

Effectiveness Of Plant Preservative Mixture (Ppm) Biocides on Contamination Levels in In-Vitro Propagation of Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) Plants.

Efektivitas Biosida *Plant Preservative Mixture* (Ppm) Terhadap Tingkat Kontaminasi Pada Perbanyakan Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) Secara *In-Vitro*.

Mario Paul Stevanus Weken*, Jeany Polii-Mandang, Edy Fredy Lengkong.

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Sam Ratulangi University (UNSRAT), Manado 95115 Indonesia

*Corresponding author:
wekenmario@gmail.com

Manuscript received: 23 April 2026.
Revision accepted: 20 May 2026.

Abstract. This study aims to determine the interaction of the use of explant sterilization with Plant Preservative Mixture (PPM) biocides and the optimal dose of this biocide. This research was conducted at the Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, Sam Ratulangi University, Manado. This study used a factorial Completely Randomized Design (CRD) which consisted of two treatment factors, namely explant sterilization (P) and PPM dose (Q) so that there were 8 treatment combinations. The variables observed were: the percentage of fungal contamination, the percentage of bacterial contamination, the percentage of media contamination, the percentage of explant contamination, the percentage of explant death and the day the first contamination appeared. The results showed that the best treatment combination was P2Q4 (Explants Sterilization + PPM 2.5 ml/l). In addition, the explant sterilization treatment and the use of PPM biocide had an interaction with total contamination, fungal contamination, bacterial contamination, media contamination and the day the first contamination appeared, but had no interaction with explant contamination and explant death.

Keywords: *Chrysanthemum, Contamination, In-vitro, Biocide Plant Preservative Mixture (PPM), Sterilization.*

Abstrak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui interaksi sterilisasi eksplan menggunakan biosida *Plant Preservative Mixture* (PPM) beserta dosis optimal penggunaan biosida ini. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi Manado. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan yaitu sterilisasi eksplan (P) dan dosis PPM (Q) sehingga terdapat 8 kombinasi perlakuan. Variabel yang diamati adalah: Persentase kontaminasi jamur, persentase kontaminasi bakteri, persentase kontaminasi media, persentase kontaminasi eksplan, persentase kematian eksplan dan hari muncul kontaminasi pertama. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi perlakuan terbaik yaitu terletak pada perlakuan P2Q4 (Sterilisasi Eksplan + PPM 2.5 ml/l). Selain itu, faktor perlakuan sterilisasi eksplan dan penggunaan biosida PPM memiliki interaksi terhadap variabel total kontaminasi, kontaminasi jamur, kontaminasi bakteri, kontaminasi media dan hari muncul kontaminasi pertama, tetapi tidak memiliki interaksi terhadap variabel kontaminasi eksplan dan kematian eksplan.

Kata kunci: *Krisan, Kontaminasi, In-vitro, Biosida Plant Preservative Mixture (PPM), Sterilisasi.*

PENDAHULUAN

Tanaman krisan banyak diminati karena memiliki nilai keindahan atau estetika tinggi dengan banyak keragaman yang dimiliki baik dari warna hingga bentuk bunganya. Tanaman krisan menjadi salah satu bunga potong yang diunggulkan di dunia dengan prospek bunga krisan sebagai bunga potong cukup baik dikarenakan pasar

potensial dengan untung yang besar dan juga dapat berdaya serap tinggi sudah ada.

Kontaminasi merupakan faktor pembatas yang menjadi kendala utama pada kultur jaringan tanaman. Ketika eksplan yang dikultur terkontaminasi maka pertumbuhan eksplan tersebut bisa dihambat oleh kontaminan-kontaminan yang ada. Kontaminan biasanya terdiri dari jamur, bakteri maupun mikroorganisme lain

yang bisa mengganggu pertumbuhan eksplan yang dikultur. Penanganan lanjutan sebagai langkah pencegahan terhadap kontaminasi yang muncul pada masa pengkulturan agar pertumbuhan eksplan yang dikultur tidak akan terhambat. Dalam sterilisasi bahan tanam atau eksplan, hal yang harus diingat bahwa sel maupun kontaminan sama-sama benda hidup (Mandang, Doodoh dan Kojoh, 2017), jadi sebisa mungkin pencegahan terhadap kontaminasi yang dilakukan dengan cara tidak merusak eksplan baik secara eksternal maupun internal.

Salah satu solusi untuk pencegahan kontaminasi pada perbanyakan kultur jaringan adalah pemanfaatan biosida Plant Preservative Mixture (PPM). PPM merupakan biosida khusus penanaman secara in-vitro yang bisa mencegah dan menghambat perkembangan kontaminasi yang ada pada kultur aseptik, sehingga memungkinkan eksplan untuk bertumbuh dan berkembang dengan baik. PPM memiliki harga yang terbilang cukup tinggi, di pasar Indonesia PPM memiliki harga sekitar Rp. 1.200.000 – Rp. 4.600.000/30 ml. Oleh karena itu perlu diketahui dosis optimal yang diperlukan khususnya pada kultur jaringan tanaman krisan agar kontaminasi bisa dicegah sekaligus dengan adanya penghematan biaya pada saat menggunakan biosida ini.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ada interaksi antara sterilisasi eksplan dan biosida Plant Preservative Mixture (PPM). Mengetahui efektivitas biosida PPM dengan cara melihat tingkat kontaminasi yang ada. Mengetahui dosis terbaik penggunaan biosida PPM pada kultur in vitro tanaman krisan untuk menekan pertumbuhan kontaminan yang ada.

Manfaat Penelitian

Bermanfaat terhadap perkembangan ilmu seputar budidaya tanaman krisan

secara in-vitro, sekaligus memberikan solusi terhadap masalah kontaminasi pada metode kultur in vitro.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 minggu yaitu pada bulan Maret - April di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi tanaman Krisan varietas Suciyono, Media Murashige & Skoodg, Biosida Plant Preservative Mixture (PPM), aquades, aquades steril, alkohol 70%, alkohol 95%, bakterisida, fungisida, tween 80, pemutih yang mengandung NaOCl, agar-agar, gula, NaOH dan HCl. Untuk alat yang digunakan meliputi Botol kultur, gelas ukur, pH meter, pipet, micropipette, pengaduk, pinset, pisau steril, gunting, plastik, tissue, hand sprayer, timbangan analitik, api bunsen, hot plate, magnetic steerer, autoclave dan Laminar Airflow Cabinet (LAFC).

Metode Penelitian

Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan, meliputi 2 faktor dengan 2 perlakuan, sebagai berikut:

P1Q1 = Tanpa Sterilisasi Eksplan + PPM 1,0 ml/l

P2Q1 = Sterilisasi Eksplan + PPM 1,0 ml/l

P1Q2 = Tanpa Sterilisasi Eksplan + PPM 1,5 ml/l

P2Q2 = Sterilisasi Eksplan + PPM 1,5 ml/l

P1Q3 = Tanpa Sterilisasi Eksplan + PPM 2,0 ml/l

P2Q3 = Sterilisasi Eksplan + PPM 2,0 ml/l

P1Q4 = Tanpa Sterilisasi Eksplan + PPM 2,5 ml/l

P2Q4 = Sterilisasi Eksplan + PPM 2,5 ml/l

Sehingga terdapat 8 kombinasi, dimana setiap perlakuan dilakukan sebanyak 8 kali ulangan dengan 2 botol dalam setiap ulangan, sehingga terdapat 128

satuan percobaan dengan 1 eksplan pada masing-masing satuan percobaan, sehingga total eksplan yang digunakan pada penelitian ini yaitu berjumlah 128 eksplan.

Prosedur Kerja

(1) Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara merendam alat ke dalam sabun dan pemutih selama 1 jam yang kemudian alat dicuci bersih dengan sabun, kemudian disterilkan kedalam autoclave dengan suhu 121° C dan tekanan 15 psi selama 20 menit.

(2) Pembuatan Media Perlakuan

Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media Murashige & Skoog (MS). Pembuatan media diawali dengan penimbangan bahan-bahan yang akan digunakan seperti media Murashige & Skoog 4,4 gr/liter ; Gula 30 gr/liter ; Agar-agar 8 gr/liter pada timbangan analitik. Bahan-bahan yang telah ditimbang tersebut kemudian dicampur pada aquades yang selanjutnya biosida PPM diukur menggunakan micropipette sesuai dengan konsentrasi pada perlakuan yang ada. pH media diukur menggunakan pH meter sampai pH media mencapai 5,8. pH media diatur dengan penambahan NaOH dan HCl. Media yang telah dicampur dengan PPM tersebut dimasak dan dituangkan kedalam botol, kemudian media diisolasi selama 3 hari sebelum penanaman dilaksanakan untuk melihat adanya kontaminasi awal sebelum penanaman.

(3) Pemilihan dan Pengambilan Eksplan

Eksplan krisan yang dikultur merupakan eksplan yang diambil langsung dari lapangan dan untuk bagian yang digunakan merupakan bagian pucuk tanaman krisan yang diukur dan dipotong sepanjang 2 cm. Perlakuan tanpa sterilisasi eksplan (P1), eksplan yang ada langsung dicuci bersih menggunakan detergent dan dibilas menggunakan air mengalir. Eksplan krisan diambil langsung dari petani penangkar bibit krisan di Kota Tomohon,

Sulawesi Utara dengan varietas krisan yang digunakan yaitu varietas Suciyono.

(4) Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan cara memasukkan eksplan kedalam saringan yang kemudian eksplan tersebut dicuci menggunakan air mengalir selama 5 menit. Eksplan dipindah pada larutan bakterisida dan fungisida 2,5 gr/l yang telah ditambah satu tetes larutan tween 80 dan digojok secara manual selama 45 menit, setelah itu dilakukan pembilasan dengan aquades tiga kali selama sekitar 3 menit. Untuk sterilisasi di dalam LAFC, eksplan yang disterilkan direndam lagi ke larutan pemutih dengan konsentrasi 10% sambil digojok secara manual selama 3 - 5 menit, kemudian dibilas dengan air aquades steril tiga kali selama 1 - 3 menit kemudian eksplan ditiriskan.

(5) Inokulasi/Penanaman

Penanaman eksplan dilakukan dalam LAFC yang sebelumnya sudah disterilkan menggunakan alkohol 70% ke seluruh bagian. Inokulasi dilakukan dengan meletakkan pucuk yang sudah steril kedalam media menggunakan pinset dan diletakkan dengan posisi tegak menghadap keatas. Pinset dan gunting harus senantiasa di celupkan ke alkohol 95% dan selalu dibakar menggunakan api bunshen ketika selesai menanam satu eksplan ke media.

(6) Pengontrolan/Pemeliharaan.

Variabel Pengamatan

- (1) Persentase Kontaminasi Jamur
- (2) Persentase Kontaminasi Bakteri
- (3) Persentase Kontaminasi Media
- (4) Persentase Kontaminasi Eksplan
- (5) Persentase Kematian Eksplan
- (6) Hari Muncul Kontaminasi Pertama

Analisis Data Penelitian

Analisa data pada penelitian ini menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dan jika terdapat pengaruh pada penelitian ini maka akan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5%. Untuk data dengan

angka persentase akan ditransformasi ke arcsin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Kontaminasi Jamur

Tabel 1. Tabel interaksi faktor P dan Faktor Q terhadap persentase kontaminasi jamur.

| Faktor P (Sterilisasi Eksplan) | Persentase Kontaminasi Jamur (%) | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Faktor Q (Dosis PPM) | | | |
| | Q1 (PPM 1 ml/l) | Q2 (PPM 1.5 ml/l) | Q3 (PPM 2 ml/l) | Q4 (PPM 2.5 ml/l) |
| P1 (Tanpa sterilisasi eksplan) | 90 ^{aA} | 90 ^{aA} | 84.38 ^{aA} | 90 ^{aA} |
| P2 (Sterilisasi eksplan) | 73.13 ^{aA} | 67.50 ^{aB} | 56.25 ^{aB} | 28.13 ^{bB} |
| BNT 5% = 20.97 | | | | |

Ket: 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.

2) Notasi dengan huruf kapital merupakan notasi dari Faktor Q dan Notasi dengan huruf kecil merupakan notasi dari Faktor P.

3) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Melalui interaksi tersebut dapat dilihat bahwa pada faktor perlakuan tanpa sterilisasi eksplan (P1) menunjukkan PPM tidak dapat menekan kontaminasi. Sebaliknya perlakuan menggunakan sterilisasi eksplan (P2) menunjukkan angka kontaminasi yang rendah sehingga kombinasi perlakuan sterilisasi eksplan dan PPM efektif untuk menekan kontaminasi yang ada.

Organisme yang disebut jamur merupakan organisme yang bersifat heterotrof. Oleh sebab itu, jamur memerlukan inang/host untuk bisa bertahan hidup dengan cara mengabsorpsi nutrient yang ada pada organisme yang menjadi inang tersebut (Mahran, Hapsari dan Nugroho, 2020). Kemungkinan penyebab tingginya kontaminasi jamur dikarenakan dipengaruhi oleh musim penghujan dan juga adanya kontaminasi jamur pada percobaan lain yang ada pada laboratorium yang sama (Oratmangun dkk, 2017).

Pada kontaminasi jamur, biosida PPM bekerja dengan mengganggu sistem metabolisme yang ada pada jamur atau proses kimiawi jamur untuk menghasilkan energi dan bahan-bahan yang diperlukan untuk fungsi sel dan pertumbuhan. Komponen utama penyusun sel jamur yaitu

Analisis ragam menunjukkan adanya interaksi faktor pada variabel persentase kontaminasi jamur. Rata-rata kontaminasi jamur yang muncul pada kombinasi perlakuan ditampilkan pada Tabel 1.

kitin yang menyusun dinding sel dari jamur. Mekanisme kerja dari biosida PPM ini yaitu merusak dinding sel kontaminan sehingga biosida ini mampu untuk mengganggu keseimbangan metabolisme kontaminan-kontaminan yang menyerang sehingga tidak bisa memiliki pertumbuhan dan penyebaran yang cepat oleh karena sistem metabolisme yang seharusnya dilakukan oleh jamur berhasil dihambat dan dirusak oleh biosida ini.

Persentase Kontaminasi Bakteri

Hasil analisis ragam menunjukkan interaksi antara faktor yang ada pada variabel persentase kontaminasi bakteri. Rata-rata kontaminasi bakteri yang muncul pada kombinasi perlakuan ditampilkan pada Tabel 2.

Melalui interaksi tersebut dapat dilihat bahwa pada faktor perlakuan tanpa kontaminasi (P1) menunjukkan PPM tidak dapat menekan kontaminasi. Pada faktor tanpa sterilisasi ini terlihat bahwa PPM tidak memberikan pengaruh dikarenakan tingkat kontaminasi bakteri tertinggi didapatkan pada perlakuan dengan dosis PPM terbanyak. Untuk perlakuan menggunakan sterilisasi (P2) menunjukkan angka kontaminasi bakteri yang rendah dibandingkan tanpa sterilisasi eksplan (P1)

sehingga kombinasi perlakuan sterilisasi eksplan dan PPM efektif untuk menekan kontaminasi bakteri yang ada.

Tabel 1 Keterkaitan Tujuan, Metode, dan Output Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kinerja Produksi HHK-TA dan Akar Permasalahan

Kinerja produksi hasil hutan kayu tumbuh alami (HHK-TA) pada periode 2022–2024 menunjukkan capaian yang sangat rendah, masing-masing sebesar 1,48%, 10,94%, dan 0,63% dari target. Kondisi ini mengindikasikan adanya kesenjangan antara rencana produksi dan

kapasitas operasional di lapangan. Hasil analisis *fishbone* menunjukkan bahwa rendahnya capaian tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor utama, yaitu keterbatasan sumber daya manusia, ketersediaan dan kesiapan alat produksi, metode perencanaan yang belum berbasis kapasitas, lemahnya sistem monitoring, serta kendala lingkungan seperti topografi dan curah hujan tinggi.

Tabel 2. Tabel interaksi faktor P dan faktor Q terhadap persentase kontaminasi bakteri.

| Faktor P (Sterilisasi Eksplan) | Persentase Kontaminasi Bakteri (%) | | | |
|--------------------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Faktor Q (Dosis PPM) | | | |
| | Q1 (PPM 1 ml/l) | Q2 (PPM 1.5 ml/l) | Q3 (PPM 2 ml/l) | Q4 (PPM 2.5 ml/l) |
| P1 (Tanpa sterilisasi eksplan) | 73.13 ^{aA} | 73.13 ^{aA} | 56.25 ^{bA} | 84.38 ^{aA} |
| P2 (Sterilisasi eksplan) | 28.13 ^{aB} | 33.75 ^{aB} | 16.88 ^{aB} | 0.00 ^{bB} |
| BNT 5% = 23.617 | | | | |

Ket: 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.

2) Notasi dengan huruf kapital merupakan notasi dari Faktor Q dan Notasi dengan huruf kecil merupakan notasi dari Faktor P.

3) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Asumsi tentang penyebab perlakuan PPM tidak menunjukkan proteksi yang maksimal pada perlakuan tidak menggunakan sterilisasi eksplan dikarenakan beberapa hal seperti jenis, jumlah mikroba yang ada dan dosis yang kurang optimal sehingga ada beberapa jenis bakteri yang tidak bisa dipengaruhi oleh biosida yang digunakan. Dosis PPM yang digunakan tidak optimal maka PPM tidak efektif mencegah kontaminasi mikroba dan secara tidak langsung menyatakan bahwa dosis yang digunakan pada penelitian ini masih belum optimal mencegah kontaminasi bakteri pada kultur jaringan tanaman krisan.

Persentase Kontaminasi Media

Hasil analisis ragam menunjukkan interaksi antara faktor yang ada pada variabel persentase kontaminasi media.

Rata-rata kontaminasi media yang muncul pada kombinasi perlakuan ditampilkan pada Tabel 3.

Melalui interaksi tersebut dapat dilihat bahwa pada faktor perlakuan tanpa sterilisasi (P1) menunjukkan PPM tidak dapat menekan kontaminasi dikarenakan seluruh kombinasi memiliki angka kontaminasi yang tinggi. Sebaliknya, perlakuan menggunakan sterilisasi eksplan (P2) terlihat bahwa penggunaan PPM dan sterilisasi eksplan menunjukkan interaksi positif dimana kontaminasi pada eksplan dapat ditekan jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa sterilisasi (P1). Sebagai biosida yang dicampurkan langsung kedalam media, PPM mampu untuk menghambat pertumbuhan kontaminan yang ada melalui mekanisme kerja yang dimiliki biosida ini.

Tabel 3. Tabel interaksi Faktor P dan Faktor Q terhadap persentase kontaminasi media

| Faktor P (Sterilisasi Eksplan) | Persentase Kontaminasi Media (%) | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Faktor Q (Dosis PPM) | | | |
| | Q1 (PPM 1 ml/l) | Q2 (PPM 1.5 ml/l) | Q3 (PPM 2 ml/l) | Q4 (PPM 2.5 ml/l) |
| P1 (Tanpa sterilisasi eksplan) | 90 ^{aA} | 90 ^{aA} | 90 ^{aA} | 90 ^{aA} |
| P2 (Sterilisasi eksplan) | 78.75 ^{aA} | 50.63 ^{bB} | 50.63 ^{bB} | 28.13 ^{cB} |

BNT 5% = 18.19

Ket:

- 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.
- 2) Notasi dengan huruf kapital merupakan notasi dari Faktor Q dan Notasi dengan huruf kecil merupakan notasi dari Faktor P.
- 3) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Penggunaan biosida PPM kedalam media MS tentunya membuat kontaminan-kontaminan yang beresiko menginvasi media tersebut akan memiliki peluang hidup yang sangat kecil dikarenakan sifat biosida ini yang mengacaukan sistem metabolisme kontaminan yang menyerang, sehingga pertumbuhan dan siklus hidup dari kontaminan tersebut akan terganggu. Melalui data yang ada terlihat bahwa biosida PPM mampu untuk menekan kontaminasi sehingga kontaminan pada dosis PPM tertinggi cenderung lebih rendah jika dibandingkan dengan tingkat

kontaminasi dari perlakuan yang menggunakan dosis rendah.

Persentase Kontaminasi Eksplan

Hasil sidik ragam menunjukkan tidak terdapat interaksi antara faktor pada variabel persentase kontaminasi eksplan, tetapi memiliki pengaruh yang nyata pada faktor tunggal sterilisasi eksplan (P) dan dosis PPM (Q), sehingga analisis faktor tunggal dilanjutkan ke analisis BNT taraf 5%. Data pengujian dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Pengaruh sterilisasi eksplan terhadap persentase kontaminasi eksplan

| Perlakuan | Rerata (%) |
|--------------------------------|--------------------|
| P1 = Tanpa Sterilisasi Eksplan | 88.59 ^a |
| P2 = Sterilisasi Eksplan | 40.78 ^b |

BNT 5% = 17.06

Ket: 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.

2) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Eksplan merupakan salah satu penentu terciptanya kultur steril dikarenakan eksplan sendiri merupakan unsur kultur jaringan yang memiliki resiko terbesar membawa kontaminasi dari lingkungan non aseptik, sehingga tahapan sterilisasi eksternal dan internal eksplan tersebut perlu dilakukan dengan maksimal untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi tersebut. Selain kontaminasi yang berasal dari luar, pada eksplan sendiri juga tersipat kontaminan-kontaminan yang mungkin saja ada dalam jaringan-jaringan yang ada pada eksplan tersebut. Faktor

internal terjadinya kontaminasi pada kultur jaringan yaitu disebabkan oleh bahan eksplan itu sendiri (Probowati, 2015).

Selain kontaminasi dari permukaan eksplan, bahan tanam (eksplan) juga memiliki kemungkinan terkontaminasi dari dalam eksplan tersebut. Kontaminan-kontaminan tersebut bisa memiliki pertumbuhan pada bagian internal seperti pada jaringan-jaringan tumbuhan yang bisa saja kontaminan-kontaminan internal tersebut keluar pada saat pengkulturan dan memperbanyak diri pada media maupun

eksplan yang dikultur. Penggunaan biosida PPM bisa menjadi bahan sterilisasi internal dikarenakan pada dosis yang optimal PPM bisa mencegah kontaminasi endogen dari dalam eksplan (Faizy, 2017). Sehingga melalui uji faktor tunggal menunjukkan bahwa dosis biosida PPM tertinggi memiliki tingkat kontaminasi eksplan yang cenderung lebih rendah jika dibandingkan

dengan dosis yang lebih rendah. Sejalan dengan itu, pada penelitian Faizah, (2019) tentang penggunaan PPM dan Propolis pada tunas tanaman sirsak secara *in vitro* menyatakan bahwa penambahan PPM dengan konsentrasi 1 ml/l memberikan respon positif terhadap tingkat kontaminasi pada eksplan dan pertumbuhan eksplan itu sendiri.

Tabel 5. Pengaruh dosis PPM terhadap persentase kontaminasi eksplan.

| Perlakuan | Rerata (%) |
|-------------------|--------------------|
| Q1 = PPM 1 ml/l | 70.31 ^b |
| Q2 = PPM 1.5 ml/l | 75.94 ^a |
| Q3 = PPM 2 ml/l | 59.06 ^c |
| Q4 = PPM 2.5 ml/l | 53.44 ^d |
| BNT 5% = 1.91 | |

Ket:

- 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.
- 2) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Persentase Kematian Eksplan

Analisis ragam menunjukkan tidak terdapat interaksi antara faktor pada variabel persentase kontaminasi eksplan, tetapi memiliki pengaruh yang nyata pada

faktor tunggal sterilisasi eksplan (P) dan dosis PPM (Q), sehingga analisis faktor tunggal dilanjutkan ke analisis BNT taraf 5%. Data pengujian disajikan pada Tabel 6 dan 7.

Tabel 6. Pengaruh sterilisasi eksplan terhadap kematian eksplan

| Perlakuan | Rerata (%) |
|--------------------------------|--------------------|
| P1 = Tanpa Sterilisasi Eksplan | 67.50 ^a |
| P2 = Sterilisasi Eksplan | 32.34 ^b |
| BNT 5% = 4.54 | |

Kontaminasi tidak dinyatakan sebagai indikator mutlak eksplan dikatakan mati, namun eksplan yang steril akan memiliki kemungkinan tingkat kehidupan yang lebih baik jika dibandingkan dengan eksplan yang terkontaminasi jamur dan bakteri. Seperti pembahasan pada kontaminasi jamur dan bakteri, yaitu jamur dan bakteri sama-sama organisme yang membutuhkan inang untuk mendapatkan makanan. Eksplan yang sudah ditempeli jamur dan bakteri akan memiliki peluang hidup yang lebih kecil dikarenakan sumberdaya yang dimiliki eksplan akan diabsorpsi oleh jamur dan bakteri, yang membuat eksplan tidak lagi bisa mencukupi kebutuhannya dalam

menghasilkan makanan, yang kemudian secara perlahan eksplan akan mengalami gagal tumbuh dan kematian.

Sebagai anti jamur dan anti bakteri, PPM bekerja dengan menekan pertumbuhan kontaminasi jamur dan bakteri. Sehingga ketika eksplan bersih dari jamur dan bakteri, maka pertumbuhan eksplan akan berjalan seperti seharusnya. Pada penelitian Faizah, (2019) menyatakan bahwa pada kultur jaringan tanaman sirsak penggunaan PPM yang dikombinasikan dengan propolis menunjukkan persentase keberhasilan kultur yang tinggi dan rendahnya persentase kematian eksplan yaitu pada dosis PPM 1 ml/l + Propolis 0.5

ml/l. Kontaminasi tidak bisa menjadi indikator mutlak eksplan tersebut dinyatakan sudah mati dikarenakan pada awal muncul kontaminasi (kontaminasi belum menginvasi) eksplan masih bisa diselamatkan dengan tahap sub kultur, yaitu dengan pemotongan bagian yang sudah terkontaminasi yang kemudian dilakukan perendaman pada bakterisida/fungisida selanjutnya eksplan tersebut dipindahkan kedalam media baru yang steril.

Kematian eksplan sebelum pertumbuhan didominasi oleh cendawan/mikroorganisme maka eksplan tersebut masih memiliki kemungkinan untuk bertumbuh dengan masih

menunjukkan penambahan tinggi eksplan dan jumlah daunnya sehingga eksplan masih dikatakan hidup walaupun telah terkontaminasi, tetapi jika tidak ada penanganan lebih lanjut maka eksplan tersebut perlahan-lahan akan mati karena dominasi dari kontaminan.

Hari Muncul Kontaminasi Pertama

Hasil analisis ragam menunjukkan interaksi antara faktor yang ada pada variabel persentase kontaminasi media. Rata-rata kontaminasi media yang muncul pada kombinasi perlakuan ditampilkan pada Tabel 8.

Tabel 7. Kematian eksplan pada media yang diberi PPM

| Perlakuan PPM (ml/l) | Rerata (%) |
|----------------------|--------------------|
| Q1 = 1 | 50.63 ^b |
| Q2 = 1.5 | 67.50 ^a |
| Q3 = 2 | 33.75 ^d |
| Q4 = 2.5 | 47.81 ^c |

BNT 5% = 2.27

Ket: 1) Data ditransformasi kedalam bentuk Arcsin.

2) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Tabel 8. Tabel interaksi Faktor P dan Faktor Q terhadap hari muncul kontaminasi pertama.

| Faktor P (Sterilisasi Eksplan) | Hari Muncul Kontaminasi Pertama (Hari) | | | |
|--------------------------------|--|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Faktor Q (Dosis PPM) | | | |
| | Q1 (PPM 1 ml/l) | Q2 (PPM 1.5 ml/l) | Q3 (PPM 2 ml/l) | Q4 (PPM 2.5 ml/l) |
| P1 (Tanpa sterilisasi eksplan) | 6.43 ^{aB} | 6.31 ^{aB} | 6.75 ^{aB} | 6.93 ^{aB} |
| P2 (Sterilisasi eksplan) | 10.00 ^{dA} | 13.68 ^{cA} | 15.43 ^{bA} | 19.12 ^{aA} |

BNT 5% = 2.58

Ket:

1) Notasi dengan huruf kapital merupakan notasi dari Faktor Q dan Notasi dengan huruf kecil merupakan notasi dari Faktor P.

2) Angka yang diikuti dengan huruf berbeda, memiliki perbedaan yang nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Biosida PPM dirancang untuk menekan bahkan mematikan kontaminan-kontaminan yang ada disekitar eksplan baik di dalam maupun diluar eksplan dengan cara mengganggu metabolisme dari kontaminan-kontaminan tersebut agar tidak bisa bertahan pada media yang sudah tercampur dengan biosida PPM. Pengaruh pemberian biosida PPM sebagai langkah meminimalisir terhadap munculnya kontaminasi endogen tentunya bisa mengurangi kemungkinan eksplan yang

ditanam untuk terkontaminasi apalagi jika dikombinasikan sterilisasi eksplan untuk mencegah kontaminasi dari permukaan eksplan, maka kemungkinan eksplan dan bahan tanam lain terkontaminasi akan sangat kecil.

Pada penelitian ini, hari kontaminasi muncul pertama kali menunjukkan rata-rata waktu yang beragam dengan asal kontaminasi pada bagian bawah permukaan eksplan yang didapati pada penelitian tersebut yaitu kurang dari 7 hari hingga

membutuhkan waktu lebih lama yaitu hingga lebih dari 10 hari hingga kontaminasi muncul. Sehingga melalui penelitian tersebut secara langsung menyampaikan pentingnya sterilisasi eksplan sebagai langkah pencegahan munculnya kontaminasi pada awal maupun seterusnya ketika melakukan kegiatan kultur secara *in vitro* dikarenakan kontaminasi yang muncul pada penelitian tersebut berasal dari bagian bawah permukaan eksplan yang diasumsikan bahwa kontaminasi tersebut berasal dari eksplan

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Adanya interaksi antara faktor P (Sterilisasi Eksplan) dan faktor Q (Konsentrasi PPM) terhadap variabel persentase kontaminasi jamur, persentase kontaminasi bakteri, persentase kontaminasi media dan hari muncul kontaminasi pertama tetapi tidak memiliki interaksi pada variabel persentase kontaminasi eksplan dan persentase kematian eksplan.

Biosida PPM terbukti efektif menekan kontaminasi apabila dikombinasikan dengan sterilisasi eksplan menggunakan bahan sterilan lain.

Pada perbanyak tanaman krisan secara *in vitro*, penggunaan biosida PPM baik digunakan pada dosis 2.5 ml/l dikarenakan pada dosis ini, tingkat kontaminasi yang ada cenderung rendah sehingga penggunaan PPM terbukti efektif menekan pertumbuhan dari kontaminan-kontaminan yang ada.

Saran

Penggunaan biosida Plant Preservative Mixture (PPM) harus dikombinasikan dengan sterilisasi eksplan yang sesuai. Biosida ini tidak efektif jika digunakan sebagai bahan sterilan tunggal.

REFERENCES

Ardiansyah, R., Supriyanto, A. S. Wulandari, B. Subandy, dan Y.

Fitriani. 2014. Teknik Sterilisasi Eksplan dan Induksi Tunas dalam Mikropropagasi Tembesu (*Fagraea fragrans* ROXB). *Jurnal Silvikultur Tropika*. Bogor. 5 (3) : 167 – 173.

Anitha, G., Swaminathan, M. S., Shiragur, M., Nishani, S., & Latha, P. (2022). *In vitro* propagation of chrysanthemum through petals. ~ 47 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 11(7), 47–50. Retrieved from www.thepharmajournal.com

Chen, Q., Gao, K., Pan, B., Wang, Y., Chen, L., Yu, J., ... Huang, C. (2024). Construction of Optimal Regeneration System for Chrysanthemum ‘11-C-2’ Stem Segment with Buds. *Plants*, 13(17). <https://doi.org/10.3390/plants13172403>

Faizah, K. N. 2019. Pengaruh Jenis Antibiorik Plant Preservative Mixture dan Propolis Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Earle, E. D., & Langhans, R. W. (2022). Propagation of Chrysanthemum in Vitro. I. Multiple Plantlets from Shoot Tips and the Establishment of Tissue Cultures^{1,2}. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 99(2), 128–131. <https://doi.org/10.21273/jashs.99.2.128>

Faizy, H. S., S. R. Al – Zubaydi, dan M. Nair. 2017. Effect of Plant Preservative Mixture PPMTM on the Shoot Regeneration of Watercress (*Nasturtium officinale*). *Journals.uos.edu.krd*. 5 (2) : 187 -192.

Hermawan, B.. 2022. Ekspor Bunga Krisan Indonesia Terus Mengalami Peningkatan. *Republika.co.id*. <https://www.republika.co.id/berita/rjy>

- oi0354/ekspor-bunga-krisan-indonesia-terus-mengalami-peningkatan#:~:text=Volume%20ekspor%20bunga%20krisan%20pada,Hortikultura%20Kementerian%20Pertanian%20Prihasto%20Setyanto. Diakses: 3 Desember 2022.
- Imtiaz, M., Khattak, A. M., Khan, M. A., Jalal, F., Hussain, S., Said, F., & Bo, H. (2019). Rapid in-vitro propagation of chrysanthemum morifolium through shoot bud explants. *Pakistan Journal of Botany*, 51(3), 1093–1098. [https://doi.org/10.30848/PJB2019-3\(11\)](https://doi.org/10.30848/PJB2019-3(11))
- Kalia, R. (2015). Effect of Different Concentrations of Auxins on the Regeneration of Chrysanthemum Morifolium Plantlets. *International Journal of Technical Research and Application*, 3(6), 106–107.
- Kazmi, E. M., Shatnawi, M. A., & Ghair, A. M. (2025). Mitigating lead-stress in Chrysanthemum morifolium through nanoparticle applications: A novel approach in Ecological Engineering. *Crop Research*, 60(3–4), 197–204. <https://doi.org/10.31830/2454-1761.2025.CR-1022>
- Kuritskaya, E. V., Nedoluzhko, A. I., Vrzhosek, E. V., & Boltchenk, E. V. (2016). Micropropagation of Chrysanthemum leiophyllum (Asteraceae). *Turczaninowia*, 19(2), 99–104. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.19.2.13>
- Mitrofanova, O. V., Lesnikova-Sedoshenko, N. P., Ivanovaa, N. N., Smykova, N. V., & Mitrofanova, I. V. (2020). In vitro propagation and preservation of promising chrysanthemum cultivars and hybrid forms. In *Acta Horticulturae* (Vol. 1285, pp. 139–145). International Society for Horticultural Science. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1285.22>
- Miranti, I. P., & Andriani, V. (2022). Aplikasi Sari Akar Eceng Gondok Pada Media Murashige And Skoog (MS) Sebagai Media Multiplikasi Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat, Varietas Puspita Nusantara) Secara In Vitro. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*, 14(2), 169–174. <https://doi.org/10.25134/quagga.v14i2.4500>
- Mahrana, A. A., R. K. Hapsari, dan H. Nugroho. 2020. Penerapan Naive Bayes Gaussian pada Klasifikasi Jenis Jamur Berdasarkan Ciri Statistik Orde Pertama. *Jurnal Ilmiah NERO* 5 (2) : 91 – 99.
- MT Jahan, MR Islam, SAM Shariar Islam, Pronabananda Das, Md Monirul Islam, MH Kabir, & ANK Mamun. (2021). Clonal propagation of Chrysanthemum morifolium ramat using various explants obtained from field grown plants. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 087–093. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.16.2.0231>
- Mandang, J. P., B. Doodoh dan D. Kojoh. 2017. Kultur Jaringan Tanaman. CV Patra Media Grafindo. Bandung.
- Nhut, D. T., Ngan, H. T. M., Mai, N. T. N., & Tung, H. T. (2022). In Vitro Hydroponic Culture System in Plant Micropropagation. In *Plant Tissue Culture: New Techniques and Application in Horticultural Species of Tropical Region* (pp. 191–206). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6498-4_10
- Oratmangun, K. M., D. Pandiangana dan F. E. Kandou. 2017. Deskripsi Jenis-jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 6 (1) : 47 – 52.

- Probowati D. W. N. 2015. Pengaruh Pemberian Antibiotika Pada Kultur In Vitro Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br). Institut Pertanian Bogor.
- 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(7), 103–111. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50716>