

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, dan *Browning*

Pada kegiatan kultur *in vitro*, salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan pertumbuhan tanaman adalah bahan tanam yang digunakan. Penggunaan eksplan yang bersifat meristematik umumnya memberikan keberhasilan pembentukan organ tanaman yang lebih tinggi. Umur fisiologi, ukuran eksplan, serta bagian tanaman yang diambil merupakan hal yang harus dipertimbangkan dalam memilih eksplan yang akan digunakan sebagai bahan awal kultur. Bahan tanam atau eksplan yang dikulturkan memiliki jaringan yang aktif membelah diri, mempunyai daya regenerasi yang tinggi dan relatif bersih. Kondisi eksplan yang digunakan harus sehat dan steril. Evans *et al.* 2003) menyatakan bahwa kultur *in vitro* merupakan suatu teknik budidaya sel, jaringan, ataupun organ dari suatu tanaman di bawah kondisi aseptik atau bebas dari segala mikroorganisme dan di dalam lingkungan yang terkontrol sehingga bagian tanaman dapat beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap.

Untuk menghindari terjadinya kontaminasi yang akan menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman, eksplan terlebih dahulu harus disterilisasi menggunakan bahan sterilan sesuai dengan kebutuhan eksplan. Penggunaan bahan sterilan sangat berperan penting dalam kultur *in vitro* untuk meminimalisir terjadinya kemunculan jenis kontaminasi berupa jamur dan bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman krisan. Hasil pengamatan eksplan krisan, persentase eksplan hidup, kontaminasi, dan *browning* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Pengaruh Penambahan Kulit Pisang Ambon pada Media Pupuk Daun dan Air Kelapa terhadap Persentase Eksplan Hidup, Kontaminasi, dan *Browning* pada Tanaman Krisan *in vitro*. **PD**, media pupuk daun tanpa penambahan kulit pisang; **MS**, media MS dengan penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 1 ppm.

Perlakuan	Persentase (%)		
	Hidup	Kontaminasi	<i>Browning</i>
<b>Kulit Dalam (g/l)</b>			
KD50	100	0	0
KD100	100	0	0
<b>Kulit Luar (g/l)</b>			
KL50	100	0	0
KL100	88,89	11,11	0
<b>Kulit Gabungan (g/l)</b>			
KG50	100	0	0
KG100	100	0	0
<b>Kontrol</b>			
PD	100	0	0
MS	100	0	0
<b>Rata-Rata</b>	98,61	1,39	0

### 1. Persentase Eksplan Hidup

Eksplan merupakan bagian tanaman yang harus dijaga kesterilannya karena hal tersebut merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan pertumbuhan kultur *in vitro*. Hasil analisis menunjukkan bahwa rerata persentase eksplan hidup tanaman krisan sebesar 98.6%. Beberapa faktor yang berperan dalam keberlangsungan hidup eksplan diantaranya faktor internal dan eksternal.

Persentase eksplan hidup yang tinggi hingga periode terakhir setelah tanam menunjukkan bahwa eksplan memiliki daya hidup yang tinggi dengan metode perbanyakan yang digunakan. Berdasarkan data persentase eksplan hidup, diduga bahwa eksplan yang ditumbuhkan pada media perlakuan memiliki kemampuan untuk melakukan metabolisme secara terus-menerus sehingga eksplan dapat bertahan hidup. Faktor lain yang diduga mempengaruhi keberhasilan hidup eksplan diantaranya karena eksplan yang digunakan bersifat steril sehingga dapat meminimalisir atau menghindari terjadinya kontaminasi berupa jamur, bakteri dan mikroorganisme lainnya.

Proses pemotongan eksplan pada tahap inokulasi dilakukan dalam larutan betadine. Betadine diduga mampu memberikan efek antimikroba sehingga eksplan bersifat steril. Marlina (2011) melaporkan bahwa betadine mengandung zat aktif berupa *iodine povidone* yang memiliki kemampuan untuk mematikan semua patogen utama dan sporanya yang sulit diatasi oleh disinfektan dan antiseptik lain. Kemudian eksplan yang digunakan merupakan jaringan meristem sehingga lebih mudah untuk menyusun sel-sel baru. Handika (2013) menyatakan bahwa jaringan meristem merupakan jaringan muda yang terdiri dari sekelompok sel-sel yang aktif membelah karena sel yang menyusun jaringan ini berukuran kecil dan berbentuk kubus, memiliki dinding sel yang tipis, nukleus yang relatif besar, vakuola berukuran kecil, dan mengandung sitoplasma.

Selain dari faktor internal, faktor eksternal berupa kemampuan media juga berpengaruh dimana media dapat memberikan interaksi positif terhadap

kemampuan hidup eksplan. Pada perlakuan dengan penambahan kulit pisang menunjukkan rerata persentase yang tinggi. Hal ini diduga bahwa kandungan tannin dan flavonoid pada kulit pisang Ambon dipertimbangkan sebagai antimikroba dalam mengatasi sumber kontaminan sehingga eksplan terhindar dari sumber kontaminan yang dapat menimbulkan kerugian. Menurut penelitian Noorhamdani *et al.* (2012) kulit pisang Ambon mengandung tannin dan flavonoid (isoflavon) yang berpotensi sebagai antimikroba. Mekanisme dari flavonoid adalah dengan menghambat sintesis protein, adhesi, enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase*, menurunkan kekentalan membran dan dapat menghambat proses metabolisme.

Kemudian keadaan dan kondisi alat yang digunakan dalam kegiatan multiplikasi tunas krisan yang telah steril sehingga tanaman dapat tetap bertahan hidup dan tidak menimbulkan kematian pada jaringan tanaman. Menurut Nursalam dan Kurniawati (2007) dalam kegiatan kultur *in vitro* perlu diperhatikan bahwa penggunaan alat dan bahan harus dalam kondisi steril dengan melakukan proses sterilisasi dengan metode tertentu yang berfungsi untuk menghindari terjadinya dampak merugikan berupa serangan mikroorganisme.

## **2. Persentase Eksplan Kontaminasi**

Kontaminasi merupakan kerusakan jaringan tanaman yang diakibatkan oleh sumber kontaminan berupa mikroorganisme yang dapat menyebabkan kegagalan dalam pertumbuhan eksplan. Gunawan (1987) menyatakan bahwa

kontaminasi merupakan faktor pembatas dalam keberhasilan kultur *in vitro* yang berasal dari bahan tanaman baik internal maupun eksternal, organisme kecil yang masuk ke dalam media, botol kultur dan peralatan inokulasi yang kurang steril, lingkungan kerja dan ruang kultur dan kecerobohan dalam pelaksanaan. Kontaminasi dapat terjadi pada media ataupun eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro*. Proses terkontaminasinya eksplan atau media kemungkinan disebabkan akibat proses sterilisasi yang kurang sempurna pada saat proses inokulasi eksplan.

Berdasarkan hasil persentase kontaminasi pada eksplan tunas krisan menunjukkan bahwa perlakuan KL100 memberikan kontaminasi sebesar 11.11%. Munculnya sumber kontaminan eksternal berupa cendawan ditunjukkan pada minggu pertama setelah tanam. Hal ini diduga sumber kontaminan berasal dari media pertumbuhan eksplan krisan. Jenis kontaminan mulai tumbuh di bagian pinggir media yang dekat dengan bagian dalam botol kemudian bertambah volume seiring bertambahnya waktu dan menyerang eksplan krisan. Semakin lama periode subkultur maka akumulasi nutrisi pada eksplan tinggi sehingga cendawan akan tumbuh lebih cepat. Oleh karena itu, besar kemungkinan bahwa kontaminasi terjadi karena media yang digunakan. Diduga bahwa cendawan yang tumbuh merupakan mikroorganisme yang berpindah dari lingkungan luar ke dalam botol ketika proses sterilisasi atau inokulasi. Kontaminan ini juga diduga muncul akibat penggunaan botol dan alat inokulasi kurang steril.

Pada media yang terkontaminasi cendawan terdapat jamur berwarna putih keabuan yang terus. Pertumbuhan cendawan pada media akan menyebabkan kematian pada eksplan. Pierik (1997) menyatakan bahwa apabila eksplan yang kurang steril ditanam pada suatu media tumbuh maka mikroorganisme dapat tumbuh secara cepat dalam waktu yang singkat sehingga akan menutupi permukaan media tumbuh eksplan yang ditanam. Kontaminasi ini dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu kontaminasi cendawan dan bakteri. Jenis kontaminasi cendawan ditunjukkan dengan ciri-ciri fisik yaitu muncul hifa cendawan pada eksplan dan dicirikan dengan adanya garis-garis seperti benang yang berwarna putih, merah muda, sampai abu-abu. Sedangkan kontaminasi oleh bakteri ditandai dengan eksplan akan basah dan menyebabkan munculnya lendir.

### **3. Persentase Eksplan *Browning***

*Browning* merupakan proses pencoklatan pada suatu organ tanaman yang disebabkan oleh proses oksidasi. *Browning* dapat terjadi apabila kandungan senyawa fenolik pada tanaman tinggi dan tanaman mengalami proses oksidasi yang disebabkan oleh enzim polifenol oksidase. Marlin *et al.* (2012) menyatakan bahwa sintesis senyawa fenolik yang berasal dari tanaman yang mengalami pelukaan akan terakumulasi dalam media akan menyebabkan penghambatan penyerapan unsur hara oleh eksplan, bahkan dapat menyebabkan kematian eksplan.

Berdasarkan hasil analisis, rerata persentase *browning* pada eksplan tunas krisan menunjukkan tidak adanya proses pencoklatan pada bagian eksplan. Hal ini diduga karena proses sterilisasi dan proses pemotongan eksplan sudah dilakukan dengan baik dan benar. Proses sterilisasi pada eksplan krisan dilakukan dalam larutan betadine. Penggunaan betadine pada tahap inokulasi diduga memberikan efek anti *browning* sehingga senyawa fenolik yang terkandung dalam jaringan eksplan dapat tereduksi sehingga mampu mengurangi resiko terjadinya pencoklaan pada saat pertumbuhan eksplan selama dalam kultur.

Selain itu, penggunaan eksplan sangat berpengaruh pada keberhasilan hidup eksplan. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini yaitu eksplan tunas muda krisan yang merupakan jaringan meristem. Jaringan meristem merupakan bagian tanaman yang memiliki jaringan yang masih muda yang mengandung senyawa fenol dalam jumlah yang relatif masih sedikit. Fenol yang sedikit pada suatu jaringan tanaman dapat meminimalisir terjadinya proses oksidasi yang diakibatkan oleh enzim fenol oksidase sehingga tidak terjadi proses pencoklatan pada eksplan. Penggunaan eksplan muda krisan dapat mengurangi kemungkinan *browning* pada eksplan, karena jaringan tanaman muda memiliki kandungan fenol yang lebih rendah dibandingkan jaringan tanaman yang sudah tua.

Senyawa fenolik adalah zat yang dapat menyebabkan proses oksidasi yang akan menyebabkan eksplan mengalami pencoklatan (*browning*). Sehingga apabila menggunakan eksplan daun muda dapat mengurangi proses

terjadinya *browning* yang diakibatkan oleh proses oksidasi. Pencoklatan (*browning*) adalah suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang sering menghambat pertumbuhan eksplan. Peristiwa ini sesungguhnya merupakan peristiwa alamiah yang sering terjadi. Pencoklatan umumnya merupakan suatu tanda-tanda kemunduran fisiologi yang berakhir pada kematian eksplan. Pencoklatan ini diduga terjadi akibat terlambatnya proses subkultur atau dapat juga disebabkan oleh terlalu lamanya kontak eksplan dengan udara luar ketika akan disubkultur. *Browning* dapat terjadi pada eksplan karena memiliki kandungan senyawa fenolik apabila teroksidasi dengan O<sub>2</sub> akan membentuk senyawa quinon (Benyamin, 1993). *Browning* dipicu oleh reaksi oksidasi senyawa fenol menjadi quinon dan kemudian dipolimerasi menjadi pigmen melaniadin yang berwarna coklat, dimana proses ini dikatalisis oleh enzim fenol oksidase atau polifenol oksidase (Mardiah, 1996).

Watson *et al.* (1998) mengatakan apabila sel-sel dilukai maka sel-sel baru cenderung tumbuh menutupi lukanya dan seiring berjalannya waktu, senyawa fenol akan tertimbun dalam sel-sel ini dan mengeraskan serta menutup lukanya secara efektif. Tabiyeh *et al.* (2006) mengemukakan bahwa pencoklatan dalam kultur *in vitro* disebabkan karena meningkatnya produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi oleh aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO) dan polimerasinya. Fenilalanin amonia liase (PAL) adalah salah satu enzim dalam fenilpropanoid yang sangat berpengaruh terhadap terjadinya pencoklatan.

## B. Pertumbuhan Tanaman

Eksplan yang digunakan dalam perbanyakan tanaman krisan sangat berpengaruh kualitas tanaman yang dihasilkan selama proses kultur *in vitro*. Penggunaan eksplan pada penelitian ini menggunakan eksplan tunas muda dengan harapan dapat memberikan pertumbuhan yang lebih baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Deberch dan Read (1993) yang melaporkan bahwa tipe dan jenis eksplan sebagai bahan awal yang digunakan untuk kegiatan kultur akan memiliki respon yang berbeda satu sama lain.

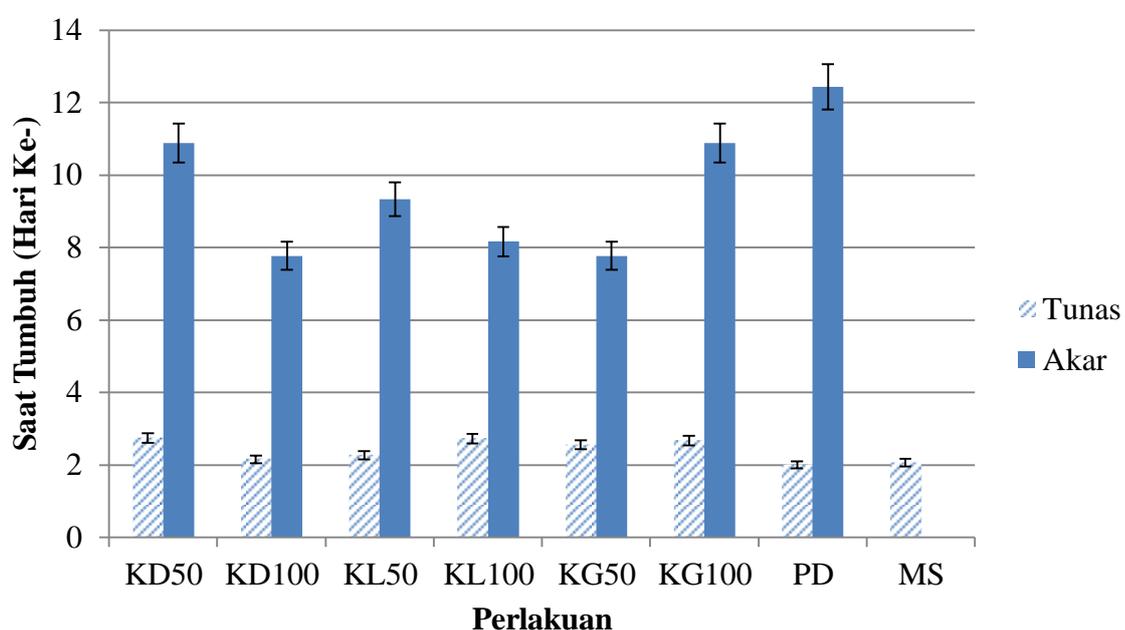
Tabel 2. Pengaruh Penambahan Kulit Pisang Ambon pada Media Pupuk Daun dan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Tanaman Krisan Minggu Ke-8 Setelah Tanam. **PD**, media pupuk daun tanpa penambahan kulit pisang; **MS**, media MS dengan penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 1 ppm.

Perlakuan	Saat Tumbuh (Hari Ke-)		Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun (helai)	Jumlah Tunas (tunas)	Warna Daun Akhir
	Tunas	Akar				
<b>Kulit Dalam (g/l)</b>						
KD50	2,74 <sup>a</sup>	10,89 <sup>ab</sup>	4,31 <sup>ab</sup>	9,11 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	5 GY 4/6
KD100	2,16 <sup>a</sup>	7,78 <sup>b</sup>	2,92 <sup>cd</sup>	7,56 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	5 GY 5/8
<b>Kulit Luar (g/l)</b>						
KL50	2,28 <sup>a</sup>	9,33 <sup>ab</sup>	3,13 <sup>bcd</sup>	7,56 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>	5 GY 4/6
KL100	2,73 <sup>a</sup>	8,17 <sup>ab</sup>	2,38 <sup>d</sup>	4,44 <sup>a</sup>	1,48 <sup>a</sup>	5 GY 7/8
<b>Kulit Gabungan (g/l)</b>						
KG50	2,56 <sup>a</sup>	7,78 <sup>b</sup>	4,39 <sup>a</sup>	7,67 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	5 GY 5/8
KG100	2,67 <sup>a</sup>	10,89 <sup>ab</sup>	3,27 <sup>abcd</sup>	7,56 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	5 GY 5/6
<b>Kontrol</b>						
PD	2,01 <sup>a</sup>	12,44 <sup>a</sup>	3,63 <sup>abc</sup>	8,33 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	5 GY 5/6
MS	2,28 <sup>a</sup>	0,00 <sup>c</sup>	1,24 <sup>e</sup>	4,44 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	5 GY 6/8

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

### 1. Saat Tumbuh Tunas dan Saat Tumbuh Akar (Hari Ke-)

Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 8a) menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang pada media pupuk daun dan air kelapa memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap saat muncul tunas. Grafik kecepatan pertumbuhan tunas dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Histogram Saat Tumbuh Tunas dan Saat Tumbuh Akar pada Tanaman Krisan pada Berbagai Penambahan Kulit Pisang pada Medium. **KD**, media dengan penambahan kulit dalam; **KL**, media dengan penambahan kulit luar; **KG**, media dengan penambahan kulit gabungan; **PD**, media dengan pupuk daun tanpa penambahan kulit pisang; **MS**, media MS dengan penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 1 ppm.

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan eksplan pada beberapa perlakuan memberikan kecepatan pertumbuhan tanaman yang berbeda-beda. Berdasarkan histogram pada Gambar 2 menunjukkan bahwa tunas tanaman krisan mengalami pertumbuhan lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan akar. Hal ini diduga

bahwa ketersediaan sitokinin pada media cenderung lebih banyak sehingga dapat memberikan pertumbuhan tunas yang lebih cepat dibandingkan dengan auksin yang memiliki kadar yang lebih rendah sehingga memberikan pertumbuhan akar yang cenderung lebih lama. Pertumbuhan tunas yang cenderung lebih cepat terjadi pada media tanpa penambahan kulit pisang (PD) yaitu 2,01 HST. Sementara perlakuan KD50 memberikan pertumbuhan yang cenderung paling lama yaitu 2,74 HST. Pertumbuhan tunas tanaman krisan dapat dilihat pada gambar 3 yang menunjukkan bahwa tunas pada berbagai media perlakuan mengalami pertumbuhan dan perkembangan seiring bertambahnya waktu dimana tunas krisan mengalami pembesaran selama periode subkultur. Hal ini diduga bahwa adanya pengaruh unsur hara makro dan mikro serta kandungan pada media yang berpotensi untuk mendukung pertumbuhan tunas tanaman krisan.

Kecepatan pertumbuhan tunas krisan oleh media pupuk daun dengan penambahan air kelapa diduga karena perlakuan media tanpa penambahan kulit pisang dengan konsentrasi yang paling rendah telah mampu memberikan pertumbuhan tunas. Kandungan auksin alami pada air kelapa dapat mendukung permeabilitas masuknya air ke dalam sel, meningkatkan penyerapan unsur N, Mg, Fe, Cu serta dapat meningkatkan tekanan osmotik yang menyebabkan berkurangnya tekanan pada dinding sel, menaikkan sintesis protein, dan meningkatkan sintesis protein serta mengembangkan dinding sel. Selain auksin, zat pengatur tumbuh berupa sitokinin alami yang terdapat pada air kelapa juga dapat membantu jaringan meristem dalam pembentukan tunas. Selain itu, sitokinin berperan mengatur pembelahan sel, pembentukan dan pembesaran organ

tanaman (Harjadi, 2009). Media perlakuan dengan penambahan kulit pisang menunjukkan kecepatan pertumbuhan tunas yang cenderung lebih lambat dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa konsentrasi ZPT auksin dan sitokinin pada kulit pisang dan air kelapa yang ditambahkan pada media belum mampu diserap oleh eksplan secara optimal sehingga eksplan tidak mampu untuk memenuhi kebutuhannya dalam melakukan metabolisme. Apabila terjadi hal seperti itu, maka penambahan zpt eksogen ini dapat memperlambat pertumbuhan tunas. Akan tetapi, lambatnya kemunculan tunas dapat disebabkan oleh tingginya konsentrasi zpt pada media dengan adanya penambahan kulit pisang. Selain itu, kecepatan dan kualitas pada pertumbuhan tunas diduga akan menurun karena distribusi karbohidrat yang tidak merata, sehingga kecepatan pertumbuhan semakin rendah. Pada proses multiplikasi eksplan melibatkan faktor-faktor abiotik yang dapat mendukung pertumbuhan yaitu komposisi media dan faktor abiotik diantaranya suhu dan cahaya inkubasi (Yusnita, 2003). Faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ tanaman digolongkan menjadi empat, diantaranya genotip sumber bahan tanaman yang digunakan, media yang mencakup komponen penyusunnya, lingkungan pertumbuhan atau tempat kegiatan kultur, dan fisiologi jaringan tanaman (Wattimena *et al.*, 1991). Pertumbuhan tunas pada penelitian ini menunjukkan pertumbuhan tunas yang lebih cepat dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Irawati *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas paling cepat yaitu 14,75 hari setelah tanam pada medium  $\frac{1}{2}$  MS.

Gambar 2. Pertumbuhan Tunas Tanaman Krisan Pada Berbagai Perlakuan Pada 1 MST dan 8 MST

Perlakuan	1 MST	8 MST	Perlakuan	1 MST	8 MST
Kulit Dalam 50 g/l (KD50)			Kulit Gabungan 50 g/l (KG50)		
Kulit Dalam 100 g/l (KD100)			Kulit Gabungan 100 g/l (KG100)		
Kulit Luar 50 g/l (KL50)			Tanpa Penambahan Kulit Pisang (PD)		
Kulit Luar 100 g/l (KL100)			MS + NAA 0,5 ppm + BAP 1 ppm (MS)		

Pada parameter saat tumbuh akar, hasil sidik ragam (Lampiran 8e) menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang pada media pupuk daun dan air kelapa memberikan pengaruh yang signifikan terhadap saat muncul akar. Hasil pengamatan yang dapat dilihat pada Gambar 3 menunjukkan pertumbuhan akar pada berbagai media perlakuan. Pertumbuhan akar menunjukkan bahwa akar terbentuk paling cepat pada perlakuan KD100 dan KG50 yaitu rerata 7,78 hari setelah tanam. Sedangkan perlakuan tanpa penambahan kulit pisang menunjukkan pertumbuhan akar terlama yaitu 12,44 hari setelah tanam. Serta perlakuan MS yang tidak memberikan pertumbuhan.

Perlakuan media pertumbuhan yang digunakan pada proses kultur *in vitro* adalah media dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Kesesuaian dan ketepatan pemilihan jenis dan imbalan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan pada akan mempengaruhi keberhasilan pembentukan akar pada eksplan yang digunakan pada saat melakukan penanaman.

Pertumbuhan akar dapat berjalan dengan baik apabila didukung oleh media tumbuh yang dapat memenuhi kebutuhan akar. Prihatin (1999) menyatakan bahwa akar dapat tumbuh secara baik dan normal ketika sebagian besar pori media lebih besar daripada diameter akar atau kekuatan tumbuh akar lebih besar daripada kekuatan media. Jika aerasi pada media baik maka akar tanaman akan tumbuh dan berkembang dengan baik pula. Pada penelitian ini, pertumbuhan akar diduga dipengaruhi oleh bahan organik kulit pisang dikarenakan oleh kandungan gizinya yang berupa fosfor yang diduga dapat menumbuhkan akar. Pertumbuhan akar tanaman krisan mulai terbentuk setelah umur 1 minggu setelah tanam.

Ketersediaan unsur nitrogen dalam media tanaman eksplan krisan sangat berperan penting dalam mempengaruhi serapan tanaman terhadap nitrogen. Media yang mengandung nitrogen maka pertumbuhan dan perkembangan akar akan meningkat sehingga tanaman memiliki kemampuan untuk menyerap unsur fosfor secara lebih efektif. Wanget *et al.*, (2007) melaporkan bahwa unsur nitrogen adalah penyusun utama enzim fosfat yang berperan dalam proses mineralisasi fosfor dalam media.

Akar berperan dalam menyerap unsur hara yang tersedia pada media tumbuh sehingga seiring bertambahnya waktu, akar akan melingkar pada dasar botol. Seperti yang dinyatakan oleh Trigiano dan Gray (2005) bahwa penambahan fosfor pada media tumbuh dapat memberikan respon yang baik dalam proses terbentuknya akar tanaman krisan. Kandungan lain pada kulit pisang berupa karbohidrat berguna dalam proses metabolisme dan biosintesis hormon secara endogen seperti auksin, sitokinin, dan giberelin. Sehingga kandungan auksin pada kulit pisang dapat membantu dalam proses pembentukan akar. Pada pertumbuhan akar krisan ini juga dipengaruhi oleh adanya penambahan pupuk daun yang diduga cukup merangsang pertumbuhan akar.

Perlakuan media yang ditambahkan air kelapa juga diduga memiliki peran penting dalam perumbuhan akar planlet krisan. Dalam hal ini, air kelapa berperan sebagai ZPT yang mengandung auksin dan thiamin sehingga dapat merangsang pertumbuhan akar. Widiastoety dan Santi (1993) menyatakan bahwa fungsi thiamin adalah untuk mempercepat proses pembelahan sel pada meristem akar.

Hal ini diduga bahwa adanya kandungan thiamin pada air kelapa merupakan salah satu penyebab bertambahnya panjang dan jumlah akar pada planlet krisan.

Sementara itu, perlakuan yang memberikan pertumbuhan akar terendah ditunjukkan oleh media MS. Perlakuan ini tidak menunjukkan adanya pembentukan akar hingga akhir pengamatan. Hal ini diduga karena unsur zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media tidak dapat mencukupi kebutuhan akar pada eksplan krisan. Menumbuhkan akar berarti menginduksi dari bagian tanaman tertentu yang dirangsang secara hormonal. Proses subkultur ke media pengakaran memiliki tujuan untuk mengetahui mampu atau tidaknya eksplan membentuk akar. Eksplan yang berada terlalu lama berada pada media dengan akumulasi sitokinin yang relatif lebih tinggi diduga akan mengalami kesulitan dalam membentuk akar. Wetherell (1982) melaporkan bahwa komposisi hormon dalam media biasanya harus diubah untuk merangsang pertumbuhan akar. Dalam hal ini memungkinkan untuk mengurangi konsentrasi hormon sitokinin sedangkan auksin dapat berperan penting sebagai inisiator pertumbuhan akar. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Purba (2017) yang menunjukkan bahwa pertumbuhan akar pada media MS dapat memberikan pertumbuhan akar pada tanaman krisan.

Morfologi akar yang terbentuk di tahap awal inisiasi yaitu berwarna putih kecoklatan dan memiliki rambut akar halus yang berwarna putih. Selain itu, eksudat akar yang berwarna hitam juga terbentuk dan menjadikan akar berwarna kehitaman. Oleh karena itu, pada parameter ini memungkinkan bahwa ketidakmampuan penggunaan ZPT yang digunakan khususnya padaimbangan

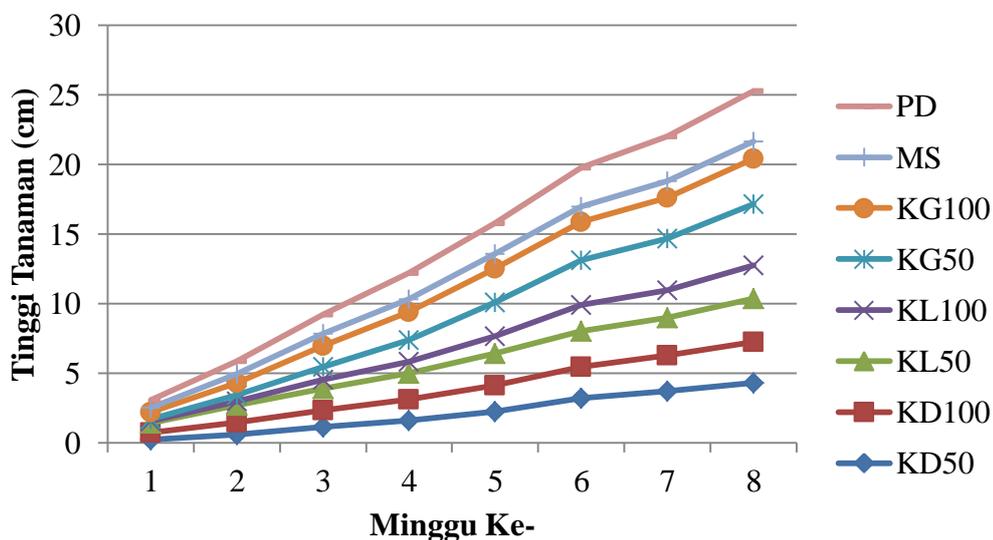
konsentrasi NAA dan BAP ke dalam media belum bisa memberikan pertumbuhan akar.

## **2. Tinggi Tanaman**

Tinggi tanaman merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan vegetatif tanaman. Proses pertumbuhan tersebut tentunya dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya lingkungan, genetika tanaman, dan fisiologis. Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 8b) menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap tinggi tanaman pada multiplikasi krisan. Hal ini berarti bahwa penambahan kulit pisang dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap pertumbuhan tinggi tanaman krisan. Hasil analisis dari pertumbuhan tinggi tanaman dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil pengamatan multiplikasi krisan dengan menggunakan kulit pisang terhadap tinggi tanaman krisan menunjukkan bahwa perlakuan pupuk daun KG50 memberikan pertumbuhan tinggi tanaman tertinggi, tetapi tidak berbeda nyata dengan KD50, KG100 dan PD. Sementara pertumbuhan tanaman terendah ditunjukkan oleh perlakuan MS. Meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan kulit pisang dalam 50 g/l, kulit gabungan 100 g/l dan tanpa penambahan kulit pisang, perlakuan penambahan kulit pisang gabungan sebanyak 50 g/l dapat memberikan pertumbuhan yang cenderung tinggi terhadap tinggi tanaman. Hal ini Respon pertumbuhan tinggi tanaman tertinggi diduga karena penambahan berupa kulit pisang yang ditambahkan pada media tumbuh

mengandung nutrisi tersedia yang dibutuhkan oleh eksplan untuk melakukan metabolisme sehingga kebutuhannya dapat tercukupi. Kulit pisang mengandung karbohidrat, vitamin C, vitamin B, kalsium, dan protein.



Gambar 3. Grafik Laju Pertumbuhan Tinggi Tanaman Krisan Selama 8 Minggu. **KD**, media dengan penambahan kulit dalam; **KL**, media dengan penambahan kulit luar; **KG**, media dengan penambahan kulit gabungan; **PD**, media pupuk daun tanpa penambahan kulit pisang; **MS**, media MS dengan penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 1 ppm.

Berdasarkan grafik laju pertumbuhan tinggi tanaman krisan (Gambar 4) menunjukkan bahwa tanaman krisan memberikan pertumbuhan selama selama 8 minggu setelah tanam. Tanaman krisan yang dikulturkan cenderung mengalami laju peningkatan yang cenderung sama pada berbagai perlakuan media dengan penambahan dan tanpa kulit pisang. Menurut Staba (1982) kandungan karbohidrat pada kulit pisang sebanyak 18,50% dapat berperan sebagai sumber energi utama yang cukup tinggi dalam pertumbuhan tinggi tanaman krisan pada fase vegetatif karena sebagian besar karbohidrat akan digunakan oleh tanaman

untuk pertumbuhan dan perkembangan daun, batang dan akar. Karbohidrat tidak hanya berfungsi sebagai sumber karbon dalam proses metabolisme. Akan tetapi juga berperan penting dalam regulasi potensi osmotik eksternal. Serta kandungan asam amino seperti anilin, asam glutamat, glutamin dapat merangsang pertumbuhan eksplan. Selain itu, kandungan fosfor dan besi merupakan kandungan hara yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk pertumbuhannya. Fosfor pada bahan organik kulit pisang berfungsi dalam penyimpanan dan transfer energi melalui pembentukan senyawa adenosine diphosphate (ADP) dan adenosine triphosphate (ATP). Sementara itu, unsur kalium berperan penting dalam mempertahankan turgor tanaman dan mempertahankan potensial osmotik sel (Okorie *et al.*, 2015). Penggunaan pupuk daun pada media juga memiliki peran yang sangat penting terhadap pertumbuhan eksplan. Unsur hara makro dan mikro yang terkandung pada pupuk daun akan merangsang berbagai hormon pertumbuhan pada masa pertumbuhan vegetatif. Ketersediaan makronutrien utama pada pupuk daun berupa N, P dan K dapat memenuhi kebutuhan tanaman muda yang masih aktif menyusun sel baru. Unsur nitrogen sangat diperlukan oleh tanaman terutama untuk pembentukan asam amino dan protein serta pembentukan asam nukleat yang merupakan bahan penyusun sel dan dinding sel. Sedangkan unsur kalium pada pupuk daun dibutuhkan oleh tanaman sebagai aktivator berbagai macam enzim di dalam jaringan meristematik. Oleh karena itu, pemberian unsur hara ke dalam media tumbuh diduga dapat memberikan pertumbuhan secara normal pada eksplan krisan. Berdasarkan penelitian yang

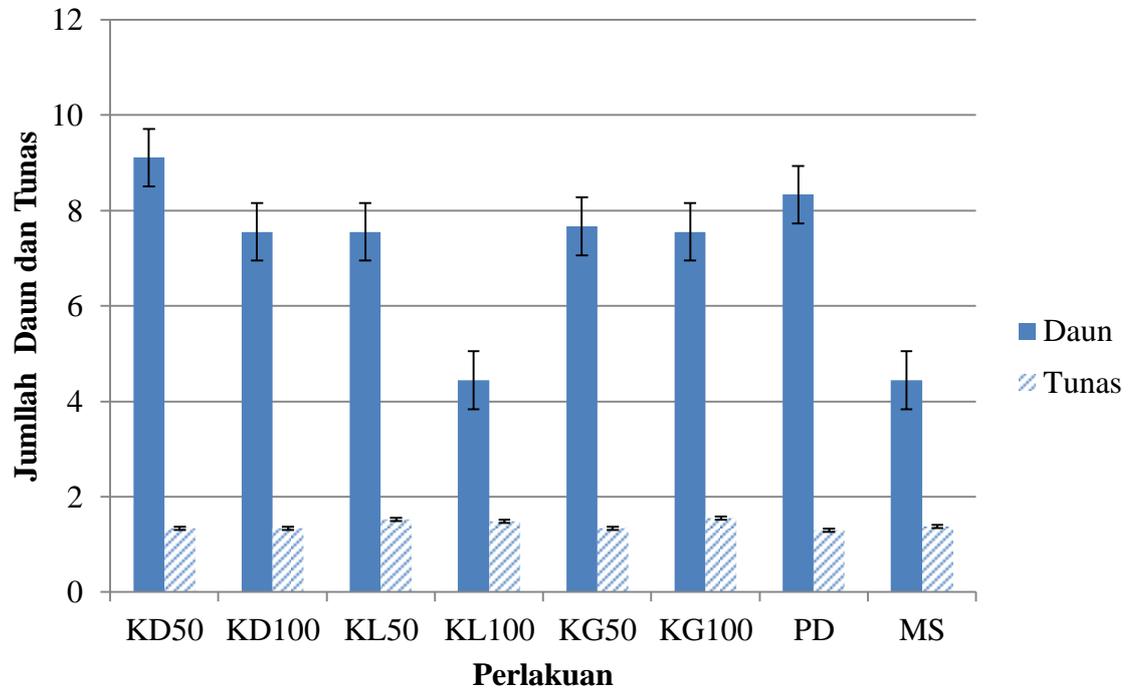
telah dilakukan oleh Waseem *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa pertumbuhan tinggi tunas krisan sebesar 4 cm pada medium MS.

Pengaruh yang diberikan oleh air kelapa juga memberikan interaksi yang baik dalam proses pertumbuhan planlet krisan. Air kelapa mengandung sitokinin dan auksin. Hormon sitokinin dapat berperan dalam merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein (Harjadi, 2009). Diantara protein tersebut dapat berperan sebagai enzim yang dibutuhkan untuk terjadinya proses mitosis sedangkan auksin yang terkandung dalam air kelapa berperan dalam pemanjangan batang sehingga dapat memberikan pertumbuhan tinggi yang optimum pada planlet krisan. Sementara itu, perlakuan MS memberikan pertumbuhan tinggi tanaman terendah. Hal ini diduga karena unsur hara makro dan mikro serta penambahan ZPT pada media belum dapat digunakan oleh eksplan sehingga kebutuhan nutrisi eksplan krisan tidak bisa terpenuhi.

### **3. Jumlah Daun**

Daun merupakan organ penting bagi tanaman yang memiliki organ yang dapat melakukan sintesis makanan untuk kebutuhan tanaman maupun sebagai cadangan makanan. Proses yang terjadi pada proses pembentukan daun adalah fotosintesis yang terjadi didalam klorofil. Semakin banyak daun yang terbentuk maka akan semakin besar proses fotosintesis serta semakin banyaknya makanan yang diproduksi. Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 8c) dan data pada tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang pada media pupuk daun dan

air kelapa tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah daun tanaman krisan.



Gambar 4. Histogram Jumlah Daun dan Tunas Tanaman Krisan Pada Minggu Ke-8 Setelah Tanam. **KD**, media dengan penambahan kulit dalam; **KL**, media dengan penambahan kulit luar; **KG**, media dengan penambahan kulit gabungan; **PD**, media pupuk daun tanpa penambahan kulit pisang; **MS**, media MS dengan penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 1 ppm.

Gambar 5 menunjukkan bahwa tanaman krisan memberikan jumlah daun yang berbeda pada setiap perlakuan. Sementara tunas krisan memiliki jumlah yang relatif sama pada semua perlakuan. Perlakuan KD50 memberikan jumlah daun yang cenderung lebih banyak yaitu 9.110 helai. Sedangkan jumlah daun yang cenderung paling rendah ditunjukkan oleh perlakuan MS yaitu 4.443 helai. Hal ini diduga bahwa penambahan bahan organik kulit pisang diketahui mampu

mendukung media dalam menyediakan unsur hara sehingga dapat diserap baik oleh tanaman.

Hasil yang menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang yang tidak berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah daun diduga karena pemberian kulit pisang dengan konsentrasi terendah dapat mengoptimalkan kandungan unsur hara dalam media sehingga nutrisi untuk perkembangan daun pada eksplan krisan dapat terpenuhi. Jumlah daun planlet krisan terus mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu. Hal ini dipengaruhi oleh sumber energi yang diserap oleh tanaman sehingga tanaman memiliki kemampuan untuk melakukan proses fotosintesis. Bahan organik yang digunakan berupa campuran kulit pisang dan air kelapa serta pupuk daun dapat memberikan jumlah daun yang optimum. Kulit pisang mengandung unsur hara mikro berupa potassium yang membantu proses pembentukan protein, karbohidrat dan gula. Selain itu, unsur potassium dapat membantu pengangkutan gula dari daun ke buah, dapat memperkuat jaringan tanaman serta meningkatkan daya tahan terhadap serangan penyakit. Selain itu, unsur hara yang terdapat pada bahan organik seperti N, K, Mg, dan Fe yang tersedia pada media berperan dalam keberlangsungan metabolisme untuk menghasilkan ATP. Selain itu, unsur hara Magnesium (Mg) yang sangat diperlukan oleh tanaman dalam proses fotosintesis. Menurut Sriyanti (2000) unsur Mg merupakan suatu komponen unsur hara molekul klorofil dan unsur Fe memiliki peran dalam pembentukan klorofil dan walaupun Fe bukan bagian dari molekul klorofil. Namun, Fe juga berguna dalam transfer elektron. Hal ini diduga memungkinkan dalam proses penambahan jumlah daun.

Media yang digunakan mengandung protein yang diduga berpengaruh baik perbanyakkan daun planlet krisan. Protein yang terkandung dalam bahan organik berupa nitrogen yang berperan dalam pertumbuhan vegetatif tanaman. Saifudin dalam Matatula (2003) menyatakan bahwa kandungan nitrogen yang tersedia lebih banyak daripada unsur yang lain dapat menghasilkan jumlah protein yang lebih banyak sehingga daun dapat tumbuh lebih lebat. Kandungan lainnya pada kulit pisang mengandung vitamin yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. Vitamin berfungsi untuk melakukan metabolisme karbohidrat dan biosintesis asam amino. Adanya penggunaan air kelapa dapat menambah hormon endogen bagi eksplan sehingga eksplan mampu mempercepat pertumbuhan dan perkembangan organ tanaman, salah satunya yaitu organ daun. Mukarlina *et al* (2010) menyatakan bahwa penambahan air kelapa dalam media juga mengandung beberapa elemen seperti Ca dan vitamin yang digunakan untuk merangsang pertumbuhan daun. Pada penelitian Lubis (2016) menunjukkan jumlah daun tanaman krisan yang dikulturkan pada media MS tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan jumlah daun.

#### **4. Jumlah Tunas**

Proses subkultur tunas terjadi pada semua media perlakuan. Subkultur tunas terjadi secara langsung tanpa melalui tahap pembentukan kalus. Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 8d) menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang pada media pupuk daun dan air kelapa memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap jumlah daun tanaman krisan. Pertumbuhan jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 5. Media perlakuan KG100 memberikan jumlah tunas yang

cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan yang memberikan pertumbuhan jumlah tunas yang cenderung paling rendah yaitu media MS.

Pada media perlakuan dengan penambahan kulit pisang gabungan 100 g/l menunjukkan peningkatan jumlah eksplan yang bermultiplikasi pada setiap periode subkultur. Semakin meningkatnya periode subkultur maka kandungan sitokinin yang berada di dalam eksplan akan semakin tinggi pula sehingga apabila akumulasi sitokinin tinggi maka eksplan akan dapat dirangsang untuk bermultiplikasi. Penambahan kulit pisang terhadap pertumbuhan tunas diduga karena adanya kandungan sitokinin yang relatif cukup tinggi sehingga mampu berinteraksi positif dengan sitokinin yang terkandung dalam air kelapa sehingga dapat merangsang eksplan untuk meregenerasikan tunas.

Pertumbuhan tunas didukung oleh tercukupinya energi yang tersedia di dalam media. Energi yang dibutuhkan berupa gula dalam bentuk sukrosa yang ditambahkan ke media dan gula yang terkandung pada kulit pisang dan air kelapa. Menurut Pramesyanti (1994) produk pisang Ambon mengandung kadar gula yang paling banyak diantara berbagai jenis pisang yang lain. Adanya penambahan air kelapa ke dalam media pertumbuhan eksplan krisan diduga memiliki peran yang sangat penting. Penggunaan air kelapa dapat digunakan sebagai pengganti hormon sitokinin yang pada tingkat konsentrasi tertentu dapat menginisiasi terbentuknya tunas. Pemberian air kelapa pada konsentrasi 150 ml/l merupakan konsentrasi yang cukup efektif dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tunas-tunas pada eksplan krisan. Rotinsulu *et al* (2009) melaporkan bahwa air kelapa

mengandung gula dalam bentuk sukrosa, glukosa, fruktosa, dan manitol. Hal ini diduga bahwa kemungkinan disebabkan telah tercukupinya unsur yang dibutuhkan ke dalam media sehingga memberikan efek pertumbuhan tunas. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Indriani *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa penggunaan air kelapa 100 ml dapat memberikan pengaruh yang efektif terhadap jumlah tunas yaitu 1,27 tunas.

Sementara perlakuan media MS yang menunjukkan jumlah tunas yang cenderung lebih rendah dari perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena konsentrasi ZPT berupa auksin dan sitokinin tidak mencukupi kebutuhan pertumbuhan tunas pada eksplan krisan. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media diduga kurang bekerja secara optimal dalam mendukung aktifitas tunas pembentuk bakal tanaman dibandingkan dengan media yang diberikan air kelapa sebanyak 150 ml/l. Selain itu, diduga pula bahwa eksplan krisan tidak memiliki kemampuan untuk menyerap ZPT secara maksimal sehingga tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah tunas. Pertumbuhan tunas yang lebih rendah pada eksplan juga diduga karena jumlah zpt yang ditambahkan tidak sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan tunas eksplan krisan. Arteca (1996) melaporkan bahwa keberhasilan pemberian zat pengatur tumbuh ditentukan oleh berbagai faktor dan kepekaan jaringan yang diberikan. Adapun jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk memacu pertumbuhan tunas tergantung jenis tanaman, jaringan atau organ yang digunakan, keadaan fisiologi eksplan dan kandungan zat pengatur tumbuh endogen di dalam jaringan suatu tanaman (Lestari, 2011).

## 5. Warna daun

Warna daun merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui kualitas daun. Daun yang berkualitas memiliki warna hijau karena masih mengandung klorofil (Siregar *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan kulit pisang pada media pupuk daun dan air kelapa memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap warna daun tanaman krisan. Hasil perubahan warna daun pada tanaman krisan dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan warna daun krisan pada 1 minggu setelah tanam dan 8 minggu setelah tanam. Daun tanaman krisan mengalami perubahan warna selama masa subkultur. Sebelum dilakukan multiplikasi, warna daun pada tanaman krisan berwarna hijau kekuningan (5 GY 6/8). Pada pengamatan ini, warna daun yang diperoleh adalah hijau dan hijau kekuningan. Perbedaan warna yang muncul pada daun disebabkan oleh pengaruh ZPT yang diberikan kedalam media tumbuh krisan. Daun yang berwarna hijau diperoleh pada perlakuan media pupuk daun dan air kelapa dengan penambahan dan tanpa kulit pisang. Sementara daun yang berwarna hijau kekuningan ditunjukkan oleh perlakuan media MS. Jaringan daun yang terbentuk dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda (Lutviana, 2012). Berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat bahwa warna daun yang digunakan untuk inokulasi memiliki warna hijau kekuningan. Terbentuknya warna daun pada minggu terakhir mengalami perubahan warna yang cenderung lebih hijau. Warna daun pada eksplan krisan yang dihasilkan didukung oleh tersedianya nitrogen dalam

media. Besarnya peran nitrogen dengan kadar yang cukup akan memberikan manfaat dalam pembentukan klorofil, protein, asam-asam nukleat dan protoplasma. Semua unsur tersebut memiliki kegunaan dalam pertumbuhan dan perkembangan semua jaringan hidup tanaman termasuk pertumbuhan daun dan warna daun yang dibentuk. Fatmawati (2008) daun yang berwarna hijau menunjukkan bahwa pertumbuhan daun dalam keadaan yang cukup baik dan warna daun yang berubah disebabkan oleh adanya pigmentasi dari klorofil yang digunakan dalam proses fotosintesis. Menurut Lizawati (2012) ketersediaan sukrosa dalam media dan adanya bantuan cahaya adalah salah satu unsur pembentuk klorofil. Laju fotosintesis pada pada setiap tumbuhan memiliki respon yang berbeda yang disebabkan oleh adanya keragaman cahaya, suhu dan ketersediaan air.

Tanaman yang tumbuh pada lingkungan yang memiliki sumber daya yang cukup akan memiliki kapasitas fotosintesis yang lebih tinggi daripada tanaman yang tumbuh pada lingkungan dengan keterbatasan persediaan hara, air dan cahaya (Salisbury, 1995). Warna daun yang cenderung lebih rendah diberikan oleh media MS. Hal ini diduga bahwa unsur yang terkandung dalam media tidak dapat mencukupi kebutuhan eksplan krisan. Maltatula (2003) menyatakan bahwa tanaman yang kekurangan unsur P akan memberikan warna daun yang kekuningan serta tanaman menjadi kerdil. Selain itu, warna daun yang berbeda dapat disebabkan oleh pengaruh intensitas pencahayaan dan asal eksplan. Intensitas cahaya merupakan banyaknya energi yang diterima oleh suatu tanaman per satuan luas dan per satuan waktu (kal/cm/hari). Pencahayaan pada proses

fotosintesis adalah untuk mendukung sintesis molekul makanan dalam kloroplas dengan berlangsungnya penyatuan CO<sub>2</sub> dan air untuk membentuk karbohidrat (Asadi *et al.*, 1997). Hal mengenai karakter tanaman dalam beradaptasi dengan lingkungan juga dinyatakan oleh Tjitrosoepomo (1994) yang melaporkan bahwa perbedaan warna dan karakter pertumbuhan pada setiap varietas tanaman merupakan keragaman karakter dari tanaman itu sendiri.