

Pengaruh Intensitas Cahaya, Jenis Pemasat Media, dan Konsentrasi BAP terhadap Kadar Klorofil dan Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) secara *In Vitro*

Adninta Husnu Amalia¹⁾, Noor Aini Habibah¹⁾, Enni Suwarsi Rahayu^{✉1)}

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Diterima: 09 Desember
2022

Disetujui: 15 Juni 2023
Dipublikasikan: 30 Juni
2023

Keywords:

agar media; BAP; light
intensity; vermiculite media,
media agar-agar; BAP;
intensitas cahaya; media
vermikulit,

Abstract

In vitro propagation of chrysanthemums is considered more profitable. It is affected by the growth environment, media, and growth regulators. This study aimed to analyze the effect of light intensity, gelling agent type of media, and BAP concentration and their interaction on chlorophyll content and growth. This study used a three-factor randomized block design, namely light intensity (1000 lux, 3000 lux, and 5000 lux), type of media gelling agent (agar and vermiculite), and BAP concentration (0.00 ppm; 0.25 ppm; 0.50 ppm, and 1.00 ppm). Parameters observed were the total chlorophyll content, increased plantlet height, number of leaves, and number of shoots. Data were analyzed in three ways ANOVA and Duncan's Multiple Range Test. The results showed that the total chlorophyll content was not affected by light intensity, media gelling agent, and concentration. The increase in leaf number, shoot number, and plantlet height was only influenced by the type of media gelling agent. The interaction of agar medium and 1 ppm BAP resulted in the highest shoot growth. For *in vitro* propagation of chrysanthemum, it is best to use agar 0.25 - 1 ppm BAP media in the light range of 1000 lux-5000 lux.

Abstrak

Perbanyak tanaman krisan secara *in vitro* mempunyai banyak kelebihan. Kultur *in vitro* dipengaruhi oleh lingkungan pertumbuhan, jenis pemasat media, dan zat pengatur tumbuh. Penelitian bertujuan untuk menganalisis pengaruh intensitas cahaya, jenis pemasat media dan konsentrasi BAP serta interaksinya terhadap kadar klorofil dan pertumbuhan krisan secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok tiga faktor yaitu intensitas cahaya (1000 lux, 3000 lux, dan 5000 lux), jenis pemasat media (agar-agar dan vermikulit) dan konsentrasi BAP (0,00 ppm; 0,25 ppm; 0,50 ppm, dan 1,00 ppm). Parameter yang diamati adalah kadar klorofil total, penambahan jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet* yang dilakukan pada 8 minggu setelah tanam. Data dianalisis dengan Anava tiga arah dan uji berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar klorofil total *plantlet* krisan tidak dipengaruhi oleh intensitas cahaya, jenis pemasat media, dan konsentrasi BAP. Pertambahan jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet* hanya dipengaruhi jenis pemasat media. Interaksi media agar-agar dan 0,25 – 1,00 ppm BAP menghasilkan pertumbuhan tunas paling banyak. Berdasarkan hasil tersebut direkomendasikan untuk perbanyak krisan secara *in vitro* sebaiknya menggunakan media agar-agar 0,25 – 1,00 ppm BAP dan pada rentang cahaya 1000 lux hingga 5000 lux.

PENDAHULUAN

Perkembangan budidaya tanaman krisan di Indonesia memiliki prospek yang menjanjikan. Ada berbagai spesies krisan, antara lain yang banyak dibudidayakan adalah *Chrysanthemum indicum* L. Keuntungan dalam satu musim tanam yang diperoleh sebanyak 70% dari dana yang diinvestasikan (Andi, 2013). Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan bahwa usaha budidaya krisan secara finansial sangat menguntungkan. Menurut Silva & Dariusz (2014), tingginya tingkat heterozigositas dan *self incompatibility* mengakibatkan krisan jarang membentuk biji, sehingga perkembangbiakan secara konvensional menggunakan biji sangat sulit dilakukan. Oleh karena itu perlu dicari alternatif perbanyakan agar pemenuhan bibit krisan dari segi jumlah dan kualitasnya optimal serta sesuai dengan keinginan pasar.

Teknik perbanyakan bibit krisan melalui kultur *in vitro* berpotensi menjadi salah satu upaya yang cepat dan efisien dalam meningkatkan daya saing industri bunga krisan (Sanjaya *et al.*, 2015). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* adalah lingkungan pertumbuhan, komponen media, dan tambahan hormon (ZPT) (Ibrahim, 2015). Intensitas cahaya dapat mempengaruhi temperatur udara sehingga harus diatur agar temperatur tidak terlalu tinggi. Hal ini dapat dilakukan dengan menempatkan lampu pada jarak tertentu dari botol kultur, untuk luas area tertentu. Kecepatan fotosintesis akan memberikan hasil yang optimal ketika intensitas cahaya juga optimal

Keberadaan agar-agar diperlukan sebagai bahan pematat atau pengisi medium yang berguna sebagai penahan eksplan agar tegak dan berada di permukaan medium (Ibrahim *et al.*, 2017). Vermikulit juga dapat menjadi salah satu alternatif bahan pematat media dalam kultur *in vitro*, seperti yang dilakukan oleh Mashud & Engelbert (2010) yang menambahkan vermikulit pada media cair untuk tanaman kelapa kopyor. Hasilnya *plantlet* kopyor menunjukkan tampilan yang lebih vigor jika ditumbuhkan pada media yang mengandung tambahan vermikulit.

Semakin banyak tunas yang terbentuk, maka semakin banyak pula bibit yang dapat dihasilkan dari proses kultur *in vitro*. Oleh sebab itu perlu penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin untuk memacu multiplikasi tunas yang tinggi. Pada tanaman herba seperti krisan diperlukan sitokinin konsentrasi rendah, yaitu berkisar 0,1-1 mg/l (Lestari, 2011). *Plantlet* pisang Cavendish yang ditanam pada media konsentrasi BAP 4 mg/l menunjukkan pertumbuhan paling optimal (Karamina *et al.*, 2022).

Selama ini protokol perbanyakan *C. indicum* secara *in vitro* yang optimal belum pernah dilaporkan. Perbanyakan yang optimal ditandai dengan pertumbuhan *plantlet* dan kadar klorofil yang relatif tinggi. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan protokol perbanyakan

C. indicum dengan menganalisis pengaruh intensitas cahaya, jenis pematat media, dan konsentrasi BAP serta interaksinya terhadap pertumbuhan dan kadar klorofil krisan secara *in vitro*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Penelitian dilaksanakan selama 2 bulan. Populasi penelitian adalah *plantlet* steril tanaman krisan yang ditumbuhkan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang. Sampel adalah *plantlet* krisan steril setinggi 3 cm yang sehat dan siap disubkultur. Teknik pengambilan sampel penelitian adalah *purposive sampling*, yaitu memilih sampel yang sesuai dengan kriteria. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga faktor. Faktor pertama adalah intensitas cahaya yaitu 1000 lux, 3000 lux, dan 5000 lux. Intensitas cahaya yang bervariasi dilakukan melalui penempatan botol kultur pada jarak yang berbeda dengan lampu LED pada rak kultur. Faktor kedua adalah jenis pematat media yaitu agar-agar dan vermikulit. Faktor ketiga adalah konsentrasi BAP yaitu 0,00 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; dan 1,00 ppm. Jadi ada 24 kombinasi taraf perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali. Dengan demikian terdapat 72 unit penelitian yang berupa satu botol berisi 30 ml media yang ditanami 1 eksplan.

Media yang digunakan adalah media Murashige & Skoog (MS) yang dibuat dengan metode standar, ditambah jenis pematat dan konsentrasi BAP sesuai perlakuan. Botol-botol kultur ditempatkan secara acak kelompok. Sebagai dasar pengelompokan adalah perlakuan intensitas cahaya. Parameter yang diamati adalah kadar klorofil total, pertambahan tinggi *plantlet*, pertambahan jumlah daun, dan jumlah tunas. Data dianalisis menggunakan SPSS versi 20. Data pengamatan yang diperoleh diuji normalitas dan homogenitasnya. Jika data berdistribusi normal dan homogen, maka dianalisis menggunakan Anava tiga arah dengan taraf signifikansi $p \leq 0,05$. Apabila hasil uji signifikan maka dilakukan uji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Tests* (DMRT) untuk menganalisis perbedaan pengaruh antar taraf perlakuan dan kombinasinya. Jika data tidak berdistribusi normal dan homogen, maka diuji dengan analisis nonparametrik *Kruskal-Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Klorofil

Hasil analisis data menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal dan homogen. Oleh karena itu kemudian dilanjutkan dengan Anava. Berdasarkan hasil Anava diketahui intensitas cahaya, jenis media, dan konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap kadar klorofil total *plantlet*

krisan. Hal tersebut berarti media yang menggunakan agar-agar atau vermikulit, intensitas cahaya 1000 lux, 3000 lux atau 5000 lux, dan konsentrasi BAP 0-1 ppm mengakibatkan kadar total klorofil yang tidak berbeda signifikan.

Klorofil adalah salah satu pigmen fotosintetik tumbuhan. Klorofil menyerap cahaya violet-biru dan merah untuk fotosintesis serta memantulkan warna cahaya hijau. Cahaya dapat melakukan aktivitas di dalam kloroplas jika cahaya diserap. Sitokinin, intensitas cahaya dan nutrisi mengatur sintesis pigmen fotosintesis dan protein (Taiz & Zeiger, 2012). Intensitas cahaya menentukan pembentukan klorofil; tingkat pencahayaan yang rendah mengakibatkan jumlah kloroplas per satuan luas pada daun tanaman juga rendah (Fu *et al.*, 2012). Hal tersebut disebabkan klorofil terbentuk pada tingkat pencahayaan yang relatif tinggi (Taiz & Zeiger, 2012). Tetapi jika intensitas cahaya terlalu tinggi dapat menyebabkan fotooksidasi sehingga klorofil dapat hancur. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa intensitas cahaya 1000 lux hingga 5000 lux merupakan rentang yang optimal bagi pembentukan klorofil.

Pertumbuhan *plantlet* krisan

Pertumbuhan *plantlet* krisan diamati pada tiga parameter, yaitu jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet*. Hasil Anava menunjukkan bahwa jenis pematat media berpengaruh signifikan terhadap penambahan jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet* krisan.

Tabel 1. Jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet* krisan pada media kultur dengan jenis pematat agar dan vermikulit

	Jumlah daun	Jumlah tunas	Tinggi <i>plantlet</i>
Agar-agar	64,83	5,61	3,87
Vermikulit	10,25	2,14	2,04
Hasil Anava	*	*	*

Karena hanya ada dua taraf pematat media, maka dapat dinyatakan pematat media agar-agar mengakibatkan 1) jumlah daun (64,83) yang lebih banyak dibandingkan dengan jumlah daun dalam media vermikulit (10,25); 2) jumlah tunas yang lebih banyak (5,61) dibandingkan jumlah tunas pada medium dengan vermikulit (2,14), serta 3) *plantlet* yang lebih tinggi (3,87 cm) dibandingkan tinggi *plantlet* pada media vermikulit (2,04 cm) (Tabel 1).

Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa pematat media agar-agar memberi kondisi yang optimal terhadap pertumbuhan *plantlet*. Agar-agar adalah bentuk koloid dari suatu polisakarida kompleks yang diekstrak dari beberapa kelompok alga merah (Rhodophyceae). Agar-agar merupakan pembentuk gel alami terkuat, tahan suhu tinggi ketika disterilisasi, tetap menjadi gel yang stabil pada suhu inkubasi, dan tidak diurai oleh enzim tanaman (Ahmed, 2021). Gel bertindak

sebagai stabilitas media, penyokong posisi sel atau jaringan tanaman, dan penyedia semua nutrisi yang dibutuhkan sel atau jaringan baru untuk tumbuh menjadi planlet. Agar-agar banyak digunakan sebagai agen pematat dalam kultur jaringan karena kekuatannya sebagai gel dan bersifat transparan (Gehad *et al.*, 2021).

Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa agar-agar merupakan media tanam *in vitro* yang baik yang dapat mendukung pertumbuhan suatu tanaman. Apabila media mempunyai kelembaban dan unsur hara yang optimal, eksplan mampu melakukan penyerapan lebih cepat (Putri, 2006). Media dengan penambahan agar-agar lebih dari 0,5% akan membentuk gel yang kaku, namun kadar air memadai, serta kapasitas penyimpanan unsur baik dan porositas tinggi (Kalita *et al.*, 2020). Akibatnya pertumbuhan pada media yang demikian dapat terjadi secara optimal.



Gambar 1. Jumlah daun. Media agar-agar (a), Media vermikulit (b). *Scale bar.* 1 cm.

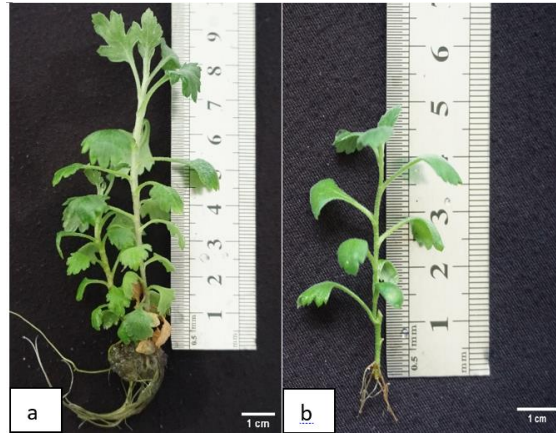
Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah daun *plantlet* yang ditumbuhkan pada media dengan pematat agar-agar lebih banyak dibandingkan yang ditumbuhkan pada media dengan pematat vermikulit (Gambar 1). Jumlah daun ditentukan oleh kemampuan meristem apikal membentuk primordia daun. Setiap primordia daun terbentuk pada bagian panggul meristem apikal. Tanda awal dari perkembangan daun adalah pembelahan sel pada tiga lapisan sel terluar pada meristem apikal. Pembelahan secara periklinal yang diikuti pembesaran sel-sel yang muda akan membentuk primordia daun. Pembelahan sel secara antiklinal yang berlangsung kemudian akan memperluas permukaan primordia daun. Proses ini membutuhkan nutrisi dan air yang digunakan untuk pembelahan dan pembentangan sel (Taiz & Zeiger, 2012). Karena dalam media dengan pematat agar-agar nutrisi dan air tersedia dalam jumlah cukup maka pembelahan dan pembentangan sel terjadi optimal dan akibatnya jumlah primordia daun lebih banyak.

Dari hasil penelitian diketahui jumlah tunas baru yang tumbuh pada media dengan pematat agar lebih banyak dibandingkan yang ditumbuhkan pada media dengan pematat vermikulit (Gambar 2). Pembentukan tunas baru terjadi sebagai hasil pertumbuhan tunas aksilar. Pembentukan tunas aksiler pada batang dibentuk secara eksogen, yaitu dari sel-sel yang berada pada permukaan meristem apeks pucuk. Dalam batang yang sedang aktif tumbuh, pada zona meristem terjadi pembelahan yang dilanjutkan pembentangan sel (Taiz & Zeiger, 2012). Untuk terjadinya pembelahan dan pembentangan sel diperlukan nutrisi dan air yang tersedia di medium tumbuh. Melalui mekanisme yang identik dengan pertumbuhan daun seperti dijelaskan di atas, karena dalam media dengan pematat agar-agar nutrisi dan air tersedia dalam jumlah cukup maka pembelahan dan pembentangan sel terjadi optimal dan akibatnya jumlah tunas juga lebih banyak.



Gambar 2. Jumlah tunas. Media agar-agar (a), Media vermikulit (b). *Scale bar:* 1 cm.

Plantlet yang ditumbuhkan pada media dengan pematat agar-agar lebih tinggi dibandingkan yang ditumbuhkan pada media dengan pematat vermikulit (Gambar 3). Dalam proses pemanjangan batang, sel-sel meristem apikal mula-mula membesar secara radial, kemudian terjadi diferensiasi. Pada awalnya terbentuk prokambium, kemudian diikuti floem dan xilem. Diferensiasi ini berlangsung secara akropetal mulai dari sel-sel yang lebih tua. Setelah diferensiasi terjadi, sel-sel ini membesar secara longitudinal, mengakibatkan pemanjangan batang (Taiz & Zeiger, 2012). Sebagaimana pada pertumbuhan daun dan tunas, mekanisme pertambahan tinggi batang juga melalui proses pembelahan dan pembentangan sel yang membutuhkan nutrisi dan air yang tersedia di media kultur.



Gambar 3. Tinggi *plantlet*. Media agar-agar (a), Media vermikulit (b). *Scale bar*: 1 cm.

Hasil Anava menunjukkan bahwa konsentrasi BAP berpengaruh signifikan terhadap jumlah tunas. Jumlah tunas berbeda-beda antar konsentrasi BAP (Gambar 4).



Gambar 4. Jumlah tunas. BAP 0 ppm (a), BAP 0,25 ppm (b) BAP 0,5 ppm (c), BAP 1 ppm (d). *Scale bar*: 1 cm.

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa kadar BAP 0,25 – 1,00 ppm mengakibatkan jumlah tunas yang tidak berbeda signifikan satu dengan yang lain, dan ketiganya lebih tinggi dari kontrol (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil uji BNT pengaruh BAP pada parameter jumlah tunas *plantlet* krisan

BAP	Jumlah tunas
0,00 ppm	1,6667 ^b
0,25 ppm	4,0550 ^{ab}
0,50 ppm	4,6117 ^{ab}
1,00 ppm	5,1667 ^a

BAP merupakan salah satu jenis sitokinin sintetik. Sitokinin diperlukan untuk pembelahan sel pada jaringan meristematik (Lee *et al.*, 2019). Pada meristem tunas apikal terjadi lokalisasi aktivitas hormonal sitokinin yang meningkatkan proliferasi sel di meristem tersebut (Schaller *et al.*, 2015). Pada konsentrasi di atas titik optimal, semakin tinggi konsentrasi penambahan BAP, maka semakin rendah proses induksi tunas pada eksplan sehingga jumlah tunas menurun (Taiz & Zeiger, 2012). Pada penelitian ini, penambahan BAP konsentrasi 0,25 – 1,00 ppm menunjukkan hasil pertambahan tunas yang lebih banyak dibandingkan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 0,25 – 1,00 ppm termasuk rentang optimal pertumbuhan tunas krisan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Lestari (2011) bahwa tanaman herba seperti krisan memerlukan sitokinin dengan konsentrasi rendah, yaitu berkisar 0,1-1 mg/l.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa intensitas cahaya tidak berpengaruh terhadap kadar klorofil dan pertumbuhan krisan. Jenis pematat media berpengaruh terhadap jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet*. Jenis pematat media agar-agar menghasilkan pertumbuhan jumlah daun, jumlah tunas, dan tinggi *plantlet* yang lebih tinggi dibandingkan vermikulit. Konsentrasi BAP berpengaruh terhadap jumlah tunas. Jumlah tunas tertinggi pada penambahan BAP 0,25 – 1,00 ppm. Interaksi antara intensitas cahaya, jenis media, dan konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap jumlah daun, jumlah tunas, tinggi *plantlet*, dan kadar klorofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A. M. 2021. Effects of different types of gelling agents on in vitro organogenesis and some physicochemical properties of date palm buds, Showathy cv. *Folia Oecologica*, 48: 110-117. doi:10.2478/foecol-2021-0012.
- Andi, K.B. 2013. Analisis rantai pasok dan rantai nilai bunga krisan di daerah sentra pengembangan Jawa Timur. *Jurnal SEPA*, 1(10), 1-10
- Fu, W., Li, P., & Wu Y. 2012. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce. *Scientia Horticulturae*, 135, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.004>
- Gehad, M. M., Ahmed, M. A., Neama, H. O., Mohammed, Z. S., & Mona, H. 2021. Effects of different gelling agents on the different stages of rice regeneration in two rice cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10): 5738-5744, ISSN 1319-562X, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.003>.
- Ibrahim, M.S.D. 2015. Faktor penentu keberhasilan perbanyakan kopi (*Coffea spp.*) melalui embriogenesis somatik. *Sirinov*, 3(3), 127-136
- Ibrahim, M.S.D., Hartati, S.R.R., Rubiyono, Agus, P., & Sudarsono. 2017. Efisiensi media kultur dan aplikasi *temporary immersion system* pada embriogenesis somatik kopi arabika. *Jurnal Littri*, 23(1), 45-54. DOI: <http://dx.doi.org/10.21082/littri.v23n1.2017.45-54>

- Kalita, T., Sangeeta, D., Sangma, Ghanashyam, B., & Ambasht, P.K. 2020. Immobilization of acid phosphatase in agar-agar and gelatin: comparative characterization. *Journal of Scientific Research*, 2(64), 192-200. <http://dx.doi.org/10.37398/JSR.2020.640227>
- Karamina, H., Indawan E., F.I.K. Agustina, F.I.K. 2022. Efektivitas perbedaan konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan plantlet pisang cavendish dengan teknik Thin Cells Layer. *Jurnal Kultivasi*, 21(2): 135-140.
- Lee, Z.H., Hirakawa, T., Yamaguchi, N., & Ito, T. 2019. The roles of plant hormones and their interactions with regulatory genes in determining meristem activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16), 4065. doi: 10.3390/ijms20164065.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63-68
- Mashud, N., & Engelbert, M. 2010. Pengaruh penggunaan vermikulit terhadap pertumbuhan plantlet *in vitro* kelapa genjah kopyor. *Buletin Palma*, 38, 43-48
- Putri, D.M.S. 2006. Pengaruh jenis media tanam terhadap pertumbuhan *Begonia imperialis* dan *Begonia 'Bethlehem star'*. *Biodiversitas*, 7(2), 168-170. DOI: 10.13057/biodiv/d070216
- Sanjaya, L., Budi, M., & Rudy, S. 2015. Membangun industri bunga krisan yang berdaya saing melalui pemuliaan mutasi. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 1(8), 43-54
- Schaller, G.E., Bishopp, A., & Kieber, J.J. 2015. The Yin-Yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. *Plant Cell*, 27(1), 44–63. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.133595>
- Silva, J.A.T., & Dariusz, K. 2014. Chrysanthemum biotechnology: discoveries from the recent literature. *Folia Horticulturae*, 26(2), 67-77. DOI: 10.2478/fhort-2014-0007
- Taiz, L and Zeiger, E 2012. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc. Publishers: Sunderland, Massachusetts