REGENERASI *IN VITRO* TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morfolium)* MELALUI TUNAS AKSILAR SEBAGAI RESPONS TERHADAP MEDIA DASAR DAN BENZILADENIN SERTA AKLIMATISASI PLANLET

(Skripsi)

Oleh

YANTI MARCHELINA LUBIS

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

ABSTRAK

REGENERASI *IN VITRO* TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morfolium)* **MELALUI TUNAS AKSILAR SEBAGAI RESPONS TERHADAP MEDIA DASAR DAN BENZILADENIN SERTA AKLIMATISASI PLANLET**

Oleh

YANTI MARCHELINA LUBIS

Kultur jaringan merupakan alternatif perbanyakan tunas krisan dalam jumlah besar dan seragam. Penelitian ini terdiri dari dua percobaan yang bertujuan untuk (1) mengetahui pengaruh media dasar dan penambahan benziladenin (BA) terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar krisan; (2) mengetahui media tanam terbaik untuk aklimatisasi planlet. Percobaan I dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Perlakuan disusun secara faktorial 2x3. Faktor pertama adalah media dasar (½ MS dan Growmore 2 g/l), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi BA yaitu 0; 0,25; 0,5 mg/l. Setiap unit percobaan terdiri dari 3 botol kultur yang masing-masing berisi 4 eksplan potongan batang satu buku tanpa daun. Kedua media dasar diperkaya dengan 30 g/l sukrosa; 0,1 mg/l tiamin-HCl; 0,5 mg/l piridoksin-HCl; 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin. Sebelum tingkat kemasaman media diatur menjadi 5,8 ditambah dengan pemadat media 8 gram agar-agar. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm^{2} selama 7

menit. Semua kultur krisan dipelihara pada ruang kultur bersuhu 26 ± 2°C. Pengamatan dilakukan untuk variabel tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku, jumlah akar dan bobot segar tunas pada umur 6 MST. Percobaan II dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 ulangan dan 2 perlakuan yaitu media arang sekam dan campuran arang sekam dan kompos. Setiap satuan percobaan terdiri dari 10 planlet krisan yang berukuran seragam. Pengamatan dilakukan pada 8 minggu setelah planlet dikeluarkan dari botol untuk variabel persentase tanaman hidup, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar dan bobot. Semua data dianalisis ragamnya dan apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka pemisahan nilai tengah dilakukan uji BNT pada taraf 5%. Hasil percobaan I menunjukkan bahwa (1) media dasar ½ MS menghasilkan jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah buku yang lebih tinggi dibandingkan dengan media dasar Growmore 2 g/l, sedangkan untuk variabel tinggi tunas, jumlah akar dan bobot segar tunas, media ½ MS tidak berbeda dengan media Growmore 2 g/l, (2) pada kultur krisan berumur 6 MST, penambahan BA pada konsentrasi 0,25 mg/l ke dalam media meningkakan jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku dan bobot segar tunas, namun menurunkan tinggi tunas dan jumlah akar. Peningkatan konsentrasi BA dari 0,25 mg/l menjadi 0,5 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas dan jumlah buku namun menyebabkan penurunan bobot segar tunas, (3) tanpa penambahan BA, kedua media dasar menghasilkan tinggi tunas dan jumlah akar terbaik, namun penambahan BA menyebabkan peningkatan pada jumlah tunas dan jumlah buku. Tanpa penambahan BA, media ½ MS menghasilkan jumlah buku yang sama

dengan media Growmore 2 g/l, namun jika ditambahkan dengan BA (0,25 mg/l atau 0,5 mg/l), maka media ½ MS menghasilkan jumlah tunas dan jumlah buku yang lebih banyak daripada media Growmore 2 g/l. Hasil percobaan II menunjukkan bahwa untuk aklimatisasi planlet krisan, media arang sekam menghasilkan keberhasilan aklimatisasi atau persentase tanaman hidup, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar yang lebih baik dibandingkan campuran media arang sekam dan kompos.

Kata kunci : Aklimatisasi, benziladenin (BA), Growmore, *in vitro*, krisan, ½ MS

REGENERASI *IN VITRO* TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morfolium)* MELALUI TUNAS AKSILAR SEBAGAI RESPONS TERHADAP MEDIA DASAR DAN BENZILADENIN SERTA AKLIMATISASI PLANLET

Oleh

YANTI MARCHELINA LUBIS

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

Pada

Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung

UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

Judul Skripsi	:	**REGENERASI IN VITRO TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morfolium*) MELALUI TUNAS AKSILAR SEBAGAI RESPONS TERHADAP BENZILADENIN SERTA AKLIMATISASI PLANLET**
Nama Mahasiswa	:	**Yanti Marchelina Lubis**
Nomor Pokok Mahasiswa	:	1214121231
Jurusan	:	Agroteknologi
Fakultas	:	Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.
NIP 196108031986032002

Sri Ramadiana, S.P., M.Si.
NIP 196104021986031003

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua	:	**Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.**	.....
Sekretaris	:	**Sri Ramadiana, S.P., M.Si.**	.....
Penguji Bukan Pembimbing	:	**Ir. Rugayah, M.P**	.....

2. Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Oktober 2016

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**Regenerasi *In Vitro* Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morfolium*) Melalui Tunas Aksilar sebagai Respons terhadap Benziladenin Serta Aklimatisasi Planlet**" adalah karya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiarisme.
2. Pembimbing penulisan skripsi ini berhak mempublikasikan seluruh isi skripsi ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Apabila di kemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya. Saya sanggup dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 18 Oktober 2016
Penulis

METERAI TEMPEL
E80F8AEF136458958
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Yanti Marchelina Lubis
NPM 1214121231

RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 27 Maret 1994. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Lamhot Saornauli Lubis dan Ibu Debora Debataraja, S.Pd.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Xaverius 3 Way Halim Permai Bandar Lampung pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama di SMP Xaverius 4 Way Halim Permai Bandar Lampung pada tahun 2009, dan Sekolah Menengah Atas di SMA Xaverius Pahoman Bandar Lampung pada Tahun 2012.

Penulis diterima sebagai Mahasiswa jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2012 melalui jalur undangan. Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tanaman (Semester Genap 2015/2016), dan Teknik Perbanyakan Tanaman (Semester Genap 2015/2016). Penulis juga tergabung dalam organisasi kampus UKM Paduan Suara Mahasiswa Universitas Lampung sebagai koordinator Dana Usaha periode 2013/2015 (2 tahun). Prestasi yang diperoleh mendapat 2 medali emas di kompetisi luar negeri Barcelona, Spanyol (Canta al mar 2014 Festival Coral International) dan menjadi Ketua Pelaksana dalam kompetisi Pesparawi (Pesta Paduan Suara Gerejawi) di UKI, Jakarta dengan mendapat 1 medali emas dan 2 medali perak.

Pada bulan September 2015 penulis melaksankan Praktik Umum (PU) di Balai Penelitian Tanaman Hias (BALITHI) Segunung Pacet Kabupaten Cianjur Jawa Barat selama 30 hari kerja efektif. Pada bulan Januari 2016, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sungai Burung, Kecamatan Dente Teladas, Kabupaten Tulang Bawang selama 60 hari.

For My Dearest,
Ibunda tercinta Debora Debataraja, S.Pd
Ayahanda tercinta Lamhot Saornauli Lubis
Abang Rendy Holong Saputra Lubis & Hendro Darmawan Lubis

Berkatalah pada diri sendiri: saya pasti jadi pemenang. Kalau tidak menjadi yang nomor satu, saya pasti dapat juara dua. Jika kesempatan itu tidak ada, setidaknya saya juara buat diri sendiri, karena telah melakukan yang terbaik semampu saya.

(Ken Doherty)

Hormatilah ayahmu dan ibumu dan kasihilah sesamamu manusia seperti dirimu sendiri.

(Matius 19:19)

SANWACANA

Puji Tuhan kepada Tuhan Yesus Kristus, yang telah memberikan berkat, rahmat dan karunia yang dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pelaksanaan penelitian ini tentu tidak terlepas dari pihak-pihak yang telah memberikan motivasi, bimbingan, saran, dan dukungan. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc., selaku dosen Pembimbing Utama atas ide penelitian, waktu, kesabaran, bimbingan, dan nasihat-nasihat bijak yang selama ini diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku dosen Pembimbing Kedua dan Pembimbing Akademik atas waktu, bimbingan, kesabaran, motivasi, dan nasihat bijak selama penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ir. Rugayah, M.P., selaku dosen Penguji atas saran, masukan, kritikan, dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Ketua Bidang Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
5. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung,

6. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
7. Mama (Ibu Debora Debataraja, S.Pd) dan Bapak (Bapak Lamhot Saornauli Lubis), Abangku Rendy Holong Saputra Lubis dan adikku Hendro Darmawan Lubis atas doa, dukungan, dan bantuan moril maupun materi yang telah diberikan kepada penulis.
8. Yenni Sofialita Nainggolan, Rezlinda Nurbaiti, Wiwik Ferawati, Ria Rizky Lestari, Resti Astria, Yoga Saputra, Vanny Unjunan, Syanda Giantara Kepala Mega dan Rifky Bangsawan, selaku rekan dalam melaksanakan penelitian ini. Terima kasih atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan.
9. Hayane Adelin Warganegara, S.P., M.Si., dan kru Laboratorium yang telah memberikan bantuan, saran, dan semangat juang selama penelitian dan penulisan skripsi.
10. Teman-teman Agroteknologi 2012, teman-teman Paduan Suara Mahasiswa Universitas Lampung, dan teman-teman yang lain yang tidak penulis sebutkan satu per satu, terima kasih atas motivasinya.

Semoga Tuhan Yesus Kristus memberikan balasan atas semua bantuan yang telah diberikan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pembaca.

Bandar Lampung, Oktober 2016

Penulis

Yanti Marchelina Lubis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL viii

DAFTAR GAMBAR xii

I. PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang dan Masalah 1
1.2 Tujuan Penelitian 7
1.3 Landasan Teori 8
1.4 Kerangka Pemikiran 9
1.5 Hipotesis 12

II. TINJAUAN PUSTAKA 13

2.1 Krisan 13
2.2 Kultur Jaringan 15
2.3 Media Dasar 18
2.4 Benziladenin (BA) 20
2.5 Multiplikasi Tunas Aksilar 22
2.6 Aklimatisasi 25

III. BAHAN DAN METODE 29

3.1 Percobaan I Pengaruh Media Dasar dan Konsentrasi benziladenin terhadap Pembentukan Tunas Aksilar Krisan *In Vitro* 29

3.1.1 Tempat dan Waktu Penelitian 29
3.1.2 Bahan Tanaman 29
3.1.3 Metode Penelitian 30
3.1.4 Pelaksanaan Penelitian 31

3.1.4.1.1 Sterilisasi Botol dan Alat..... 31
3.1.4.1.2 Pembuatan Media..... 32
3.1.4.1.3 Penanaman Eksplan..... 33
3.1.4.1.4 Pengamatan 34

3.2 Percobaan II Pengaruh Media Tanam terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet Krisan 35

3.2.1 Tempat dan Waktu Penelitian 35
3.2.2 Bahan Tanaman 35
3.2.3 Persiapan Media Tanam 35
3.2.4 Metode Penelitian 36
3.2.5 Hardening Off 37
3.2.6 Aklimatisasi 37
3.2.7 Pengamatan 37

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... 38

4.1 Hasil Penelitian..... 38

4.1.1 Percobaan I Pengaruh Media Dasar dan Konsentrasi Benziladenin terhadap Pembentukan Tunas Aksilar Krisan In Vitro 38

4.1.1.1 Perkembangan Umum Kultur 38
4.1.1.2 Tinggi Tunas 40
4.1.1.3 Jumlah Tunas 41
4.1.1.4 Jumlah Daun 42
4.1.1.5 Jumlah Buku 43
4.1.1.6 Jumlah Akar 44
4.1.1.7 Bobot Segar Tunas 45
4.1.1.8 Penampilan Visual Eksplan 46
4.1.1.9 Subkultur Tunas Krisan Hasil Perlakuan Penambahan BA ke dalam Media MS + AC..... 47

4.1.2 Percobaan II Pengaruh Media Tanam terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet Krisan..... 48

4.1.2.1 Persentase Planlet Hidup..... 49
4.1.2.2 Tinggi Tanaman 50
4.1.2.3 Jumlah Daun 50
4.1.2.4 Jumlah Akar 51
4.1.2.5 Panjang Akar..... 52
4.1.2.6 Bobot Segar..... 52

4.2 Pembahasan 53

4.2.1 Percobaan I Pengaruh Media Dasar dan Konsentrasi benziladenin terhadap Pembentukan Tunas Aksilar Krisan In Vitro 53

4.2.2 Percobaan II Pengaruh Media Tanam terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Planlet Krisan 58

V. KESIMPULAN DAN SARAN 61

5.1 Kesimpulan 61

5.2 Saran 62

DAFTAR PUSTAKA 63

LAMPIRAN 67

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Kandungan hara makro dan mikro pada pupuk Growmore 20
2. Kombinasi Perlakuan 30
3. Formulasi Media ½ MS dan Growmore 2 g/l 32
4. Rekapitulasi hasil pengamatan pengaruh media dasar dan penambahan benziladenin (BA) terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar krisan *in vitro* setelah enam minggu tanam 40
5. Rekapitulasi analisis ragam dan hasil uji BNT pada berbagai pengamatan media aklimatisasi yang berbeda terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan 48
6. Formulasi Media Murashige dan Skoog (MS) 65
7. Peranan masing-masing unsur hara dan vitamin dalam media kultur 68
8. Rata-rata tinggi tunas krisan 6 minggu setelah tanam 69
9. Hasil uji Barlet tinggi tunas krisan 6 minggu setelah tanam 69
10. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata tinggi tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 69
11. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata tinggi tunas terhadap penambahan benziladenin terhadap tinggi tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 70
12. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata media dasar dan penambahan benziladenin terhadap tinggi tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix8 70
13. Rata-rata jumlah tunas krisan 6 minggu setelah tanam..... 70

14. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah tunas yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 71

15. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah tunas krisan terhadap media dasar yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 71

16. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah buku krisan terhadap penambahan benziladenin yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8..... 71

17. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata media dasar dan penambahan benziladenin terhadap jumlah tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanan menggunakan uji BNT 5% dengan statistix8..... 72

18. Rata-rata jumlah jumlah daun krisan 6 minggu setelah tanam 72

19. Hasil uji Barlet jumlah daun krisan 6 minggu setelah tanam. 72

20. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah daun yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 72

21. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah daun krisan terhadap media dasar yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 72

22. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah daun krisan terhadap penambahan benziladenin yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 72

23. Rata-rata jumlah buku krisan 6 minggu setelah tanam 72

24. Hasil uji Barlet jumlah buku krisan 6 minggu setelah tanam. 74

25. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah buku yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 74

26. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah buku krisan terhadap media dasar yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 74

27. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah buku krisan terhadap penambahan benziladenin yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 74

28. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata media dasar dan penambahan benziladenin terhadap tinggi tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix8 75

29. Rata-rata jumlah akar krisan 6 minggu setelah tanam 75

30. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah akar yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 75

31. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah akar krisan terhadap penambahan benziladenin yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 76

32. Rata-rata bobot segar krisan 6 minggu setelah tanam..... 76

33. Hasil uji Barlet bobot segar krisan 6 minggu setelah tanam….....76

34. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata bobot segar yang dikulturkan *in vitro* pada berbagai media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l dengan dan tanpa penambahan BA 76

35. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata bobot segar krisan terhadap penambahan benziladenin yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 77

36. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata media dasar dan penambahan benziladenin terhadap bobot segar krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix8 77

37. Rata-rata persentase planlet hidup krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 77

38. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata % planlet hidup krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 77

39. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata % planlet hidup krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8..... 78

40. Rata-rata tinggi tanaman yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 78

41. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata tinggi tanaman krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 78

42. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata tinggi tanaman krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 79

43. Rata-rata jumlah daun yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 79

44. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah daun krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 79

45. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah daun krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 79

46. Rata-rata jumlah akar yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 80

47. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata jumlah akar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 80

48. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah akar krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 80

49. Rata-rata panjang akar yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 80

50. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata panjang akar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 80

51. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata panjang akar krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 81

52. Rata-rata bobot segar yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 81

53. Hasil analisis ragam dengan statistix 8 pada rata-rata bobot segar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 81

54. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata bobot segar krisan terhadap media tanam menggunakan uji BNT 5% dengan statistix 8 82

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Bunga Krisan *cv* Merahayani 15

2. Pupuk Growmore (32:10:10) 20

3. Struktur molekul benziladenin 22

4. Lokasi meristem utama 23

5. Bahan Tanam: (a) Planlet krisan *cv* Merahayani dan (b) potongan satu *(nodal explant)* krisan 31

6. Penanaman batang satu buku (*nodal explant)* cv. Merahayani: (a) bahan tanam yang digunakan, (b) mengeluarkan eksplan, (c) membuang akar dan daun, (d) memotong batang krisan, (e) ukuran eksplan 1- 1,5cm, (f) menanam eksplan ke media 34

7. Bahan Tanaman: (a) Eksplan yang ditanam di media pengakaran, (b) planlet yang berumur 4 minggu 35

8. Aklimatisasi: (a)*hardening off*, (b) perendaman media dalam larutan dithane, (c) mengeluarkan planlet, (d) perendaman planlet dalam larutan dithane, (e) planlet yang akan ditanam, (f) perendaman akar dalam larutan *rootmore* (g) planlet yang sudah ditanam, (h) penyungkupan planlet 36

9. Eksplan krisan (a) awal tanam dan (b) 1 MST..... 38

10. Penampilan kultur krisan di media (a) ½ MS + 0 mg/l BA, (b) ½ MS + 0,25 mg/l BA. (c) ½ MS + 0,5 mg/l BA, (d) Growmore 2 g/l + 0 mg/l BA, (e) Growmore 2 g/l + 0,25 mg/l BA dan (f) Growmore 2 g/l + 0,5 mg/l BA 39

11. Pengaruh media dasar dan penambahan benziladenin terhadap tinggi tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam.. 41

12. Pengaruh media dasar dan penambahan BA terhadap jumlah tunas krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam 42

13. Rata-rata jumlah daun krisan yang dikulturkan *in vitro* pada media dasar ½ MS dan Growmore 2 g/l pada penambahan benziladenin..... 43

14. Pengaruh penambahan BA terhadap jumlah daun krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam..... 43

15. Pengaruh media dasar terhadap jumlah akar krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam 44

16. Pengaruh penambahan BA terhadap jumlah akar krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam..... 45

17. Pengaruh penambahan BAterhadap bobot segar krisan yang dikulturkan *in vitro* setelah enam minggu tanam..... 46

18. Penampilan visual tunas aksilar setelah 6 minggu dikulturkan pada media ½ MS (A) dan media Growmore 2 g/l (B) dengan penambahan BA 0 mg/l (1), 0,25 mg/l (2) dan 0,5 mg/l (3) 47

19. Penampilan visual tunas krisan. (a) Hasil perlakuan pada media ½ MS + 0,5 mg/l dan (b) pada media MS + arang aktif 2 gr/l. 48

20. Rata-rata persentase plantlet hidup krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal..... 49

21. Rata-rata tinggi tanaman krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal..... 50

22. Rata-rata jumlah daun krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal..... 50

23. Rata-rata jumlah akar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal..... 51

24. Rata-rata panjang akar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal 52

25. Rata-rata bobot segar krisan yang ditanam pada media aklimatisasi yang berbeda selama 2 bulan di lingkungan eksternal..... 53

26. Penampilan plantlet krisan yang baru dikeluarkan dari media MS + arang aktif 2 g/l umur 4 MST 53

27. Tanaman krisan umur 2 bulan di lingkungan eksternal (a) arang sekam, (b) arang sekam + kompos..... 54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Tanaman hias (*ornamental plants*) merupakan produk pertanian yang memiliki prospek agribisnis yang sangat menjanjikan. Tanaman hias banyak dibudidayakan karena bernilai ekonomi tinggi akibat dari nilai estetika yang dimilikinya. Adanya nilai estetika yang dimiliki oleh tanaman hias menyebabkan banyak dibudidayakan sebagai objek taman untuk perumahan, perkantoran, restoran, dan sebagianya. Selain itu, juga dibutuhkan sebagai hiasan atau bahan dekorasi ruangan baik untuk *indoor* maupun *outdoor*.

Salah satu tanaman hias yang banyak diminati oleh masyarakat adalah krisan. Krisan (*Chrysanthemum morfolium*) adalah tanaman bunga hias berupa herba dengan sebutan lain seruni atau bunga emas (*Golden Flower*). Tanaman krisan memiliki bentuk dan warna yang beragam serta unik dan menarik sehingga banyak diminati oleh masyarakat. Selain sebagai penghias, juga sebagai tanaman pengusir nyamuk dan tanaman obat. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS, 2014), produksi tanaman krisan di Indonesia terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun untuk memenuhi permintaan konsumen yang juga semakin meningkat. Pada tahun 2013, produksi krisan sebesar 387.208.754 tangkai dan meningkat hingga mencapai 427.248.059 tangkai (meningkat 10,43 %) pada tahun

2014. Permintaan pasar yang tinggi tersebut menjadikan tanaman krisan mempunyai prospek yang cerah untuk dikembangkan baik pada saat ini maupun yang akan datang (Balai Penelitian Tanaman Hias, 2000).

Salah satu varietas krisan yang digemari yaitu krisan *cv* 'Merahayani'. Krisan *cv* 'Merahayani' merupakan silsilah turanan esensial dari varietas Stroika, memiliki umur berbunga 60-70 hari setelah tanam, tipe bunga *spray*, tinggi tanaman 110-120 cm, diameter bunga pita 5,5-6,5 cm, diameter bunga tabung 1,8-2,0 cm, warna bunga pita merah, warna bunga tabung hijau kekuningan, berbentuk bunga tunggal, diameter batang 0,9-1,1 cm, jumlah kuntum bunga 14-16 kuntum per tangkai. Surat keputusan varietas Merahayani terdapat pada SK Varietas 3943/Kpts/SR.120/ 3/2013. Keunggulannya adalah batang tegar, daun yang agak tebal untuk menunjang diameter cakram bunga yang besar, warna bunga merah yang hampir tidak pudar meskipun mekar bunga telah over dan hasil bunga 56-60 tangkai/m^2/musim tanam dengan jarak tanam 20 x 20 cm. Bunga krisan *cv*. Merahayani mempunyai masa kesegaran bunga 10-15 hari setelah panen dan dapat beradaptasi dengan baik di dataran menengah sampai tinggi dengan ketinggian 750-1200 m dpl (Balithi, 2000).

Banyaknya permintaan untuk tanaman krisan tidak sebanding dengan sediaan induk tanaman. Jumlah tanaman induk belum cukup untuk memenuhi ketersediaan bibit untuk perbanyakan krisan. Menurut Rukmana dan Mulyana (1997), masalah lain adalah degenerasi bibit, yaitu penurunan mutu bibit sejalan dengan bertambahnya umur tanaman induk, dan rendahnya mutu bibit yang

dihasilkan. Hal ini dikarenakan tanaman krisan diperbanyak dengan setek pucuk maupun anakan. Untuk menghindari atau mengurangi degenerasi bibit, produsen dituntut agar dapat menerapkan teknik perbanyakan yang tepat untuk mengatasi masalah tersebut.

Cara yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah ketersediaan bibit krisan adalah dengan kultur jaringan. Menurut Yusnita (2003), kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur berisi hara lengkap dan kondisi lingkungan terkendali untuk tujuan tertentu. Yusnita (2003) menerangkan bahwa penggunaan teknik kultur jaringan yang dilakukan selama ini dirasa cukup efektif untuk mengembangkan bibit yang berkualitas dan seragam pada berbagai jenis tanaman (tanaman pot, bunga potong, buah-buahan, dan tanaman berumbi). Perbanyakan tanaman krisan yang dilakukan dengan cara kultur jaringan diharapkan dapat menghasilkan kualitas bibit krisan yang unggul dan seragam, tahan terhadap penyakit, tingkat produksi tinggi serta waktu yang relatif lebih singkat jika dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional.

Formulasi media dasar merupakan salah satu penentu keberhasilan pengulturan tanaman *in vitro*. Media yang digunakan secara luas adalah media MS yang dikembangkan pada tahun 1962 yang dikenal sebagai media MS (Murashige dan Skoog). MS sering digunakan karena cocok untuk berbagai jenis tanaman. Dari berbagai komposisi dasar ini kadang-kadang dibuat modifikasi, misalnya hanya menggunakan ½ dari konsentrasi dari garam-garam makro yang digunakan (½ MS). Growmore merupakan pupuk daun anorganik yang berbentuk kristal

berwarna biru dan mengandung unsur hara makro dan mikro. Persentase unsur hara (N-P_2O_5-K_2O) yang dikandung pupuk Growmore biru sebesar 32%-10%-10% dan dapat digunakan pada media kultur *in vitro*. Menurut Indrawati (2007), media ½ MS mampu menghasilkan kecambah *Dendrobium* lebih vigor dibandingkan dengan media pupuk Hyponex maupun VW. Hal ini diduga bahwa ½ MS mengandung komponen unsur hara makro dan mikro lebih lengkap dibandingkan dengan formulasi lain.

Dalam kultur jaringan tanaman terdapat tiga pola regenerasi yaitu perbanyakan tunas aksilar, organogenesis, dan embriogenesis (Yusnita, 2015). Perbanyakan tunas aksilar *in vitro* merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menghasilkan bibit *true-to-type*, dan metode ini lebih menjamin kestabilan genetik pada tanaman regeneran yang dihasilkan (Kane, 2000). Menurut Yusnita (2015), perbanyakan dengan metode ini banyak digunakan karena relatif sederhana, aberasi genetik sangat kecil, perbanyakan berlangsung cukup cepat, dan tanaman yang dihasilkan tumbuh dengan baik karena terjadinya rejuvenasi.

Perbanyakan tunas aksilar adalah perbanyakan eksplan yang mempunyai mata tunas aksilar, dengan cara menumbuhkembangkan dalam kultur *in vitro*. Umumnya cara ini memerlukan sitokinin untuk merangsang pecah dan tumbuhnya mata tunas aksilar. Sitokinin yang biasa digunakan adalah benziladenin. Selanjutnya melalui beberapa subkultur atau pemindahan ke media baru, eksplan dipacu untuk menghasilkan dalam jumlah besar. Tunas yang sudah tumbuh memanjang dapat dipotong-potong untuk diperbanyak atau diakarkan

menghasilkan planlet untuk diaklimatisasi menjadi bibit siap tanam (Yusnita, 2015).

Aklimatisasi merupakan tahap penting dalam proses kultur jaringan. Tahap ini sering kali menjadi titik kritis dalam aplikasi teknik kultur jaringan. Aklimatisasi diperlukan karena tanaman hasil kultur jaringan umumnya memiliki lapisan lilin tipis dan belum berkembang dengan baik, sel-sel dalam palisade belum berkembang maksimal, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang, dan stomata sering kali tidak berfungsi, yaitu tidak dapat menutup pada saat penguapan tinggi. Perubahan kondisi lingkungan yang drastis, dari lingkungan terkontrol ke tidak terkontrol, dari suhu relatif stabil ke suhu lingkungan yang fluktuatif, dari kelembaban tinggi ke rendah dan fluktuatif, dan dari intensitas cahaya rendah ke tinggi pada umumnya menyebabkan tanaman mudah mengalami cekaman atau stres, kehilangan air, layu, dan mati. Oleh karena itu, proses aklimatisasi perlu dilakukan secara bertahap, seperti yang diterapkan Winarto (2002) pada anyelir. Menurut Winarto (2002), penutupan planlet menggunakan plastik transparan pada 7 hari pertama berpengaruh terhadap keberhasilan aklimatisasi. Setelah plastik dibuka, planlet mengalami kelayuan ringan dan pulih setelah 2-3 hari. Aklimatisasi akan membantu tanaman beradaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti suhu, kelembapan, dan intensitas cahaya.

Media tumbuh dan teknik penanaman merupakan faktor penting dalam proses aklimatisasi. Menurut Hartmann *et al*., (2011), media aklimatisasi umumnya

tidak menggunakan tanah mineral, tetapi kombinasi antara bahan organik dan pasir atau vermikulit, tergantung ketersediaan dan harganya.

Media tanam sekam bakar memiliki porositas tinggi dan ringan, dapat mengurangi pengaruh penyakit akibat gulma dan bakteri. Media campuran arang sekam dan kompos dengan perbandingan 1:1 menghasilkan persentase tanaman yang hidup sebesar 100% pada aklimatisasi tanaman pisang Tanduk dan Ambon Kuning (Ismaryati, 2010).

Masing-masing bahan campuran media tanam tersebut memiliki sifat fisik dan kandungan hara yang berbeda. Pencampuran dua jenis media atau lebih diharapkan dapat saling melengkapi kekurangan masing-masing media seperti kecepatan melapuk, penyediaan hara tanaman, dan kemampuan mempertahankan kelembaban (Marlina dan Rusnandi, 2007).

Rumusan masalah pada penelitian ini terdiri dari dua percobaan, yaitu:

Percobaan I. Pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan *in vitro*.

1. Apakah media dasar (½ MS atau Growmore 2 g/l) berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar?
2. Apakah penambahan benziladenin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar?
3. Apakah terdapat interaksi antara media dasar (½ MS atau Growmore 2 g/l) dan benziladenin dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar krisan?

Percobaan II. Pengaruh media tanam terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

1. Apakah media yang terbaik untuk pertumbuhan krisan secara *ex vitro.*

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

Percobaan I. Pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan *in vitro*.

1. Mempelajari pengaruh media dasar (½ MS atau Growmore 2 g/l) terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar.
2. Mempelajari pengaruh penambahan benziladenin terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar.
3. Mengetahui pengaruh interaksi antara media dasar (½ MS atau Growmore 2 g/l) dan benziladenin terhadap pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar krisan.

Percobaan II. Pengaruh media tanam terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

1. Mengetahui media yang terbaik untuk pertumbuhan krisan secara *ex vitro.*

1.3 Landasan Teori

Dalam rangka menyusun penjelasan teoritis terhadap pertanyaan yang telah dikemukaan, penulis menggunakan landasan teori sebagai berikut.

Kultur jaringan didasari oleh teori totipotensi sel yang dikemukaan oleh Schwann dan Schleiden, yaitu bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi

genetik dan perangkat fisiologis lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh pada kondisi sesuai. Beberapa keuntungan dari penggunaan kultur jaringan, teknik ini mampu menghasilkan banyak tanaman dalam waktu yang relatif singkat, tidak memerlukan tempat yang luas, kegiatan perbanyakan dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim, dan menghasilkan bibit yang sehat. Perbanyakan dengan kultur jaringan menjadi pilihan tepat ketika permintaan pasar terhadap suatu tanaman tinggi tetapi pasokannya rendah karena laju perbanyakannya secara konvensional dianggap lambat.

Formulasi media dasar dan ZPT yang digunakan merupakan salah satu penentu keberhasilan pengulturan tanaman in vitro. Pada tanaman krisan, pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar *in vitro* telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Thuringiensis, *et al*., (2012) melaporkan bahwa, menggunakan media MS dengan BA 0,1 mg/l + GA 0,5 mg/l optimum untuk mendorong pecah dan tumbuhnya tunas aksilar krisan. Menurut Karim, *et.al*., (2002), respon terbaik terhadap proliferasi tunas yang berasal dari node *Chrysanthemum morifolium*, adalah dengan menggunakan media MS + 1,0 mg/l BA. Menurut Ilahi *et al*., (2012), eksplan yang disubkultur pada media 0,5 mg/l BA menunjukkan jumlah tunas yang terbanyak.

Hasil penelitian Syaputri (2009) menyatakan bahwa media dasar Growmore (32:10:10) 2 g/l dan ac 2 g/l dengan penambahan pisang ambon 0; 50; 100; dan150 g/l, media yang ditambah 100 g/l pisang ambon menghasilkan

pertumbuhan *seedling* anggrek *Dendrobium* terbaik. Pada penelitian Samsurianto (2010) aplikasi 2 g/l Growmore memberi pengaruh yang optimal terhadap perkecambahan biji kantong semar.

Sitokinin adalah senyawa adenin lain yang memacu pembelahan sel (sitokinesis) pada sistem jaringan tumbuhan (Salisbury dan Ross, 1995). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk multiplikasi tunas pada kultur jaringan tanaman. Selain pada pembelahan sel, sitokinin juga berperan dalam peningkatan plastisitas dinding sel sehingga pembesaran sel terjadi lebih cepat. Oleh karena itu, penambahan sitokinin ke dalam media kultur dapat mempercepat pembelahan sekaligus pembesaran sel. Apabila konsentrasi sitokinin di dalam eksplan lebih tinggi dibanding konsentrasi auksin, sel-sel yang membelah dan membesar tadi akan membentuk tunas.

1.4 Kerangka Pemikiran

Berdasarkan landasan teori yang telah dikemukakan, berikut ini disusun kerangka pemikiran untuk memberikan penjelasan terhadap rumusan masalah. Salah satu tanaman hias yang banyak diminati oleh masyarakat adalah krisan. Oleh karena banyak peminatnya, permintaan krisan terus meningkat dari tahun ke tahun. Hal ini menunjukkan perlu adanya upaya pengembangan penelitian tentang budidaya krisan, khususnya yang berkaitan dengan penyediaan bibit melalui perbanyakan dengan kultur jaringan untuk menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, seragam, dan dalam waktu yang relatif cepat.

Perbanyakan krisan pada umumnya dilakukan secara vegetatif, seperti setek pucuk/setek batang dan kultur jaringan. Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan waktu singkat dan tidak membutuhkan tempat yang luas, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional, dan mempunyai sifat identik dengan induknya.

Regenerasi *in vitro* dalam penelitian ini dilakukan dengan perbanyakan tunas aksilar yang berasal dari potongan satu nodal eksplan krisan *cv*. Merahayani, kemudian mengkulturkan tunas aksilar ke dalam media yang mempunyai komposisi yang sesuai untuk proliferasi tunas sehingga diperoleh penggandaan tunas dengan cepat. Setiap tunas yang dihasilkan dapat dijadikan sebagai sumber untuk penggandaan tunas selanjutnya sehingga diperoleh tunas yang banyak dalam waktu yang relatif lebih singkat.

Media yang digunakan untuk perbanyakan tunas aksilar adalah media dasar Growmore dan ½ MS dengan penambahan benziladenin pada konsentrasi 0 mg/l, 0,25 mg/l , dan 0,5 mg/l. Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mampu mengontrol pembelahan sel, inisiasi meristem tunas, diferensiasi daun dan akar, biogenesis kloroplas, dan toleransi stress. Sitokinin bersifat memacu pembelahan sel sehingga sering digunakan sebagai zat perangsang tumbuh tunas. Oleh karena itu, untuk mempercepat pertumbuhan tunas aksilar diperlukan pengaplikasian ZPT berupa sitokinin.

Sitokinin yang sering digunakan untuk mempercepat pertumbuhan tunas adalah BAP/BA *(6-benzyl amino purine/6-benzyl adenine).* Pemberian BA pada media dasar ½ MS atau Growmore (32:10:10) diharapkan mampu meningkatkan keberhasilan pertumbuhan eksplan krisan yang ditunjukkan oleh meningkatnya jumlah tunas, dan panjang tunas yang terbentuk.

Ketika eksplan berumur 6 minggu, dilakukan pengamatan. Tahap selanjutnya yaitu tahap aklimatisasi. Tahap aklimatisasi merupakan kelanjutan dari teknik perbanyakan tanaman *in vitro*. Setelah 4 minggu di media pengakaran MS + AC, planlet siap untuk diaklimatisasi. Media tumbuh dan teknik penanaman merupakan faktor penting dalam proses aklimatisasi. Media tumbuh yang digunakan arang sekam dan campuran arang sekam dan kompos. Media yang digunakan dapat mempermudah pertumbuhan akar dan menyediakan hara yang cukup bagi planlet.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

1.5.1 Percobaan I pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan in vitro.

1. Media ½ MS lebih baik dari pada Growmore 2 g/l untuk pertumbuhan dan perbanyakan tanaman krisan *in vitro*.
2. Pemberian benziladenin mempengaruhi pertumbuhan dan perbanyakan tunas aksilar krisan.

3. Terdapat interaksi antara media dasar dan benziladenin dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perbanyakan tunas krisan *in vitro*.

1.5.2 Percobaan II pengaruh media tanam (arang sekam atau campuran arang sekam dan kompos) terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

1. Keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan dipengaruhi oleh campuran media tanam arang sekam dan kompos.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Krisan

Salah satu jenis tanaman hias berupa bunga potong yang sangat populer di Indonesia adalah krisan(*Chrysanthemum morfolium* L.) (Wediyanto *et al.* 2007*).* Tanaman ini memiliki nilai jual yang tinggi serta memiliki prospek ekonomis yang cerah. Bety dan Suhardi (2009) menyatakan bahwa tingkat keminatan masyarakat terhadap bunga krisan berdasarkan atas beberapa hal diantaranya adalah warna, bentuk dan ukuran bunga, produktivitas tanaman, penanganan pasca panen, serta ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit. Pasar potensial penjualan bunga krisan Indonesia antara lain Jerman, Inggris, Italia, Swiss, Australia, Amerika Selatan, Swedia, Denmark, Jepang dan beberapa negara Eropa lainnya (Zamroni dan Maryani 2005).

Menurut Rukmana dan Mulyana (1997) perakarannya serabut yang keluar dari batang utama. Akar menyebar ke segala arah pada radius dan kedalaman 50-70 cm atau lebih. Batang tanaman krisan tumbuh agak tegak dengan percabangan yang agak jarang, berstruktur lunak, dan berwarna hijau, tetapi bila dibiarkan akan tumbuh terus, batang berubah menjadi keras (berkayu) dan berwarna hijau kecoklatan, serta berdiameter satu bonggol bunga terdapat bunga cakram

yang berbentuk tabung dan bunga tepi yang berbentuk pita. Bunga tabung dapat berkembang dengan warna yang sama atau berbeda dengan bunga pita. Pada bunga pita terdapat bunga betina (pistil), sedangkan bunga tabung terdiri atas bunga jantan dan bunga betina (biseksual) dan biasanya fertil. Dengan bentuk dan warna bunga krisan yang beranekaragam memungkinkan banyak pilihan bagi konsumen (Sanjaya, 1996).

Kedudukan krisan secara taksonomi menurut *National Chrysanthemum Society* (NCS) (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Sub divisi : Angiospermae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : Chrysanthemum

Spesies : *Chrysanthemum morifolium* L.

Krisan *cv*. Merahayani merupakan silsilah turanan esensial dari varietas Stroika, memiliki umur mulai berbunga 60-70 hari setelah tanam, tinggi tanaman 110- 120 cm, diameter bunga pita 5,5-6,5 cm, diameter bunga tabung 1,8-2,0 cm, warna bunga pita merah, warna bunga tabung hijau kekuningan, berbentuk bunga tunggal , diameter batang 0,9-1,1 cm. Keunggulannya adalah batang tegar dan daun yang agak tebal untuk menunjang diameter cakram bunga yang besar dan

warna bunga merah yang hampir tidak pudar meskipun mekar bunga telah over (Balithi, 2000).

Gambar 1. Bunga krisan *cv*. Merahayani

2.2 Kultur Jaringan

Yusnita (2003) menyatakan bahwa kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur berisi hara lengkap dan kondisi lingkungan terkendali untuk tujuan tertentu. Teori totipotensi dikemukaan oleh Schwann dan Shleiden pada tahun 1838 menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika kondisinya sesuai. Teori ini baru terbukti berkat penemuan hormon auksin dan percobaan yang dilakukan oleh Skoog dan Miller pada tahun 1957.

Skoog dan Miller menyebutkan bahwa regenerasi tunas dan akar *in vitro* (organogenesis) dikontrol secara hormonal oleh sitokinin dan auksin. Namun kecepatan organogenesis maupun embriogenesis dipengaruhi oleh sifat kompeten,

dediferensiasi, dan determinasi eksplan tanaman. Suatu eksplan dikatakan kompeten jika eksplan tersebut mampu memberi tanggapan terhadap signal lingkungan yang diberikan. Eksplan yang kompeten akan memberi respons dengan terbentuknya organ ataupun embrio. Pada proses ini terjadi proses dediferensiasi, yaitu perubahan sel tanaman yang sudah terspesialisasi menjadi bentuk yang tidak terspesialisasi dan kembali ke kondisi meristematik. Pada kondisi meristematik ini, signal lingkungan (hormonal) mengarahkan sel-sel eksplan untuk membentuk organ tunas maupun akar (organogenesis) dan embrio (embriogenesis). Determinasi terjadi apabila eksplan yang sudah terinduksi tetap berkembang menjadi organ atau embrio meskipun berada di lingkungan yang sudah tidak diberi signal hormonal.

Menurut Yusnita (2003), terdapat lima tahapan dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan, yaitu:

1. Tahap 0 merupakan tahap pemilihan dan persiapan tanaman induk untuk eksplan. Tanaman yang akan dikulturkan harus jelas jenis dan varietasnya, serta terbebas dari hama dan penyakit tanaman. Sumber eksplan juga penting diperhatikan, seperti bagian yang diambil sebagai eksplan, umur fisiologis tanaman, dan ukuran eksplan. Hal ini akan menentukan tingkat sterilisasi eksplan.
2. Tahap 1 merupakan inisiasi kultur (*culture establishment*). Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik. Sterilisasi merupakan langkah yang harus dilakukan untuk mendapatkan kultur yang bebas kontaminan. Sterilisasi induk eksplan dapat dilakukan dengan karantina

tanaman induk di rumah kaca disertai dengan pemberian perlakuan khusus terhadap tanaman induk.

3. Tahap 2 merupakan tahap multiplikasi eksplan. Multiplikasi eksplan merupakan perbanyakan tunas maupun embrio tanaman. Tahapan ini dilakukan dengan mengkondisikan eksplan pada lingkungan hormonal yang sesuai. Setelah diperoleh banyak tunas, subkultur dapat dilakukan beberapa kali sampai jumlah tunas yang diharapkan tercapai. Subkultur yang terlalu banyak dapat menurunkan mutu tunas karena terjadi *vitrifikasi* (kandungan air dalam tanaman tinggi, sukulensi, dan *translucency*) dan penyimpangan genetik.
4. Tahap 3 merupakan tahap persiapan untuk transfer ke lingkungan eksternal, seperti pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Tahapan ini juga membutuhkan lingkungan hormonal yang sesuai. Pemanjangan tunas dan pengakaran dapat dilakukan bersamaan atau secara bertahap, yaitu pemanjangan tunas terlebih dahulu baru diakarkan. Tahapan yang dilakukan disesuaikan jenis tanaman.
5. Tahap 4 merupakan tahap aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal. Konsep dasar aklimatisasi adalah memindahkan planlet ke media aklimatisasi dengan intensitas cahaya rendah dan kelembaban nisbi tinggi kemudian berangsur-angsur intensitas cahaya dinaikkan dan kelembapan diturunkan. Keunggulan teknik kultur jaringan antara lain mampu menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah lebih banyak dalam waktu yang relatif singkat, tidak tergantung pada iklim dan cuaca, menghasilkan tanaman yang sehat dan bebas cendawan maupun virus, mempertahankan sifat fisiologis dan morfologis tanaman induk dan memungkinkan dilakukannya manipulasi genetik (Widiastika,2013).

2.3 Media Dasar

Media kultur termasuk hal penting dalam pembiakan tanaman dengan kultur jaringan. Media yang digunakan secara luas adalah media MS yang dikembangkan pada tahun 1962 yang dikenal sebagai media MS (Murashige dan Skoog). MS sering digunakan karena cocok untuk berbagai jenis tanaman. Dari berbagai komposisi dasar ini kadang-kadang dibuat modifikasi, misalnya hanya menggunakan ½ dari konsentrasi dari garam-garam makro yang digunakan (½ MS). Selain MS, terdapat media lain yang dikembangkan seperti Lin dan Staba untuk kultur wortel, Nitsch dan Nitsch untuk kultur anther, Gamborg untuk kultur suspensi kedelai, Schenk dan Hidebrant (SH) untuk kultur kalus monokotil dan dikotil, dan WPM untuk tanaman berkayu atau tanaman hias perdu (Sandra, 2013).

Kandungan medium kultur jaringan terdiri atas makronutrien dan mikronutrien berupa garam anorganik, sumber karbohidrat, air, asam amino, vitamin dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Selengkapnya, Yusnita (2003) menyatakan komponen-komponen yang ada dalam media kultur lengkap meliputi akuades, garam anorganik (hara makro dan mikro), sumber karbohidrat, vitamin, asam amino, bahansuplemen alami (*complex adenda*), bahan pengatur pH, dan bahan pemadat (agar-agar). Manfaat pH dalam media yaitu untuk membantu penyerapan unsur hara dan menjaga kestabilan membran sel dalam mengatur garam-garam agar tetap dalam bentuk terlarut (George dan Sherrington, 1984). Apabila pH terlalu tinggi dapat dilakukan penurunan pH dengan menambahkan HCl dan jika terlalu rendah pH dapat ditingkatan dengan menambahkan NaOH (0,1-1,0 M). Jika pH

terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan terhenti dan jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan ZPT menjadi kurang stabil (Pierik, 1987).

Air kelapa cengkir mengandung hormon alami kelompok auksin dan sitokinin. Dalam kultur jaringan auksin berperan memacu pembentukan kalus, membentuk klorofil dalam kalus, mendorong proses morfogenesis kalus, membentuk akar dan mendorong proses embriogenesis. Sitokinin berperan memacu pembelahan sel, proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus (Surachman, 2011). Pada penelitian Maltatula (2003) menunjukkan bahwa perlakuan media MS, air kelapa dengan penambahan Gandasil-9 pada *Chrysanthemum sp.* berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan tinggi tanaman, jumlah daun, pertambahan berat basah tunas, jumlah akar dan berat basah akar tanaman krisan secara in *vitro*. Surachman (2010) menunjukkan bahwa penggunaan media MS ditambah dengan air kelapa 10% pada perbanyakan nilam secara *in vitro* menunjukkan respon terbaik dengan presentase tunas hidup rata-rata 100%, jumlah tunas 3 dan daun sebanyak 9,10 serta tinggi tunas 1.61 cm.

Pupuk Growmore netral memiliki kandungan N:P:K yang seimbang ditambah berbagai unsur dengan jumlah mencapai 20 jenis kandungan kimia. Hara makro dan mikro yang terdapat dalam pupuk daun Growmore ditunjukkan pada Tabel 1. Growmore merupakan pupuk daun lengkap dalam bentuk kristal berwarna biru dan sangat mudah larut dalam air (Gambar 2). Media dasar dengan pupuk Growmore mengandung unsur hara esensial yang diperlukan oleh tanaman,

seperti unsur hara makro dan mikro, sering kali media dasar ini ditambahkan juga mio-inositol dan vitamin MS (Ramadiana, *et al*., 2010).

Gambar 2 Pupuk Growmore (32:10:10)

Tabel 1. Kandungan hara makro dan mikro pada pupuk Growmore.

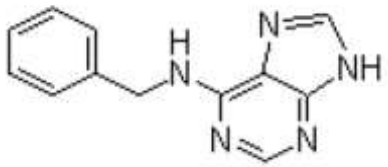
No	Unsur Hara	Kandungan (%)
1	Nitrogen (N)	32
2	Fosfor (P)	10
3	Kalium (K)	10
4	Kalsium (Ca)	0,05
5	Magnesium (Mg)	0,10
6	Sulfur (S)	0,20
7	Boron (B)	0,20
8	Tembaga (Cu)	0,05
9	Besi (Fe)	0,10
10	Mangan (Mn)	0,05
11	Molibdenum (Mo)	0,0005
12	Zink (Zn)	0,05

2.4 Benziladenin

Zat pengatur tumbuh (ZPT) didefinisikan sebagai senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil yang disintesiskan pada bagian tertentu tanaman dan pada umumnya diangkut ke bagian lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis dan morfologis (Wattimena, 1988). Dua golongan ZPT yang penting dalam kultur jaringan yaitu auksin dan

sitokinin. Sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologi di dalam tanaman. Aktivitas utama sitokinin adalah sitokinesis atau pembelahan sel. Aktivitas ini yang menjadi kriteria utama untuk menggolongkan suatu zat pengatur tumbuh ke dalam sitokinin (Wattimena 1988). Fungsi ZPT dalam hal ini adalah membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan. Sitokinin adalah salah satu jenis hormon tumbuhan yang berperan dalam pembelahan sel serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan. Mekanisme kerja sitokinin hampir sama dengan kinetin namun dalam praktek kultur jaringan umumnya peneliti menggunakan sitokinin (Zulkarnain 2009). Menurut Sandra (2003), terdapat 2 jenis sitokinin, yaitu sitokinin alami (*zeatin, zeatin ribosa, isopentil adenin, dan dihidrozeatin*) dan sitokinin sintetis (kinetin, benziladenin (BA), PBA, 2C1-4PU, 2,6C1-4PU, dan thidiazuron).

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit (1mM) dapat merangsang, menghambat, dan mempengaruhi pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh ada yang berasal dari tumbuhan itu sendiri (zat pengatur tumbuh endogen) yang bersifat alami dan ada juga yang berasal dari luar tumbuhan tersebut yang disebut sintetis. Benziladenin (BA) termasuk dalam sitokinin sintetik. BA berisi 2% *N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine*. Zat pengatur tumbuh ini juga memiliki nama lain yaitu *N-Benzyl-adenine, 6 benzylaminopurine, N-Phenylmethyl 1H-purin-6-amine, Benzyl (purin-6-yl) amine*, dan 6-BA. Senyawa ini memiliki rumus kimia $C_{12}H_{11}N_5$ dengan berat molekul 225,25 g/mol dan termasuk sitokinin jenis purin (Fine Amaricas, t.t.) (Gambar 3).



Gambar 3 Struktur molekul benziladenin

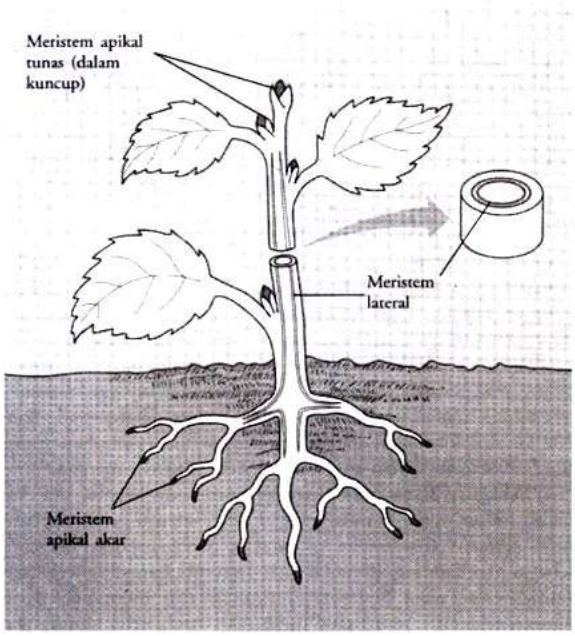
Hasil penelitian Maryani dan Zamroni (2005), pada penggandaan tunas krisan secara *in vitro* apabila perlakuan tanpa BA (0 ppm) ternyata memberikan jumlah akar banyak dan kecenderungan jumlah akar menurun dengan meningkatnya konsentrasi BA. Keadaan ini membuktikan bahwa BA mampu menekan pertumbuhan akar. Kemampuan menghambat pertumbuhan akar ini sangat penting dalam penggandaan tunas atau (multiplikasi).

Penggunaan BA dengan konsentrasi tinggi dan waktu yang lama seringkali menyebabkan regenerant sulit berakar dan dapat menyebabkan penampakan pucuk abnormal. Hal ini jelas terlihat pada kultur pucuk *Asparagus officinalis* (Wattimena 1998). Sherkar *et al*., (2014), melaporkan bahwa setelah 60 hari kalus disubkultur pada perlakuan BA didapatkan persentase regenerasi tunas yang tertinggi pada perlakuan 3 mg/liter BA dibandingkan dengan tanpa BA,

2.5 Multiplikasi Tunas Aksilar

Multiplikasi adalah salah satu tahap dalam pertumbuhan tanaman secara in vitro dimana terjadi perkembangan (deferensiasi) sel menjadi banyak sel dan membentuk tunas atau organ lain yang dibutuhkan (Salisbury dan Ros 1995). Menurut Gunawan (2004) multiplikasi adalah tahap perbanyakan atau penggandaan eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro*. Pada tahap ini terjadi

perbanyakan tunas dengan mendorong tunas lateral atau merangsang tunas adventif (Yusnita,2003). Pertumbuhan adalah bertambahnya jumlah sel, berat jaringan dan faktor lainnya yang menjadikan suatu eksplan dapat hidup menjadi individu yang utuh (Hidayat, 1995).



Gambar 4. Lokasi meristem utama (Campbel *et al.* 2003)

Campbel *et al,* (2003) menyatakan bahwa meristem (Gambar 4) adalah populasi sel-sel yang memperbaharui diri sendiri dengan membelah dan menghasilkan sel-sel untuk pertumbuhan tumbuhan. Sel dikatakan bersifat meristematik apabila sel tersebut masih mungkin mengalami pembelahan secara primer dan belum terspesifikasi dalam bentuk jaringan lain (bersifat embrionik). Dinding sel meristem biasanya tipis dan bentuk sel lebih isodiametrik dibandingkan sel dewasa serta jumlah protoplasnya lebih banyak, oleh karenanya bagian tersebut dapat menjelaskan pertumbuhan organisasi primer dan adanya pertumbuhan bagian tanaman yang tak terbatas (Hidayat, 1995).

Yusnita (2003) menyatakan kalus adalah kumpulan sel yang tidak terorganisasi dan aktif membelah diri (meristematik) yang sering terjadi karena pelukaan jaringan tanaman atau pengulturan berbagai jaringan tanaman. Kalus merupakan hasil dari pembelahan eksplan yang apabila dipindahkan dalam medium pertumbuhan dapat membentuk tunas atau organ lainnya. Proses multiplikasi melibatkan faktor-faktor abiotik yang dapat menunjang pertumbuhan yaitu komposisi medium dan faktor abiotik seperti suhu dan cahaya inkubasi (Yusnita 2003). Proses multiplikasi suatu eksplan diharapkan dapat membentuk organ/bagian tubuh lain yang menunjang pertumbuhan selanjutnya seperti tunas,akar dan daun. Sedangkan parameter terjadinya multiplikasi dapat diukur berdasarkan jumlah tunas pada tiap eksplan, jumlah daun dan tinggi tunas.

Teknik multiplikasi terdiri atas dua metode yaitu metode percabangan tunas lateral dan pembentukan tunas adventif. Perbanyakan eksplan dengan metode percabangan tunas lateral lebih banyak digunakan karena relatif sederhana, aberasi genetik sangat kecil, perbanyakannya berlangsung cukup cepat, dan tanaman yang dihasilkan tumbuh dengan baik (Yusnita, 2003).

Adanya kandungan ZPT dalam media merupakan salah satu hal yang mempengaruhi lingkungan tumbuh eksplan. Pertumbuhan dan organogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari ZPT yang berada dalam eksplan (Kasli, 2009). Basri dan Muslimin (2001) menjelaskan bahwa ZPT yang ditambahkan dalam media sebagian akan masuk ke dalam sel tanaman secara difusi ataupun melalui penyerapan aktif.

Masuknya ZPT tersebut akan mengubah gradien atau keseimbangan ZPT di dalam tubuh tanaman. Dalam mempengaruhi pertumbuhan tanaman, ZPT harus berada pada gradien tertentu (Kasli, 2009).

Kasli, (2009) menyatakan bahwa sitokinin memacu sitokinesis yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah sel. Sitokinesis adalah proses pembelahan sel, dimana sel-sel menyerap air lebih banyak sehingga terjadi penambahan plasma sel serta diikuti dengan pertumbuhan memanjang sel. Salisbury dan Ross, (1995) menyatakan bahwa pemberian sitokinin meningkatkan plastisitas dinding sel sehingga dinding sel mengendur kemudian terjadi pembentangan lebih cepat secara tak terbalikkan dalam tekanan turgor yang biasa. Selanjutnya sel mengalami diferensiasi yang menyebabkan sel-sel tersebut mengalami spesialisasi fungsi. Perkembangan sel-sel atau jaringan yang mendapat spesialisasi fungsi menyebabkan spesialisasi alat-alat atau organ sehingga membentuk tunas, akar dan sebagainya (Kasli, 2009).

2.6 Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan kegiatan akhir teknik kultur jaringan. Aklimatisasi adalah proses pemindahan planlet dari lingkungan yang terkontrol ke kondisi lingkungan tak terkendali, baik suhu, cahaya, dan kelembaban. Aklimatisasi dilakukan untuk mengadaptasikan tanaman hasil kultur jaringan terhadap lingkungan baru sebelum ditanam dan dijadikan tanaman induk untuk produksi dan untuk mengetahui kemampuan adaptasi tanaman dalam lingkungan tumbuh yang kurang aseptik. Perubahan kondisi lingkungan yang drastis, dari lingkungan

terkontrol ke tidak terkontrol, dari suhu relatif stabil ke suhu lingkungan yang fluktuatif, dari kelembapan tinggi ke rendah dan fluktuatif, dan dari cahaya rendah ke cahaya tinggi pada umumnya menyebabkan tanaman mudah mengalami cekaman atau stres, kehilangan air, layu, dan mati. Oleh karena itu, proses aklimatisasi perlu dilakukan secara bertahap, seperti yang diterapkan Winarto (2002) pada anyelir. Aklimatisasi akan membantu tanaman beradaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti suhu, kelembapan, dan intensitas cahaya.

Menurut Zulkarnain (2009), masa aklimatisasi merupakan masa yang kritis karena planlet yang diregenerasikan dari kultur *in vitro* menunjukkan beberapa sifat yang kurang menguntungkan seperti lapisan lilin (kutikula) tidak berkembang dengan baik, kurangnya lignifikasi batang, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang dan stomata sering sekali tidak berfungsi (tidak menutup ketika penguapan tinggi). Keadaan ini menyebabkan planlet *in vitro* sangat peka terhadap transpirasi, serangan cendawan dan bakteri, cahaya dengan intensitas yang tinggi dan suhu yang tinggi. Oleh karena itu, aklimatisasi planlet *in vitro* memerlukan penanganan yang khusus, bahkan diperlukan modifikasi terhadap kondisi kondisi lingkungan terutama dalam kaitannya dengan suhu, kelembaban dan intensitas cahaya. Selain itu, media tanam juga memiliki peranan yang cukup penting, khususnya bila planlet yang diaklimatisasikan belum membentuk sistem perakaran yang baik.

Dalam tahap aklimatisasi ini diperlukan suatu media yang dapat menyediakan hara dan mempermudah pertumbuhan akar planlet. Djatmiko *et al*., (1985)

menjelaskan bahwa arang adalah suatu bahan padat yang berpori-pori dan merupakan hasil pembakaran dari bahan yang mengandung unsur C. Sebagian besar dari pori-porinya masih tertutup dengan hidrokarbon, ter dan senyawa organik lain dan komponennya terdiri dari fiksasi karbon, abu, air, nitrogen, dan sulfur. Arang sekam bersifat porous, ringan, tidak kotor dan cukup dapat menahan air.

Kompos memperbaiki struktur tanah dengan meningkatkan kandungan bahan organik tanah dan akan meningkatkan kemampuan tanah untuk mempertahankan kandungan air tanah. Aktivitas mikroba tanah yang bermanfaat bagi tanaman akan meningkat dengan penambahan kompos. Aktivitas mikroba ini membantu tanaman untuk menyerap unsur hara dari tanah dan menghasilkan senyawa yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. Dengan cara yang baik, proses mempercepat pembuatan kompos berlangsung wajar sehingga bisa diperoleh kompos yang berkualitas baik (Murbandono, 2000).

Media campuran arang sekam dan kompos dengan perbandingan 1:1 menghasilkan persentase tanaman yang hidup sebesar 100% pada aklimatisasi tanaman pisang Tanduk dan Ambon Kuning (Ismaryati, 2010).

Masing-masing bahan campuran media tanam tersebut memiliki sifat fisik dan kandungan hara yang berbeda. Pencampuran dua jenis media atau lebih diharapkan dapat saling melengkapi kekurangan masing-masing media seperti kecepatan melapuk, penyediaan hara tanaman, dan kemampuan mempertahankan kelembaban (Marlina dan Rusnandi, 2007).

III. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri dari 2 percobaan yaitu :

Percobaan I : Pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan *in vitro*.

Percobaan II : Pengaruh media tanam terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

3.1 Percobaan I Pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan *in vitro*.

3.1.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Maret hingga Mei 2016.

3.1.2 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah planlet krisan *cv* Merahayani yang berasal dari Balai Penelitian Tanaman Hias, Cianjur, Jawa Barat. Planlet krisan varietas Merahayani dapat dilihat pada Gambar 5(a) dan potongan satu nodal eksplan dapat dilihat pada Gambar 5(b).

Gambar 5. Bahan Tanam: (a) Planlet krisan varietas Merahayani dan (b) Potongan satu *(nodal explant)* krisan.

3.1.3 Metode Penelitian

Rancangan perlakuan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) 3 ulangan. Perlakuan disusun secara faktorial 2 x 3, faktor pertama adalah media dasar (Growmore 2 g/l dan ½ MS), faktor kedua adalah konsentrasi benziladenin (0, 0,25mg/l, 0,5 mg/l). Setiap satuan percobaan terdiri atas tiga botol kultur. Setiap botol terdiri atas empat eksplan. Perlakuan yang diterapkan disajikan pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Kombinasi perlakuan

No	Kombinasi perlakuan
1	½ MS + 0 mg/l BA
2	½ MS + 0,25 mg/l BA
3	½ MS + 0,5 mg/l BA
4	Growmore 2 g/l + 0 mg/l BA
5	Growmore 2 g/l + 0,25 mg/l BA
6	Growmore 2 g/l + 0,5 mg/l BA

Pengamatan dilakukan pada minggu ke-6 setelah penanaman eksplan, terhadap variabel: variabel bobot segar, jumlah buku, jumlah tunas, jumlah akar, jumlah daun dan penampilan visual eksplan.

Pada penelitian ini, homogenitas data setiap variabel diuji dengan uji Bartlett. Apabila asumsi terpenuhi, selanjutnya dilakukan analisis ragam. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.1.4 Pelaksanaan Penelitian

3.1.4.1 Sterilisasi Botol dan Alat

Semua alat yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan harus berada dalam kondisi aseptik. Sterilisasi botol sebagai tempat kultur merupakan langkah pertama yang harus dilakukan. Sterilisasi botol dilakukan dalam 2 tahapan. Tahap pertama botol hasil kultur sebelumnya disterilisasi menggunakan autoklaf "*Budenberg"* selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm^{2}. Selanjutnya botol dicuci dengan menghilangkan sisa media tanam sebelumnya dan direndam dalam air yang telah dicampur detergen dan 15 ml desinfektan (Baycline) selama 1 malam. Tahap kedua, botol yang sudah direndam dicuci bersih seluruh bagiannya dan kertas label yang tertera pada botol dihilangkan. Botol yang sudah bersih dibilas menggunakan air mengalir lalu direndam air mendidih selama 15 menit. Botol hasil rendaman kemudian ditiriskan dan ditutup dengan plastik menggunakan karet. Sterilisasi tahap akhir dilakukan menggunakan autoklaf "*Tomy"* selama 30 menit pada suhu 12 ^{o}C tekanan 1,5 kg/cm^{2}. Alat yang digunakan berupa alat diseksi (pinset dan *scalpel*), cawan petri, keramik, kapas, dan gelas ukur. Alat diseksi, cawan petri, dan keramik yang sudah bersih dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Kapas bersih dimasukkan ke dalam botol kultur steril untuk diautoklaf "*Tomy"* yang nantinya akan digunakan dalam proses subkultur atau

menanam eksplan. Seluruh alat disterilisasi menggunakan autoklaf *"Tomy"* selama 30 menit pada suhu 121 ^{o}C dan tekanan 1,5 kg/cm^{2}.

3.1.4.2 Pembuatan Media

Tabel 3. Formulasi Media ½ MS dan Growmore 2 g/l.

Nama Stok	Senyawa dalam larutan stok	Media ½ MS (mg/l)	Media Growmore 2 g/l
Stok Makro (10x)	NH4NO3	825	-
	KNO3	950	-
	MgSO4.H2O	185	-
	KH2PO4	85	-
Cacl2 (100x)	Cacl2.2H2O	220	-
Mikro a (100x)	H3BO3	6,2	-
	MnSO4.H2O	16,9	-
	ZnSO4.7H2O	8,6	-
Mikro b (1000x)	Kl	0,83	-
	Na2MoO4.7H20	0,25	-
	CuSO4.5H20	0,025	-
	CoCl2.6H2O	0,025	-
Fe (100x)	FeSO4.7H2O	27,8	-
	Na2EDTA	37,3	-
Vitamin (100x)	Thiamin-HCl	0,1	-
	Piridixin-HCl	0,5	-
	Asam nikotinat	0,5	-
	Glisin	2	-
Mio-inositol	Mio-inositol (10x)	100	-
ZPT	Benziladenin	0; 0,25; 0,5	-
Growmore		-	2 g/l
Air kelapa		150 ml	150 ml
Sukrosa		30.000	30.000 mg/l
Agar-agar		8.000	8.000 mg/l

Setelah formulasi media ½ MS dan Growmore 2 g/l sudah disiapkan. Selanjutnya mengatur pH-media menjadi 5,8 jika pH kurang dari 5,8 maka diberi penambahan

KOH 1 N sedangkan jika pH lebih dari 5,8 maka diberi HCl 1 N. Setelah pH menjadi 5,8 ditera di labu ukur 1000 ml dan ditambahkan 8 g/l bubuk agar-agar kemudian media dimasak media hingga mendidih lalu media dimasukkan ke dalam botol-botol kultur sebanyak 30 botol dan setiap botol berisi 30 ml. Botol yang berisi media ditutup dengan plastik bening kemudian diikat dengan karet dan disterilisasi dengan autoklaf selama 7 menit pada suhu 121ºC dan tekanan 1,5 kg/cm^2. Setelah sterilisasi berakhir media dikeluarkan dari autoklaf, didiamkan hingga dingin, lalu disimpan dalam ruang kultur.

3.1.4.3 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*), kemudian memotong batang satu buku (*nodal explant*) dengan ukuran 1- 1,5 cm untuk digunakan sebagai eksplan dan ditanam ke media perlakuan. Setiap botol berisi 4 eksplan. Botol yang telah berisi eksplan ditutup rapat menggunakan plastik dan diikat dengan karet gelang. Botol-botol kultur tersebut kemudian diletakkan pada rak kultur dalam ruang terang dengan suhu ruang 25ºC selama 1,5 bulan. Pencahayaan di ruang kultur menggunakan lampu fluoresens dengan kuat penerangan antara 1000 hingga 10.000 lux dan fotoperiodisitasnya 16 jam terang/ 8 jam gelap setiap hari. Penanaman eksplan dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6. Penanaman batang satu buku (*nodal explant) cv* Merahayani: (a) bahan tanam yang digunakan, (b) mengeluarkan eksplan, (c) membuang akar dan daun, (d) memotong batang krisan, (e) ukuran eksplan 1- 1,5cm, (f) menanam eksplan ke media.

3.1.4.4 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada umur 1,5 bulan setelah penanaman eksplan. Variabel yang diamati adalah:

1. Tinggi tunas diukur dari pangkal buku daun sampai titik tumbuh.
2. Jumlah tunas dihitung dari jumlah tunas yang muncul selain tunas utama.
3. Jumlah daun yang diukur yaitu daun yang membuka sempurna.
4. Jumlah buku adalah banyaknya tempat keluarnya daun pada batang, dihitung dari pangkal sampai ujung tanaman
5. Jumlah akar adalah akar primer yang muncul pada planlet.

6. Bobot segar tunas adalah bobot tiap planlet ditimbang dari bagian akar dan tajuk.

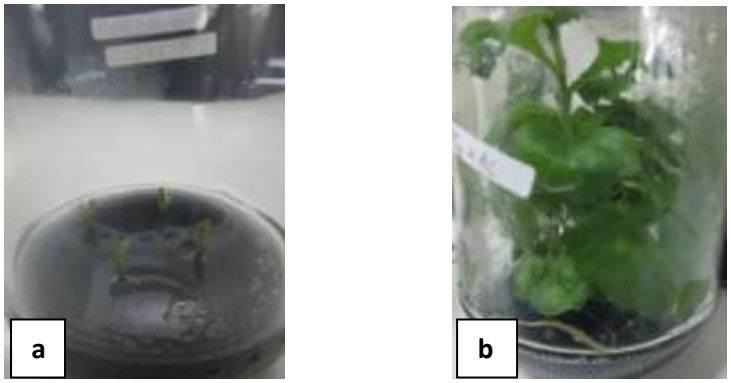
3.2 Percobaan II Pengaruh media tanam terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

3.2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian kemudian dilanjutkan pelaksanaanya di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung Universitas Lampung dari bulan Mei sampai Juni 2016.

3.2.2 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah planlet krisan *cv* Merahayani yang sudah dikulturkan di media pengakaran MS + arang aktif 2 g/l selama 4 minggu.

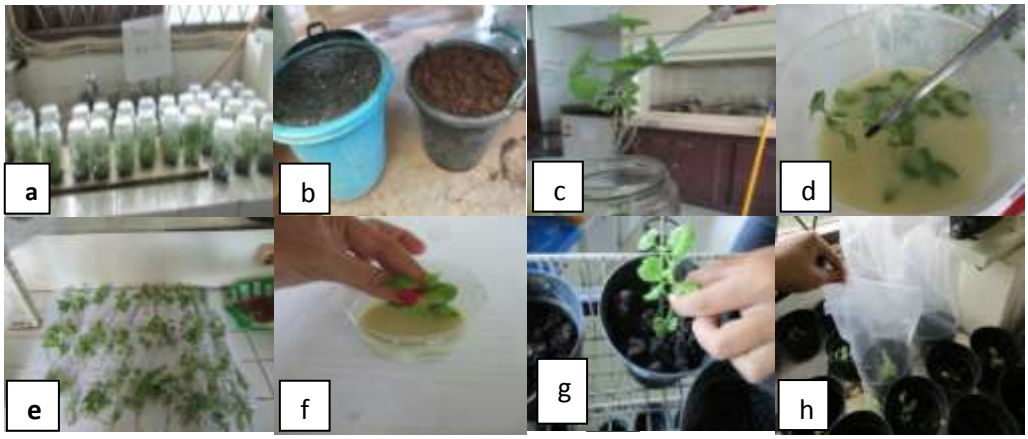


Gambar 7. Bahan tanam: (a) Eksplan yang ditanam di media pengakaran, (b) planlet yang berumur 4 minggu.

3.2.3 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan dalam percobaan ini adalah arang sekam dan campuran arang sekam + kompos dengan perbandingan 1:1. Penyiapan media

tanam dilakukan dengan merendam komponen media arang sekam menggunakan fungisida yang berbahan aktif Mankozep 80% sebanyak 2 g/l selama ± 24 jam, kemudian dibilas dengan air bersih. Setelah bahan media tanam bercampur secara merata kemudian dimasukkan dalam pot yang berdiameter 10 cm. Pot diisi dengan media tanam hingga 2 cm dari bibir pot, setelah itu pot ditempeli label yang telah diberi keterangan jenis media dan tanggal aklimatisasi. Proses aklimatisasi dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Aklimatisasi: (a)*hardening off*, (b) perendaman media dalam larutan Dithane, (c) mengeluarkan planlet, (d) perendaman planlet dalam larutan Dithane, (e) planlet yang akan ditanam, (f) perendaman akar dalam larutan *rootmore* (g) planlet yang sudah ditanam, (h) penyungkupan planlet.

3.2.4 Metode Penelitian

Percobaan ini dilaksanakan dengan menggunakan rancangan teracak lengkap (RAL) dengan dua ulangan. Perlakuan yang diterapkan merupakan faktor tunggal yang terdiri dari dua media tanam yaitu arang sekam serta campuran arang sekam dan kompos dengan perbandingan 1:1. Variabel yang diamati yaitu bobot segar, persentase tanaman hidup, jumlah daun, tinggi tanaman, jumlah dan panjang akar.

Setiap perlakuan terdiri dari 2 ulangan. Setiap unit percobaan terdiri dari 10 pot berdiameter 10 cm, masing- masing pot berisi satu planlet. Data dianalisis keragamannya dengan menggunakan analisis ragam. Perbedaan dua nilai tengah diuji dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.2.5 Hardening Off

Sebelum planlet diaklimatisasi, botol kultur yang berisi planlet diperlakukan *hardening off* selama 1 minggu. *Hardening off* dilakukan dengan meletakkan botol kultur di luar ruang kultur pada kondisi suhu kamar dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Tujuan dari *hardening off* yaitu penyesuaian secara bertahap dari tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* ke kondisi eksternal, misalnya dengan pengurangan kelembaban dan peningkatan suhu dan intensitas cahaya secara bertahap.

3.2.6 Aklimatisasi

Pot yang sudah ditanam sesuai perlakuan, ditutup dengan plastik transparan dan disimpan di meja rumah kaca bernaungan ± 60%, namun secara bertahap plastik penutup dibuka. Tanaman disiram dua hari sekali dengan menggunakan *hand sprayer*. Sungkup plastik dibuka 2 minggu setelah tanam.

3.2.7 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada saat tanaman berumur 60 hari (2 bulan), variabel yang diamati:

1. Persentase tanaman hidup dihitung pembagian dari jumlah tanaman yang hidup dengan jumlah tanaman awal dikali 100%.
2. Tinggi tanaman diukur dari pangkal buku daun sampai titik tumbuh.
3. Jumlah daun yang diukur yaitu daun yang membuka sempurna.
4. Jumlah akar adalah akar primer yang muncul pada planlet.
5. Panjang akar diukur dari pangkal akar sampai akar terpanjang
6. Bobot adalah berat tiap tanaman dihitung dari bagian akar dan tajuk.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan percobaan yang telah diujikan, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

Percobaan I : Pengaruh media dasar dan konsentrasi benziladenin terhadap pembentukan tunas aksilar krisan *in vitro*.

1. Media dasar ½ MS menghasilkan jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah buku yang lebih tinggi dibandingkan dengan media dasar Growmore 2 g/l, sedangkan untuk variabel tinggi tunas, jumlah akar dan bobot segar tunas, media ½ MS tidak berbeda dengan media Growmore 2 g/l.
2. Pada kultur krisan berumur 6 MST, penambahan BA pada konsentrasi 0,25 mg/l ke dalam media meningkakan jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku dan bobot segar tunas, namun menurunkan tinggi tunas dan jumlah akar. Peningkatan konsentrasi BA dari 0,25 mg/l menjadi 0,5 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas dan jumlah buku namun menyebabkan penurunan bobot segar tunas.
3. Tanpa penambahan BA, kedua media dasar menghasilkan tinggi tunas dan jumlah akar terbaik, namun penambahan BA menyebabkan peningkatan pada jumlah tunas dan jumlah buku. Tanpa penambahan BA, media ½ MS menghasilkan jumlah buku yang sama dengan media Growmore 2 g/l, namun

jika ditambahkan dengan BA (0,25 mg/l atau 0,5 mg/l), maka media ½ MS menghasilkan jumlah tunas dan jumlah buku yang lebih banyak daripada media Growmore 2 g/l.

Percobaan II : Pengaruh media tanam terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan planlet krisan.

1. Untuk aklimatisasi planlet krisan, media arang sekam menghasilkan keberhasilan aklimatisasi atau persentase tanaman hidup, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar yang lebih baik dibandingkan campuran media arang sekam dan kompos.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lanjutan dengan penambahan Growmore dengan kisaran 3-4 gram. Untuk aklimatisasi menggunakan media MS0 atau dicoba dengan menggunakan penambahan arang aktif.

DAFTAR PUSTAKA

Abidin dan Zaenal. 1985. *Dasar-Dasar Tentang Zat Pengatur Tumbuhan*. Bandung: Angkasa.

Akbas, F., C. Isikalan, and S.Namli. 2009.Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Amygdalus communis* L. cv. Yaltsinki. *African Journal of Biotechnology* 8 (22) : 6168-6174.

Badan Pusat Statistik. 2014. http://www.bps.go.id/site/pilihdata. Diakses pada 31 Januari 2016.

Balai Penelitian Tanaman Hias. 2000. *Deskripsi Klon-Klon Unggul Krisan Tipe Spray dan Standar*. Balai Penelitian Tanaman Hias. 30 hlm.

Basri, Z. dan Muslimin. 2001. Pengaruh sitokinin terhadap organogenesis krisan secara *in vitro*. *Jurnal Agroland* 15 (4) : 164-170.

Bety Y.A dan Suhardi. 2009. Keragaman tanaman dan respons pengguna terhadap varietas unggul nasional krisan di kabupaten Magelang. *Agrosains* 11 (2) : 52-57.

Campbell, N.A., JB Reece dan LG Mitchell. 2003. *Biologi*. Jakarta: Erlangga.

Fine Americas. T.t. *Configure*. Technical Information Bulletin.

George, E.F and P.D, Sherrington. 1984. *Plant Propagatian by Tissue Culture*. Edington, Wilts, England: Exegetics Limited. 709p.

George, E.F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Comercial Laboratoryes*. Easter Press. England.

George, E.F., M.A. Hall and G-J de-Klerk (Eds.). 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture In Practice,* Part 1. England: Exegetics Limited.

Gunawan, L.W. 1995. *Teknik Kultur In Vitro Dalam Hortikultura.* Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. 68 hlm.

Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies Jr, and R.L. Geneve. 2011. *Plant Propagation: Principles and Practiese*. 7th edition. *Prentice Hall*. New Jersey-USA.

Hidayat E.B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung: Penerbit ITB.

Ilahi, I., M. Jabeen., dan S.N. Sadaf. 2007. Rapid clonal propagation of chrysanthemum through embryogenic callus formation. *Pakistan Journal Botanical* 39 (6) : 1945-1952.

Indrawati, W. 2007. *Hibridisasi Berbagai Tetua Anggrek Dendrobium Optimasi Pengecambahan Biji serta Aklimatisasi Planlet Untuk Menghasilkan Hibrida Dendrobium Baru*. (Tesis). Jurusan Agronomi. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.

Ismaryati, T. 2010. *Studi Multiplikasi Tunas, Pengakaran dan Aklimatisasi pada Perbanyakan In Vitro Tanaman Pisang Raja Bulu, Tanduk, dan Ambon Kuning*. (Tesis). Jurusan Agronomi. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung

Kane, M. E. 2000. Propagation from preexisting meristems. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises 2nd Editions*. CRC Press. New York.

Karim, M.Z., M.N. Amin., Assaduzzaman., S. Islam., F. Hossin., dan R. Alam., 2003. Rapid multiplication of *Chrysanthemum morifolium* through *in vitro* culture. *Pakistan Journal Of Biologi Science* 5 (11) : 1170-1172.

Kasli. 2009. Upaya perbanyakan tanaman krisan (*Crysanthemum sp.*) secara *in vitro. Jerami* 2 (3) : 121-125.

Khan. M.A., D. Khanam., K.A. Ara., A.K.M.A. Hossain. 1994. In vitro plant regeneration in *Chrysanthemum morifolium* Ramat Plant Tissue Culture 4 : 53-57.

Matatula, A.J. 2003. Substitution of MS medium with coconut nater and gandasil D on chrysanthemum tissue culture. *Eugenia* 9 (4) : 203-211.

Marlina, N dan D. Rusnandi. 2007. Teknik alimatisasi planlet anthurium pada beberapa media tanam. *Buletin Teknik Pertanian* 12 (1) : 38-40.

Maryani, Y. dan Zamroni. 2005. Penggandaan tunas krisan melalui kultur jaringan. *Ilmu Pertanian* 12 (1) : 51-55.

Murbandono, L.H.S.2000. *Membuat Kompos*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Ni'mah., Fatriyatun., E. Ratnasari, dan L.S. Budipramana. 2012. Pengaruh pemberian berbagai kombinasi konsentrasi sukrosa dan kinetin terhadap induksi umbi mikro kentang (*Solanum Tuberosum* L.) kultivar granola kembang secara *in vitro. Lentera Bio* 1 (1) : 41-48.

Ramadiana, S, R.B. Mayang, D. Hapsoro and Yusnita. 2010. In vitro seed germination, seedling growth and acclimatization of Dendrobium hybrids

(Orchidaceae). Proceeding of International Seminar on Horticulture to support Food Security 2010. Bandar Lampung, Indonesia. 22-23 June 2010.

Rukmana, R. dan A. E. Mulyana. 1997. *Krisan: Seri Bunga Potong*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius

Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: Penerbit ITB. 335p

Syaputri, G. 2009. *Pengaruh Arang Aktif dan Bubur Pisang Ambon pada Pembesaran Seedling Dendrobium Hibrida In Vitro*. (Skripsi). Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.

Samsurianto. 2010. Induksi tunas mikro kantong semar (*Nepenthes spp.)* in vitro. *Bioprospek* 7 (2) : 67-76.

Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. Bogor: IPB Press.

Sanjaya, L. 1996. *Krisan: Bunga Potong Dan Tanaman Pot yang Menawan. Jurnal penelitian dan pengembangan pertanian*. Buletin Tanaman Hias..

Seswita D. 2010. Penggunaan air kelapa sebagai zat pengatur tumbuh pada multiplikasi tunas temulawak (*Curcuma xanthorrhiza) in vitro. Jurnal Littr*i 16 (4) : 135-140.

Sherkar, H.D., A.M. Chavan. 2014. Effect of 2,4-D, BAP, and TDZ on callus induction and shoot regeneration in potato. *Science Research Reporter* 4 (1) : 101-105.

Surachman, D. 2011. Teknik pemanfaatan air kelapa untuk perbanyakan nilam secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian* (16) : 31-33.

Thuringiensis, B., A. Mihovilovi., Bari, M., V. Zodovac, dan M. Skelin. 2012. Cultivation of chrysanthemums via axillary bud proliferation and regeneration plants are highly efficient with the introduction somatic embryogenesis. *African Journal of Plant Science* 11 (22) : 6027-6033.

Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Dordrecht/Boston/ Lancaster. Martinus Nijh off Publishers. 344p.

Waseem, K., M.S. Jilani, dan M.S. Khan. 2009. Rapid plant regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* L.) through shoot tip culture. *Afr. J. Biotechnol* 8 (9) : 1871-1877.

Wattimena, G.A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 143 hlm.

Windiastika, G.2013. *Peranan Kultur Jaringan dalam Memperoleh Benih Unggul. Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya*. Surabaya.

Wediyanto, A., B. Marwoto, R.G. Rochalia, M. Syai, F. Nuraini, D. Gandasari, K. Lesmana, dan S. Ernawati. 2007. *Standart Operasional Prosedur Budidaya Krisan Potong.* Jakarta : Departemen Pertanian.

Winarto, B. 2002. *Development of Micropropagation System and Reduction of Hyperhydricity in Regenerants of Carnation (Dianthus caryophyllus L. cv. Maldives*). (Tesis). Universitas Putra Malaysia.

Yusnita., W. Pungkastiani, dan D. Hapsoro. 2011. In vitro organogenesis of two sansevieria cultivars on different concentrations of benzyladenine. *Agrivita* 33 : 147-153.

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hlm.

Yusnita, 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. OrasiI lmiah Guru Besar Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung. Aura Publishing. Lampung

Zamroni dan Y. Maryani. 2005. Penggandaan Tunas Krisan Melalui Kultur Jaringan. *Ilmu Pertanian* 12 (1) : 51-55.

Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Jakarta.