

**RESPON PEMBENTUKKAN KALUS EMBRIONIK TANAMAN KRISAN KULO
(*Chrysanthemum morifolium*) TERHADAP PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH
SITOKININ**

**THE RESPONSE OF THE FORMATION OF THE PLANT EMBRYONIC CALLUS OF
KRISAN KULO (*Chrysanthemum morifolium*) TO THE SUBSTANCE OF A GROWTH
REGULATOR OF CYTOKINES**

Juita S. Sinaulan, Edy F. Lengkong, Stella Tulung

Fakultas Pertanian Program Studi Agroteknologi Universitas Sam Ratulangi Manado

Email : juitasmamahit@gmail.com

ABSTRACT

Growth regulating substances are organic or inorganic compounds that play an important role in biological processes in plant tissue and one of them is embryonic callus formation and embryogenesis. This study aims to determine the effect of the administration of growth regulators cytokines at certain concentrations on the formation of embryonic callus of chrysanthemum plants. This research was conducted at the Genetics Laboratory of the Faculty of Agriculture, Sam Ratulangi University, Manado. The research was conducted for 4 (four) months, starting June 2018 to October 2018. The research method was carried out using a completely randomized design using the growth regulator from cytokinins, namely zeatin (Z) and TDZ (T) with the concentrations used were 2 ppm, 4ppm and 6ppm, each of which added auxin ZPT IAA 0.02 Ppm and GA₃ O, 2 ppm and repeated 5 times. The variables observed were callus formation time, callus wet weight, and callus color. The results showed that the the callus formation time in chrysanthemum culture was the fastest is 7,8 days after culture, which was treated with zeatin 2 ppm, the largest wet weight culture was 2.111 gr at the treatment of 2 ppm TDZ and the color of the callus formed was green.

Keywords : Growth Regulating Substances, Embryonic Callus

ABSTRAK

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik atau anorganik yang berperan penting dalam proses biologis dalam jaringan tanaman dan salah satunya adalah pembentukan kalus embrionik dan embriogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh Sitokinin pada konsentrasi tertentu terhadap pembentuk kalus embrionik tanaman krisan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 (empat) bulan, mulai Juni 2018 sampai Oktober 2018. Metode penelitian yang dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap, dengan menggunakan perlakuan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yaitu zeatin dan thidiazuron (TDZ) dengan konsentrasi yang dipakai adalah 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm, yang masing-masing ditambah ZPT auksin IAA 0,02 ppm dan GA₃ O,2 ppm dan dilakukan ulangan sebanyak 5 kali. Variabel yang diamati adalah waktu terbentuk kalus, berat basah kalus dan warna kalus. Hasil penelitian menunjukkan waktu terbentuk kalus pada kultur krisan yang tercepat yaitu 7,8 hari setelah kultur yaitu pada perlakuan zeatin 2 ppm, berat basah terbesar yaitu 2,111 gr pada perlakuan TDZ 2 ppm dan warna kalus yang terbentuk berwarna hijau.

Kata Kunci : Zat Pengatur Tumbuh, Kalus Embrionik

I. PENDAHULUAN

Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) merupakan tanaman bunga hias perdu dengan sebutan lain seruni atau bunga emas. Krisan adalah tanaman hias yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan potensial dikembangkan. Di Indonesia, permintaan krisan dari tahun ke tahun semakin meningkat. Permintaan bunga potong krisan pada tahun 2008 sebanyak 99.158.942 potong dan meningkat pada tahun 2009 sebanyak 107.847.072 potong dan pada tahun 2015 permintaan bunga potong krisan meningkat sebanyak 442.698.194 potong (Badan Pusat Statistik, 2015). Oleh karena itu, krisan mempunyai prospek yang baik untuk dibudidayakan.

Perbanyakan krisan biasanya dilakukan secara vegetatif. Pembiakan tanaman krisan melalui kultur jaringan akan dapat menghasilkan jumlah tanaman dalam jumlah besar pada waktu yang singkat.

Teknik kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari suatu tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik hingga bagian-bagian tersebut dapat berkembang dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali.

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat ditempuh melalui dua jalur, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Jalur embriogenesis somatik pada masa mendatang lebih mendapat perhatian karena bibit dapat berasal dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak dibandingkan melalui jalur organogenesis. Disamping itu, sifat perakarannya sama dengan nasal biji (Lestari, 2011).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel-sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan

embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Williams dan Maheswara 1986 dalam Purnamaningsih, 2002). Embrio somatik merupakan embrio yang terbentuk secara aseksual, dimana terbentuk dari bagian-bagian tubuh tanaman. Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung yaitu melewati fase kalus (Wiendi *et al.*, 1991 dalam Purnamaningsih, 2002).

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman (Lestari, 2011). Zat pengatur tumbuh yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sitokinin karena sitokinin berperan penting dalam merangsang proses pembelahan sel tumbuhan salah satunya dalam proses pembentukan kalus. Kalus adalah kumpulan sel (massa sel) yang tidak terorganisir dan terbentuk karena pembelahan sel-sel yang tidak terkendali. Kalus yang memiliki tekstur remah dapat menghasilkan individu baru (Arianto *et al.*, 2013). Winarto dkk. (2010), menggunakan medium yang di tambahkan dengan TDZ 2,0 mg/l dan 2,4-D 0,5 mg/l berpengaruh terhadap pembentukan kalus.

Mulyaningrum dkk. (2012) menggunakan media yang ditambah dengan zeatin 1 ppm dan IAA 0,4 ppm berpengaruh terhadap regenerasi filamen kalus rumput laut *K.alvarezii*. Berdasarkan hal di atas maka dilakukan penelitian menyangkut zat pengatur tumbuh dari sitokinin yaitu TDZ dan zeatin yang mempengaruhi pembentukan kalus embrionik tanaman krisan

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Fakultas Pertanian

Universitas Sam Ratulangi Manado. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 (empat) bulan, mulai Juni 2018 sampai Oktober 2018.

Metode penelitian yang dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap, dengan menggunakan perlakuan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yaitu zeatin (Z) dan TDZ (T) dengan konsentrasi yang dipakai adalah 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm, yang masing-masing ditambah ZPT auksin IAA 0,02 ppm dan GA3 0,2 PPM dan dilakukan ulangan sebanyak 5 kali. Dengan demikian terdapat 30 botol dimana setiap botol terdapat 1 eksplan.

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

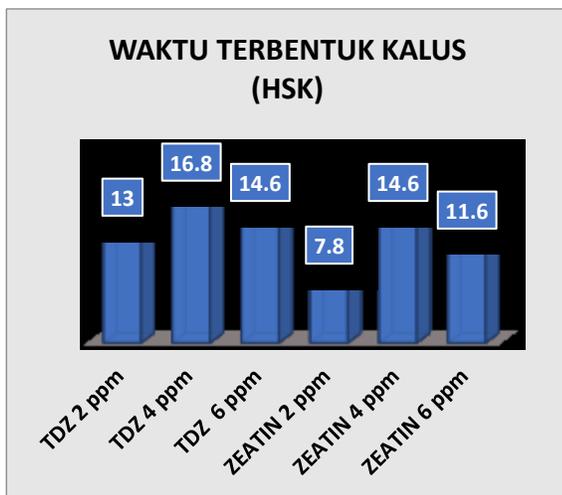
Waktu Terbentuk Kalus

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ZPT thidiazuron (TDZ) dan zeatin memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hari munculnya kalus krisan (*Chrysanthemum morifolium*), oleh karena itu di uji lanjut dengan uji BNT 5%. Waktu terbentuk kalus disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Waktu Terbentuk Kalus

Perlakuan	Waktu terbentuk kalus (HSK)
TDZ 2 ppm	13 ^b
TDZ 4 ppm	16,8 ^c
TDZ 6 ppm	14,6 ^b
ZEATIN 2 ppm	7,8 ^a
ZEATIN 4 ppm	14,6 ^b
ZEATIN 6 ppm	11,6 ^b
BNT 5%	2,722

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.



Gambar 1. Waktu Terbentuk Kalus

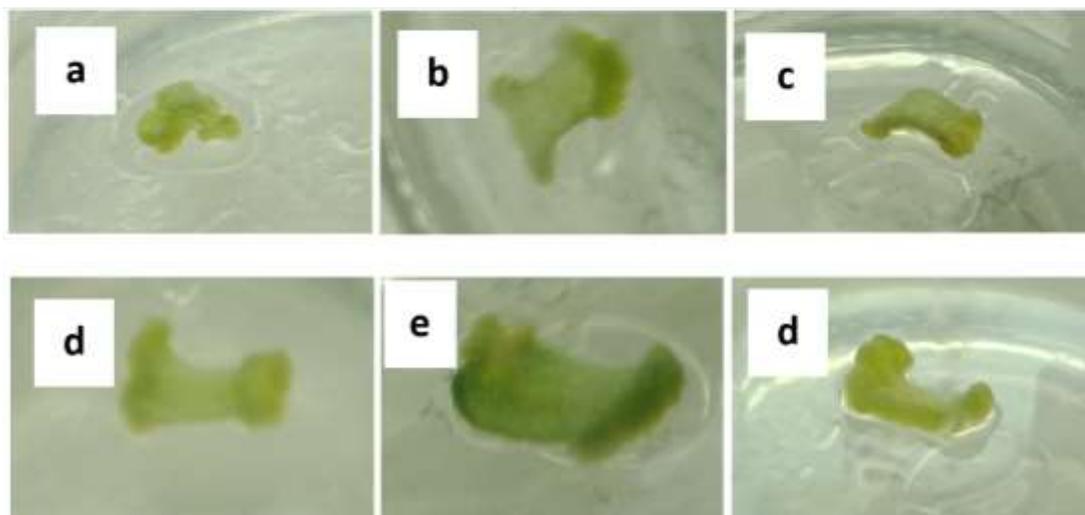
Berdasarkan uji lanjut BNT 5% pada media yang diberi ZPT zeatin 2 ppm yang ditambah dengan ZPT IAA 0.02 ppm dan GA3 0.2 ppm

diketahui merupakan media yang terbaik untuk menumbuhkan kalus krisan secara cepat yaitu 7,8 hari setelah kultur berbeda nyata dengan semua perlakuan lain. Selanjutnya perlakuan zeatin 6 ppm yaitu 11,6 hari setelah kultur tidak berbeda nyata dengan perlakuan TDZ 2 ppm yaitu 13 hari setelah kultur dan TDZ 6 ppm serta zeatin 4 ppm yaitu 14,6 hari setelah kultur sedangkan yang paling lama terbentuk pada perlakuan TDZ 4 ppm. Dengan demikian, jika dilihat dari waktu terbentuknya kalus, media yang paling baik untuk membentuk kalus krisan adalah media yang menggunakan ZPT zeatin dengan konsentrasi 2 ppm. Hal ini berarti ZPT zeatin dengan konsentrasi 2 ppm mempunyai kemampuan dalam mempercepat proses pembelahan sel.

Pada penelitian ini terlihat bahwa semua media perlakuan yang dilakukan menunjukkan adanya pembentukan kalus krisan meskipun dalam waktu yang tidak bersamaan. Zulkarnain (2009) dalam Fitriyani (2014) menyatakan bahwa kombinasi antara sitokinin dan auksin juga dapat memberikan respon yang berbeda-beda, tergantung dari spesies, macam organ, umur, dan konsentrasi dari hormon tumbuh itu

sendiri, faktor-faktor lingkungan seperti suhu dan cahaya.

Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan dan diikuti dengan munculnya kalus yang nampak hijau bening di ujung dan tepi eksplan. Pertumbuhan kalus mulai terlihat pada 7 hari setelah dikulturkan. Kalus mulai tumbuh pada pinggiran eksplan (bekas luka sayatan) yang tampak berjajar membentuk segmentasi (Gambar 2).



TDZ 2 ppm, b = TDZ 4 ppm, c = TDZ 6 ppm, d = zeatin 2 ppm, e = zeatin 4 ppm, f = zeatin 6 ppm masing-masing dikombinasikan dengan IAA 0.02 ppm dan GA3 0.2 ppm.

Gambar 2. Bentuk Awal Keluar Kalus

Pembentukan kalus pada ujung eksplan diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua. Pembengkakan pada eksplan menandakan bahwa eksplan sudah merespon media yang diberikan. Media tersebut diserap eksplan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan kalus yang selanjutnya akan ditandai dengan tahapan proliferasi (perbanyakkan sel) (Wahyuningtiyas dkk, 2014).

Ketika tanaman dilukai maka kalus akan terbentuk akibat selnya mengalami kerusakan dan terjadi pemecahan, dan dari sel yang rusak tersebut di hasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel di lapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel

yang terdiferensiasi (Astutik, 2007 dalam Wahyuningtiyas dkk, 2014).

Dodds dan Roberts (1985) dalam Wahyuningtiyas dkk, (2014) mengemukakan bahwa kalus terbentuk melalui tiga tahapan yaitu induksi, pembelahan sel dan diferensiasi sel. Kalus yang dihasilkan pada penelitian ini belum ke tahap diferensiasi karena kalus yang terbentuk belum menunjukkan bentuk tanaman.

Berat Basah

Pada penelitian ini ZPT yang digunakan adalah sitokinin thidiazuron (TDZ) dan zeatin yang ditambah dengan auksin IAA 0.02 ppm dan GA₃ 0.2 ppm. Sitokinin dan auksin adalah dua kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat

berpengaruh baik dalam pertumbuhan tanaman maupun dalam kultur jaringan tanaman. Sitokinin yang diberikan berfungsi dalam pembelahan sel dan sintesis protein. Pemacu pembelahan sel dan sintesis protein oleh sitokinin menyebabkan sel berproliferasi, akibatnya volume sel bertambah sehingga

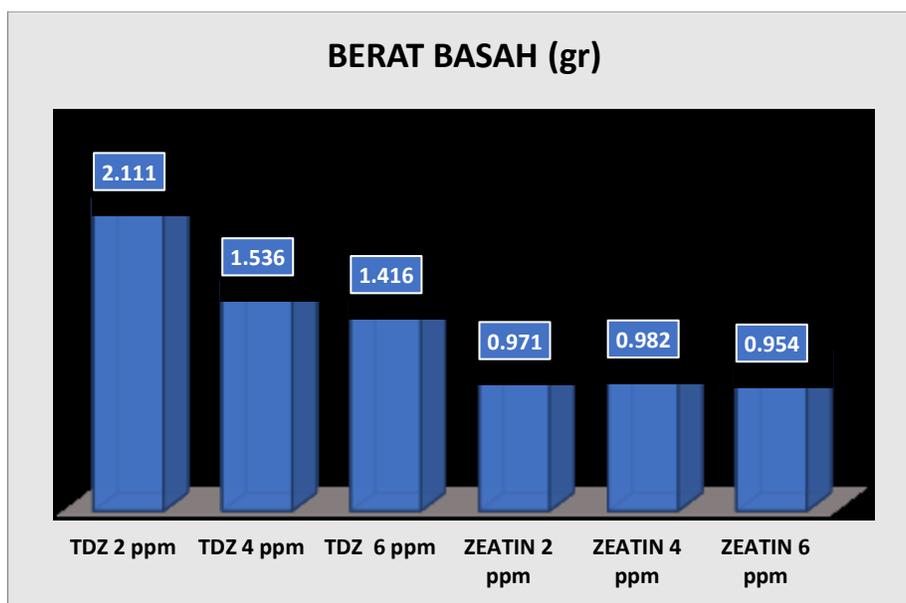
menyebabkan bertambahnya berat kalus yang dihasilkan.

Pengukuran berat basah kalus krisan dilakukan pada akhir pengamatan dengan melakukan penimbangan kalus menggunakan timbangan analitik. Data berat basah kalus disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Berat Basah Kalus

Perlakuan	Berat basah (gr)
TDZ 2 ppm	2,111 ^a
TDZ 4 ppm	1,536 ^b
TDZ 6 ppm	1,416 ^b
ZEATIN 2 ppm	0,971 ^c
ZEATIN 4 ppm	0,982 ^c
ZEATIN 6 ppm	0,954 ^c
BNT 5%	0,409

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.



Gambar 3. Berat Basah Kalus

Data yang telah di analisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT 5 % menunjukkan bahwa berat basah yang paling tinggi terdapat pada perlakuan thidiazuron (TDZ) 2 ppm yaitu 2,111 gr, berbeda nyata dengan perlakuan TDZ 4 ppm yaitu 1,536 gr, TDZ 6 ppm yaitu 1,416 gr, zeatin 4 ppm yaitu 0,982 gr, zeatin 2 ppm 0,971 gr dan yang paling

rendah zeatin 6 ppm yaitu 0,954 gr. Dengan demikian, ZPT TDZ mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dalam pembelahan sel dibanding ZPT zeatin.

Menurut Fitriyani (2014) menyatakan bahwa perbedaan berat basah kalus dimungkinkan karena perbedaan kondisi yang dialami setiap kalus pada pertumbuhannya.

Pertambahan berat kalus ini dikarenakan terjadinya pembelahan pada kalus sehingga jumlah selnya bertambah.

Warna Kalus

Pada pengamatan dalam penelitian ini, kalus mulai jelas bentuk dan warnanya setelah 17 hari dalam kultur media. Embrio yang mulai membesar berbentuk bulat (granular) dengan warna hijau pucat, kemudian berkembang menjadi beberapa warna, yaitu hijau, hijau

kekuningan, dan hijau kecokelatan. Menurut Wahyuningtiyas dkk (2014) kalus yang berwarna hijau mengindikasikan bahwa kalus tersebut sel-selnya masih aktif membelah dan mengandung klorofil.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan warna kalus yang signifikan pada media dengan perlakuan TDZ 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan zeatin 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm. Table hasil pengamatan warna kalus dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Warna Kalus

Perlakuan	Warna kalus	
	Awal	Akhir
TDZ 2 ppm	Hijau	Hijau pekat kecokelatan
TDZ 4 ppm	Hijau	Hijau pekat kecokelatan
TDZ 6 ppm	Hijau kekuningan	Hijau pekat kecokelatan
Zeatin 2 ppm	Hijau muda	Hijau pekat kekuningan
Zeatin 4 ppm	Hijau muda	Hijau kecokelatan
Zeatin 6 ppm	Hijau muda	Hijau kecokelatan

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan warna yang sangat menonjol pada setiap perlakuan. Pada awalnya semua perlakuan kalus yang tumbuh berwarna hijau dan sampai minggu terakhir pengamatan (minggu ke 14 setelah dikulturkan) sebagian besar berwarna hijau kecokelatan. Dengan demikian, pemberian ZPT zeatin dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm serta ZPT TDZ dengan konsentrasi yang sama pada media untuk pembentukan kalus tanaman

krisan mempunyai pengaruh yang sama terhadap warna kalus.

Menurut Wardani, dkk (2004) dalam Wahyuningtiyas, dkk (2014) menyatakan bahwa warna kalus yang hijau disebabkan peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Sitokinin yang diberikan dalam media mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein. (Wattimena, 1991 dalam Wahyuningtiyas, dkk, 2014). Adapun perubahan warna kalus disajikan pada gambar berikut:

Perlakuan	Warna awal	Warna akhir
TDZ 2 ppm	 Berwarna hijau	 Berwarna hijau pekat kecokelatan
TDZ 4 ppm	 Berwarna hijau	 Berwarna hijau pekat kecokelatan
TDZ 6 ppm	 Berwarna hijau kekuningan	 Berwarna hijau pekat kecokelatan
Zeatin 2 ppm	 Berwarna hijau muda	 Berwarna hijau pekat kecokelatan
Zeatin 4 ppm	 Berwarna hijau muda	 Berwarna hijau kecokelatan
Zeatin 6 ppm	 Berwarna hijau muda	 Berwarna hijau kecokelatan

Gambar 4. Perubahan warna kalus

Warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang terbentuk. Menurut Robbiani. (2010) dalam Fitriyani (2014), warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil

dalam jaringan, semakin hijau kalus maka semakin banyak pula kandungan klorofilnya. Kalus dengan warna hijau tidak hanya dimungkinkan mengandung banyak pigmen

klorofil akan tetapi, kalus yang terbentuk juga memiliki ukuran yang cukup besar yang menandakan bahwa kalus beregenerasi dengan baik dan sel-selnya masih aktif membelah (Lizawati, 2010 dalam Fitriyani, 2014). Sedangkan kalus yang berwarna hijau kekuningan merupakan kalus yang tumbuh dengan baik karena kalus masih aktif melakukan metabolisme dalam sel (Leupin, 2000 dalam Fitriyani, 2014). Dan kalus yang berwarna kecokelatan adalah kalus yang mengalami cekaman. Menurut Ariningsih (2003) dalam Wahyuningtiyas, dkk (2014), cekaman yang diberikan oleh media pada kalus mengindikasikan kalus akan berubah warna lebih tua dari kalus segar. Dengan demikian semakin tua, perubahan kalus pada suatu media menunjukkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder yang lebih tinggi dan lebih besar. Perubahan warna kalus juga tergantung pada media perkembangannya. Hutami (2008) dalam Wahyuningtiyas, dkk (2014), menyatakan bahwa pencokelatan dapat menurunkan kemampuan regenerasi *in vitro* dan toksisitas medium. Meskipun berwarna coklat tetapi sel-sel kalus tidak mengalami kematian, hal ini dibuktikan bahwa adanya aktifitas sel yang membelah yang ditandai dengan pembesaran volume kalus.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Zat pengatur tumbuh zeatin berpengaruh lebih baik dibanding TDZ pada variabel waktu terbentuk kalus, dengan konsentrasi terbaik 2 ppm.
2. Zat pengatur tumbuh TDZ berpengaruh lebih baik dibanding zeatin pada variabel berat basah kalus, dengan konsentrasi terbaik 2 ppm.
3. Penggunaan zat pengatur tumbuh TDZ dan zat pengatur tumbuh zeatin pada media kultur jaringan tanaman Krisan

mempunyai pengaruh yang sama terhadap warna kalus.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan zat pengatur tumbuh yang sama dan konsentrasi yang sama untuk melihat waktu terbentuk tunas dan jumlah tunas yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik (BPS), 2015. Statistik Tanaman Hias Indonesia. Badan Pusat Statistik Indonesia Jakarta
- Arianto, Z. Basri, dan M.U. Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxy
- Fitriyani W, 2014. Respon Pertumbuhan Kalus Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) Pada Media Ms Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Yang Dikombinasikan Dengan Air Kelapa. Malang
- Lestari E. G, 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor
- Mulyaningrum S. R. H, H. Nursyam, Y. Risjani dan A. Parenrengi, 2012. Regenerasi Filamen Kalus Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dengan Formulasi Zat Pengatur Tumbuh yang Berbeda. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Purnamaningsih R, 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
- Wahyuningtiyas L; R. S Resmisari dan Nashichuddin, 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D Dan BAB Pada Media MS. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Winarto, B., F. Rachmawati, N.A. Mattjik, A. Purwito, dan B. Marwoto. 2009. Pengembangan Formulasi Medium Dasar untuk Kultur Anther Anthurium. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.