



## RESPON IAA DAN BAP TERHADAP MULTIPLIKASI *IN VITRO* TUNAS TANAMAN KRISAN VARIETAS SUCIONO (*Chrysanthemum indicum* L)

### RESPONSE OF IAA AND BAP TO THE MULTIPLICATION *IN VITRO* OF SUCIONO VARIETY CHRYSANTHEMUM SHOOTS (*Chrysanthemum indicum* L)

Didik Pudji Restanto<sup>1,3\*</sup>, Nur Lailin Nafiah<sup>2</sup>, Wahyu Indra Duwi Fanata<sup>2</sup>, Tri Ratnasari<sup>2</sup>, Refa Firgiyanto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Indonesia

<sup>3</sup>Center for Development Advance Sciences and Technology (CDAST), Universitas Jember, Indonesia

<sup>4</sup>Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Indonesia

\*Corresponding author: [restanto.lemli@unej.ac.id](mailto:restanto.lemli@unej.ac.id)

Naskah Diterima: 29 Juli 2022; Direvisi: 1 April 2023; Disetujui: 16 November 2023

#### Abstrak

Tanaman krisan varietas Suciono merupakan tanaman hias yang potensial dikembangkan dan diminati oleh penduduk dunia, yang ditunjukkan dengan permintaan pasar terhadap tanaman krisan meningkat sepanjang tahun. Hal ini menyebabkan perbanyak krisan secara *in vitro* sangat penting untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Indole Acetic Acid* (IAA) dan *Benzly Amino Purine* (BAP) terhadap multiplikasi tunas krisan varietas Suciono. Desain penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yakni kombinasi hormon IAA dan BAP yang 9 kombinasi, yakni 0 mg/L + 1,5 mg/L; 0 mg/L + 2 mg/L; 0 mg/L + 2,5 mg/L; 0,5 mg/L + 1,5 mg/L; 0,5 mg/L + 2 mg/L; 0,5 mg/L + 2,5 mg/L; 1 mg/L + 1,5 mg/L; 1 mg/L + 2 mg/L; dan 1 mg/L + 2,5 mg/L dimana setiap kombinasi diulang sebanyak 3 kali. Variabel yang diamati meliputi analisis histologis kalus, waktu muncul tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun. Hasil analisis ragam atau ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi IAA 0 mg/L dan BAP 2 mg/L merupakan kombinasi konsentrasi terbaik untuk multiplikasi tunas. Penambahan BAP 2 mg/L mampu menghasilkan persentase muncul tunas 100%, jumlah tunas 3 per-eksplan, tinggi tunas 7 cm, dan jumlah daun sebanyak 16 helai.

**Kata Kunci:** BAP; IAA; *In vitro*; Krisan; Multiplikasi tunas

#### Abstract

*The variety Suciono of chrysanthemum is a potential ornamental plant that is in demand by the world's population, as indicated by the increasing market demand for chrysanthemum plants throughout the year. This has led to the importance of in vitro propagation of chrysanthemum. The aim of this study is to determine the effect of Indole Acetic Acid (IAA) and Benzly Amino Purine (BAP) on the multiplication of chrysanthemum shoots of the Suciono variety. The design of this study used nodus explants, treated with a combination of IAA hormones and BAP. It is make 9 combinations, and then the combinations of hormones is 0 mg/L + 1,5 mg/L; 0 mg/L + 2 mg/L; 0 mg/L + 2,5 mg/L; 0,5 mg/L + 1,5 mg/L; 0,5 mg/L + 2 mg/L; 0,5 mg/L + 2,5 mg/L; 1 mg/L + 1,5 mg/L; 1 mg/L + 2 mg/L; and 1 mg/L + 2,5 mg/L. The observed variables included histological analysis of callus, time of shoot emergence, number of shoots, shoots height, and number of leaves. The results of the analysis showed that the treatment with 0 mg/L IAA and 2 mg/L BAP was the best concentration for shoots multiplication. The addition of 2 mg/L BAP was able to produce a percentage of shoots emergence of 100%, 3 shoots per explant, shoots height of 7 cm and 16 leaves.*

**Keywords:** BAP; IAA; *In vitro*; Chrysanthemum; Shoot multiplication

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.27417>

## PENDAHULUAN

Tanaman krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) adalah tanaman hias yang berasal dari negara Eropa serta Asia (Gawade et al., 2019). Menurut Bala, (2015) tanaman krisan varietas lokal memiliki banyak potensi seperti bunga rangkai, dekorasi ruangan, dan bioinsektisida. Selain itu bunga krisan berpotensi sebagai bahan kosmetik karena mengandung antibakteri dan anti efek inflamasi yang cocok digunakan untuk perawatan kulit dan obat tradisional (Choi et al., 2016). Banyaknya potensi yang dimiliki tanaman krisan varietas lokal, membuat peminat krisan varietas lokal meningkat sepanjang tahun, seperti permintaan krisan varietas Suciono di Pasar Internasional berkisar 60% dan Indonesia hanya bisa memasok krisan varietas Suciono 10% (Nurmalinda & Hayati, 2014).

Permintaan krisan varietas Suciono yang masih belum terpenuhi disebabkan banyaknya permasalahan perbanyakan tanaman krisan, yang meliputi ketersediaan bibit bermutu tinggi sulit didapatkan sehingga petani mengalami ketergantungan bibit dari negara luar (Nurmalinda & Hayati, 2014). Menurut Maryani dan Zamroni (2005) perbanyakan krisan secara generatif membutuhkan waktu lama dan sulit untuk dilakukan karena krisan bersifat heterozigot, sedangkan perbanyakan secara vegetatif dengan stek batang hasil yang diperoleh berulang kali dari tanaman induk menimbulkan penyusutan produktivitas (Jahan et al., 2021). Upaya untuk mengatasi permasalahan dan pemenuhan permintaan krisan varietas Suciono dapat dilakukan dengan kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan teknik alternatif pengandaan tanaman menggunakan bagian tanaman yang ditambahkan pada media yang memiliki nutrisi dalam lingkungan aseptik (Abdin et al., 2017). Salah satu perbanyakan kultur jaringan tanaman krisan dengan multiplikasi tunas. Multiplikasi tunas merupakan eksplan yang berkembang menjadi tunas melalui organogenesis, yang secara alternatif dapat menggandakan bibit berkualitas (Praseptiana et al., 2017).

Beberapa studi literatur yang menerapkan perbanyakan tanaman krisan menunjukkan bahwa, multiplikasi tunas tanaman krisan menghasilkan jumlah tunas pereksplan 7 pada perlakuan 0,50 mg/L BAP dan 0,25 mg/L IAA (Pant et al., 2015). Menurut Jahan et al. (2021) pembentukan tunas terbaik pada tanaman krisan yaitu dengan perlakuan kombinasi 1,5 mg/L BAP dan 0,5 mg/L IAA menghasilkan pembentukan tunas 90% dan 9 tunas pereksplan. Lebih lanjut, Imtiaz et al. (2019) melaporkan pemberian hormon BAP 44,39  $\mu\text{m}$  dapat menghasilkan tunas awal 12 pereksplan dengan tinggi tunas 6,06 cm. Berdasarkan studi literatur dapat ditarik kesimpulan bahwa penambahan hormon auksin dan sitokinin seperti IAA dan BAP berpengaruh positif terhadap berbagai parameter pertumbuhan tanaman krisan seperti jumlah tunas dan tinggi tunas. Penambahan IAA dan BAP dapat memberikan respon terbaik untuk pembentukan tunas krisan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan yang berkaitan mengenai respon pertumbuhan tanaman krisan varietas Suciono dengan penambahan IAA dan BAP dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi terkait kombinasi hormon IAA dan BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman krisan varietas Suciono.

## MATERIAL DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ekofisiologi dan Kultur Jaringan, Program Studi Agronomi Universitas Jember. Bahan tanam krisan varietas Suciono yang berasal dari Balai Penelitian Tanaman Hias BALITHI Cianjur, dengan media MS, hormon IAA dan BAP, bahan pematik, natrium hipoklorit, alkohol 70%, glukosa, *aquadest*. Alat yang digunakan seperti neraca analitik Sartorius, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), pinset, *Petri dish*, gunting, dan mikroskop binokuler.

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap tunggal dengan satu faktor yakni kombinasi konsentrasi hormon IAA dan BAP. Terdapat 9 kombinasi IAA dan BAP yakni: 0 mg/L + 1,5 mg/L; 0 mg/L + 2 mg/L; 0 mg/L + 2,5 mg/L; 0,5 mg/L + 1,5 mg/L; 0,5 mg/L + 2 mg/L; 0,5 mg/L + 2,5 mg/L; 1 mg/L + 1,5 mg/L; 1 mg/L + 2 mg/L; dan 1 mg/L + 2,5 mg/L.

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga, terdapat 27 satuan unit percobaan. Analisis data menggunakan ini menggunakan ANOVA dan uji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf kepercayaan 95%. Pelaksanaan penelitian diawali dengan pembuatan media

MS dengan tambahan hormon IAA dan BAP kemudian media disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15–30 menit. Tahapan sterilisasi eksplan dilakukan dengan mencuci dengan air mengalir kemudian dilanjutkan dengan perendaman dengan alkohol 70% selama 3 menit kemudian dibilas dengan air mengalir selama 3 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Eksplan yang telah melalui proses pencucian kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaOCl 1% selama 5 menit kemudian dibilas dengan *aquadest* selama 3 menit. Tahapan selanjutnya pemindahan eksplan ke media induksi dan dimasukkan ke dalam ruangan inkubasi. Variabel pengamatan pada penelitian ini antara lain analisis histologi kalus, waktu muncul tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun.

Analisis histologi dengan mengamati preparat yang dibuat menggunakan sampel bagian pangkal tanaman untuk melihat struktur jaringan pada multiplikasi. Tahapan pembuatan preparat histologi meliputi tahap pengawetan (*fixation*), tahap dehidrasi (*dehydration*), tahap pembersihan (*clearing*), tahap pembedaan (*infiltration/impregnation/embedding*), tahap pengecoran (*blocking/casting*), tahap pengirisan jaringan (*sectioning*), tahap pewarnaan (*staining*), tahap perekatan (*mounting*), dan tahap pelabelan (*labelling*). Analisis histologi dilakukan dengan membuat preparat yang dilaksanakan di Lab Mikroteknik Universitas Gajah Mada. Hasil preparat histologi di amati menggunakan mikroskop binokuler.

Parameter pengamatan waktu munculnya tunas dihitung berdasarkan lamanya eksplan memunculkan tunas dengan satuan hari setelah inokulasi. Jumlah tunas dihitung berdasarkan banyaknya tunas yang telah terbentuk dalam setiap botol kultur. Tinggi tunas dihitung menggunakan penggaris mulai dari pangkal tanaman hingga tajuk tanaman. Jumlah daun dihitung berdasarkan banyaknya helai daun yang telah terbentuk dalam setiap botol kultur. Jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun dihitung setelah 5 minggu setelah tanam (MST).

## HASIL

Berdasarkan hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi hormon IAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap parameter pengamatan waktu munculnya tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil analisis data kombinasi hormon IAA dan BAP

Variabel pengamatan	Nilai F-hitung	
	F-hitung	F-tabel 5%
Waktu Muncul Tunas	52,21 <sup>*</sup>	2,51
Jumlah Tunas	2,33 <sup>ns</sup>	2,51
Tinggi Tunas	43,54 <sup>*</sup>	2,51
Jumlah Daun	97,30 <sup>*</sup>	2,51

Keterangan: <sup>\*</sup>= berbeda nyata (nilai F-hitung > F tabel 5%); <sup>ns</sup> tidak berbeda nyata nyata (nilai F-hitung < F tabel 5%)

## Histologi Kalus Pangkal Batang

Keberhasilan multiplikasi secara dini dapat diamati pada eksplan pangkal batang yang mengalami pembengkakan dan terbentuk kalus. Tunas yang terbentuk melalui fase kalus disebut juga *indirect organogenesis*. Kalus yang terbentuk muncul pada pangkal eksplan nodus, lalu tumbuh dan berkembang, bertekstur remah, viabel, dan berwarna hijau muda (Gambar 1). Kalus pada pangkal batang dapat beregenerasi memunculkan tunas-tunas baru yang banyak atau multiplikasi tunas.

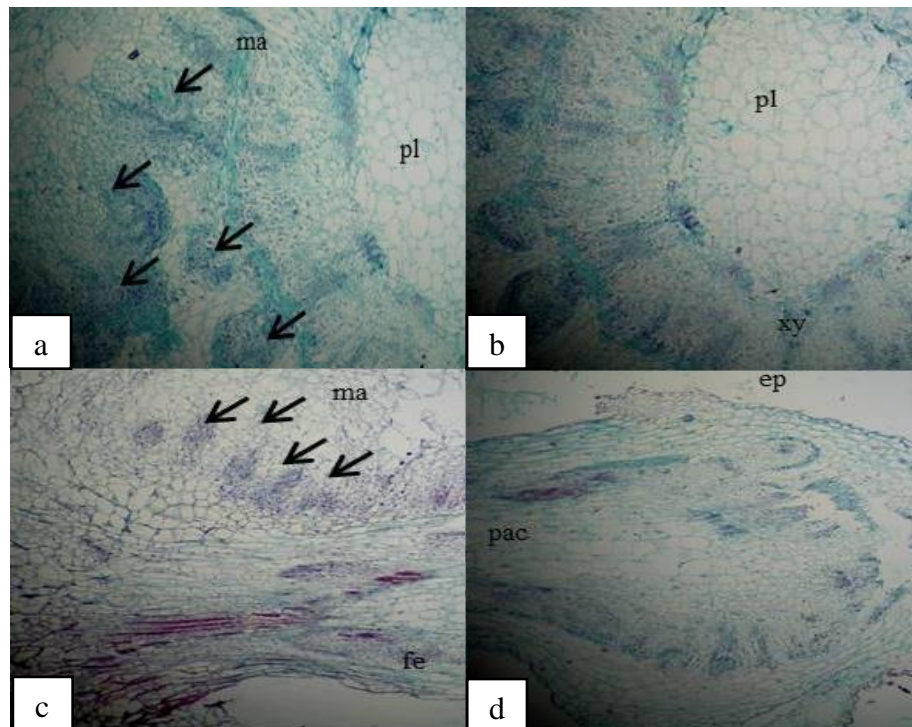
Pembengkakan pada pangkal yang membentuk kalus dilakukan pengamatan histologi untuk meninjau struktur jaringan pada pangkal. Sampel yang digunakan untuk preparat histologi berumur 1 minggu setelah tanam atau yang telah membengkak dan membentuk kalus, tetapi sebelum membentuk tunas. Pembuatan preparat histologi dilakukan secara melintang dan membujur.

Hasil histologi tonjolan kalus pada pangkal batang dapat diamati pada tanda panah bertanda meristem apikal (ma) dengan struktur sel yang lebih padat (Gambar 2a). Histologi pangkal batang teramati terdapat perbedaan ukuran sel antara empulur (pl) dan terlihat jelas struktur jaringan xilem

(xy) (Gambar 2b). Histologi secara melintang dapat teramati terdapat beberapa spot kumpulan sel-sel yang lebih padat merupakan asal terbentuknya tunas-tunas baru pada multiplikasi (Gambar 2c). Histologi ujung pangkal terlihat sel parenkim (pac) dan di bagian tepi merupakan epidermis (ep) (Gambar 2d).



**Gambar 1.** Kalus pada pangkal eksplan krisan Suciono



**Gambar 2.** Histologi kalus pada pangkal batang krisan Suciono (Pembesaran 100x) yaitu, (a) histologi tonjolan kalus secara melintang; (b) histologi pangkal batang secara melintang; (c) histologi pangkal batang secara membujur; (d) histologi ujung pangkal batang secara membujur

### Waktu Muncul Tunas

Waktu munculnya tunas dihitung berdasarkan lama eksplan memunculkan tunas yang dinyatakan dalam satuan hari setelah tanam (HST). Semakin cepat eksplan memunculkan tunas menunjukkan respon yang baik. Setiap perlakuan kombinasi IAA dan BAP terdapat perbedaan waktu munculnya tunas (Tabel 2).

**Tabel 2.** Waktu muncul tunas krisan (HST)

Hormon IAA	Hormon BAP		
	B1	B2	B3
I1	10,33 a ± 0,58	10,33 a ± 0,58	14,33 b ± 0,58
I2	15,00 b ± 0,00	15,33 b ± 0,58	17,00 c ± 1,00
I3	17,30 c ± 1,15	19,00 d ± 1,73	21,00 e ± 0,00

Keterangan: (I1) IAA 0 mg/L, (I2) IAA 0,5 mg/L, (I3) IAA 1 mg/L, (B1) BAP 1,5 mg/L, (B2) BAP 2 mg/L, dan (B3) BAP 2,5 mg/L. Huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji anova pada taraf kepercayaan 95%

Kombinasi IAA dan BAP menunjukkan pengaruh yang sangat signifikan terhadap waktu munculnya tunas. Waktu muncul tunas tercepat diperoleh pada perlakuan tunggal BAP 1,5 mg/L dan BAP 2 mg/L yakni pada 10 HST (Gambar 3). Waktu muncul tunas terlama diperoleh pada perlakuan kombinasi IAA 1 mg/L dengan BAP 2,5 mg/L, yaitu 21 hari. Pemberian konsentrasi IAA dan BAP yang semakin tinggi menunjukkan respon munculnya tunas yang semakin lama.



**Gambar 3.** Hasil pengamatan waktu muncul tunas pada 10 HST, yaitu perlakuan 1,5 mg/L BAP (a), perlakuan 2 mg/L BAP (b), dan tunas muncul dari kalus (c), s= shoot, n= nodus, oc= organogenic callus

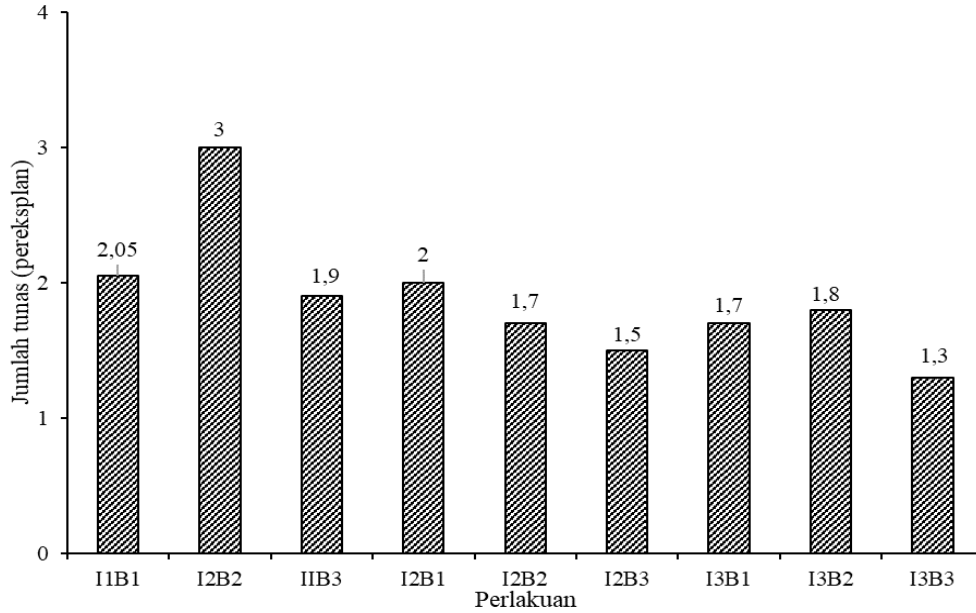
Terlihat pada Gambar 3a dan 3b tunas pertama muncul dari eksplan nodus pada 7 HST kemudian diikuti dengan pertumbuhan kalus pada pangkal batang yang dapat membentuk tunas. Seperti pada Gambar 3c, panah s merupakan tunas pada pengamatan 10 HST yang muncul dari kalus organogenik pada pangkal batang. Di sekitar tunas yang muncul dari kalus, terdapat semacam *protocorm* yang pertumbuhannya relatif lambat. Perlakuan BAP secara tunggal dengan konsentrasi 1,5 mg/L dan BAP 2 mg/L memunculkan tunas tercepat dengan panjang tunas sekitar 0,5–1 cm dan telah teramati daun yang masih berukuran kecil pada masing-masing tunas (Gambar 3). Daun memiliki warna hijau normal. Persentase muncul tunas mencapai 100% menunjukkan bahwa semua eksplan berhasil memunculkan tunas. Penambahan hormon sitokinin berperan dalam memunculkan tunas pada eksplan dan pemberian auksin dengan konsentrasi yang tepat dapat mendukung kinerja sitokinin dalam memberikan respon yang baik untuk memunculkan tunas krisan varietas Suciono. Perlakuan I3B3 dengan kombinasi IAA 1 mg/L dan BAP 2,5 mg/L menunjukkan persentase muncul tunas terendah yaitu 93,3% disebabkan eksplan mengalami *browning* sebelum membentuk tunas.

### Jumlah Tunas

Kombinasi IAA dan BAP menunjukkan hasil jumlah tunas yang berbeda-beda. Kombinasi IAA dan BAP menunjukkan hasil pengaruh yang tidak nyata pada jumlah tunas yang muncul pada kalus organogenik. Semakin banyak tunas yang muncul, maka semakin baik respon pada pemberian hormon. Penambahan hormon yang tepat mampu menginduksi tunas yang banyak (Gambar 4).

Berdasarkan Gambar 5, perlakuan I1B2 dengan penambahan BAP tunggal 2 mg/L menghasilkan rata-rata jumlah tunas maksimum yaitu 3 tunas/eksplan. Jumlah tunas minimum pada perlakuan I3B3 dengan kombinasi 1 mg/L IAA dan 2,5 mg/L BAP yang menghasilkan rata-rata jumlah tunas 1,3 per eksplan. Konsentrasi hormon yang semakin tinggi menunjukkan penurunan jumlah tunas disebabkan kemampuan eksplan dalam menyerap nutrisi sudah mencapai batas

maksimum sehingga jika terjadi penambahan konsentrasi dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan eksplan untuk membentuk tunas.



**Gambar 4.** Rata-rata jumlah tunas krisan

### Tinggi Tunas

Hasil pengamatan tinggi tunas pada setiap perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata. Perlakuan kombinasi hormon yang tepat dapat menghasilkan tinggi tunas yang terbaik, terlihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rata-rata tinggi tunas krisan (cm)

Hormon IAA	Hormon BAP		
	B1	B2	B3
I1	6,00 c ± 0,60	7,08 b ± 0,10	5,77 c ± 0,20
I2	8,17 a ± 0,10	7,13 b ± 0,20	5,67 c ± 0,10
I3	5,58 c ± 0,10	5,48 c ± 0,20	4,60 d ± 0,50

Keterangan: (I1) IAA 0 mg/L, (I2) IAA 0,5 mg/L, (I3) IAA 1 mg/L, (B1) BAP 1,5 mg/L, (B2) BAP 2 mg/L, dan (B3) BAP 2,5 mg/L

Berdasarkan Tabel 3, perlakuan I2B1 kombinasi IAA 0,5 mg/L dengan BAP 1,5 mg/L menunjukkan hasil rata-rata tinggi tunas tertinggi yaitu 8,17 cm. Rata-rata tinggi tunas terendah diperoleh perlakuan I3B3 dengan kombinasi IAA 1 mg/L dan BAP 2,5 mg/L yaitu 4,6 cm. Perlakuan BAP 2 mg/L tunggal ataupun dikombinasikan dengan IAA 0,5 mg/L menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Perlakuan BAP 2,5 mg/L tunggal ataupun dikombinasikan dengan IAA 1 mg/L menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

### Jumlah Daun

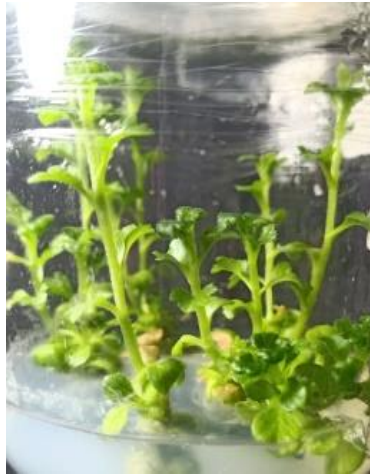
Parameter jumlah daun setiap perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata, rata-rata jumlah daun dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Rata-rata jumlah daun krisan (helai)

Hormon IAA	Hormon BAP		
	B1	B2	B3
I1	11,8 f ± 0,60	16,7 b ± 0,70	12,5 ef ± 0,30
I2	17,6 a ± 0,00	15,5 c ± 0,50	13,4 d ± 0,30
I3	12,8 de ± 0,30	12,5 ef ± 0,50	9,7 g ± 0,50

Keterangan: (I1) IAA 0 mg/L, (I2) IAA 0,5 mg/L, (I3) IAA 1 mg/L, (B1) BAP 1,5 mg/L, (B2) BAP 2 mg/L, (B3) BAP 2,5 mg/L

Berdasarkan Tabel 4, perlakuan terbaik didapatkan dari penambahan kombinasi hormon IAA 0,5 mg/L dengan BAP 1,5 mg/L menghasilkan rata-rata jumlah daun 17,6 daun. Rata-rata jumlah daun terendah diperoleh dari perlakuan I3B3 dengan kombinasi IAA 1 mg/L dengan BAP 2,5 mg/L. Terlihat pada Gambar 5, hasil multiplikasi menunjukkan daun yang rimbun. Organ daun sangat penting untuk pertumbuhan planlet yang baik serta menjalankan fungsi fotosintesis.



**Gambar 5.** Pengamatan jumlah daun pada umur 5 minggu setelah tanam (MST) pada perlakuan 0,5 mg/L IAA dan 1,5 mg/L BAP

Persentase eksplan hidup menjadi parameter penting untuk keberhasilan multiplikasi. Media dengan perlakuan kombinasi yang tepat lebih efisien menghasilkan persentase eksplan hidup yang tinggi. Berdasarkan pengamatan pada perlakuan I1B3, I2B1, I2B2, dan I2B3 menghasilkan persentase hidup 100%. Perlakuan I1B1 dengan penambahan hormon BAP 1,5 mg/L secara tunggal menunjukkan persentase eksplan hidup terendah yaitu 80%. Perlakuan I3B1, I3B2, dan I3B3 dengan kombinasi hormon IAA 1 mg/L dengan BAP (1,5 mg/L, 2 mg/L, dan 2,5 mg/L) menunjukkan persentase eksplan hidup yang cenderung rendah yaitu 86,67%

## PEMBAHASAN

Analisis histologi terhadap kalus krisan varietas Suciono, menunjukkan sel terdiri dari daerah tertentu yang memiliki struktur ukuran kecil dan kompak, dengan butiran pati yang padat. Menurut Kim et al. (2021) bahwa sel yang memiliki banyak butiran pati menunjukkan metabolisme yang tinggi dengan potensi diferensiasi meningkat, selain itu kepadatan pati menjadi syarat penting dalam organogenesis. Pada Gambar 2, mengungkapkan bahwa pada beberapa jaringan tersebar sel meristem apikal berwarna gelap yang akan berdiferensiasi dan berkembang menjadi tunas muda. Menurut Bhagya et al. (2013) adanya meristem apikal berwarna gelap yang dikelilingi jaringan parenkim menunjukkan terjadinya organogenesis tidak langsung. Pada Gambar histologis terdapat beberapa sel yang memanjang hal ini berkaitan dengan keberadaan auksin yang bertindak dalam pemanjangan sel (Trettel et al., 2019), selain itu adanya jaringan fungsional yang dibuktikan dengan adanya berkas pembuluh terdiri dari xilem dan floem pada batang menunjukkan eksplan berkembang baik melalui fotosintesis dan respirasi. Analisis histologi kalus krisan varietas Suciono mengungkapkan adanya idioblas kristal yang berada di primordia batang, diduga jenis idioblas kristal yang telah diamati adalah raphida. Menurut Harijati et al. (2009) idioblas kristal memiliki kelimpahan tertinggi pada bagian batang tunas dengan fungsi yang dimiliki idioblas kristal sebagai penyangga dan penguat jaringan yang dapat membantu pengumpulan serta pemantulan cahaya.

Hasil penelitian membuktikan, aplikasi BAP secara tunggal berdampak pada muncul tunas tercepat. Munculnya tunas tercepat pada eksplan adalah hasil dari diferensiasi, pada penelitian ini tunas yang paling cepat muncul pada hari ke-10 setelah inisiasi, terjadi pada 1,5 mg/L BAP dan 2 mg/L BAP. Menurut Sagai et al. (2016) menyatakan penambahan BAP berperan aktif dalam pembelahan sel, selain itu BAP dapat memacu sintesis protein dan menjalankan enzim yang dapat mendukung pembelahan sel. Aktivitas pembelahan sel menyebabkan percepatan pertumbuhan yang

berpengaruh pada waktu muncul tunas lebih cepat, selain itu aplikasi zat pengatur tumbuh BAP secara tunggal menghasilkan persentase muncul tunas pada semua perlakuan tinggi yaitu 100%. Menurut Ordás et al. (1992) BAP memiliki hubungan dengan munculnya tunas yaitu adanya korelasi BAP dengan substrat untuk meningkatkan sintesis protein, sebagai upaya pembentukan tunas, sedangkan pada 5 perlakuan kombinasi IAA dan BAP juga dapat memacu eksplan untuk memunculkan tunas sebesar 100%.

Banyaknya tunas yang terbentuk dari kalus organogenik pada pangkal batang eksplan menunjukkan laju multiplikasi yang tinggi. Berdasarkan hasil jumlah tunas tanaman krisan varietas Suciono menunjukkan jumlah tunas maksimum pada perlakuan 2 mg/L BAP, sedangkan pada kombinasi IAA dan BAP menunjukkan jumlah tunas yang sama pada beberapa perlakuan yaitu 2 pereksplan. Menurut Wulandari et al. (2017) menyatakan bahwa pemberian IAA dan BAP memiliki hasil mirip terhadap jumlah tunas dan persentase muncul tunas setiap perlakuan, yang diakibatkan belum tercapainya keseimbangan hormon auksin dan sitokinin yang terkandung pada media, selain itu jumlah tunas yang terbentuk juga bergantung pada kepekaan eksplan tanaman dalam menyerap hormon berbeda.

Aplikasi IAA dan BAP berefek sinergis terhadap tinggi tunas, yang ditunjukkan pada 0,5 mg/L IAA dan 1,5 mg/L BAP menghasilkan tinggi tunas 8 cm. Adanya penambahan auksin 0,5 mg/L dapat memengaruhi tinggi tunas. Menurut Wulandari et al. (2017) adanya aktivitas hormon auksin dapat merangsang perpanjangan sel tunas muda, hal ini juga ditegaskan pada penelitian menurut Arimarsetiowati dan Ardiyani. (2012) yang menyatakan fungsi auksin salah satunya dapat memengaruhi tinggi tunas, sedangkan pada perlakuan 1 mg/L IAA dan 2,5 mg/L BAP menghasilkan tinggi tunas terendah sebesar 4,6 cm. Menurut Harahap et al. (2014) tingginya konsentrasi hormon yang diberikan berdampak pada pertumbuhan tunas yang terhambat dan ditunjukkan dengan banyaknya tunas yang tumbuh kerdil. Pada kombinasi 0,5 mg/L IAA dan 1,5 mg/L BAP menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu 18 helai. Pertumbuhan tunas juga berpengaruh pada jumlah daun yang terbentuk. Menurut Lutfiani et al. (2022) menyatakan tingginya jumlah tunas mendorong eksplan untuk menghasilkan jumlah daun maksimum. Pemberian auksin dan sitokinin yang tepat bisa meningkatkan aktivitas sel untuk berdiferensiasi membentuk daun.

Aplikasi zat pengatur tumbuh BAP secara tunggal menunjukkan hasil yang rendah pada persentase eksplan hidup. Hal ini disebabkan adanya *browning* pada saat pertumbuhan eksplan. *Browning* dapat terjadi karena adanya sintesis senyawa fenolik pada metabolit sekunder yang menyebabkan eksplan berwarna kecokelatan jika dibiarkan dapat menghambat pertumbuhan dan kematian pada eksplan (Rodinah et al., 2016). Sebaliknya pada sebagian perlakuan kombinasi IAA dan BAP menghasilkan persentase eksplan tumbuh tinggi sebesar 100%. Menurut Mahadi (2016) menyatakan hasil persentase eksplan hidup tinggi bergantung pada eksplan yang memiliki jaringan yang aktif membelah, dengan pemberian hormon yang tepat. Pemberian hormon eksogen secara tepat bisa mewujudkan kerja yang sinergis dengan hormon endogen untuk mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan eksplan. Untuk perlakuan kombinasi yang lain menunjukkan eksplan hidup rendah sebesar 83,33% disebabkan eksplan juga mengalami *browning*. Menurut Admojo dan Indrianto (2016) adanya aktivitas respirasi yang berlebihan pada eksplan mengakibatkan munculnya radikal oksigen bebas yang memicu aktivitas metabolisme fenol. Aktivitas tersebut dapat mengakibatkan eksplan yang sudah mengalami pertumbuhan akan *browning* dan mati.

## SIMPULAN DAN SARAN

Analisis histologis menunjukkan kalus dengan butiran pati yang padat yang menjadi syarat penting terjadinya organogenesis dan banyaknya meristem apikal yang berwarna gelap yang akan berdiferensiasi membentuk tunas. Perlakuan optimal dalam multiplikasi tunas tanaman krisan varietas Suciono diperoleh pada perlakuan BAP tunggal dengan konsentrasi 2 mg/L BAP yang menghasilkan waktu muncul tunas tercepat, persentase muncul tunas 100%, serta menghasilkan



jumlah tunas 3 pereksplan, didukung tinggi tunas 7 cm, dan jumlah daun 16 helai. Saran yang dapat dilakukan yaitu perlu adanya pengaruh hormon berbeda untuk organogenesis kalus tanaman krisan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agronomi Universitas Jember yang sudah mensupport penelitian ini. Terima kasih kepada Balai Penelitian Tanaman Hias BALITHI Cianjur yang telah membantu menyediakan tanaman krisan varietas Suciono.

## REFERENSI

- Abdin, M. Z., Kiran, U., & Kamaluddin., & Athar, A. (2017). *Plant biotechnology : Principles and applications*. Singapura: Springer.
- Admojo, L., & Indrianto, A. (2016). Pencegahan browning fase inisiasi kalus pada kultur midrib daun klon karet (*Hevea brasiliensis*) pb 330. *Indonesian Journal of Natural Rubber Research*, 34(1),25-34.
- Arimarsetiowati, R., & Ardiyani, F. (2012). Pengaruh penambahan auxin terhadap pertunasan dan perakaran kopi arabika perbanyak somatic embryogenesis (the effects of shooting and rooting of arabica coffee propagation through embryo genesis somatic auxin uses). *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 28(2), 82-90. doi: 10.22302/iccricri.jur.pelitaperkebunan.v28i2.201.
- Bala, M. (2015). Evaluation of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) genotypes for morphological traits. *Journal of Horticultural Science*, 10(2), 242-244.
- Bhagya, N., Chandrashekar, K. R., Karun, A., & Bhavyashree, U. (2013). Plantlet regeneration through indirect shoot organogenesis and somatic embryogenesis in *Justicia gendarussa* Burm. f., a medicinal plant. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22(4), 474-482. doi: 10.1007/s13562-012-0177-3.
- Choi, K. T., Kim, J. H., Cho, H. T., Lim, S. S., Kwak, S. S., & Kim, Y. J. (2016). Dermatologic evaluation of cosmetic formulations containing *Chrysanthemum indicum* extract. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 15(2), 162-168. doi: 10.1111/jocd.12211.
- Gawade, N. V., Varu, D. K., & Devdhara, U. (2019). Response of biostimulants and biofertilizers on yield and quality of *Chrysanthemum* cv. ratlam selection. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(09), 2732-2742. doi: 10.20546/ijcmas.2019.809.314.
- Harahap, F., Poerwanto, R., Suharsono., Suriani, C., & Rahayu, S. (2014). In Vitro growth and rooting of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) on medium with different concentrations of plant growth regulator. *Hayati Journal of Biosciences*, 21(4), 151-158. doi: 10.4308/hjb.21.4.151.
- Harijati, N., Chaririyah, N., Kartika, S. D., & Handayani, R. (July, 24-25 2009). *Morfologi kristal kalsium oksalat pada Amorphophallus campanulatus*. Paper presented at the Seminar Nasional Biologi XX an Kongres PBI XIV UIN Maliki Malang, Indonesia. Diakses dari [https://www.researchgate.net/publication/290306175\\_Morfologi\\_kristal\\_kalsium\\_oksalat\\_pada\\_Amorphophallus\\_campanulatus](https://www.researchgate.net/publication/290306175_Morfologi_kristal_kalsium_oksalat_pada_Amorphophallus_campanulatus)
- Imtiaz, M., Abdul, M. K., Khan, M. A., Fazal, J., Sayed, H., Fazal, S., & Hong, B. (2019). Rapid in-vitro propagation of chrysanthemum morifolium through shoot bud explants. *Pakistan Journal Botany*, 51(3), 1093-1098. doi: 10.30848/PJB2019-3(11).
- Jahan, M. T., Islam, M. R., Islam, S. A. M. S., Das, P., Islam, M. D. M., Kabir, M. H., & Mamun, A. N. K. (2021). Clonal propagation of *Chrysanthemum morifolium* ramat using various explants obtained from field grown plants. *GSC Journal*. 16(2), 087-093.
- Kim, Y. G., Okello, D., Yang, S., Komakech, R., Rahmat, E., & Kang, Y. (2021). Histological assessment of regenerating plants at callus, shoot organogenesis and plantlet stages during the in vitro micropropagation of *Asparagus cochinchinensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 144(2), 421-433. doi: 10.1007/s11240-020-01967-3.
- Lutfiani, I., Ani, L., & Nurcahyo W. S. S. (2022). Pengaruh pemberian konsentrasi naa dan bap terhadap multiplikasi tunas tanaman tebu. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 57(7), 49-57.
- Mahadi, I. (2016). Pengaruh pemberian hormon naftalen acetly acyd ( naa ) dan ( l . ) merr . ) cv .

- queen effect of naftalen acetyl acyd ( naa ) and kinetin hormones on tissue culture of Bogor pineapple (*Ananas comosus* ( L .) Merr .) cv. Queen. *Bio-Site*, 02(2), 27-31.
- Maryani, Y., & Zamroni. (2005). Pengadaan tunas krisan melalui kultur jaringan. *Ilmu Pertanian*. 12(1), 51-55.
- Nurmalinda., & Hayati, N. Q. (2014). Preferensi konsumen terhadap krisan bunga potong dan pot. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 24(4), 363-372.
- Ordás, R. J., Fernandez, B., & Rodriques, R. (1992). Benzyladenin controlled protein synthesis and growth in apple cell suspension. *Physiologia Plantarum*, 84(2), 2290235.
- Pant, M., Lal, A., & Jain, R. (2015). A simple cost effective method for mass propagation of *Chrysanthemum morifolium* and antibacterial activity assessment of in vitro raised plantlets. *Journal of Applied pharmaceutical Science*. 5(07), 103-111. doi: 10.7324/JAPS.2015.50716.
- Praseptiana, C., Darmanti, S., & Prihastanti, E. (2017). Multiplikasi tunas tebu (*Saccharum officinarum* L var . bululawang) dengan perlakuan konsentrasi bap dan kinetin secara in vitro. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 2(2), 1-8.
- Rodinah., Razie, F., Naemah, D., & Fitriani, A. (2016). Respon bahan sterilan pada eksplan jelutung rawa nse sterilan on eksplan jelutung rawa (*Dyrra lowii* ). *Jurnal Hutan Tropis*, 4(3), 240-245.
- Sagai, E., Doodoh, B., & Kojoh, D. (2016). Pengaruh zat pengatur tumbuh bap terhadap induksi dan multiplikasi tunas brokoli. *Sam Ratulangi University*, 7(6), 1-10.
- Trettel, J. R., Nascimento, A. B., Barbosa, L. N., & Magalhães, H. M. (2019). In vitro organogenesis and growth of *Ocimum basilicum* “Genovese” (basil) cultivated with growth regulators. *Australian Journal of Crop Science*, 13(7), 1131-1140. doi: 10.21475/ajcs.19.13.07.p1649.
- Wulandari, A. S., Erina. S., & Agustini. E. L. (2017). Respon pertumbuhan tunas saninten (*Castanopsiis argentea* Blume) terhadap pemberian zat pengatur tumbuh bap dan iaa secara in vitro. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 08(3), 208-214.