

# Studi Pengaruh Substitusi Hara Makro dan Mikro Media MS dengan Pupuk Majemuk dalam Kultur *In Vitro* Krisan

Shintiavira, H, Soedarjo, M, Suryawati, dan Winarto, B

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur 43253

Naskah diterima tanggal 3 September 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 23 Oktober 2012

**ABSTRAK.** Studi substitusi hara makro dan mikro media Murashige & Skoog (MS) menggunakan pupuk majemuk untuk meningkatkan efisiensi kultur *in vitro* krisan (*Dendranthema grandiflora*) dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Kebun Percobaan Cipanas, Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) dari Bulan Januari hingga Desember 2010. Aplikasi pupuk majemuk sebagai substitusi hara makro-mikro MS diharapkan dapat menurunkan biaya produksi benih melalui kultur *in vitro*, khususnya dalam penyediaan media tanam. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh varietas dan kombinasi pupuk majemuk dalam meningkatkan efisiensi aplikasi kultur *in vitro* krisan. Varietas yang diuji ialah *D. grandiflora* cv. Dwina Kencana dan Pasopati, sementara pupuk majemuk yang digunakan ialah Hyponex Hijau (20:20:20), Hyponex Merah (25:5:20), dan Growmore (32:10:10) dengan komposisi uji (1) media ½ MS + 0,1 mg/l indole acetic acid (IAA) sebagai kontrol, (2) 1 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (3) 2 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (4) 3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA 0,1, (5) 1 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (6) 2 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (7) 3 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (8) 1 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, (9) 2 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, dan (10) 3 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA. Percobaan disusun menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial dengan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis varietas dan media kultur berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro* krisan. Varietas Dwina Kencana memiliki respons pertumbuhan yang lebih baik dibanding varietas Pasopati. Konsentrasi 3 g/l Hyponex Hijau yang ditambah dengan 0,1 mg/l IAA merupakan medium pengganti medium ½ MS terbaik yang mampu mendukung pertumbuhan eksplan pada Dwina Kencana maupun Pasopati. Pada umur 8 minggu setelah kultur, perlakuan tersebut memberikan merata terbaik jumlah daun, jumlah nodus, jumlah akar, panjang akar, dan berat basah planlet. Aplikasi medium tersebut mampu menekan biaya penyediaan medium kultur per liter hingga 34,7% dibanding biaya penyediaan medium ½ MS yang mencapai Rp6.561,00 per liter. Aplikasi hasil penelitian ini memberikan dampak positif terhadap efisiensi biaya produksi kultur *in vitro* krisan, khususnya terkait dengan penyediaan media kultur.

Katakunci: Hara makro-mikro; Media MS; Hyponex; Growmore; Kultur *in vitro*; *Dendranthema grandiflora*

**ABSTRACT.** Shintiavira, H, Soedarjo, M, Suryawati, and Winarto, B 2012. Study on Murashige and Skoog (MS) Macro-Micro Elements Substitution Using Compound Fertilizers to Increase *In Vitro* Efficiency of Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Study on Murashige & Skoog (MS) macro-micro element substitution using compound fertilizers to increase *in vitro* culture efficiency of chrysanthemum was carried out at Tissue Culture Laboratory, Cipanas Research Garden, Indonesian Ornamental Plant Research Institute from January to December 2010. Application of compound fertilizers to substitute MS macro-micro elements expected can reduce *in vitro* culture seed production cost and keep well growth of chrysanthemum explants. The study was aimed to know the effect of chrysanthemum varieties and concentrations of the compound fertilizers in increasing the efficiency of *in vitro* culture of chrysanthemum. Two varieties i.e. Dwina Kencana and Pasopati; the fertilizers of Green Hyponex (20:20:20), Red Hyponex (25:5:20), and Growmore (32:10:10) in different concentrations i.e. (1) half-strength MS medium + 0.1 mg/l indole acetic acid (IAA) as control, (2) 1 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (3) 2 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (4) 3 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA 0.1, (5) 1 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (6) 2 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (7) 3 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (8) 1 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA, (9) 2 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA, and (10) 3 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA were tested in the study. Factorial experiment was arranged in a randomized complete block design with three replications. The results of the study indicated that type of variety and media culture gave significant effect on *in vitro* culture of chrysanthemum explant. Dwina Kencana variety indicated higher response compared to Pasopati. Concentration of 3 g/l Green Hyponex supplemented with 0.1 mg/l IAA was the most appropriate substitution medium for able to substitute for half-strength MS that gave the highest positive effect on explant growth of both varieties. In 8 weeks after culture, the treatment gave better average results on leaf number, node number, root number, root length, and plantlet fresh weight. The 3 g/l Green Hyponex containing 0.1 mg/l IAA was also successfully reduce medium cost per liter up to 34.7% compared to the half-strength MS medium cost per liter that could reach Rp6,561.00 per liter. Application of the research result will give positive effect on efficiency of *in vitro* culture of chrysanthemum production cost, especially in culture medium preparation.

Keywords: Macro-micro elements; Murashige & Skoog medium; Hyponex; Growmore; *In vitro* culture; *Dendranthema grandiflora*

Kultur jaringan krisan pertama kali dilaporkan oleh Morel & Martin (1952). Kultur dilakukan menggunakan ujung meristem untuk tanaman bebas virus. Pada perkembangan selanjutnya kultur *in vitro* krisan dilakukan untuk perbanyak massal secara vegetatif untuk menghasilkan benih berkualitas, seragam, dan sesuai dengan induknya (*true to type*)

(Jevremovic *et al.* 2006). Eksplan yang digunakan ialah ujung tunas (Waseem *et al.* 2009a), potongan daun (Waseem *et al.* 2009b), dan bagian nodus (Waseem *et al.* 2011), sementara media yang digunakan umumnya ialah media dasar Murashige & Skoog (MS). Media dasar MS dengan eksplan batang dapat meningkatkan pertumbuhan kalus, akar, dan tunas pada planlet



krisan (Teixeira da Silva 2003). Media  $\frac{1}{2}$  MS yang ditambah 0,2 mg/l IBA pada eksplan ujung tunas mampu meningkatkan pertumbuhan akar (Waseem et al. 2009a), media  $\frac{1}{2}$  MS ditambah 0,3–0,5 mg/l IAA atau 0,5–1,5 mg/l NAA atau 0,3–1,0 mg/l IBA mampu membentuk kalus dari eksplan potongan daun (Waseem et al. 2009b), sedangkan ditambah 0,2 mg/l jenis auksin seperti IAA, NAA, atau IBA ada eksplan nodus memberikan hasil yang optimum pada rerata kecepatan pembentukan akar, persentase induksi akar, jumlah akar per planlet, dan rerata panjang akar (Waseem et al. 2011).

Media MS mengandung hara makro dan mikro seperti  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;  $\text{KI}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Murashige & Skoog 1962). Medium ini umumnya menggunakan bahan-bahan dengan tingkat kemurnian yang tinggi (pro-analisis). Untuk penyediaan bahan-bahan tersebut diperlukan biaya yang mahal, waktu pemesanan yang lama, dan ketersediaan bahan yang sulit diperoleh. Hasil perhitungan biaya penyediaan 1 liter medium MS oleh Laboratorium Unit Pengelola Benih Sumber, Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) pada Bulan Desember 2009 diperoleh bahwa tiap liter media MS memerlukan biaya sebesar Rp6.561,00, nilai tersebut relatif mahal, terlebih jika diaplikasikan di tingkat petani terkait dengan penyediaan benih berkualitas. Untuk mengatasi kendala tersebut, maka diperlukan alternatif media pengganti lain yang lebih murah, tersedia dalam jumlah yang cukup, dan mudah cara mendapatkannya, maka Hyponex dan Growmore dapat menjadi alternatif pengganti hara makro dan mikro medium MS.

Substitusi pupuk majemuk digunakan setelah tahap inisiasi tunas, kemudian pada subkultur beberapa kali sampai periode siap aklimatisasi planlet dengan tunas dan akar yang sempurna. Hyponex dan Growmore merupakan pupuk majemuk dengan kandungan hara makro-mikro yang lengkap. Pupuk tersebut mengandung N, P, K, S, Mg, Fe, Zn, Ca, Co, Mn, Mo, B, dan Cu, yang hampir sama dengan komponen hara makro-mikro medium MS. Medium Hyponex (3 g/l 6,5 N-2,6 P-15,8 K) meningkatkan bobot segar kecambah *Phalaenopsis* (Cardenas & Wang 1998). Medium Hyponex (1 g/l 6,5 N-4,5 P-19 K + 20 N-20 P-20 K) ditambah 2 g/l pepton, 3% kentang, dan 0,05% arang aktif optimal untuk perbanyak plb pada *Phalaenopsis* hibrid (Park et al. 2002). Medium Hyponex (1 g/l 6,5 N-4,5 P-19 K + 20 N-20 P-20 K) meningkatkan jumlah plb atau planlet *Phalaenopsis* Silky Moon (Thepsithar et al. 2009). Pada *thin cell layer* (TCL) krisan, 3 g/l Hyponex dengan 20 g/l sukrosa

digunakan untuk menginduksi pertumbuhan tunas (Teixeira da Silva 2003). Media Hyponex memberikan respons positif pada perkecambahan biji anggrek *Paraphalaeonopsis serpentilingua* (Puspitaningtyas et al. 2006). Growmore 2 g/l ditambah dengan pepton 2 g/l memberikan hasil yang baik dalam perkecambahan biji anggrek *Dendrobium* (Sari et al. 2009).

Penentuan konsentrasi Hyponex dan Growmore sebagai media substitusi terhadap media MS perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil yang maksimal bagi pertumbuhan eksplan krisan secara kultur *in vitro*. Penentuan konsentrasi tersebut dapat dilakukan dengan menghitung konsentrasi hara makro-mikro media MS dan media penggantinya. Perbandingan berat masing-masing unsur pada media MS dan masing-masing pupuk majemuk diperlukan untuk mengetahui unsur yang diperlukan pada media kultur *in vitro* krisan. Untuk mengetahui berat masing-masing unsur pada media MS tiap liter media dihitung dengan cara menghitung masing-masing massa atom unsur dibagi dengan massa molekul senyawa di mana unsur tersebut berada dikali dengan berat yang dibutuhkan tiap liter (Hariandja 2011).

Tujuan penelitian ialah untuk mengetahui respons varietas, jenis, dan konsentrasi pupuk majemuk, serta analisis biaya medium per liter pada kultur *in vitro* krisan. Hipotesis dari penelitian ini ialah pupuk majemuk yang diuji mampu menggantikan hara makro-mikro untuk media MS yang digunakan pada kultur *in vitro* krisan dengan analisis biaya media per liter yang lebih rendah dibandingkan media MS. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan solusi lebih baik dalam penyediaan media yang lebih murah, namun bibit hasil kultur *in vitro* krisan tetap berkualitas.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan Penelitian dan Persiapan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Kebun Percobaan Cipanas, Balai Penelitian Tanaman Hias dari Bulan Januari hingga Desember 2010.

*Dendranthema grandiflora* cv. Dwina Kencana dan Pasopati digunakan sebagai tanaman donor. Eksplan berupa tunas pucuk dengan tiga nodus dipanen dari tanaman donor yang ditanam di Rumah Kaca Kebun Percobaan Cipanas, dan dipelihara sesuai dengan prosedur operasional standar (SOP) budidaya tanaman induk krisan Balithi.

Eksplan dipotong sesuai ruas dan dirangsang daunnya, kemudian dicuci dengan air mengalir menggunakan sabun cair. Setelah dicuci bersih direndam dalam



alkohol 10% selama 3 menit dan dibilas tiga kali, kemudian dikocok dalam *shaker* dalam botol yang berisi larutan bakterisida dan fungisida masing-masing 5 g/l selama 45 menit dengan kecepatan 200 rpm. Pembilasan dengan akuades sebanyak tiga kali dilakukan dalam *laminair air flow*, kemudian direndam pada kloroks 10% selama 3 menit dan dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali masing-masing 5 menit. Bagian eksplan yang rusak akibat sterilisasi dipotong menggunakan pisau kultur, kemudian ditanam pada media  $\frac{1}{2}$  MS yang ditambah 0,1 mg/l IAA. Eksplan diinkubasikan selama 16 jam pencahayaan menggunakan lampu TL 36 W pada suhu 20° C selama 8 minggu. Subkultur secara berulang setiap 4 minggu dilakukan untuk penyiapan donor eksplan untuk percobaan. Eksplan yang digunakan berupa planlet dengan tunas sempurna dan berakar hasil subkultur ke-2 yang berusia 8 minggu, menggunakan lima nodus pertama, sedang pucuk planlet tidak digunakan.

Pembuatan media Hyponex Hijau, Hyponex Merah, dan Growmore dilakukan dengan cara menimbang Hyponex dan Growmore sesuai dengan konsentrasi yang diuji dalam percobaan ini. Setelah ditimbang, bahan dilarutkan dalam air dan tiap konsentrasi media ditambah *Glycine* 0,002 g/l, myoinositol 0,1 g/l, dan stok vitamin yang terdiri dari *thiamine* HCl 0,0001 g/l, *nicotianic acid* 0,0005 g/l, dan *pyridoxine* HCl 0,0005 g/l yang dibuat 100 kali dalam 100 ml, sehingga pengambilan 1 ml/l. Penambahan IAA, gula 30 g/l, dan agar 7 g/l dilakukan pada semua perlakuan. Larutan medium kemudian ditambah air hingga volume 990 ml. Setelah itu pH media diukur menggunakan pH-meter dan diatur pada 5,8 dengan menambahkan larutan 1N HCl atau NaOH.

Eksplan berupa nodus yang telah dikultur selanjutnya diinkubasi pada rak inkubasi selama 16 jam pencahayaan menggunakan lampu TL 36 W ( $\pm 1000$  lux), pada suhu 20° C selama 8 minggu.

### **Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Pupuk Majemuk terhadap Pertumbuhan Eksplan Krisan**

Dua varietas krisan yang diuji dalam penelitian ini ialah (V1) Dwina Kencana dan (V2) Pasopati. Sedangkan jenis dan konsentrasi pupuk majemuk yang diuji ialah (M0) media  $\frac{1}{2}$  MS + 0,1 mg/l IAA sebagai kontrol, (M1) 1 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (M2) 2 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (M3) 3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (M4) 1 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (M5) 2 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (M6) 3 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (M7) 1 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, (M8) 2 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, (M9) 3 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA.

Percobaan disusun menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial dengan tiga ulangan. Tiap perlakuan terdiri dari 20 eksplan.

### **Parameter yang Diamati**

Parameter yang diamati dalam percobaan ini ialah (1) tinggi planlet (cm), (2) jumlah daun, (3) jumlah nodus/buku, (4) berat basah planlet, (5) jumlah akar, dan (6) panjang akar (cm). Tinggi planlet diukur dari pangkal buku daun sampai titik tumbuh. Jumlah daun yang diukur ialah daun yang membuka sempurna. Jumlah nodus/buku ialah banyaknya tempat keluarnya daun pada batang, dihitung dari pangkal sampai ujung tanaman. Berat basah tanaman ialah berat tiap planlet dihitung dari bagian akar dan tajuk. Pengukuran pada minggu ke-8 secara destruktif. Jumlah akar ialah akar primer yang muncul pada planlet. Pengukuran setiap 1 minggu sekali sampai 8 minggu. Panjang akar diukur dari pangkal akar sampai akar terpanjang. Pengukuran dilakukan setiap 1 minggu sekali hingga umur 8 minggu.

Analisis komponen makro dan mikro elemen Hyponex dan Growmore dilakukan di Laboratorium Tanah, Balai Penelitian Tanah, Balai Besar Sumberdaya Lahan Pertanian yang terakreditasi ISO 9001.

Analisis biaya penggunaan modifikasi pupuk majemuk dibandingkan dengan media  $\frac{1}{2}$  MS untuk tiap liter media digunakan untuk mengetahui efisiensi biaya atau penekanan biaya yang dikeluarkan sebagai data pendukung. Metode yang digunakan dengan menghitung masing-masing penggunaan pupuk majemuk sesuai perlakuan ditambahkan dengan myoinositol, *glycine*, *thiamine* HCL, *nicotianic acid*, *pyridoxine* HCL, IAA, gula, agar, dan akuades dengan mengkonversi harga tiap kemasan dengan harga tiap berat yang digunakan tiap liter perlakuan. Selisih harga tiap perlakuan media pupuk majemuk terhadap media  $\frac{1}{2}$  MS setiap liter merupakan efisiensi biaya yang dicapai atau mengurangi biaya tiap liter penggunaan media.

### **Analisis Data**

Data yang terkumpul dalam percobaan ini dianalisis dengan analisis varian menggunakan *software* Minitab 15.0. Jika terdapat pengaruh nyata perlakuan, maka dilakukan pengujian nilai rerata perlakuan menggunakan uji wilayah berganda duncan pada taraf kepercayaan 95%.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengamatan secara periodik diketahui bahwa inisiasi eksplan pada media  $\frac{1}{2}$  MS yang membentuk tunas terjadi  $\pm 2$  minggu setelah kultur. Delapan



minggu setelah kultur, eksplan tumbuh menjadi 1–2 tunas per eksplan dengan lima nodus yang siap untuk disubkultur. Subkultur berulang setiap 4 minggu, satu eksplan menghasilkan 3–4 nodus. Eksplan hasil subkultur ke-2 yang berusia 8 minggu mampu tumbuh menjadi 5-6 nodus. Nodus inilah yang selanjutnya digunakan sebagai donor eksplan dalam percobaan.

Varietas dan formulasi media yang diuji dalam percobaan memberi pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan eksplan, namun tidak memberi pengaruh interaksi yang nyata. Dari dua varietas krisan yang diuji, terlihat bahwa Dwina Kencana memiliki pertumbuhan eksplan yang lebih baik dibanding Pasopati pada beberapa parameter yang diuji. Pada 8 minggu setelah kultur, varietas tersebut menghasilkan jumlah daun dan nodus, panjang akar, serta berat basah planlet yang lebih tinggi dibanding varietas Pasopati, sedangkan dari 10 media kultur yang diuji-coba dalam percobaan, 3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA merupakan medium pengganti MS yang mampu menstimulasi pertumbuhan eksplan yang terbaik dibanding media yang lain. Media tersebut mampu menstimulasi pertumbuhan tinggi planlet, jumlah daun, jumlah nodus, jumlah akar, panjang akar, dan berat basah planlet tertinggi dibanding media substitusi

yang lain (Tabel 1). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa media Hyponex mendukung pertumbuhan yang lebih baik dibanding medium Growmore. Variasi penampilan planlet pada medium berbeda terlihat pada Gambar 1.

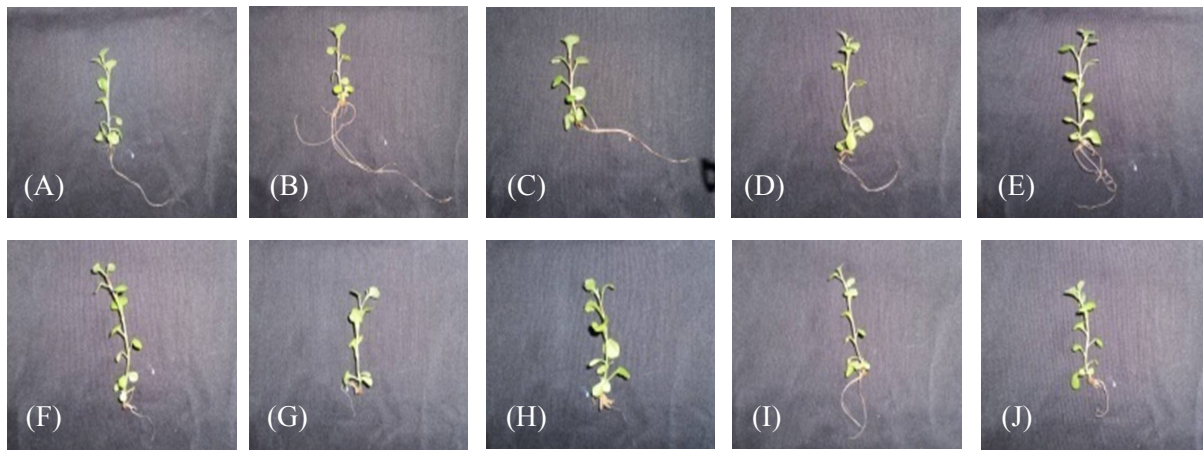
Variasi respons yang ditunjukkan oleh varietas Dwina Kencana dan Pasopati dalam kultur *in vitro* memberikan indikasi bahwa tiap varietas memiliki respons yang berbeda dalam kultur *in vitro*. Druge *et al.* (2007) menyatakan bahwa perbedaan respons kultivar ditunjukkan pada kemampuan inisiasi, regenerasi, dan multiplikasi, serta perbedaan tersebut juga bersifat genetik (Larsen & Persson 1999, Ahmed *et al.* 2010). Pada penelitian ini perbedaan respons tersebut terlihat pada tinggi eksplan, jumlah daun, jumlah nodus, jumlah akar, panjang akar, dan berat basah eksplan. Varietas Pasopati mempunyai internodus lebih panjang dengan jumlah nodus dan daun yang lebih sedikit, sementara varietas Dwina Kencana memiliki internodus yang lebih pendek dengan jumlah nodus dan daun yang lebih banyak. Kondisi tersebut menyebabkan proses pembentukan jumlah akar lebih banyak namun lebih pendek daripada varietas Pasopati, seperti yang juga dilaporkan oleh Roxas *et al.* (1996) pada varietas krisan yang lain.

**Tabel 1. Rerata hasil pertumbuhan eksplan secara kultur *in vitro* pada dua varietas krisan dan rerata hasil pertumbuhan eksplan krisan pada 10 media kultur yang diuji 8 minggu setelah kultur (Average results of explant growth in vitro culture on two chrysanthemum varieties and average results of chrysanthemum explant growth on 10 of culture media 8 weeks after culture)**

Jenis varietas (Type of varieties)	Tinggi planlet (Plantlet height) cm	Jumlah daun (Number of leaves)	Jumlah akar (Number of roots)	Jumlah nodus (Number of nodus)	Panjang akar (Root length) cm	Berat basah planlet (Fresh weight of plantlet) g
Dwina Kencana	3,714 b	8,097 a	4,830 b	5,641 a	4,562 a	0,412 a
Pasopati	5,007 a	5,837 b	5,161 a	4,460 b	2,613 b	0,290 b
KK (CV), %	15,52	11,19	26,62	13,85	35,79	16,16
Jenis media (Type of media)						
½ MS+ 0,1 mg/l IAA	5,157 a	7,958 a	4,555 b	5,918 a	4,813 a	0,338 b
1 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	3,852 cd	7,043 abc	5,943 ab	5,248 abc	4,560 a	0,253 b
2 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	4,512 abc	7,042 abc	5,237 ab	5,250 abc	4,842 a	0,328 b
3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	5,212 a	7,418 ab	5,207 ab	5,430 a	4,712 a	0,355 b
1 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	3,845 cd	6,582 bc	4,777 ab	4,638 bcd	2,533 bc	0,301 b
2 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	4,972 a	7,333 ab	5,357 ab	5,263 abc	3,390 ab	0,358 b
3 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	4,773 ab	7,043 abc	6,140 a	5,388 abc	3,967 a	0,425 a
1 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	4,053 bcd	6,765 bc	5,708 ab	4,735 bcd	2,098 c	0,376 b
2 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	3,763 cd	6,375 bc	4,180 bc	4,460 cd	2,465 bc	0,368 b
3 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	3,467 d	6,112 c	2,848 c	4,180 d	2,497 bc	0,411 ab
KK (CV), %	15,52	11,19	26,62	13,85	35,79	16,16

KK (CV): Koefisien keragaman (Coefficient of variation), angka rerata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji wilayah berganda duncan taraf 5% (Mean followed the same letter in the same column are not significantly difference based on duncan multiple range test (DMRT) p= 0.05)





**Gambar 1.** Pertumbuhan planlet krisan 8 minggu setelah kultur pada 10 media yang diuji. (A)  $\frac{1}{2}$  MS+ 0,1 mg/l IAA, (B) 1 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (C) 2 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (D) 3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA, (E) 1 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (F) 2 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (G) 3 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA, (H) 1 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, (I) 2 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA, (J) 3 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA {*Chrysanthemum plantlet growth on 8 weeks after culture on different culture media. (A)  $\frac{1}{2}$  MS+ 0.1 mg/l IAA, (B) 1 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (C) 2 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (D) 3 g/l Green Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (E) 1 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (F) 2 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (G) 3 g/l Red Hyponex + 0.1 mg/l IAA, (H) 1 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA, (I) 2 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA, (J) 3 g/l Growmore + 0.1 mg/l IAA*}

Awal terbentuknya akar dimulai dengan metabolisme cadangan nutrisi berupa karbohidrat yang menghasilkan energi yang selanjutnya mendorong pembelahan sel dan membentuk sel-sel baru dalam *in vitro* (Pamungkas *et al.* 2009). Salah satu unsur pembentukan akar tanaman ialah fosfat, pemberian bersama-sama dengan  $\text{NH}_4^+$  juga mampu merangsang pertumbuhan akar (Supari 1999). Pada Tabel 2, komposisi unsur P yang digunakan pada media MS lebih rendah daripada pada pupuk majemuk Hyponex Hijau, Hyponex Merah, dan Growmore, sehingga jumlah akar yang terbentuk pada minggu ke-8 lebih rendah daripada menggunakan pupuk majemuk. Untuk Growmore 3 g/l pembentukan jumlah akar lebih sedikit karena komposisi unsur nitrogen lebih tinggi, sehingga terjadi akumulasi nitrogen di daerah calon tumbuhnya akar. Penumpukan unsur nitrogen atau fosfor menyebabkan terbentuknya kalus pada planlet. Dengan terbentuknya kalus, akar lambat untuk tumbuh.

Penggunaan media  $\frac{1}{2}$  MS masih memengaruhi pertumbuhan daun tercepat dibandingkan dengan penggunaan alternatif pupuk majemuk Hyponex Hijau, Hyponex Merah, dan Growmore. Pada Tabel 2 penggunaan media  $\frac{1}{2}$  MS membutuhkan unsur nitrogen 0,4341 g dan fosfor 0,0194 g. Proporsi unsur fosfor jauh lebih sedikit dibandingkan dengan kandungan fosfor pada media pupuk majemuk lainnya, untuk kandungan nitrogen pada media  $\frac{1}{2}$  MS hampir sebanding dengan media pupuk majemuk lainnya,

sehingga proporsi nitrogen dan fosfor yang lebih tinggi pada media  $\frac{1}{2}$  MS menyebabkan pertumbuhan jumlah daun terbanyak pada minggu ke-8.

Komposisi nitrogen pada media  $\frac{1}{2}$  MS, 2–3 g/l Hyponex Hijau dan 2–3 g/l Hyponex Merah hampir setara yaitu kisaran antara 0,3114 sampai 0,6783 g (Tabel 2). Planlet krisan mampu menyerap nitrogen untuk pertumbuhan vegetatif yang digunakan untuk pertumbuhan tinggi planlet. Pemberian nitrogen dapat merangsang sintesis sitokinin yang berfungsi untuk pembentukan dan pertumbuhan tinggi tunas (Matulata 2003).

Pertumbuhan panjang akar dipengaruhi oleh proporsi nitrogen dan fosfor. Pada Growmore 1–3 g/l komposisi nitrogen terlalu tinggi, sehingga pertumbuhan lebih terarah ke daun yang berakibat jumlah dan panjang akar lebih sedikit. Selain itu penumpukan nutrisi yang menyebabkan kalus menghambat pertumbuhan jumlah dan panjang akar pada 8 minggu setelah tanam.

Pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh media kultur yang digunakan (George *et al.* 2007). Jenis media kultur dan konsentrasi nutrisi berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan *in vitro*, pemanjangan dan kualitas morfogenesisnya (Niedz & Evans 2007). Kesesuaian eksplan yang dikultur, dan medium yang digunakan menjadi faktor penentu dan bersifat spesifik terhadap keberhasilan kultur *in vitro* tanaman untuk berbagai tujuan (George *et al.* 2007).



**Tabel 2. Hasil analisis komponen makro dan mikro per liter dari Hyponex, Growmore, dan media ½ MS (Results of macro-micro component analysis per liter medium of Hyponex, Growmore, and half-strength MS)**

Unsur (Elements) g	Hyponex Hijau (Green Hyponex), g 20:20:20			Hyponex Merah (Red Hyponex), g 25:5:20			Growmore (Growmore), g 32:10:10			½ MS
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
N total	0,1557	0,3114	0,4671	0,2261	0,4522	0,6783	0,2675	0,535	0,8025	0,4341
P	0,195	0,39	0,585	0,149	0,2838	0,4257	0,0913	0,1826	0,2739	0,0194
K	0,1921	0,3842	0,5763	0,137	0,274	0,411	0,062	0,124	0,186	0,3911
Ca	0,0007	0,0014	0,0021	0,0001	0,0002	0,0003	0,00	0,00	0,00	0,0599
Mg	0,0011	0,0022	0,0033	0,0008	0,0016	0,0024	0,0008	0,0016	0,0024	0,0018
Na	0,0015	0,0030	0,0045	0,0015	0,0030	0,0045	0,0012	0,0024	0,0036	0,0092
S	0,00	0,00	0,00	0,0111	0,0222	0,333	0,0658	0,1316	0,1974	0,7145
Fe	5,95x10 <sup>-4</sup>	1,19x10 <sup>-3</sup>	1,78x10 <sup>-3</sup>	5,61x10 <sup>-4</sup>	1,12x10 <sup>-3</sup>	1,68x10 <sup>-3</sup>	4,69x10 <sup>-4</sup>	9,38x10 <sup>-4</sup>	1,40x10 <sup>-3</sup>	5,5x10 <sup>-3</sup>
Mn	2,17x10 <sup>-4</sup>	4,34x10 <sup>-4</sup>	6,51x10 <sup>-4</sup>	3,29x10 <sup>-4</sup>	6,58x10 <sup>-4</sup>	9,87x10 <sup>-4</sup>	3,57x10 <sup>-4</sup>	7,14x10 <sup>-4</sup>	1,07x10 <sup>-3</sup>	7,24x10 <sup>-3</sup>
Cu	1,9x10 <sup>-5</sup>	3,8x10 <sup>-5</sup>	5,7x10 <sup>-5</sup>	1,87x10 <sup>-4</sup>	3,74x10 <sup>-4</sup>	5,61x10 <sup>-4</sup>	9,3x10 <sup>-5</sup>	1,86x10 <sup>-4</sup>	2,79x10 <sup>-4</sup>	6,52x10 <sup>-6</sup>
Zn	2,2x10 <sup>-5</sup>	4,4x10 <sup>-5</sup>	6,6x10 <sup>-5</sup>	2,02x10 <sup>-4</sup>	4,04x10 <sup>-4</sup>	6,06x10 <sup>-4</sup>	9,3x10 <sup>-5</sup>	1,86x10 <sup>-4</sup>	2,79x10 <sup>-4</sup>	1,96x10 <sup>-3</sup>
B	7,0x10 <sup>-5</sup>	1,4x10 <sup>-4</sup>	2,1x10 <sup>-4</sup>	1,19x10 <sup>-4</sup>	2,38x10 <sup>-4</sup>	3,57x10 <sup>-4</sup>	1,42x10 <sup>-4</sup>	2,84x10 <sup>-4</sup>	4,26x10 <sup>-4</sup>	1,08x10 <sup>-3</sup>
Co	1,255x10 <sup>-5</sup>	2,51x10 <sup>-5</sup>	3,76x10 <sup>-5</sup>	4,27x10 <sup>-6</sup>	8,54x10 <sup>-6</sup>	1,28x10 <sup>-5</sup>	0,00	0,00	0,00	6,21x10 <sup>-6</sup>
Mo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,5x10 <sup>-6</sup>	1,90x10 <sup>-5</sup>	2,85x10 <sup>-5</sup>	9,13x10 <sup>-5</sup>

termasuk substitusi medium kultur yang bertujuan meningkatkan efisiensi biaya produksi. Aplikasi 3 g/l Hyponex Hijau yang ditambah 0,1 mg/l IAA pada kultur *in vitro* krisan tetap mampu menstimulasi pertumbuhan eksplan yang maksimal dibanding media pengganti yang lain. Hasil ini menunjukkan bahwa substitusi hara makro-mikro medium MS dengan pupuk majemuk tetap memberikan dampak positif terhadap pertumbuhan *in vitro* krisan. Aplikasi dan keberhasilan pemanfaatan medium Hyponex juga dilaporkan pada tanaman lain. Pada lisianthus (*Eustoma grandiflora*), media Hyponex (N:P:K = 6,5:4,5:19= 3 g/l) + 20 g/l sukrosa sesuai untuk regenerasi tunas akar (Furukawa *et al.* 1990). Selanjutnya medium Hyponex (N:P:K = 20:20:20 g/l, N:P:K = 6,5:4,5:19= 1 g/l), ditambah 15 g/l sukrosa, 50 ml/l air kelapa, 2 g/l pepton, dan 0,5 g/l *carcoal* efisien untuk perbanyak *in vitro* pada *Calanthe hybrids* (Baque *et al.* 2011), Hyponex 3 g/l + 3 g *tryptone* + 20 g/l sukrosa sesuai untuk pertumbuhan protokorm dan bibit anggrek *Anoetochilus formosanus* Hayata (Chang *et al.* 2007), dan pertumbuhan bibit *Phalaenopsis in vitro* (Cardenas & Wang 1998). Medium Hyponex (1 g/l 6,5 N + 4,5 P + 20 K dan 20 N + 20 P + 20 K) yang ditambah dengan 2 g/l pepton, 3% kentang, 1 g/l arang aktif sesuai untuk memacu pertumbuhan plb *Phalaenopsis* (Park *et al.* 2002).

Optimalisasi konsentrasi medium dalam kultur *in vitro* menggunakan medium berbasis pupuk majemuk juga diperlukan untuk mendapatkan respons

pertumbuhan eksplan yang terbaik. Optimalisasi tersebut dapat dilakukan dengan menaikkan atau menurunkan konsentrasi pupuk majemuk. Pada penelitian ini diketahui bahwa peningkatan konsentrasi medium Hyponex dari 1 menjadi 3 g/l memberi pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan eksplan krisan baik pada Dwina Kencana maupun Pasopati. Hasil yang hampir sama juga dilaporkan oleh Laisina (2010) pada perbanyak tanaman ubi jalar secara kultur *in vitro*. Pada penelitiannya didapatkan bahwa medium Hyponex (NPK = 20:20:20, 2 g/l) + Terra-Novalgro 4 cc/l meningkatkan pertumbuhan internodus dan daun dibanding konsentrasi Hyponex dan Terra-Novalgro yang lebih rendah. Sementara aplikasi medium Hyponex (1 g/l NPK = 6,5:6:19 dan 20:20:20) mampu meningkatkan jumlah plbs dan pembentukan planlet dibanding konsentrasi yang lebih tinggi (3,5 g/l) (Thepsithar *et al.* 2009).

Studi ini juga mengungkap bahwa aplikasi medium Hyponex sebagai substitusi hara makro-mikro medium MS memberikan hasil yang lebih baik dibanding medium Growmore. Kondisi yang lebih baik tersebut terlihat dari pertumbuhan eksplan yang lebih vigor, sehat, dan lebih hijau. Aplikasi medium Hyponex (2 g/l) yang lebih baik dibanding medium Growmore dan Rosasol dilaporkan pada perbanyak pisang kepok secara *in vitro* (Supriati 2010). Namun pada perbanyak plb *Phalaenopsis* medium Hyponex memberi pengaruh yang sama dengan medium Viking Ship (Thepsithar *et al.* 2009). Sementara



**Tabel 3. Variasi harga media uji per liter (Cost variation of tested media per liter)**

Media kultur (Culture media)	Harga per liter medium (Medium cost per liter), Rp	Persentase efisiensi (Percentage of efficiency), %
½ MS+ 0,1 mg/l IAA	6.561,38	
1 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	3.786,30	42,29
2 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	4.036,30	38,48
3 g/l Hyponex Hijau + 0,1 mg/l IAA	4.286,30	34,67
1 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	3.786,30	42,29
2 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	4.036,30	38,48
3 g/l Hyponex Merah + 0,1 mg/l IAA	4.286,30	34,67
1 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	3.736,30	43,06
2 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	3.886,30	40,77
3 g/l Growmore + 0,1 mg/l IAA	3.986,30	39,25

hasil penelitian Samsurianto (2010) aplikasi 2 g/l Growmore memberi pengaruh yang optimal terhadap perkecambahan biji kantong semar.

Pemanfaatan Hyponex dan Growmore mampu meningkatkan efisiensi biaya pembelian media per liter turun 35–43% dibanding medium ½ MS dengan efisiensi tertinggi terlihat pada penggunaan 1 g/l Growmore. Namun reduksi biaya per liter medium yang mampu mendukung pertumbuhan eksplan yang optimal terlihat pada 3 g/l Hyponex Hijau yang ditambah 0,1 mg/l IAA dengan efisiensi biaya medium hampir mencapai 35% atau Rp4.286,30 per liter dibanding medium ½ MS yang mencapai Rp6.561,38 per liter (Tabel 3).

Efisiensi biaya produksi dalam perbanyak kultur *in vitro* merupakan salah satu pertimbangan penting dalam produksi masal tanaman. Efisiensi dapat dilakukan melalui berbagai cara di antaranya dengan substitusi media sederhana untuk mengurangi biaya produksi, seperti penggunaan pupuk majemuk dengan kandungan makro-mikro yang lengkap, bahan kimia makro dan mikro teknis, vitamin teknis, dan alternatif bahan organik. Hasil penelitian ini memberikan bukti bahwa kultur *in vitro* krisan dengan kualitas hasil pertumbuhannya pada medium MS dapat diperoleh dengan pemanfaatan 3 g/l medium Hyponex.

### KESIMPULAN

1. Varietas dan media kultur berpengaruh nyata terhadap kultur *in vitro* krisan, walaupun tidak terdapat interaksi yang nyata pada kedua perlakuan tersebut. Varietas Dwina Kencana memiliki respons pertumbuhan yang lebih baik dibanding Pasopati.

2. Hyponex Hijau 3 g/l yang ditambah 0,1 mg/l IAA merupakan medium pengganti ½ MS yang terbaik yang mampu mendukung pertumbuhan terbaik krisan Dwina Kencana dan Pasopati dengan rerata jumlah daun, jumlah nodus, jumlah akar, panjang akar, dan berat basah planlet terbaik. Aplikasi medium tersebut mampu menekan efisiensi biaya penyediaan medium kultur per liter hingga mencapai 34,7% dari total biaya Rp6.561,38 per liter pada medium ½ MS + 0,1 mg/l IAA.

### PUSTAKA

1. Ahmed, MJ, Naeem, MM, Yaqoob, A, Jilani, MS & Saeed, M 2010, 'Explants modulates growth characteristics of in vivo propagated chrysanthemum cultivars', *Sarhad J. Agric.*, vol. 26, no. 4, pp. 527-32.
2. Baque, MA, Shin, YK, Elshmary, T, Lee, EJ & Paek, KY 2011, 'Effect of light quality, sucrose, coconut water concentration on the microporpagation of Calanthe hybrids ('Bukduseong' x 'Hyesung' and 'Chunkwang' x 'Hyesung')', *Aus. J. Crop Sci.*, vol. 5, no. 10, pp. 1247-54.
3. Cardenas, EC & Wang, YT 1998, 'The effect of micronutrients and GA on the growth of Phalaenopsis seedling in vitro', *Subtropic. Plant Sci.*, vol 50, pp. 45-8.
4. Chang, DCN, Chou, LC & Lee, GC 2007, *New cultivation methods for Anoectochilus formosanus Hayata*, Orchid Sciences and Biotechnology, Departement of Horticulture, National Taiwan University, Taipe, Taiwan.
5. Druege, U, Baltrusschat, H & Franken, P 2007, 'Piriformosa indica promotes adventitious root formation in cuttings', *Scientia Horticulturae*, vol. 112, no. 4, pp. 422-26.
6. George, EF, Hall, MA & De Klerk, GJ 2007, *Plant propagation by in vitro culture*, 3rd edition: Volume 1, The Background, Exegetic, Basingstone, UK.
7. Furukawa, H, Matsubara, C & Shigematsu, N 1990, 'Shoot regeneration from the roots of praire gentian (*Pastora grandiflora* (Griseb.) Schinners)', *Plant Tis. Cult. Lett.*, vol. 7, no. 1, pp. 11-3.



8. Hariandja, D 2011, *Hukum dasar kimia dan perhitungan kimia*, diunduh 14 Juni 2011, <<http://www.elcom.umy.ac.id>>
9. Jevremovic, S, Trifunovic, M, Nikolic, M, Subotic, A & Radojevic, L 2006. 'Clonal fidelity of chrysanthemum from long term cultures', *Genetika*, vol. 38, no. 3, pp. 243-49.
10. Laisina, JKJ 2010, 'Perbanyak ubi jalar secara *in vitro* dengan menggunakan media yang murah', *J. Budidaya Pertanian*, vol. 6, no. 2, hlm. 63-7.
11. Larsen, RU & Persson, L 1999, 'Modelling, flower development in greenhouse chrysanthemum cultivars in relation to temperature and response group', *Scientia Horticulturae*, vol. 80, pp. 73-89.
12. Matulata, AV 2003, 'Substitusi media MS dengan air kelapa dan Gandasil D pada kultur jaringan krisan', *Eugenia*, vol. 9, no. 4, hlm. 203-11.
13. Morel, G & Martin, C 1952, *Guerison de dahlias atteints d'une Maladie a Virus*, C.R. Acad. Sci., Paris.
14. Murashige, T & Skoog, F 1962, 'A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures', *Physiol. Plant*, vol. 15, no. 3, pp. 473-97.
15. Niedz, RP & Evens, TJ 2007, 'Regulating plant *in vitro* growth by mineral nutrition', *In Vitro Cell.Dev.Biol. Plant*, vol. 43, pp. 370-81.
16. Pamungkas, FT, Darmanti, S & Raharjo, B 2009, 'Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman dalam supernatan kultur *Bacillus* sp.2 DUCC-BR-K1.3 terhadap pertumbuhan stek horisontal batang jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)', *J. Sains & Mat.*, vol. 17, no. 3 hlm. 131-40.
17. Park, SY, Murthy, HN & Paek, KY 2002, 'Rapid propagation of *Phalaenopsis* from floral stalk-derived leaves', *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, vol. 38, pp. 168-72.
18. Puspitaningtyas, DM, Mursidawati, S & Wijayanti, S 2006, 'Studi fertilitas *Paraphalaenopsis serpentilingua* (J.J.Sm) A.D.Hawke', *Biodiversitas*, vol. 7, no. 3, hlm. 237-41.
19. Roxas, NJL, Tashiro, Y & Miyazaki, S 1996, 'In vitro propagation of higo chrysanthemum (*Dendrathera x grandiflorum* (Ramat.) Kitam.)', *Bull. Fac. Agr. Saga Univ*, vol. 80, pp. 57-67.
20. Sari, AG, Hapsoro, D & Ramadiana, S 2009, 'Pengaruh jenis media dasar 1/2 MS dan Growmore dan pemberian pepton terhadap perkecambahan biji anggrek *Dendrobium in vitro*', Kumpulan Abstrak Jurusan Budidaya Pertanian, Unila, Lampung.
21. Samsurianto 2010, 'Induksi tunas mikro kantong semar (*Nepenthes* spp.) *in vitro*', *Bioprospek*, vol. 7, no. 2, hlm. 67-76.
22. Supari, 1999, *Tuntunan membangun agribisnis*, Gramedia, Jakarta.
23. Supriati, Y 2010, 'Efisiensi mikropropagasi pisang kepok Amorang melalui modifikasi formula media dan temperatur', *J. AgroBiogen*, vol. 6, no. 2, hlm. 91-100.
24. Teixeira da Silva, JA 2003, 'Chrysanthemum : advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology', *Biotechnol. Adv.*, vol. 21, no. 2003, pp. 715-66.
25. Thepsithar, C, Thongpukdee, A & Kukietdetsakul, K 2009, 'Enhancement of organic supplements and local fertilizers in culture medium on growth and development of *Phalaenopsis* Silky Moon protocorm', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 8, no. 18, pp. 4433-40.
26. Waseem, K, Jilani, MS & Khan, MS 2009a, 'Rapid plant regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium L.*) through shoot tip culture', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 8, no. 9, pp. 1871-77.
27. Waseem, K, Khan, MQ, Jaskani, J, Jilani, MS & Khan, MS 2009b, 'Effect of different auxins on the regeneration capability of chrysanthemum leaf discs', *Int. J. Agric. and Biol.*, vol. 11, pp. 468-72.
28. Waseem, K, Jilani, MS, Khan, MS, Kiran, M & Khan, G 2011, 'Efficient *in vitro* regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium L.*) plantlets from nodal segments', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 10, no. 8, pp. 1477-84.