



INDUKSI KALUS TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium*) DENGAN
PEMBERIAN BENZIL AMINO PURIN (BAP) DAN DICHLOROFENOKSI ACETIL
ACID (2,4 D)

Maspan Hariyati¹, Imam Bachtiar² Prapti Sedijani³
Program Studi Magister Pendidikan IPA Universitas Mataram¹²³

Email: maspan_hariati@gmail.com

Key Words

BAP, 2,4 D,
Chrysanthemum morifolium,
explants,
Callus.

Abstract

*Production of chrysant flowers (*Chrysanthemum morifolium*) is halted due to seedling supplay, that it is necessary to produce seedling on tissue culture. This study aims to determine the effect of BAP and 2.4 D for callus formation of chrysanthemum. The research using completely randomized design (CRD). The treatment was consiststed of two factors. BAP (0,0 mg/l, 1,0 mg/l, 1.5 mg/l and 2,0 mg/l) and concentration of 2,4 D (0,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l). Dependent variables measured were days of callus occurrence, callus colour and texture of callus. Result showed that growth regulators BAP and 2.4 D influenced the timing of the callus formation. Most rapid callus formation appeared at concentration of 2,0 mg/ l 2,4 D and longest callus formation appeared at concentrations of 0,0 mg/l 2,4 D. Callus did not appear on treatment of 0,0 mg/l BAP. The combination of BAP and 2.4 D did not influence on colour and texture of callus. Highest callus score was obtained in the treatment combination of D₀B₁, D₀B_{0,5} and D₀B₂. The lowest callus score obtained in the treatment D₄B₀.*

Kata Kunci

BAP, 2,4 D,
Chrysanthemum morifolium, eksp
lan, kalus

Abstrak

Produksi bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) terhambat oleh ketersediaan bibit, sehingga perlu diupayakan penelitian melalui kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian BAP dan 2,4 D terhadap pembentukan kalus tanaman krisan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri atas dua factor. BAP (0,0 mg/l, 1,0 mg/l, 1,5 mg/l dan 2,0 mg/l) dan 2,4 D (0,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l). Variabel yang diamati adalah waktu munculnya kalus, warna kalus dan tekstur kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ZPT BAP dan 2,4 D memiliki pengaruh terhadap waktu munculnya kalus. Kalus muncul paling cepat pada konsentrasi 2,0 mg/l 2,4 D dan kalus muncul paling lama pada konsentrasi 0,0 mg/l 2,4 D. Kalus tidak muncul pada perlakuan 0,0 mg/l BAP. Kombinasi BAP dan 2,4 D tidak memiliki pengaruh terhadap skor warna kalus dan tekstur kalus. Skor kalus tertinggi (7) diperoleh pada kombinasi perlakuan D₀B₁, D₀B_{0,5} dan D₀B₂. Skor warna kalus terendah (1) diperoleh pada perlakuan D₄B₀.

PENDAHULUAN

Tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*) adalah salah satu tanaman hias dari Family Asteraceae (Dirjen Hortikultura, 2010) yang memiliki banyak manfaat. Bunga krisan dapat digunakan untuk membuat teh atau minuman (Zulkarnain, 2009), sebagai bahan dasar obat antibiotik (Mani dan Senthil, 2011), dan dapat digunakan untuk membuat biopestisida (Indah *et al.*, 2010).

Produksi bunga krisan secara nasional dan secara lokal di Nusa Tenggara Barat (NTB) menunjukkan perbedaan. Secara nasional produksi bunga krisan dari tahun 2010 sampai tahun 2012 menunjukkan peningkatan (BPS, 2013), tetapi belum mampu memenuhi kebutuhan konsumen. Hal tersebut mengakibatkan Indonesia mengimpor bibit dari luar negeri. Apabila bibit yang diimpor diperbanyak di dalam negeri, maka petani bunga harus membayar royalti sebesar 10 % dari harga jual pertangkai (Muhit, 2007).

Di NTB produksi bunga krisan cenderung mengalami penurunan. Hal tersebut disebabkan karena petani bunga menggunakan bibit yang tidak berkualitas sehingga pertumbuhan tanaman tidak optimal. Soetopo *et al.* (2013) menyatakan bahwa peningkatan produksi tanaman krisan tergantung pada kualitas bibit yang digunakan.

Secara umum perbanyak bunga krisan dilakukan dengan dua cara yaitu dengan cara konvensional dan modern. Perbanyak secara konvensional dapat dilakukan dengan biji dan stek. Perbanyak krisan dengan kedua cara tersebut membutuhkan waktu yang lama (Zamroni dan Maryani, 2005). Perbanyak krisan dengan cara modern dilakukan melalui teknologi kultur jaringan tanaman. Perbanyak tanaman melalui metode tersebut dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, seragam, dan dalam waktu yang singkat (Balitbang, 2011). Aplikasi kultur jaringan tanaman membutuhkan bahan kimia tambahan sebagai zat pengatur tumbuh.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah golongan auksin dan sitokinin. Salah satu contoh ZPT golongan auksin adalah 2,4 Diklorofenoksi asetil asid (2,4 D) yang berfungsi untuk induksi kalus (Lestari, 2011) dan contoh ZPT golongan sitokinin adalah benzyl amino purin (BAP) yang berfungsi untuk pembesaran sel (Mahadi, 2010). Lestari (2008) melaporkan bahwa kedua golongan ZPT tersebut sulit terurai pada proses sterilisasi sehingga sering digunakan dalam kultur *in vitro*.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ZPT BAP dan 2,4 D terhadap pembentukan

kalus tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*). Joni (2014) menyatakan bahwa perbanyakan bibit melalui organogenesis tidak langsung dapat meningkatkan jumlah bibit empat kali lipat dibandingkan organogenesis langsung.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan penelitian.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan BBI-PPH Sedau dari bulan Juli sampai Agustus 2014. Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi eksplan daun krisan, media Murashige dan Skoog (MS), ZPT BAP dan 2,4 D, aquades dan alkohol. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah karet gelang, *clingpark*, plastik bening, panci, pengaduk, botol kultur, *laminair air flow cabinet* (LAFC), timbangan analitik, magnetik stirer, lampu ultra violet (UV), labu erlenmeyer, labu ukur, pH meter digital, cawan petri, kompor gas, *scalpel*, *westclaf*, pinset, bunsen, gunting, dan pisau.

Sterilisasi alat.

Semua peralatan yang digunakan dalam kultur jaringan dicuci dan disterilisasi dengan *Westclaf* selama 45 menit.

Sterilisasi ruang inokulasi.

Ruang inokulasi dan LAFC disterilisasi dengan menggunakan lampu UV selama 1 jam. Sebelum inokulasi,

LAFC disemprot dengan menggunakan alkohol, sedangkan *Disecting set* disterilisasi dengan pemanasan menggunakan lampu bunsen.

Inokulasi Eksplan.

Eksplan daun krisan dipotong-potong dengan ukuran kurang lebih 0,5 cm dan ditanam pada media induksi kalus. Media yang sudah ditanami eksplan diletakkan atau diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu 18°C-27°C yang dilengkapi lampu neon dengan intensitas cahaya 600-1000 lux dengan lama penyinaran 16 jam.

Rancangan penelitian.

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) melalui percobaan faktorial 4x4. ZPT BAP dengan konsentrasi 0,0 mg/l, 0,5 mg/l, 1,0 mg/l dan 2,0 mg/l dan ZPT 2,4 D dengan konsentrasi 0,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l dan 4,0 mg/l. Masing masing percobaan diulang sebanyak 3 kali.

Analisis data.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah hari munculnya kalus, warna kalus dan tekstur kalus. Data hari muncul kalus dianalisis dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji *Tukey's Honestly Significant Different* (HSD) (Zar, 1984 : 186). Analisis data dilakukan dengan bantuan SPSS 18 for windows. Data warna kalus dan tekstur kalus tidak memenuhi persyaratan Anova dalam normalitas

distribusi dan homogenitas ragam sehingga diuji dengan Kruskal Wallis test (Zar, 1984 : 176).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hari Muncul Kalus.

Pemberian ZPT 2,4 D berpengaruh terhadap hari munculnya kalus ($F = 40,059$, $df = 3$, $P < 0,05$). Rata-rata (\pm SD) saat munculnya kalus paling cepat terjadi pada $9,00 \pm 2,00$ hari setelah inokulasi (HSI) yaitu pada konsentrasi 2,0 mg/l 2,4 D. Siregar *et al.* (2013) menyatakan bahwa ZPT 2 ppm 2,4 D mampu menginduksi kalus biji gaharu pada 9 HSI. Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus pada konsentrasi 2,0 mg/l berbeda dengan konsentrasi 0,0 mg/l, 3,0 mg/l dan 4,0 mg/l. Perlakuan dengan konsentrasi 3,0 mg/l dan 4,0 mg/l memberikan pengaruh yang sama terhadap hari munculnya kalus. Perlakuan dengan konsentrasi 0,0 mg/l 2,4 D menginduksi kalus paling lama yaitu pada rata-rata \pm SD $18,89 \pm 1,05$ HSI. ZPT 2,4 D sering digunakan untuk menginduksi kalus karena memiliki aktifitas yang kuat untuk memacu proses dediferensiasi dan menekan organogenesis (Ermavitalini dan indah, 2013). Pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan berwarna kuning keputihan pada luka irisan eksplan dan akhirnya menutupi seluruh permukaan eksplan.

Tabel 1. Hari muncul kalus dengan pemberian ZPT 2,4 D

ZPT 2,4 D	Rerata (SD)	Kelompok HSI
0	18,89 (1,05)	c
2	9,00 (2,00)	a
3	12,89 (2,32)	b
4	12,56 (2,92)	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji Tukey.

Pemberian BAP juga berpengaruh terhadap hari munculnya kalus ($F=3,772$, $df=2$, $P < 0,05$). Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa hari muncul kalus pada konsentrasi 2,0 mg/l berbeda dengan 0,5 mg/l. Pemberian BAP dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 1,0 mg /l serta 1,0 mg/l dan 2,0 mg/l memberikan pengaruh yang sama terhadap hari muncul kalus. Rata-rata \pm SD hari muncul kalus paling cepat terjadi pada pemberian BAP dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l yaitu pada $12,58 \pm 4,27$ HSI dan $12, 83 \pm 4,51$ HSI. Pertumbuhan kalus yang lambat ditemukan pada media yang mengandung BAP 2,0 mg/l yaitu pada $14,58 \pm 3,73$ HSI. Semakin tinggi konsentrasi BAP yang diberikan pada media, semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi kalus. Melisa (2010) melaporkan bahwa tanaman Adenium tidak dapat berkalus pada media yang ditambahkan BAP dengan konsentrasi 1,0 mg/l dan 3,0 mg/l, tetapi kalus dapat

diinduksi pada media yang mengandung 0,5 mg/l BAP. Dalam kultur *in vitro*, BAP sering digunakan untuk menginduksi tunas karena BAP berfungsi untuk pembelahan sel dan diferensiasi tunas adventif dari kalus (Kristina dan Syahid, 2007).

Tabel 2. Rerata hari muncul kalus dengan pemberian ZPT BAP.

ZPT BAP (mg/l)	Hari muncul kalus	Kelompok
0,5	12,58 (4,27)	a
1	12,83 (4,51)	a, b
2	14,58 (3,73)	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji Tukey.

Tidak ada pengaruh interaksi antara ZPT BAP dan 2,4 D terhadap hari muncul kalus ($F=1,449$, $df= 6$, $P>0,05$). Perlakuan tanpa pemberian ZPT (kontrol) menginduksi kalus dalam waktu yang lama. Hal tersebut mengindikasikan bahwa eksplan memiliki kandungan auksin endogen yang rendah sehingga masih membutuhkan tambahan auksin eksogen pada media kultur.

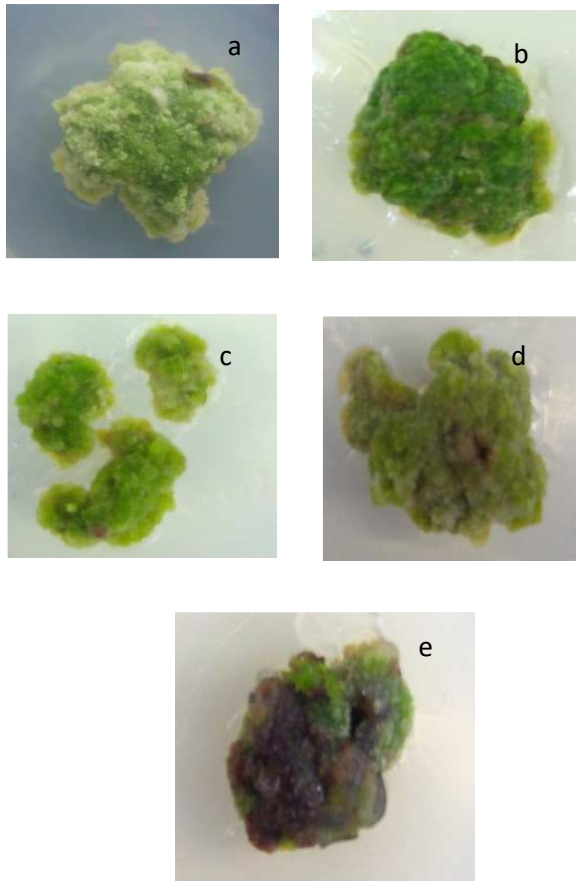


Gambar 1. Saat muncul kalus pada eksplan daun krisan

Warna dan Tekstur Kalus.

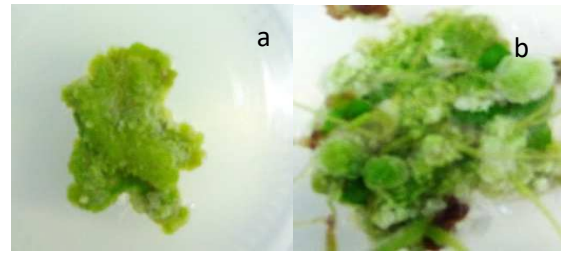
Hasil analisis dengan Kruskal Wallis tes menunjukkan bahwa kombinasi 2,4 D dan BAP tidak memiliki pengaruh terhadap warna kalus dan tekstur kalus ($\chi^2=23,7$, $df= 14$, $P>0,05$).

Warna kalus dapat dijadikan sebagai indikator terhadap kualitas kalus. Kalus yang berkualitas memiliki warna hijau, karena masih memiliki kandungan klorofil (Siregar *et al.*, 2013). Dalam penelitian ini, warna kalus yang diperoleh adalah hijau, hijau kekuningan, kuning kehijauan, hijau keputihan, hijau kecoklatan dan coklat. Perbedaan warna yang terbentuk pada kalus dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media. Dalam penelitian ini, kalus yang berwarna hijau diperoleh pada semua perlakuan BAP tunggal. Kasli (2009) melaporkan bahwa eksplan nodus tanaman krisan membentuk kalus berwarna hijau pada media yang mengandung BAP tunggal (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 dan 2,5) mg/l. Kalus yang berwarna hijau kecoklatan atau coklat menandakan telah terjadi penurunan kualitas kalus. Konsentrasi 2,4 D yang tinggi pada media dapat merangsang pembentukan senyawa fenolik yang bersifat toksik pada kalus (Adri, 2012).



Gambar 2. Warna kalus pada eksplan daun krisan

Tekstur kalus juga dapat dijadikan penanda kualitas kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga yaitu tekstur kompak, kompak bernodul dan remah (Lizawati, 2012). Dari hasil penelitian diperoleh kalus dengan tekstur kompak dan kompak bernodul. Perbedaan tekstur kalus dipengaruhi oleh jenis eksplan yang digunakan, kondisi lingkungan kultur, dan umur fisiologi eksplan yang digunakan (Nursyamsi, 2010). Khumaida *et al.* (2010) melaporkan bahwa rimpang jahe umur delapan bulan menghasilkan kalus yang lebih remah dibandingkan rimpang jahe umur 6 bulan.



Gambar 3. Tekstur kalus dari eksplan daun krisan (a) tekstur kalus kompak (b) tekstur kalus kompak bernodul

KESIMPULAN

Pemberian ZPT BAP dan 2,4 D memiliki pengaruh terhadap hari munculnya kalus. Perlakuan ZPT 2,0 mg/l 2,4 D mengakibatkan kalus tumbuh paling cepat yaitu pada rata-rata \pm SD $9,00 \pm 2,00$ HSI. Kombinasi ZPT BAP 2,4 D dan BAP tidak memiliki pengaruh terhadap skor warna kalus dan skor tekstur kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Adri. R.F. 2012. *Pengaruh 2,4-D Terhadap Pembentukan Embrio Somatik Tanaman Gambir (Uncaria gambir) dan Uji Responnya Terhadap PEG Dalam Upaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan*. Tesis. Universitas Andalas
- Badan Pusat Statistik. 2013. *Perkembangan Beberapa Indikator Utama Sosial Ekonomi Indonesia: <http://www.bps.go.id/aboutus.php?booklet=1>*. Diakses tanggal 3 Juli 2014
- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. 2011. *Mengembangkan usaha pembibitan*

- tanaman melalui kultur jaringan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 33(2) : 4-6
- Direktorat Jenderal Hortikultura. 2010. *Informasi Teknis Tanaman Hias Pot.* Kementerian Pertanian: Jakarta
- Ermavitalini, D., Indah, P.R. 2013. Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 2 (1) : 2337-3520
- Indah, B., Hartal., Misnawati. 2010. Efektifitas *Thricoderma* sp dan *Gliocladium* sp dalam pengendalian layu fusarium pada tanaman krisan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 12 (1) : 7-12
- Joni, Y.Z. 2014. *Organogenesis dan Embriogenesis Somatik Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Tesis. Institut Pertanian Bogor
- Kasli. 2009. Upaya perbanyak tanaman krisan (*Chrysanthemum sp*) secara *in vitro*. *Jerami* 2 (3) : 121-125
- Khumaida, N., Ibrahim, M.S.D., Rostiana, O. 2010. Pengaruh umur eksplan terhadap keberhasilan pembentukan kalus embriogenik pada kultur meristem jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Jurnal Litri* 16 (1) : 37-42
- Kristina, N.N., Syahid, S.F. 2007. Induksi dan regenerasi kalus keladi tikus (*Typonium flagelliforme*. Lodd.) secara *in vitro*. *Jurnal Litri* 13 (4) : 142-146
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen* 7 (1) : 63-68
- Lestari, E.G., Yunita, R. 2008. Perbanyak tanaman *Artemisia annua* secara *in vitro*. *Jurnal Agrobiogen* 4 (1) : 41-44
- Lizawati. 2012. Proliferasi kalus dan embriogenesis somatik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan berbagai kombinasi ZPT dan asam amino. *Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Jambi* 1 (4) : 32-41
- Mahadi, I. 2010. *Mikropropagasi Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) dengan Pemberian Benzyl Amino Purin dan Naftalen Acetyl Acyd serta Pengaruhnya terhadap Bahan Metabolik Sekunder.* Universitas Riau: Pekanbaru
- Mani, T., Senthil, K. 2011. Multiplication of *Chrysanthemum* through somatic embryogenesis. *Asian Journal Pharma Technology* 1 (1) : 13-16
- Mellisa. 2010. *Respon Asal Eksplan Tanaman Adenium (Adenium obesum) Terhadap Pemberian Benzil Amino Purin Secara In Vitro.* Tesis. Universitas Islam Riau.
- Muhit, A. Teknik produksi tahap awal benih vegetatif krisan (*Chrysanthemum morifolium*). *Buletin Teknik Pertanian* 12 (1) : 14-18
- Nursyamsi. 2010. *Teknik Kultur Jaringan Sebagai Alternatif Perbanyak Tanaman Untuk Mendukung Rehabilitasi Lahan.* Makalah disajikan pada Seminar Hasil Penelitian Balai Penelitian Kehutanan, Makasar 22 Juni.

Siregar, L.H., Siregar L.A.M., Putri, L.P.
2013. Pengaruh α - benzil amino
purin dan α - asam asetat naftalena
terhadap pertumbuhan akar
Boesenbergia flava secara *in vitro*.
Jurnal Agroekoteknologi 1 (3) :
511-522

Soetopo, L., Istianingrum, P., Damanhuri.
2013. Pengaruh generasi benih
terhadap pertumbuhan dan
pembungaan krisan
(*Chrysanthemum*) varietas rhino.
Jurnal Produksi Tanaman 1 (3) : 1-
8

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

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*.
Prentice Hall International Inc. :
Englewood Cliffs

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan
Tanaman: Solusi Perbanyak
Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara:
Jakarta