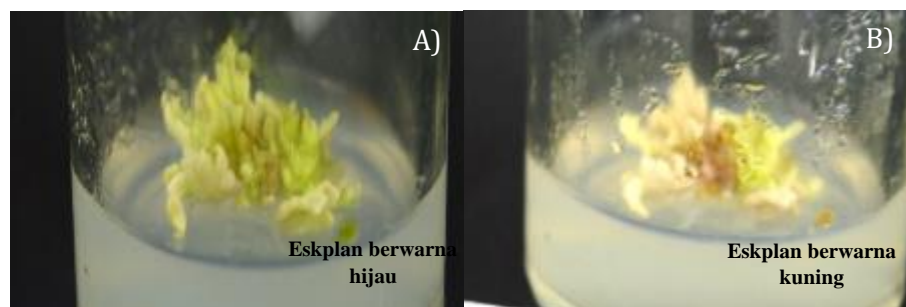
Perlakuan kultivar apel dan komposisi zat pengatur tumbuh tanaman tidak berpengaruh terhadap persentase warna hijau tunas pada umur 1-8 MST (Tabel 1). Pengamatan dan pengambilan data secara berkala menunjukkan bahwa kultur jaringan pada kultivar apel dalam media dengan perbedaan komposisi zat pengatur untuk tujuan meregenerasi dan mempertahankan eksplan untuk tetap hidup yang ditunjukkan atau ditandai dengan warna tunas yang berwarna hijau (Gambar 2).

Tabel 1. Persentase warna hijau tunas eksplan kultivar apel (*Malus sylvestris* Mill) pada komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA.

Perlakuan	Warna Tunas (%)							
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST	5 MST	6 MST	7 MST	8 MST
Kultivar apel (V)								
Fuji	73±10	71±1	69±1	58±1	52±2	48±2	40±2	33±2
Red Delicious	58±30	56±2	50±2	44±2	40±2	42±2	33±1	27±1
Gala	48±22	40±3	42±2	35±2	29±2	29±2	29±2	29±2
Manalagi	58±22	56±2	56±2	56±2	50±2	50±2	48±2	42±2
Faktor V	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
Komposisi ZPT (B)								
MS + 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA	63±16	60±1	58±2	50±2	38±2	38±2	38±2	35±2
MS + 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA	54±28	52±2	46±2	44±1	38±1	35±2	35±2	27±2
MS + 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA	63±22	65±2	63±2	58±2	56±2	56±2	48±2	46±3
MS + 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA	58±22	46±2	50±2	42±2	40±2	40±2	29±1	23±1
Faktor B	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn

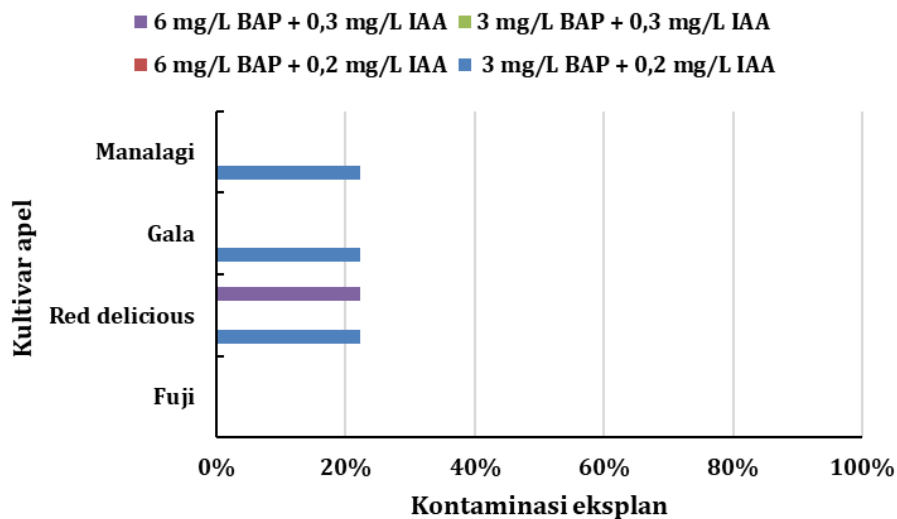
Keterangan: Nilai-nilai pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5%; ^{tn}tidak nyata; rata-rata ± SD.

Warna hijau tunas yang telah diamati mengalami kecenderungan/trend penurunan persentase warna hijau baik pada kultivar apel hingga penggunaan komposisi zat pengatur tumbuh (Tabel 1). Kultivar apel fuji memiliki persentase warna tunas hijau yang relative tinggi sebesar 73% dibandingkan dengan red delicious, gala, dan manalagi pada umur 1-5 MST. Sementara pada akhir pengamatan yaitu 8 MST, kultivar manalagi menunjukkan superioritasnya dalam mempertahankan warna hijau tunas sebesar 42% dibandingkan dengan kultivar lain. Hal ini menunjukkan pada kultivar lokal (manalagi) dapat bersaing dari segi ketahanan terhadap lingkungan tumbuh dengan kultivar fuji (Gambar 2) dan red delicious (non lokal).



Gambar 2. Warna hijau tunas varietas Fuji (A) 2 MST warna eksplan masih berwarna hijau, (B) 8 MST warna eksplan.

Penurunan warna hijau tunas terjadi pada semua perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh 1-8 MST. Komposisi zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA dan 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA menghasilkan warna hijau tunas relatif lebih tinggi yaitu 63% dibandingkan dengan perlakuan 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA dan 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA umur 1 MST. Sementara komposisi zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA menunjukkan performa yang lebih baik yaitu 46% warna hijau tunas dibandingkan dengan perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh lainnya umur 8 MST. Hal tersebut menjelaskan terlepas dari hormon IAA, konsentrasi 3 mg/L BAP memberikan pengaruh warna hijau tunas relatif lebih baik dibandingkan konsentrasi 6 mg/L BAP. Hasil penelitian yang berbeda telah dilaporkan Zhang et al., (2020) jenis sitokinin dan konsentrasi yang tepat mempengaruhi tingkat warna hijau eksplan apel yang lebih segar. Menurut Loulembah et al., (2023) warna hijau tidak hanya disebabkan oleh jenis sitokinin, melainkan jenis eksplan dapat berpengaruh terhadap warna hijau.

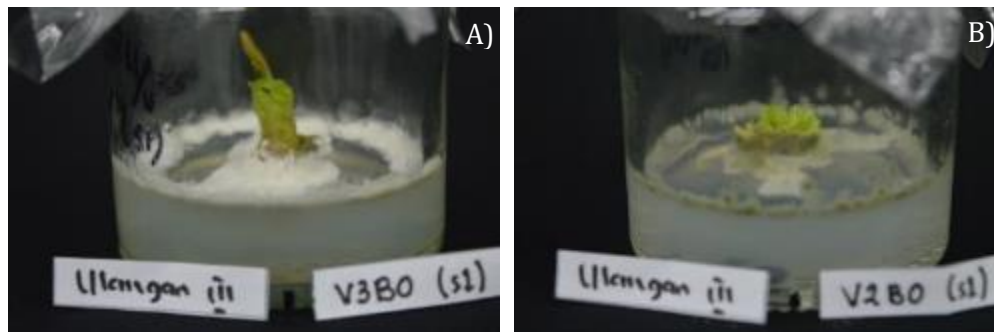


Gambar 3. Persentase tingkat kontaminasi eksplan beberapa kultivar apel pada komposisi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA umur 8 MST.

Persentase kontaminasi eksplan tidak dipengaruhi oleh kultivar apel dan komposisi zat pengatur tumbuh umur 8 MST pada gambar 3. Kontaminasi eksplan ditemukan relatif besar yaitu 22% pada kultivar apel red delicious, gala (Gambar 4 A), dan manalagi pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA. Sementara pada zat pengatur tumbuh 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA juga ditemukan kontaminasi eksplan sebesar 22%, pada kultivar red delicious (Gambar 4 B). Hasil yang sama juga telah dilaporkan Subasinghe et al., (2016) terjadi kontaminasi eksplan sebesar 20% yang disebabkan oleh jamur dan bakteri, hal tersebut dapat disebabkan karena kurang optimalnya untuk mensterilkan media dan bahan tanam yang akan digunakan.

Berdasarkan gambar 4 di atas tercatat eksplan yang telah terkontaminasi jamur (Gambar 4 A) dan bakteri (Gambar 4 B). Hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat dilihat ciri-ciri eksplan yang terserang jamur yaitu berwarna putih seperti kapas, dengan menunjukkan koloni-koloni pada eksplan maupun media tanam. Sementara jika eksplan terserang bakteri maka akan muncul

lendir di sekitar area eksplan hingga ke media kultur. Menurut Ayundaris et al., (2024) menjelaskan organisme berukuran mikro akan terjadi serangan pada eksplan akibat pemotongan dan penanganan selama proses sterilisasi. Hal tersebut juga dilaporkan Santoso dan Nursandi (2002) Kontaminasi juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor yakni genotipe, eksplan yang telah terjangkit penyakit, komposisi media, dan ukuran eksplan yang terlalu kecil karena memiliki ketahanan yang kurang baik.



Gambar 4. Kontaminasi eksplan beberapa kultivar apel A) Gala; B) Red delicious pada komposisi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA umur 4 MST.

Jumlah daun tidak dipengaruhi oleh perlakuan kultivar apel dan komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA (Tabel 2), semakin tinggi konsentrasi zat pengatur tumbuh maka jumlah daun yang dihasilkan sama saja. Kultivar apel menghasilkan nilai rata-rata jumlah daun yaitu antara 1.25-1.74 helaian daun. Sementara, penggunaan komposisi zat pengatur tumbuh 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA menghasilkan nilai rata-rata jumlah daun < 1 helaian daun. Menurut Yusnita et al., (2017) melaporkan pertumbuhan jumlah daun dapat ditingkatkan dengan penggunaan kombinasi hormon auksin yaitu IBA dan NAA secara bersama.

Tabel 2. Jumlah daun eksplan kultivar apel (*Malus sylvestris* Mill) pada komposisi zat pengatur tumbuh BAP-IAA pada umur 8 MST.

Perlakuan	Jumlah daun (Helai)
Kultivar apel (V)	
Fuji	1.62±0.63
Red Delicious	1.33±0.31
Gala	1.74±0.41
Manalagi	1.25±0.62
Faktor V	tn
Komposisi ZPT (B)	
MS + 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA	1.83±0.51
MS + 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA	1.54±0.68
MS + 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA	1.71±0.64
MS + 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA	0.86±0.57
Faktor B	tn

Keterangan: Nilai-nilai pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5%; ^{tn}tidak nyata; rata-rata ± SD

KESIMPULAN

Kultivar apel fuji, red delicious, gala dan manalagi tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup, warna hijau tunas, kontaminasi eksplan, dan jumlah daun. Sementara penggunaan komposisi zat pengatur tumbuh 3 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 6 mg/L BAP + 0.2 mg/L IAA, 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA, dan 6 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA juga tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup, warna hijau tunas, kontaminasi eksplan, dan jumlah daun. Perlu adanya studi lanjut mengenai jenis eksplan dengan jenis hormon sitokinin yang tepat untuk meregenerasi warna hijau tunas lebih optimal. Serta, dibutuhkan perlakuan khusus untuk menekan tingkat kontaminasi pada saat dilakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aremu, A.O., Fawole, O.A., Makunga, N.P., Masondo, N.A., Moyo, M., Buthelezi, N.M.D., Amoo, S.O., Spíchal, L., & Doležal, K. (2020). Applications of Cytokinins in Horticultural Fruit Crops: Trends and Future Prospects. *Biomolecules*, 10(9), 2-68. <https://doi.org/10.3390/biom10091222>
- Ayundaris, A.P., Nursandi, F., Zainudin, A., Machmudi, & Ishartati, E. Optimization of Callus Induction Using a Combination of 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid and Sitokinin on Pineapple (*Smooth cayenne*) Cales In Vitro. *Journal Tropical Crop Science and Technology*, 6 (1), 1-10. <https://doi.org/10.22219/jtcst.v6i1.32887>
- Du, H., Ahmed, F., Lin, B., Li, Z., Huang, Y., Sun, G. & Gao, Z. (2017). The effects of plant growth regulators on cell growth, protein, carotenoid, PUFAs and lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* ZF strain. *Energies*, 10 (11), 1-23. <https://doi.org/10.3390/en10111696>
- Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F. & Yan, Y. (2018). Phytohormones and effects on growth and metabolites of microalgae: a review. *Fermentation* 4(2), 1-15. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020025>
- Jones, B., Andersson, S.G., Petersson, S.V., Tarkowski, P., Graham, N., May, S., Dolezal, K., Sandberg, G., & Ljung, K. (2010). Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction. *Plant Cell*. 22 (9), 2956–2969. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.074856>
- Juniper, B.E. & Mabberley, D.J. (2006). *The Story of the Apple*, Portland: Timber Press.
- Kaminek, M. (2015). Tracking the story of cytokinin research. *Journal Plant Growth Regulation*. 34, 723–739. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9543-4>
- Kim, S.H., Zebro, M., Jang, D.C., Sim, J.E., Park, H.K., Kim, K.Y., Bae, B.M., Tilahun, S., & Park, S.M. (2023). Optimization of plant growth regulators for in vitro mass propagation of a disease-free 'shine muscat' grapevine cultivar. *Current issues in molecular biology*, 45 (10), 7721-7733. <https://doi.org/10.3390/cimb45100487>
- Kokkiligadda, S., Pandey, B. & Ronda, S.R. (2017). Effect of plant growth regulators on production of alpha-linolenic acid from microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. *Sādhanā*, 42(10), 1821–1824. <https://doi.org/10.1007/s12046-017-0723-8>
- Lodeta, K.B., Vujević, B., Žanetić, M., Gugić, J., Očić, V., Bobić, B.S., Benčić, D., Mihovilović, A. B., Jerčić, I. H., Čmelik, Z., & Kereša S. (2019). Evaluation of morphological and chemical characteristics and micropropagation of traditionally grown domesticated apple varieties in Croatia. *In Journal of Central European Agriculture*, 20 (1), 274–291. <https://doi.org/10.5513/ICEA01/20.1.2305>

- Loulebah, F.A.T., Basri, Z., & Tjoa, A. (2023). Pertumbuhan jenis eksplan apel (*Malus sylvestris* Mill. var. Fuji) pada komposisi zat pengatur tumbuh berbeda. *Agrotekbis : Jurnal Ilmu Pertanian*, 11 (6), 1513-1523. <https://doi.org/10.22487/agrotekbis.v11i6.2008>
- Masoudi, S., Kermani, M.J., Soleimani, A., Hajnajari, H., Alidadi, A., & Hosseini, Z.A. (2020). Optimizing micropropagation of apple (*Malus × domestica* Borkh) and *in vitro* root induction by *Piriformospora indica*. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 66 (4), 137-147. <https://doi.org/10.2478/agri-2020-0013>
- Nassef, D. & El-aref, H. (2018). Effect of foliar spray with IAA and GA3 on production and protein synthesis of two summer squash hybrid cultivars. *Egyptian Journal Horticulture*. 45, 121–143. <https://doi.org/10.21608/ejoh.2018.3564.1063>
- Ngezahayo, F., & Liu, B. (2014). Axillary bud proliferation approach for plant biodiversity conservation and restoration. *International Journal of Biodiversity*. 3, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/727025>
- Rachmawati, F., Winarto, B., Wiendi, N.M.A., Mattjik, N.A., & Purwito, A. (2016). Perbanyak In Vitro *Dendrobium* Indonesia Raya 'Ina' melalui Embriogenesis Somatik Berbasis Sistem Bioreaktor. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 44 (3), 306 – 314. <https://doi.org/10.24831/jai.v44i3.12816>
- Sadat, M.S., Siregar, L.A.M., and Setiada, H. 2018. Pengaruh IAA dan BAP Terhadap Induksi Tunas Mikro dari Eksplan Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L). *Jurnal Agroteknologi*. 1 (6), 107-112. <https://doi.org/10.32734/joa.v6i1.2555>
- Santoso, U., & Nursandi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Shimizu-Sato, S., Tanaka, M., & Mori, H. (2009). Auxin–cytokinin interactions in the control of shoot branching. *Plant Molecular Biology*. 69 (4), 429–435. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9416-3>
- Subasinghe, S., Hettiarachchi, C., & Iddagoda, N. (2016). In-Vitro propagation of cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl.) using embryos and in vitro axillary buds. *Agricultural and Food Sciences*, 3 (3), 164-169. <https://doi.org/10.18178/JOAAT.3.3.164-169>
- Talukdar, M., Swain, D.P., & Bhadoria, P.B.S. (2022). Effect of IAA and BAP application in varying concentration on seed yield and oil quality of *Guizotia abyssinica* (L.f.) Cass. *Annals of Agricultural Sciences*. 67 (1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2022.02.002>
- Yusnita, Y., Jamaludin, J., Agustiansyah, A., & Hapsoro, D. (2018). A combination of IBA and NAA resulted in better rooting and shoot sprouting than single auxin on malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry] stem cuttings. *Journal of Agricultural Science*, 40 (1), 80–90. <http://doi.org/10.17503/agrivita.v40i0.1210>
- Zhang, Y., Bozorov, T.A., Li, D.X., Zhou, P., Wen, X.J., Ding, Y., & Zhang, D.Y. (2020). An efficient in vitro regeneration system from different wild apple (*Malus sieversii*) explants. *Plant methods*, 16 (56), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00599-0>