

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) menjadi salah satu jenis tanaman hias berupa bunga pot maupun bunga potong yang memiliki nilai ekonomi tinggi serta populer di Indonesia. Bunga potong menjadi yang paling diminati dan diperdagangkan secara global (Patel et al., 2021). Tanaman krisan termasuk bunga potong *trendsetter* di Indonesia karena memiliki berbagai keunggulan yaitu kaya akan warna, estetika tinggi, ukuran dan bentuk yang bervariasi, tahan lama serta memiliki bau yang harum, sehingga memiliki daya tarik tinggi. Produksi tanaman krisan dalam lima tahun terakhir terjadi fluktuasi sehingga membuat produksi tanaman krisan tidak stabil (Dinika et al., 2021).

Produksi tanaman krisan berdasarkan BPS 2025 dalam lima tahun terakhir. Rata-rata produksi 2020-2022 sebanyak 373.999.738, kemudian pada tahun 2023 mengalami peningkatan 464.604.008 namun 2024 mengalami penurunan 463.355.867. Penurunan produksi pada tahun terakhir, menyebabkan dampak besar pada volume ekspor yang semakin rendah, apabila dibandingkan dengan Malaysia yang memiliki volume ekspor terbanyak di ASEAN. Rendahnya volume ekspor terjadi akibat kurang memenuhi standar kualitas yang diinginkan oleh negara konsumen (Sukmayanti et al., 2022).

Standar kualitas tanaman krisan ekspor menjadi salah satu perhatian yang sering dilakukan beberapa tahun terakhir. Nursalmin et al. (2018) mengemukakan bahwa, standar kualitas yang diinginkan negara konsumen yaitu bunga yang berukuran besar, berbatang tegak dengan tinggi ± 70 cm, bunga bersih tidak ada bercak, serta mahkota yang tidak mudah rontok. Indonesia masih tergolong rendah dalam memperhatikan standar kualitas dari konsumen, sehingga perlu berbagai upaya dalam meningkatkan kualitas tersebut. Peningkatan kualitas dapat dilakukan dengan pemuliaan tanaman berupa induksi mutasi *in vitro*. Pemuliaan mutasi menjadi salah satu cara yang efektif dalam peningkatan variasi genetik tanaman hias.

Pemuliaan mutasi menyebabkan perubahan susunan genetik yang terjadi dalam gen dan kromosom sehingga menciptakan suatu keragaman genetik. Lestari (2021) mengatakan bahwa, Induksi mutasi pada tanaman hias telah banyak dikembangkan dengan tujuan untuk mendapatkan karakter baru yang lebih unggul. Beberapa varietas krisan yang berasal dari induksi mutasi memiliki karakter baru, unik dan bernilai komersial. Hasil tersebut diikuti dengan berkembangnya teknik *in vitro* yang berperan dalam percepatan regenerasi tanaman hasil mutasi. Salah satu mutagen yang sering digunakan dalam penggandaan kromosom adalah kolkisin.

Kolkisin berasal dari ekstrak biji *Colchicum autumnale* yang mampu menginduksi tanaman menjadi tanaman poliploidi pada konsentrasi dan waktu yang tepat. Poliploidi adalah kondisi organisme memiliki set kromosom lebih dari sepasang. Peningkatan ploidi akibat kolkisin mempengaruhi morfologi tanaman seperti meningkatnya ukuran daun, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar, diameter batang, ukuran bunga serta

dan lain-lain (Manzoor et al., 2019). Hasil dari pemberian kolkisin akan disebut mutan yang nantinya dapat diperbanyak dalam jumlah yang banyak secara in vitro.

Mutan merupakan hasil dari proses mutasi baik mutasi fisik, kimia maupun biologis. Mutan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari penelitian Rahmawati (2023), yang melakukan poliploidisasi secara in vitro pada tiga varietas tanaman krisan menggunakan berbagai konsentrasi kolkisin. Dimana dalam penelitian tersebut mutasi dilakukan dengan menghasilkan konsentrasi terbaik yakni 0,075% dan 0,1% dengan lama perendaman empat jam serta menggunakan tiga varietas krisan yaitu Pinka Pinky, Lolipop dan Maruta. Walaupun telah diperoleh konsentrasi kolkisin terbaik untuk menginduksi poliploidisasi pada tanaman krisan, pertumbuhan mutan pada tahap berikutnya perlu dievaluasi. Evaluasi ini dapat dilakukan dengan memperbanyak mutan yang dihasilkan. Perbanyak mutan dapat dilakukan dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) untuk mempercepat organogenesis.

ZPT adalah faktor penting dalam menghasilkan planlet yang unggul dan seragam. Asra et al. (2020) mengatakan bahwa, ZPT adalah senyawa alami non nutrisi yang bisa merangsang perkembangan dan pertumbuhan yang bekerja aktif dalam suatu tanaman, ZPT ini biasanya aktif dalam konsentrasi rendah yang membuat respon secara fisiologis, biokimia maupun morfologis menjadi terpengaruh. Berbagai jenis ZPT yang digunakan dalam perbanyak planlet secara in vitro adalah IAA (*Indole Acetic Acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*), dan BAP (*Benzyl Amino Purine*). Salah satu ZPT yang akan digunakan dalam evaluasi mutan dengan kegiatan subkultur adalah BAP.

BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila ditambahkan pada media akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu. BAP adalah sitokinin sintetik yang banyak digunakan dalam perbanyak tanaman secara in vitro. BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyak tunas, mudah didapat serta harga relatif murah (Sudheer et al, 2022). Meskipun demikian, BAP sebagai hormon tumbuh hanya bekerja optimal dalam jumlah tertentu, sehingga aplikasi sitokinin sintetik tersebut untuk perbanyak tunas dan produksi planlet harus diberikan sesuai konsentrasi yang dibutuhkan.

Penentuan konsentrasi BAP perlu dilakukan percobaan perbandingan, sehingga dapat mengetahui tingkat yang sesuai dan paling optimal dalam mendorong pertumbuhan tunas. Perbandingan konsentrasi meliputi 0,5 ppm, 1,0 ppm, 1,5 ppm, 2,0 ppm. Pemilihan rentang konsentrasi tersebut berdasarkan mekanisme kerja ZPT yaitu menstimulasi pertumbuhan pada konsentrasi yang rendah (Setianingsih et al., 2022). Dalam kultur in vitro, BAP akan bekerja secara optimal dalam proses pembelahan sel dan pembentukan tunas apabila ditambahkan pada media tumbuh seperti media MS (Sharde et al., 2024). Media MS merupakan jenis media yang paling umum digunakan, formulasi media MS terdapat hara makro dan mikro yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Fatana et al., 2024).

Berdasarkan uraian diatas, peningkatan kualitas tanaman krisan perlu dilakukan, melalui Evaluasi Mutan Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) Hasil Poliploidisasi Kolkisin pada Berbagai Konsentrasi BAP Secara In-Vitro, sehingga dapat menghasilkan varietas tanaman krisan yang memiliki sifat yang unggul.

1.2. Landasan Teori

Teknik pemuliaan tanaman telah banyak diterapkan dalam proses peningkatan varietas. Berbagai teknik yang dilakukan adalah melakukan pemasukan gen baru, seleksi, hibridisasi dan mutasi. Penerapan teknik mutasi telah terbukti menghasilkan berbagai varietas unggul yang komersial. Mutasi telah berhasil diterapkan pada tanaman hias dan buah-buahan dan pada tanaman pangan serta perkebunan, maka dari itu pemuliaan induksi mutasi sangat menjanjikan untuk menghasilkan tanaman dengan sifat yang unggul dan diinginkan. Pengembangan potensi yang difokuskan pada kegiatan mutasi seperti cekaman hama dan penyakit serta ketahanan terhadap kekeringan, lahan masam, suhu rendah serta salinitas (Damayanti, 2021).

Kultur jaringan menjadi salah satu metode untuk memperbanyak hasil mutan yang lebih efektif dibandingkan dilakukan di lapangan. Kultur jaringan adalah proses budidaya dengan cara perbanyak tanaman agar mendapatkan hasil secara massal. Perbanyak kultur jaringan mempunyai keuntungan mendapatkan bibit unggul yang seragam serta steril (Maulida et al., 2018). Yuniardi (2020) berpendapat bahwa, dengan teknik kultur jaringan berpeluang besar mendapatkan bibit dengan jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, serta dalam proses pertumbuhannya tidak dipengaruhi oleh musim dan tidak harus ditempat yang luas. Dalam proses kultur jaringan terdapat faktor yang menjadi pendukung dari berlangsungnya pertumbuhan tanaman yaitu dengan penambahan ZPT.

ZPT sangat penting dalam kultur jaringan karena mengontrol arah pertumbuhan eksplan yang dikulturkan. ZPT yang biasanya digunakan berasal dari golongan auksin maupun sitokinin. Auksin umumnya berfungsi untuk pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif. Sedangkan untuk sitokinin berperan terhadap pembelahan sel, pembesaran sel, menghambat penuaan bunga dan buah serta mendiferensiasi tunas. Air kelapa mengandung komposisi kimia dan nutrisi yang lengkap untuk pertumbuhan dan perkembangan planlet. Berdasarkan hasil penelitian Ridwan et al. (2023) 100 ml air kelapa menunjukkan munculnya tunas paling awal 9,04 hari dan pembentukan planlet 9,25 hari, serta jumlah rata-rata daun tertinggi 15,00 helai. Perlakuan air kelapa 200 ml menunjukkan jumlah rata-rata akar tertinggi 14,67 akar.

Kegiatan evaluasi mutan dilakukan dengan menggunakan BAP. Hormon BAP diketahui sangat efisien dalam memacu pertumbuhan tunas, perkembangan dan pembentukan daun, mudah didapatkan, dan cukup terjangkau (Wardani, 2022). Pemberian BAP pada konsentrasi tertentu memiliki pengaruh terhadap munculnya tunas dimana fungsi dari sitokinin itu sendiri adalah sebagai zat pengatur tumbuh yang efisien dalam merangsang pembentukan tunas. Sitokinin dibutuhkan guna memicu perkembangan dan pertumbuhan tunas melalui efektivitas pembelahan sel. Pada golongan sitokinin, BAP dikenal mampu memicu induksi tunas lebih baik dan efisien dibandingkan kinetin ataupun zeatin (Setianingsih et al., 2022).

BAP akan memberikan pengaruh yang optimal dalam proses pembentukan tunas apabila digunakan berdasarkan dengan konsentrasi yang tepat. Husnu et al. (2023) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa, Konsentrasi BAP 1,00 ppm memiliki pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan jumlah tunas krisan. Pemberian hormon BAP berpengaruh terhadap jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, dan tinggi planlet,

sedangkan hasil penelitian dari Arafah et al. (2021) menyatakan bahwa, perlakuan media utama *Murashige and Skoog* (MS) yang ditambahkan BAP 1,5 ppm merupakan media perlakuan yang paling optimum dalam mempengaruhi pertumbuhan tunas krisan secara in vitro.

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan konsentrasi BAP yang paling sesuai pada pertumbuhan mutan tanaman krisan.
 2. Mendapatkan mutan yang memiliki pertumbuhan terbaik
 3. Mengevaluasi pertumbuhan dan tingkat ploidi beberapa mutan tanaman krisan pada konsentrasi BAP.
 4. Untuk mendapatkan karakter yang menghasilkan nilai heritabilitas tinggi
- Manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu sebagai informasi atau referensi bagi mahasiswa lain dalam mengembangkan varietas tanaman krisan serta memberikan informasi tentang peningkatan kualitas tanaman krisan melalui mutasi.

1.4. Hipotesis

1. Terdapat satu atau lebih interaksi antara konsentrasi BAP dan Mutan tanaman Krisan yang memberikan pertumbuhan lebih baik.
2. Terdapat satu atau lebih konsentrasi BAP yang memberikan hasil lebih baik terhadap pertumbuhan mutan tanaman krisan.
3. Terdapat satu atau lebih mutan tanaman krisan yang memberikan pertumbuhan lebih baik.
4. Terdapat satu atau lebih perubahan pada tingkat poliploidi mutan tanaman krisan
5. Terdapat beberapa karakter yang menghasilkan nilai heritabilitas tinggi

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Pelaksanaan penelitian Oktober hingga Januari 2025.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mutan krisan varietas Pinka Pinky, varietas Lolipop, dan varietas Maruta, media *Murashige and Skoog* (MS), *Benzyl Amino Purine* (BAP), air kelapa, gula pasir, agar-agar, *aquades* steril, alkohol 96%, alkohol 70%, *aluminium foil*, karet gelang, label, *wrapping* plastik, spirtus, formalin dan *tissue* steril. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), autoklaf, *flow cytometry* (BD Accuri C6+, USA) timbangan analitik, botol kultur, gelas ukur, gelas piala, tabung erlenmeyer, corong, pipet tetes, pH meter, kompor, *hand sprayer*, cawan petri, bunsen, korek api, pinset, gunting, spuit, *scalpel*, dan batang pengaduk.

2.3. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan menggunakan rancangan Petak Terpisah (RPT) menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) sebagai rancangan lingkungan.

a. Petak utama adalah konsentrasi BAP (K) :

k0 = 0 ppm	k3 = 1,5 ppm
k1 = 0,5 ppm	k4 = 2,0 ppm
k2 = 1,0 ppm	

b. Anak petak adalah Mutan krisan (M) terdiri 9 mutan dari tiga induk dan terdapat masing-masing tiga mutan berbeda pada setiap induk yaitu Pinka Pinky (M1p,M2p,M3p), Lolipop (M1l,M2l,M3l) dan Maruta (M1m,M2m,M3m), yaitu:

m1 = m1p	m4 = m1l	m7 = m1m
m2 = m2p	m5 = m2l	m8 = m2m
m3 = m3p	m6 = m3l	m9 = m3m

Dengan demikian terdapat 45 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan jumlah unit setiap perlakuan dalam ulangan sebanyak 2 unit sehingga terdapat 270 unit percobaan.

2.4. Pelaksanaan Penelitian

2.4.1. Sterilisasi

Ruangan disemprot alkohol 96%, formalin dan di UV selama 24 jam. Botol dan alat tanam dicuci bersih menggunakan sabun cuci piring hingga bersih dan di keringkan. Pinset, cawan petri, dan beberapa botol yang akan digunakan dalam LAFC

dibungkus terlebih dahulu kemudian diautoklaf. Botol dan alat tanam disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Mengaktifkan LAFC dengan menyalakan lampu dan *blower*. Menyemprotkan alkohol 96%. Selanjutnya lampu dan *blower* dimatikan. Tutup LAFC dan kemudian UV selama 1 jam (60 menit).

2.4.2. Pembuatan Media Kultur

Persiapan media diawali dengan pembuatan larutan stok dengan komposisi media MS (Tabel Lampiran 11 a). Pembuatan larutan stok dilakukan dengan melarutkan komposisi bahan kimia dengan menggunakan *aquades* steril. Bahan kimia dimasukkan ke dalam gelas ukur sesuai dengan konsentrasi senyawa akhir mg/l.

Pembuatan 1000 ml media MS adalah menyiapkan *aquades* 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 20 g. Selanjutnya ditambahkan *aquades* steril hingga larutan media MS mencapai 1000 ml. Setelah itu, dimasukkan ke dalam panci dan ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/liter. Pemanasan media dilakukan diatas kompor sambil diaduk selama 15-20 menit sampai mendidih. Setelah media mendidih, media diangkat lalu ditambahkan BAP sesuai perlakuan kemudian diaduk dan dituang pada botol kultur masing-masing sebanyak 25 ml. Botol kultur ditutup dengan *aluminium foil* dan diikat dengan karet gelang. Media disterilisasi dalam *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit. Botol kultur yang berisi media ditempatkan pada rak kultur selama 1 minggu untuk mengetahui kesterilan media

2.4.3. Penanaman (sub kultur)

Pucuk tanaman krisan mutan (2 ruas) hasil induksi poliploidi sebagai eksplan dipotong dari planlet dan ditanam pada media MS yang dilengkapi ZPT BAP sesuai perlakuan, setiap botol kultur terdapat 2 eksplan. Setelah penanaman, botol ditutup rapat dengan menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi di dalam ruangan steril bersuhu 23-25°C dengan penyinaran 16 jam/hari dan intensitas penyinaran $\pm 1.000-2.000$ lux selama 8 minggu.

2.5. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dari eksplan tanaman krisan adalah sebagai berikut:

a. Persentase Planlet Hidup (%)

Pengamatan persentase hidup planlet dilakukan setelah penanaman. Pengamatan dilakukan hingga 12.

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

b. Waktu Bertunas (HST)

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

- c. Waktu Berakar (HST)
Menghitung waktu berakar dengan melihat waktu (hari) pertama kali muncul akar pada sampel setelah perlakuan.
- d. 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.
- e. Jumlah Tunas (buah)
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.
- f. Jumlah Daun (helai)
Menghitung jumlah daun yang tumbuh dari minggu pertama setelah perlakuan sampai 12 MST. Penghitungan daun berdasarkan daun yang telah membuka sempurna.
- g. Jumlah Akar (buah)
Menghitung jumlah akar berdasarkan akar yang telah terbentuk sampai 12 MST dan hidup. Perhitungan akar dimulai ketika sudah mulai muncul bakal akar.
- h. Tinggi Planlet (cm)
Tinggi planlet diukur menggunakan penggaris dari permukaan media sampai titik tumbuh tanaman tertinggi sampai 12 MST.
- i. Jumlah Ruas (ruas)
Menghitung jumlah ruas yang telah terbentuk sampai 12 MST.
- j. Panjang Ruas (cm)
Panjang ruas dihitung dengan rumus tinggi tanaman keseluruhan dibagi jumlah ruas sampai 12 MST.
- k. Persentase Planlet Membentuk Kalus (%)
Pengamatan dilakukan apabila tunas dan akar sudah muncul dan menghitung planlet yang mengalami pembentukan kalus sampai 12 MST.

2.6. Analisis Poliploidi

Analisis tingkat poliploidi dilakukan dengan menggunakan *flow cytometry* (BD Accuri C6+, USA). Sampel diambil dari potongan daun berukuran sekitar 0.5 x 0.5 cm diletakkan di atas cawan petri kemudian ditetesi dengan 250 μ l *Nuclei Extraction Buffer* dan sedikit *polyvidon*, kemudian dicacah hingga halus dengan silet. Cacahan daun disaring dengan saringan millipore 30 μ m. Filtrat dimasukkan dalam tabung kuvet dan ditambahkan larutan Staining Solution, propidium iodide, RNase sebanyak 350 μ l untuk dianalisis.

2.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan kemudian dilakukan Analisis Ragam (ANOVA) sesuai dengan Rancangan Petak Terpisah (RPT) dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK). Jika terdapat pengaruh nyata atau sangat nyata perlakuan, maka dilakukan analisis uji lanjutan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf

kepercayaan 95%. Analisis data menggunakan program STAR (*Statistical Tool for Agricultural Research*) 2.0.1 dan *Microsoft Office Excel* 2010. Analisis ploidi menggunakan alat *flow cytometry* (BD Accuri C6+, USA).

Tabel 1. Anova rancangan petak terpisah (RPT)

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F.HITUNG
Kelompok	r-1	JKK	KTK	KTK/KTG _a
Petak Utama (A)	a-1	JKA	KTA	KTA/KTG _a
Error (a)	(a-1)(r-1)	JKG _a	KTG _a	
Anak Petak (B)	b-1	JKB	KTB	KTB/KTG _b
Interaksi A x B	(a-1)(b-1)	JKAB	KTAB	KTAB/KTG _b
Error (b)	A (b-1)(r-1)	JKG _b	KTG _b	
Total	abr-1			

2.8 Analisis Heritabilitas

Nilai heritabilitas diukur menurut Syukur et al., (2012), nilai heritabilitas dapat dihitung menggunakan persamaan rumus sebagai berikut:

$$h^2 = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_p} \times 100\%$$

Selanjutnya kriteria nilai heritabilitas, ditentukan berdasarkan kategori sebagai berikut:

- $h^2 > 50\%$: Heritabilitas tinggi
- $20\% \leq h^2 \leq 50\%$: Heritabilitas sedang
- $h^2 < 20\%$: Heritabilitas rendah