

POLIPLOIDISASI TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* R.) PADA BERBAGAI VARIETAS DAN LAMA PERENDAMAN KOLKISIN SECARA *IN VITRO*



KYLA BADZLIN HARTANTO

G011191014



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**POLIPLOIDISASI TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* R.)
PADA BERBAGAI VARIETAS DAN LAMA PERENDAMAN KOLKISIN
SECARA *IN VITRO***

KYLA BADZLIN HARTANTO

G011191014



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**POLIPLOIDISASI TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* R.)
PADA BERBAGAI VARIETAS DAN LAMA PERENDAMAN KOLKISIN
SECARA *IN VITRO***

KYLA BADZLIN HARTANTO

G011191014

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Agroteknologi

Pada

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

**POLIPLOIDISASI TANAMAN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* R.)
PADA BERBAGAI VARIETAS DAN LAMA PERENDAMAN KOLKISIN
SECARA *IN VITRO*****KYLA BADZLIN HARTANTO**
G011191014

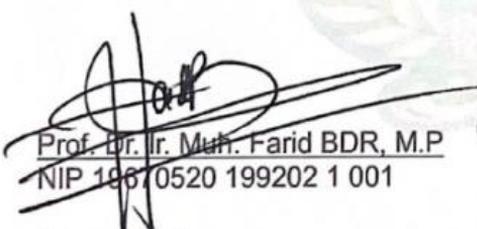
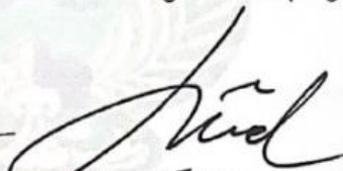
Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 15 Agustus 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian
Univeristas Hasanuddin
MakassarMengesahkan:
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, M.P
NIP 19670520 199202 1 001
Dr. Muhammad Fuad Anshori, S.P., M. Si
NIP 19921115 202012 1 010Mengetahui:
Ketua Program Studi AgroteknologiKetua Departemen Budidaya
Pertanian
Dr. Ir. Abd. Haris B., M. Si
NIP 19670811 199403 1 003
Dr. Hari Iswoyo, S. P., M. A.
NIP 19760508 200501 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Poliploidisasi Tanaman Krisan (*Cryssantemum morifolium* R.) pada Berbagai Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Secara *In Vitro*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, M.P dan Dr. Muhammad Fuad Anshori, S.P., M. Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 15 Agustus 2024



KYLA BADZLIN HARTANTO
G011191014

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang penulis lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, M.P. sebagai pembimbing pertama, Dr. Muhammad Fuad Anshori, S.P. M.Si sebagai pembimbing kedua, Dr. Ir. Muh. Riadi, M.P. sebagai penguji pertama, Dr. Ir. Katriani Mantja, M.P. sebagai penguji kedua, dan Dr. Ifayanti Ridwan Saleh, S.P. M.P. sebagai penguji ketiga. Penulis mengucapkan berlimpah terima kasih kepada para pembimbing dan penguji.

Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada dekan dan wakil dekan Fakultas Pertanian yang telah memfasilitasi penulis menempuh program sarjana serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada keluarga tercinta Bapak Kurniawan Agung Hartanto, Ibu Baiq Damar Asri, Adik Shira Adabina Hartanto, dan Adik Kiras Azka Hartanto saya mengucapkan limpah terima kasih atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama penulis menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga penulis sampaikan kepada sahabat-sahabat tercinta Dita, Tania, Caca, dan Ucha. Pun sahabat seperjuangan sejak awal berkuliah Dini, Wanda dan Uyun atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai. Teman-teman seperjuangan *Plant Breeding 19* (Abi, Mulham, Fajar, Syar, Indah, Nuning, Nisa Riadhul, Aldi, Haris, Rifdah, Salsa, Yuzril, Nisa Luthfia, Arna, lin, dan Fira) yang memberi masukan dalam menyelesaikan skripsi. Tidak lupa pula ucapan terima kasih penulis sampaikan pada semua pihak yang telah membantu selama penelitian berlangsung hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis,

Kyla Badzliin Hartanto

ABSTRAK

KYLA BADZLIN HARTANTO. **Poliploidisasi Tanaman Krisan (*Cryssantemum morifolium* R.) pada Berbagai Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Secara *In Vitro*** (dibimbing oleh Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, M.P dan Dr. Muhammad Fuad Anshori, S.P., M. Si).

Latar belakang. Bunga krisan sebagai komoditas unggulan memiliki nilai jual tinggi di pasar global. Permintaan akan jenis dan varietas baru dengan karakteristik unik seperti warna, bentuk, dan ukuran yang beragam terus meningkat. Salah satu pendekatan untuk mencapai keragaman tersebut adalah melalui teknik mutasi dengan memanfaatkan mutagen kimia seperti kolkisin agar mendapatkan tanaman poliploid. **Tujuan.** Penelitian bertujuan mengetahui lama perendaman dalam larutan kolkisin dan varietas krisan terbaik dalam membentuk tanaman poliploid secara *in vitro*. **Metode.** Penelitian dibagi menjadi empat tahap, yakni: 1) pembuatan media kultur; 2) pembuatan larutan kolkisin; 3) perendaman planlet pada larutan kolkisin dan penanaman; 4) pengamatan tanaman selama 12 Minggu Setelah Tanam. Analisis ragam dilakukan menggunakan program Microsoft Excel 2010. **Hasil.** Penggandaan kromosom pada tanaman krisan setelah induksi kolkisin 0.05% dengan lama perendaman yang berbeda menghasilkan tanaman mixoploid atau penggandaan kromosom tertinggi sebesar 9.18% + 18.82% yaitu pada varietas Lolipop dengan lama perendaman 12 jam. Sementara itu, perlakuan lain tidak menunjukkan penggandaan kromosom dan tetap diploid, namun memiliki tingkat variasi kromosom yang berbeda-beda. **Kesimpulan.** Terdapat interaksi yang signifikan antara varietas tanaman krisan dan lama perendaman kolkisin yang menyebabkan terjadinya poliploidisasi, khususnya pada varietas Lolipop dengan lama perendaman selama 12 jam.

Kata kunci: poliploidisasi; krisan; kromosom; kolkisin; *in vitro*

ABSTRACT

KYLA BADZLIN HARTANTO. **Polyloidization of Chrysanthemum Plants (*Chrysanthemum morifolium*R.) on various varieties and duration of colchicine soaking *In Vitro*** (dibimbing oleh Prof. Dr. Ir. Muh. Farid BDR, M.P dan Dr. Muhammad Fuad Anshori, S.P., M. Si).

Background. Chrysanthemum flowers as a eminent commodity have a high selling value on the global market. The demand for new types and varieties with unique characteristics such as various colors, shapes and sizes continues to increase. One approach to achieving this diversity is through mutation techniques using chemical mutagens such as colchicine to obtain polyploid plants. **Aim.** This research aims to know the length of soaking in colchicine solution and the best chrysanthemum varieties in forming polyploid plants *in vitro*. **Methods** The research consisted of four serial steps, *i.e.* 1) making culture media; 2) making colchicine solution; 3) soaking the plantlets in colchicine solution and planting; 4) plant observations for 12 Weeks after Planting. Analysis of variance was carried out using the Microsoft Excel 2010 program. **Results.** Chromosome doubling in chrysanthemum plants after 0.05% colchicine induction with different soaking times produced mixoploid plants or the highest chromosome doubling of 9.18 + 18.82% which is the Lolipop variety with the length of soaking for 12 hours. Meanwhile, other treatments did not show chromosome doubling and remained diploid, but had different levels of chromosome variation. **Conclusion.** There was a significant interaction between chrysanthemum plant varieties and the length of soaking in colchicine which caused polyploidization, especially in the Lollipop variety with a soaking time of 12 hours.

Key words: polyploidization; chrysanthemum; chromosome; colchicine; *in vitro*

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|-------------------------------------|----------------|
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Teori | 2 |
| 1.3. Hipotesis | 3 |
| 1.4. Tujuan dan Manfaat | 3 |
| BAB II METODE PENELITIAN..... | 4 |
| 2.1. Tempat dan Waktu | 4 |
| 2.2. Bahan dan Alat | 4 |
| 2.3. Metode Penelitian..... | 4 |
| 2.4. Pelaksanaan Penelitian..... | 4 |
| 2.5. Pengamatan dan Pengukuran..... | 6 |
| BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN | 8 |
| 3.1 Hasil | 8 |
| 3.2 Pembahasan | 20 |
| BAB IV KESIMPULAN | 23 |
| DAFTAR PUSTAKA | 24 |
| RIWAYAT HIDUP | 41 |

DAFTAR TABEL

| Nomor urut | Halaman |
|--|---------|
| 1. Persentase Hidup Planlet Tanaman Krisan Setelah Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> Umur 12 MST..... | 8 |
| 2. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Berakar Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> | 10 |
| 3. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Bertunas Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> | 11 |
| 4. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Membentuk Planlet Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> | 13 |
| 5. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Akar Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> Umur 12 MST | 14 |
| 6. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Tunas Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> Umur 12 MST | 16 |
| 7. Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Daun Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> Umur 12 MST | 17 |
| 8. Hasil Analisis Ploidi Ketiga Varietas Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 19 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor urut | | Halaman |
|------------|---|---------|
| 1. | Grafik Persentase Hidup Planlet (%) Tanaman Krisan Minggu Kedua Belas Setelah Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 9 |
| 2. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Tunas Tanaman Krisan Minggu Kedua Belas Secara <i>In Vitro</i> | 10 |
| 3. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Daun (Helai) Tanaman Krisan Minggu Kedua Belas Secara <i>In Vitro</i> | 12 |
| 4. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Jumlah Akar Tanaman Krisan Minggu Kedua Belas Secara <i>In Vitro</i> | 13 |
| 5. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Bertunas (Hari) Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> | 15 |
| 6. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Berakar (Hari) Tanaman Krisan Secara <i>In Vitro</i> | 16 |
| 7. | Grafik Pengaruh Varietas dan Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Kecepatan Waktu Membentuk Planlet (Hari) Secara <i>In Vitro</i> | 18 |
| 8. | Grafik Hasil Analisis Ploidi Krtiga Varietas Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 19 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor urut | Tabel | Halaman |
|------------|---|---------|
| 1. | Komposisi Media Murashige dan Skoog | 26 |
| 2. | Deskripsi Krisan Pinka Pinky | 27 |
| 3. | Deskripsi Krisan Lolipop..... | 28 |
| 4. | Deskripsi Krisan Maruta | 29 |
| 5. a. | Waktu Berakar (Hari) Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 30 |
| 5. b. | Sidik Ragam Waktu Berakar Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 30 |
| 6. a. | Waktu Bertunas (Hari) Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 31 |
| 6. b. | Sidik Ragam Waktu Bertunas Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 31 |
| 7. a. | Waktu Membentuk Planlet (Hari) Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 32 |
| 7. b. | Sidik Ragam Waktu Membentuk Planlet Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 32 |
| 8. a. | Jumlah Akar Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 33 |
| 8. b. | Sidik Ragam Jumlah Akar Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 33 |
| 9. a. | Jumlah Tunas Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 34 |
| 9. b. | Sidik Ragam Jumlah Tunas Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 34 |
| 10 a. | Jumlah Daun (Helai) Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 35 |
| 10 b. | Sidik Ragam Jumlah Daun Tanaman Krisan Hasil Induksi Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | 35 |

| Nomor urut | Gambar | Halaman |
|--|--------|---------|
| 1. Denah Pengacakan Rancangan Petak Terpisah (RPT) dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK)..... | | 36 |
| 2. Pertumbuhan Ketiga Varietas Tanaman Krisan pada Berbagai Lama Perendaman Kolkisin yang sama Secara <i>In Vitro</i> | | 38 |
| 3. Pertumbuhan Varietas Tanaman Krisan pada Berbagai Lama Perendaman Kolkisin Secara <i>In Vitro</i> | | 40 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Bunga krisan sebagai tanaman hias unggulan baik untuk bunga potong maupun pot, kini mendapatkan popularitas yang semakin meningkat dan menjadi fokus utama pengembangan. Bukan hanya berperan sebagai elemen dekoratif semata, krisan juga memiliki dampak ekonomi yang signifikan dengan meningkatkan kesejahteraan bagi para petani. Keindahan dan variasi warna, bentuk, serta kemudahan perawatannya membuat krisan diminati oleh konsumen di Indonesia. Permintaan bunga krisan baik bunga potong maupun bunga pot di dalam negeri dari tahun ke tahun menunjukkan kecenderungan yang semakin meningkat.

Di Indonesia, kebutuhan akan tanaman krisan pot cukup tinggi, sekitar 1.000 hingga 1.500 pot untuk pameran dan 5.000 pot untuk pernikahan. Di PT. Condido Agro, penjualan krisan pot setiap minggunya mencapai 2.500 hingga 3.000 pot. Selain untuk kebutuhan dalam negeri, tanaman krisan juga diekspor ke negara lain. Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS), volume ekspor tanaman krisan pada tahun 2021 mencapai 131,4 ton, meningkat 67,8% menjadi 220,6 ton pada tahun 2022. Permintaan yang terus meningkat harus diimbangi dengan produksi yang memadai. Berdasarkan data BPS, produksi bunga krisan di Indonesia pada tahun 2022 mencapai 323,61 juta tangkai, mengalami penurunan 5,94% dibandingkan tahun sebelumnya yang mencapai 344,03 juta tangkai.

Permintaan akan jenis dan varietas baru dengan karakteristik unik seperti warna, bentuk, dan ukuran yang beragam terus meningkat. Krisan varietas Pinky, Lolipop, dan Maruta menjadi pilihan utama bagi konsumen baik dalam negeri maupun luar negeri karena memiliki kombinasi yang menarik antara keindahan warna, bentuk bunga yang unik, dan daya tahan selama 10-14 hari. Varian pinky dengan warna merah muda yang cerah dan bentuk bunga yang besar memberikan kesan elegan dan menarik bagi pengguna. Sementara varietas Lolipop dengan perpaduan warna yang kontras dan bentuk bunga yang mencolok memberikan kesan modern dan menawan. Varian Maruta, dengan keindahan warna putih bersih dan bentuk bunga yang rapi, menjadi pilihan elegan untuk berbagai acara, seperti pameran dan pernikahan (Nakano *et al.*, 2021).

Kombinasi faktor estetika dan ketahanan tanaman krisan menjadi faktor utama banyak diminati. Salah satu pendekatan untuk mencapai keragaman tersebut adalah melalui teknik mutasi, seperti yang dijelaskan oleh Yoosumran *et al.* (2018). Krisan hasil mutase menawarkan variasi yang sangat luas, menciptakan pasar yang signifikan karena keberagaman jenis dan warna bunganya. Poliploidisasi, yang dapat diinduksi dengan bahan kimia seperti kolkisin, membuka peluang baru dalam pengembangan varietas krisan. Keberhasilan dalam menghasilkan sel poliploid tergantung pada sejumlah faktor, termasuk bagian

tanaman yang diolah, spesies, dan konsentrasi kolkisin yang digunakan. Pemahaman mendalam terhadap proses ini menjadi krusial untuk memastikan efisiensi dan keberhasilan dalam pengembangan varietas krisan yang lebih unggul.

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa lama perendaman dan konsentrasi kolkisin terhadap pertumbuhan dan karakteristik tanaman krisan. Daryono (2009) menemukan bahwa perendaman selama 12 dan 24 jam dengan konsentrasi 0,05% memberikan hasil terbaik pada tinggi tanaman, jumlah akar, daun, dan tunas. Di sisi lain, Nursalmin (2018) meneliti varietas Pasopati dan menemukan bahwa konsentrasi 0,04% kolkisin pada perendaman selama 1 jam memberikan pengaruh lebih baik terhadap jumlah daun, buku, dan akar. Studi oleh Sulistianingsih (2004) pada tanaman anggrek *dendrobium* hibrida menunjukkan bahwa konsentrasi 0,02% kolkisin dengan perendaman selama 6 jam memberikan hasil terbaik pada diameter batang dan ukuran bunga. Hasil penelitian terbaru oleh Sudirman (2022) pada tanaman talas safira menegaskan bahwa penggunaan kolkisin dengan konsentrasi rendah dan perendaman yang optimal dapat efektif menggandakan kromosom.

Penelitian sebelumnya, termasuk hasil dari Heo *et al.* (2016), menegaskan bahwa perendaman yang hati-hati dengan konsentrasi kolkisin yang rendah dapat meningkatkan efisiensi produksi poliploid. Dengan demikian, penerapan metode ini tidak hanya memberikan landasan yang kokoh untuk pengembangan varietas krisan yang lebih berkualitas, tetapi juga membuka pintu untuk inovasi dalam pemuliaan tanaman. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai Poliploidisasi Tanaman Krisan pada Berbagai Lama Perendaman Kolkisin Secara In Vitro.

1.2. Teori

Induksi poliploid adalah jenis mutasi buatan yang meningkatkan jumlah set kromosom dalam suatu organisme. Penggandaan kromosom dapat dilakukan menggunakan senyawa kimia tertentu, seperti colchicine, bio-catharanthine, dan oryzalin (Amnah, 2021). Tumbuhan yang mengalami poliploidisasi memiliki pola pertumbuhan, ciri morfologi, anatomi, genetika, fisiologi, dan produktivitas yang berbeda dengan tumbuhan diploidnya. Hal ini dapat menghasilkan perubahan dramatis dalam perbandingan genetik dan interpretasi data (Eka *et al.*, 2014).

Kromosom memainkan peran penting dalam menentukan karakteristik genetik dan fenotipik tanaman krisan. Meskipun variasi genetik telah dikembangkan melalui pemuliaan selektif, krisan umumnya memiliki 18 hingga 54 pasang kromosom dalam sel-selnya. Setiap kromosom membawa sejumlah besar gen yang mengatur berbagai sifat tanaman, seperti warna bunga, ukuran dan bentuk bunga, ketahanan terhadap penyakit, dan periode berbunga (Nilahayati, 2011).

Tanaman krisan mempunyai jumlah kromosom yang sangat beragam pada kultivar yang berbeda, yaitu $2n=18; 36; 45; 47; 51-75$. Menurut Bose dan Yadav (1992) sebagian besar kultivar krisan Cina adalah heksaploid dan aneuploid, terbagi kedalam tiga golongan, yaitu: kultivar-kultivar sebelumnya yang telah ada dan beberapa kultivar krisan berbunga besar mempunyai jumlah kromosom 54(1

kromosom; 52-57 kromosom; dan 58-71 kromosom. kultivar tanaman krisan tanpa perlakuan kolkisin didapatkan jumlah kromosom $2n=36$ dan $2n=54$ kromosom. Sedangkan, dengan perlakuan kolkisin diperoleh planlet yang memiliki jumlah kromosom 72-108 kromosom (Nilahayati, 2011).

Amanah (2016) dalam Kasmiasi (2021) menyatakan bahwa sifat kromosom, morfologi, dan fisiologis individu bersifat poliploid, berbeda dengan tumbuhan diploid. Misalnya, tanaman poliploid memiliki jumlah kromosom yang lebih banyak daripada kromosom awal. Sementara itu, dari segi morfologi menghasilkan tanaman yang lebih tahan dan memiliki daun, bunga, dan buah yang lebih luas, yang juga lebih besar. Sebagai perbandingan, ciri fisiologis tanaman poliploidi menunjukkan perubahan metabolit sekunder seperti kandungan *capsaicin* dan *karotenoid*.

Pada tanaman poliploid, jumlah kromosom yang lebih banyak menyebabkan ukuran sel dan nukleus bertambah. Lebih banyak sel raksasa menghasilkan lebih banyak bagian tanaman yang signifikan seperti daun, bunga, buah, dan tanaman secara keseluruhan (Haryanti et al., 2009 dalam Mursanto, 2022). Dalam beberapa dekade terakhir, poliploidi berkembang pesat, dan beberapa tanaman hias dan buah berhasil diinduksi poliploidi (Stanys et al., 2006 dalam Kasmiasi 2021).

1.3. Hipotesis

1. Terdapat interaksi varietas dan lama perendaman kolkisin yang mengakibatkan terjadinya poliploidisasi pada tanaman krisan secara *in vitro*.
2. Terdapat lama perendaman kolkisin yang mengakibatkan terjadinya poliploidisasi pada tanaman krisan secara *in vitro*.
3. Terdapat varietas tanaman krisan yang mengalami poliploidisasi secara *in vitro*.

1.4. Tujuan dan Manfaat

1. Mengidentifikasi interaksi varietas dan lama perendaman kolkisin yang mengakibatkan terjadinya poliploidisasi pada tanaman krisan secara *in vitro*.
2. Menentukan lama perendaman kolkisin yang mengakibatkan terjadinya poliploidisasi pada tanaman krisan secara *in vitro*
3. Menentukan varietas tanaman krisan yang mengalami poliploidisasi secara *in vitro*.

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai bahan informasi tentang penggunaan kombinasi varietas krisan dan lama perendaman dalam pembentukan poliploid krisan.

jam. Menyalakan *blower* dan lampu laminar, kemudian laminar tersebut disemprot dengan alkohol 70% dan mengeringkannya dengan tisu. *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) di UV selama satu jam.

2.4.2 Pembuatan Larutan Media MS

Persiapan media diawali dengan pembuatan larutan stok dengan komposisi media MS (Lampiran 1). Volume untuk masing-masing stok MS adalah 1000 ml. Pembuatan larutan stok dilakukan dengan melarutkan komposisi bahan kimia dengan menggunakan *aquades* steril. Bahan kimia dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambah 50 ml *aquades* steril, selanjutnya diaduk hingga semua bahan larut. Terakhir dengan mencukupkan larutan stok hingga mencapai volume 1000 ml. Hal tersebut dilakukan sama untuk semua pembuatan larutan stok MS yang lainnya.

Pembuatan 1000 ml media MS dengan adalah menyiapkan akuades steril sebanyak kurang lebih 200 ml ke dalam gelas tabung erlenmeyer ukuran 1000 ml. Memasukkan larutan stok (A, B, C, D, E, F, G dan H) secara berurutan komponen satu persatu sambil dilakukan pengadukan kemudian memasukkan 100 ml air kelapa dan gula 30 gram. Selanjutnya ditambahkan *aquades* steril hingga 1000 ml. Selanjutnya menyesuaikan pH hingga 5,8 dengan menambahkan NaOH atau HCl. Setelah itu, dimasukkan ke dalam panci dan ditambahkan agar-agar sebanyak 7 gram. Pemanasan media dilakukan diatas kompor listrik sambil diaduk hingga mendekati titik didih 98°C. Setelah media mendidih, media diangkat dan dituang pada botol kultur masing-masing sebanyak 25 ml. Selanjutnya botol kultur ditutup dengan *aluminium foil* dan diikat dengan karet gelang. Media disterilisasi dengan autoclave pada tekanan 10 psi selama 15 menit. Selanjutnya botol kultur yang berisi media ditempatkan pada rak kultur selama 1 minggu untuk mengetahui ke sterilan media.

2.4.3 Pembuatan Larutan Kolkisin

2.4.3.1 Pembuatan Larutan Stok Kolkisin

Pembuatan larutan stok kolkisin sebesar 0,6% (0,6 g kolkisin/100 mL dengan perbandingan 50 mL DMSO dan 50 mL *aquades* steril) (Dimodifikasi dari Sudirman, 2022). Pembuatan larutan kolkisin dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* yaitu sebagai berikut:

- a. *Laminar air flow cabinet* disterilkan dengan alkohol 70% dan ruang tanam dengan alkohol 96%, kemudian dидiamkan selama satu jam.
- b. Senyawa kolkisin yang ditimbang sebanyak 0,6 gram yang dimasukkan ke dalam tabung *erlenmeyer* yang berisi DMSO 50 mL dan *aquades* steril 50 mL. Tabung *erlenmeyer* yang berisi larutan kolkisin tersebut ditutup dengan erat menggunakan plastik kemudian menggoyangkan wadah kolkisin untuk meratakan (*blower* pada laminar dan AC ruang tanam dimatikan).

- c. Tabung *erlenmeyer* yang telah berisi larutan kolkisin, kemudian disimpan di dalam lemari pendingin.

2.4.3.2 Pengenceran Larutan Kolkisin untuk Perlakuan Perendaman

Pengenceran konsentrasi kolkisin dalam 100 mL dilakukan di dalam laminar dengan mengacuh pada rumus pengenceran yaitu, $M1.V1 = M2.V2$, maka. Pada konsentrasi 0.05% yaitu mengambil 8,3 ml dari larutan stok kolkisin dan ditambahkan 91,7 mL *aquades* steril.

2.4.3.3 Perendaman Eksplan dalam Larutan Kolkisin dan Penanaman

Eksplan yang digunakan sebagai bahan untuk induksi poliploidi adalah mata tunas tanaman krisan yang disubkultur dari planlet tanaman krisan. Tunas tanaman krisan hasil subkultur dihilangkan cabang dan daunnya dipotong sampai berukuran 1-3 cm dengan 2 mata tunas. Sebelum melakukan perendaman, tunas tersebut dicuci dengan *aquades* steril sebanyak 2 kali. Perendaman dilakukan dengan merendam tunas pada larutan kolkisin pada konsentrasi 0.05% sesuai dengan lama perendaman perlakuan yaitu perendaman 0 jam (t_0), 4 jam (t_1), perendaman 8 jam (t_2), dan perendaman 12 jam (t_3). Tunas direndam dalam botol kultur berisi 15 mL larutan kolkisin dan dikocok dengan waktu 100 rpm di atas shaker. Setelah perendaman, eksplan dicuci dengan *aquades* steril sebanyak 4 kali kemudian ditanam ke media perbanyak tunas (Dimodifikasi dari Sudirman, 2022). Tunas dipelihara di dalam ruang inkubasi pada suhu 25-26°C dengan penyinaran 16 jam/hari dan intensitas penyinaran $\pm 1.000-2.000$ lux. Tunas diinkubasi selama 12 MST (Minggu Setelah Tanam).

2.4.3.4 Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70 % pada botol kultur untuk menghindarinya kontaminasi di setiap perlakuan penelitian. Penyemprotan dengan alkohol dilakukan setiap hari. Apabila terdapat kontaminasi, maka botol kultur segera dikeluarkan dari ruang inkubasi.

2.5. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setiap minggu dari luar botol kultur selama 12 MST. Dimodifikasi dari Sudirman, 2022 bahwa beberapa parameter yang diamati dari eksplan tunas sebagai berikut :

1. Persentase Hidup Tunas (%)

Pada pengamatan persentase hidup tunas dilakukan setelah perendaman dan penanaman. Pengamatan dilakukan sampai 12 MST.

$$\text{Persentase hidup tunas} = \frac{(\sum \text{eksplan yang ditanam} - \sum \text{eksplan mati})}{(\sum \text{eksplan yang ditanam})} \times 100 \%$$

2. Jumlah Tunas

Menghitung jumlah tunas berdasarkan tunas yang telah terbentuk sampai 12 MST. Perhitungan tunas dengan melihat bahwa tunas tersebut tidak berada

dalam satu pangkal tunas. Apabila berada dalam satu pangkal tunas, maka tunas tersebut dihitung sebagai satu tunas.

3. Jumlah Daun (Helai)

Menghitung jumlah daun yang tumbuh setelah perlakuan perendaman sampai 12 MST. Penghitungan daun berdasarkan daun yang telah membuka sempurna.

4. Jumlah Akar

Menghitung jumlah akar berdasarkan akar yang telah terbentuk sampai 12 MST dan hidup. Perhitungan akar dimulai ketika sudah mulai muncul bintil akar.

5. Waktu Bertunas (HST)

Menghitung waktu bertunas dengan melihat waktu (hari) pertama kali muncul tunas pada sampel setelah perlakuan.

6. Waktu Berakar (HST)

Menghitung waktu berakar dengan melihat waktu (hari) pertama kali muncul akar pada sampel setelah perlakuan.

7. Waktu Membentuk Planlet (HST)

Menghitung waktu membentuk planlet dengan melihat waktu (hari) dimana pada sampel sudah terbentuk tunas dan akar serta memiliki daun setelah perlakuan.

8. Analisis Poliploidi

Analisis tingkat poliploidi dilakukan dengan menggunakan *flowcytometry*. Sampel diambil dari bagian daun ± 25 mm² dari tanaman yang diberikan perlakuan. Sampel kemudian dihaluskan menggunakan razor blade di dalam petri dish dengan menambahkan 0,2 mL buffer ekstrasi (larutan A dari Partec Kit), kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah itu, Supernata dari sampel kemudian disaring dengan menggunakan nylon kesh berukuran 30 μ m dan ditempatkan pada cuvet yang selanjutnya ditambahkan ke dalamnya 1 mL larutan DAPI. Sampel diinkubasi lagi selama 1 menit. Sampel kemudian dimasukkan kedalam alat *flowcytometry*. Pada alat akan membaca intensitas cahaya dari sampel diukur untuk menunjukkan jumlah perubahan ploidi yang terjadi yang akan ditunjukkan melalui grafik yang ditampilkan dalam alat (Qalby et al., 2020).

Data dianalisis dengan uji F untuk mengetahui interaksinya antara varietas dengan lama perendaman. Apabila sidik ragam yang diperoleh berpengaruh nyata, selanjutnya melakukan uji lanjut BNT pada taraf nyata 5% untuk mengetahui pengaruh beda antar perlakuan, kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi orthogonal polynomial. Pengolahan data menggunakan program *Microsoft Office Excel*. Analisis kromosom dengan menggunakan *Flowcytometri*.