

# PENGARUH FOTOAUTOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS KRISAN DALAM PROSES KULTUR *IN VITRO* SERTA PERBEDAAN STOMATA *INVITRO* DAN *EXVITRO* KRISAN

Siti Hartati Yusida Saragih, Khairul Rizal, Kamsia Dorliana Sitanggung

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Labuhanbatu  
Jl. SM. Raja No. 126A Rantauprapat, Sumatera Utara  
Email : yusida90.shys@gmail.com

## ABSTRACT

*Chrysanthemum (Chrysanthemum indicum L.) is an ornamental plant that is included in an important contribution in the ornamental plant business. Related to chrysanthemum buds grown in vitro in culture tubes or bottles with a tightly closed to avoid bacterial and fungal contamination and to protect the humidity of the culture environment. However, this tight cap often affects the composition of the gas in a jar or bottle, which inhibits plant growth. The purpose of this study was to study the effect of photoautotrophic on the growth of chrysanthemum buds in the in vitro culture process and the differences in invitro and exvitro chrysanthemum stomata. This research was conducted in March 2016 to May 2016 in the Microtechnical Laboratory, IPB University. Research results obtained from research on the position given to research conducted on the number of roots, the number of books and the number of shoots. The influence of the environment of exvitro also significantly affects the number of stomata, stomata width and stomata density.*

*Keywords :ex vitro, in vitro, photoautotrophic*

## PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) merupakan tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai tanaman hias maupun bahan baku obat. Tanaman hias ini termasuk kedalam komoditas penting dalam bisnis tanaman hias. Pengembangan krisan perlu terus diupayakan dalam upaya pemenuhan selera konsumen (Rukmana dan Mulyana, 1997). Salah satu metode perbanyakan masal yang digunakan dalam budidaya krisan adalah secara *in vitro*.

Tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* biasanya diletakkan dalam tabung atau botol kultur dengan tutup rapat untuk menghindari kontaminasi bakteri dan jamur serta untuk menjaga kelembaban lingkungan kultur. Akan tetapi tutup yang rapat tersebut sering mempengaruhi komposisi gas di dalam tabung atau botol sehingga menghambat pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu udara di dalam tabung atau botol berbeda dengan udara *ex vitro* sehingga sering menyebabkan malfungsi stomata, rendahnya kandungan klorofil, memanjangnya daun serta hiperhidrasi. Kondisi yang demikian

mengakibatkan laju multiplikasi dan daya hidup tanaman menjadi rendah (Kitaya, 2005).

Untuk meningkatkan kualitas udara dan meminimalkan perbedaan udara di dalam dan di luar lingkungan kultur dapat digunakan wadah kultur yang dilengkapi dengan ventilasi. Penggunaan ventilasi biasanya merupakan bagian dari mikropropagasi fotoautotrofik, yaitu suatu sistem mikropropagasi yang memanfaatkan bahan anorganik endogen untuk memenuhi kebutuhan tanaman dengan menggunakan cahaya sebagai sumber energi. Namun sering terjadi resiko kontaminasi dan menghasilkan plantlet dengan persentase hidup yang rendah pada tahap aklimatisasi (Kozai & Kubota, 2005). Oleh karena itu penggunaan teknik *in vitro* untuk memperbanyak tanaman krisan masih perlu dioptimalkan.

Autotrof adalah organisme yang mampu menyediakan atau mensintesis makanan sendiri yang berupa bahan organik dari bahan anorganik dengan bantuan energi seperti matahari dan kimia. Komponen autotrof berfungsi sebagai produsen. Bila sumber energi berasal dari matahari maka disebut fotoautotrof. Hal ini terjadi pada tanaman yang dikulturkan secara *in-vitro*, karena semua bahan yang menunjang kehidupan tanaman tersebut tersedia sehingga tanaman dapat melakukan proses kehidupannya sama

seperti halnya bila tanaman tumbuh di tanah (Kozai, *et al*1992).

Dalam teknik fotoautotrofik, tanaman mampu mengendalikan transpirasi sehingga tidak terjadi kehilangan air dan kelayuan saat dipindah ke lingkungan *ex vitro* walaupun tanpa aklimatisasi secara khusus (Kozai & Zobayed, 2000, Lucchesini *et al.*, 2001). Hal ini diduga karena pada teknik fotoautotrofik: 1) tingkat fotosintesis bersih lebih tinggi sehingga akumulasi karbohidrat lebih besar, 2) tingkat transpirasi dan penyerapan mineral dalam medium lebih tinggi, dan 3) porositas udara dari bahan pengisi memberikan konsentrasi oksigen terlarut lebih tinggi di sekitar dasar tunas sehingga pertumbuhan akar lebih optimal (Rahayu, 2015).

Stomata atau mulut daun adalah komponen sel epidermis daun yang berperan sebagai lintasan masuk keluarnya CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O selama berlangsungnya fotosintesis dan respirasi (Woelanningsih, 1984). Oleh karena itu, aktivitas fotosintesis sangat bergantung antara lain pada pembukaan dan penutupan stomata. Selain melalui stomata, transpirasi juga dapat berlangsung melalui kutikula. Namun, transpirasi melalui stomata lebih banyak daripada melalui kutikula epidermis (Palit, 2008).

Pengamatan stomata dapat digunakan sebagai seleksi secara genetika

untuk produksi ataupun ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit. Selain dipengaruhi secara genétika, perkembangan dan jumlah stomata dipengaruhi oleh lingkungan (Noggle dan Fritz, 1983). Tanaman yang tumbuh pada lingkungan kering dengan intensitas cahaya yang tinggi cenderung memiliki stomata yang banyak, tetapi ukurannya kecil dibanding dengan tanaman yang tumbuh pada lingkungan basah dan terlindung (Prawiranata *et al.*, 1981).

## 1.2. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh fotoautotrofik terhadap pertumbuhan tunas krisan dalam proses kultur *in vitro* serta perbedaan stomata invitro dan exvitro krisan.

## METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan dan di Laboratorium Mikroteknik pada tanggal 12 Mei 2016.

### 2.2. Metode Fotoautotropik

Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan krisan. Media yang digunakan yaitu media MS<sub>2</sub>, MS<sub>2a</sub> (MS<sub>2</sub> + 20 g/l gula) dan MS<sub>2b</sub> (MS<sub>2</sub> + 10 g/l gula). Alat yang digunakan adalah botol kultur,

scapel, pinset, gunting, petridish dan bunsen.

Penanaman dilakukan di Laminar Air Flow dengan menanam satu pucuk krisan dan dua mata tunas aksilar pada masing-masing media yang digunakan. Pemberian ventilasi dilakukan pada plastik berlubang dan diberikan filter warna putih. Perlakuan yang dilakukan antara lain: kontrol, ventilasi satu lubang dan ventilasi dua lubang kemudian lubang diberi selotip filter.

Pengamatan dilakukan pada setiap botol yang kontrol, berlubang satu dan berlubang. Peubah-peubah yang diamati pada praktikum ini adalah jumlah buku, jumlah tunas dan jumlah akar.

### 2.3. Analisis Data

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) tiga faktor dengan dengan 7 perlakuan dan 3 variabel. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis varian (ANOVA) satu arah untuk parameter respons jumlah akar, jumlah buku dan jumlah tunas. Jika berbeda nyata ( $P < 0,05$ ), dilakukan Uji LSD.

### 2.4. Pengamatan Stomata Pada Tanaman *In vitro* dan *Eks vitro*

Bahan tanaman yang digunakan yaitu daun krisan. Alat yang digunakan selotip bening, preparat, mikroskop dan

silet. Daun krisan In vitro dan Ex vitro diambil dan dilapis selotip pada gelas preparat dan dilanjutkan dengan membersihkan permukaan daun hingga lapisan tipis menggunakan silet. Setelah permukaan daun terpisah dari jaringan lainnya (tersisa jaringan epidermis bawah daun).

Peubah-peubah yang diamati adalah jumlah stomata, lebar stomata dan kerapatan stomata menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x dengan luas bidang pandang 0,19625 mm<sup>2</sup> dan dilakukan perhitungan kerapatan stomata dengan persamaan berikut:

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{jumlah stomata}}{\text{luas bidang pandang}}$$

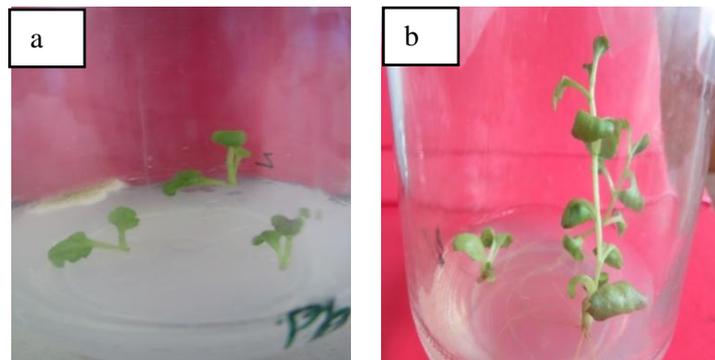
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1.Morfologi Tunas Krisan

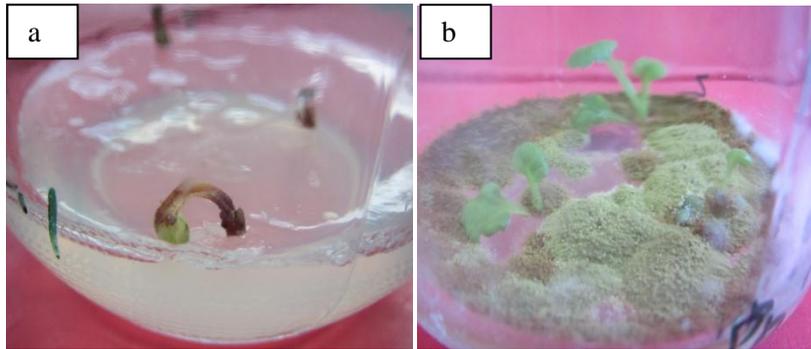
Tunas krisan yang di tumbuhkan dalam botol kultur dengan tutup berventilasi pada (Gambar 1) dan morfologi tunas pada media MS<sub>2</sub>a dan Media MS<sub>2</sub>b dengan perlakuan dua lubang terdapat pada (Gambar 2). Penggunaan tutup berventilasi bertujuan untuk memberikan peluang pertukaran udara yang lebih baik ke luar dan ke dalam lingkungan kultur.



Gambar 1. Tunas krisan dalam botol kultur dengan tutup berventilasi; filter putih



Gambar 2. a. Tunas krisan Pucuk pada media MS<sub>2</sub>a dengan 2 lubang.  
b. Tunas krisan Pucuk pada media MS<sub>2</sub>b dengan 2 lubang

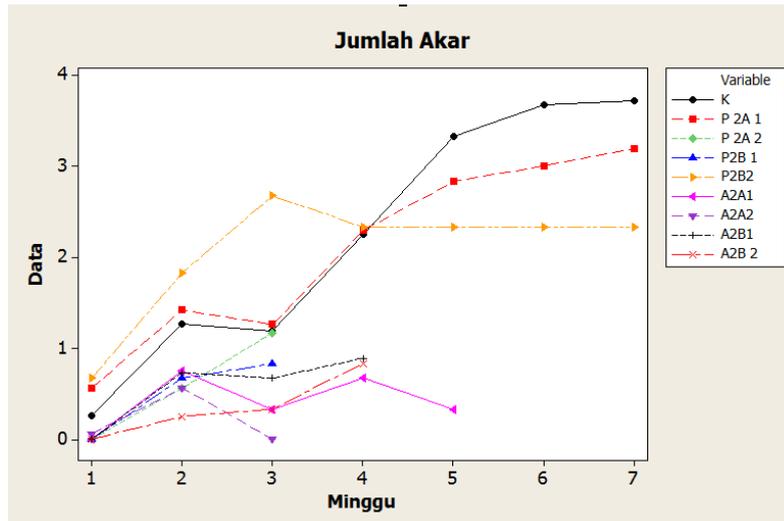


Gambar 3. a. Tunas krisan media MS<sub>2</sub>a Aksilar pada 5 MST.  
b. Tunas krisan terkontam pada media MS<sub>2</sub>a Aksilar 3 MST.

### 3.2. Jumlah Akar

Perlakuan posisi tunas yang diberikan dalam percobaan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan akar dengan nilai 0,0966 (Tabel 1). Hal ini dapat disebabkan oleh adanya lubang sebagai keluar masuknya udara yang

mempengaruhi posisi pertumbuhan tunas. Menurut Rahayu (2015), porositas udara dari bahan pengisi memberikan konsentrasi oksigen terlarut lebih tinggi di sekitar dasar tunas sehingga pertumbuhan akar lebih optimal.



Keterangan: K=kontrol; P2A1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; P2A2= pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; P2B1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; P2B2=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2; A2A1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; A2A2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; A2B1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; A2B2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2

Gambar 4. Grafik Jumlah Akar

Tabel 1. Jumlah Akar Krisan (2 MST)

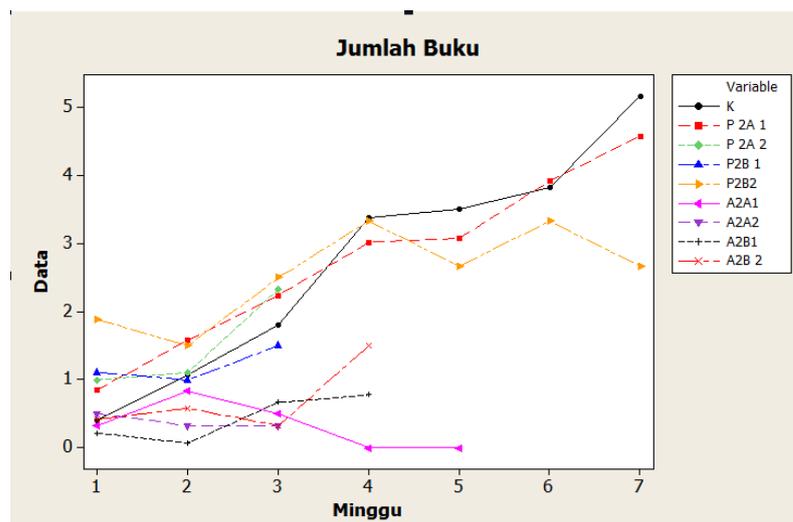
Sumber Keragaman	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kudarat Tengah	F Value	Pr(>F)
Posisi	2	0.4177	0.4177	2.56	0.0966*
Media	1	0.0002	0.0002	0.00	0.9652
Lubang	1	0.0609	0.0609	0.75	0.3955
Posisi:media	1	0.0301	0.0301	0.37	0.5490
Posisi:lubang	1	0.0151	0.0151	0.18	0.6708
Media:lubang	1	0.0829	0.0829	1.02	0.3226
Posisi:media:lubang	1	0,2646	0,2646	3.24	0.0833
Galat	26	2.1203	0.0816		
Total	34	2.9916			

Keterangan: \* Signifikan pada taraf 5% ( $P < 0,05$ )

### 3.3. Jumlah Buku

Jumlah buku pada tunas krisan dalam percobaan berpengaruh nyata terhadap posisi tunas pada (Tabel 2) dengan nilai 0,0014. Hal ini disebabkan oleh udara yang diperoleh pada masing-

masing posisi tanaman berbeda. Terlihat pada (Gambar 2.b), pertumbuhan tunas yang tidak seragam pada setiap posisi tumbuhnya tunas. Menurut Kozai & Kubota (2005), penggunaan ventilasi pada mikropropagas fotoautotropik memanfaatkan cahaya sebagai sumber energi.



Keterangan: K=kontrol; P2A1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; P2A2= pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; P2B1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; P2B2=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2; A2A1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; A2A2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; A2B1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; A2B2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2

Gambar 5. Grafik Jumlah Buku Krisan

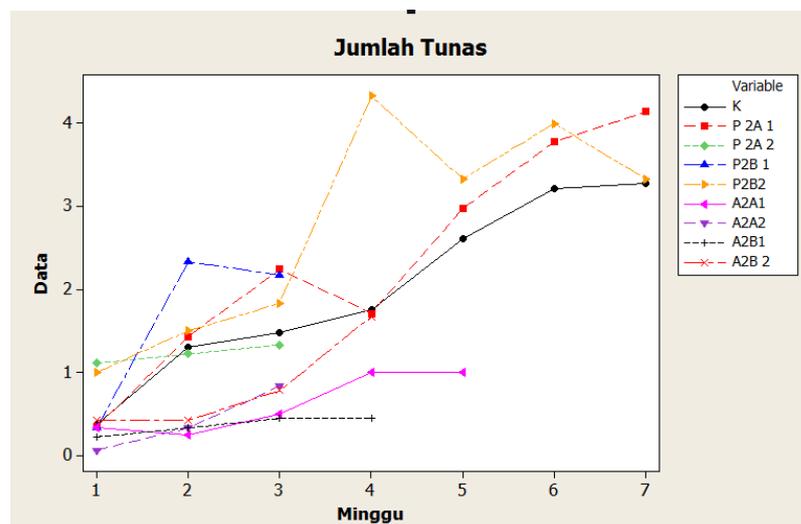
Tabel 2. Jumlah Buku Krisan (2 MST)

Sumber Keragaman	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kudarat Tengah	F Value	Pr(>F)
Posisi	2	1.2616	0.6308	7.98	0.0014*
Media	1	0.0161	0.0161	0.20	0.6547
Lubang	1	0.1057	0.1057	1.34	0.2554
Posisi:media	1	0.1566	0.1566	1.98	0.1680
Posisi:lubang	1	0.0057	0.0057	0.07	0.7890
Media:lubang	1	0.0279	0.0279	0.35	0.5565
Posisi:media:lubang	1	0.0179	0.0179	0.23	0.6372
Galat	35	2.7659	0.0790		
Total	43	4.3573			

Keterangan: \* Signifikan pada taraf 5% ( $P < 0,05$ )

### 3.4. Jumlah Tunas

Perkembangan tunas krisan juga menunjukkan berpengaruh nyata terhadap posisi tumbuh tunas dengan nilai 0,0224.



Keterangan: K=kontrol; P2A1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; P2A2= pucuk pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; P2B1=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; P2B2=pucuk pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2; A2A1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 1; A2A2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>a lubang 2; A2B1=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 1; A2B2=aksilar pada media MS<sub>2</sub>b lubang 2

Gambar 6. Grafik Jumlah Tunas

Tabel 3. Jumlah Tunas (2 MST)

Sumber Keragaman	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kudarat Tengah	F Value	Pr(>F)
Posisi	2	1.2452	1.2452	4.41	0.0224*
Media	1	0.0626	0.0626	0.44	0.5113
Lubang	1	0.0036	0.0036	0.03	0.8746
Posisi:media	1	0.0370	0.0370	0.26	0.6126
Posisi:lubang	1	0.0324	0.0324	0.23	0.6359
Media:lubang	1	0.0115	0.0115	0.08	0.7777
Posisi:media:lubang	1	0.0180	0.0180	0.13	0.7237
Galat	26	3.6669	0.1410		
Total	34	5.0771			

Keterangan: \* Signifikan pada taraf 5% ( $P < 0,05$ )

Pada (Gambar 4, 5 dan 6) terlihat bahwa parameter jumlah akar, jumlah buku dan jumlah tunas memiliki pertambahan jumlah yang sama yaitu pada perlakuan kontrol, media MS<sub>2a</sub> dengan eksplan pucuk lubang satu dan media MS<sub>2b</sub> dengan eksplan pucuk lubang dua dan masing-masing parameter memiliki

pertambahan jumlah akar yang normal hingga 7 MST. Berbeda dengan perlakuan menggunakan pucuk, pada pucuk (Gambar 3.a) menunjukkan kematian tunas pada perbanyak dengan menggunakan pucuk. Selain itu pada (Gambar 3.b) kontam juga sebagai penyebab kegagalan perkembangan tunas krisan.

Tabel 4. Pengaruh posisi tunas terhadap jumlah tunas, jumlah buku dan jumlah akar.

Posisi	Jumlah Tunas	Jumlah Buku	Jumlah Akar
Aksilar	1.14 <sup>b</sup>	1.17 <sup>b</sup>	0.44 <sup>b</sup>
Kontrol	1.42 <sup>ab</sup>	1.39 <sup>ab</sup>	1.07 <sup>ab</sup>
Pucuk	1.57 <sup>a</sup>	1.51 <sup>a</sup>	1.31 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT taraf 5%.

Secara umum, pada (Tabel 4) menunjukkan perlakuan posisi tunas aksilar dan pucuk berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, jumlah buku dan jumlah akar. Dimana jumlah tunas, jumlah buku dan jumlah akar pada aksilar lebih

kecil dibanding dengan kontrol. Sedangkan jumlah tunas, jumlah buku dan jumlah akar pada pucuk lebih tinggi dibanding dengan kontrol.

### 3.5. Stomata Pada Krisan

Penyebaran stomata pada tunas krisan terlihat pada (Gambar 7). Terlihat bahwa jumlah stomata pada *ex vitro* lebih banyak dari pada jumlah stomata pada *in vitro*. Menurut Prawiranata *et al* ( 1981),

tanaman yang tumbuh pada lingkungan kering dengan intensitas cahaya yang tinggi cenderung memiliki stomata yang banyak tetapi ukurannya kecil dibanding dengan tanaman yang tumbuh pada lingkungan basah dan terlindung.

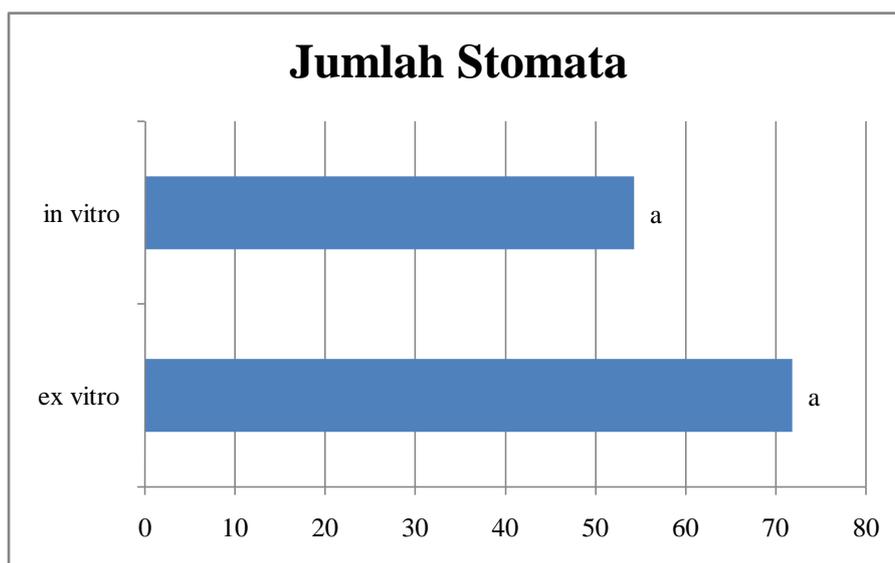


Gambar 7. a. stomata *in vitro* b. stomata *ex vitro*

Tabel 5. Pengaruh lingkungan *in vitro* dan *ex vitro* terhadap jumlah stomata, lebar stomata dan kerapatan stomata

Variabel	<i>In-vitro</i>	<i>Ex-vitro</i>
Jumlah Stomata	54.22 <sup>a</sup>	71.78 <sup>a</sup>
Lebar Stomata	44620.92 <sup>a</sup>	37174.23 <sup>b</sup>
Kerapatan Stomata	276.29 <sup>a</sup>	365.75 <sup>a</sup>

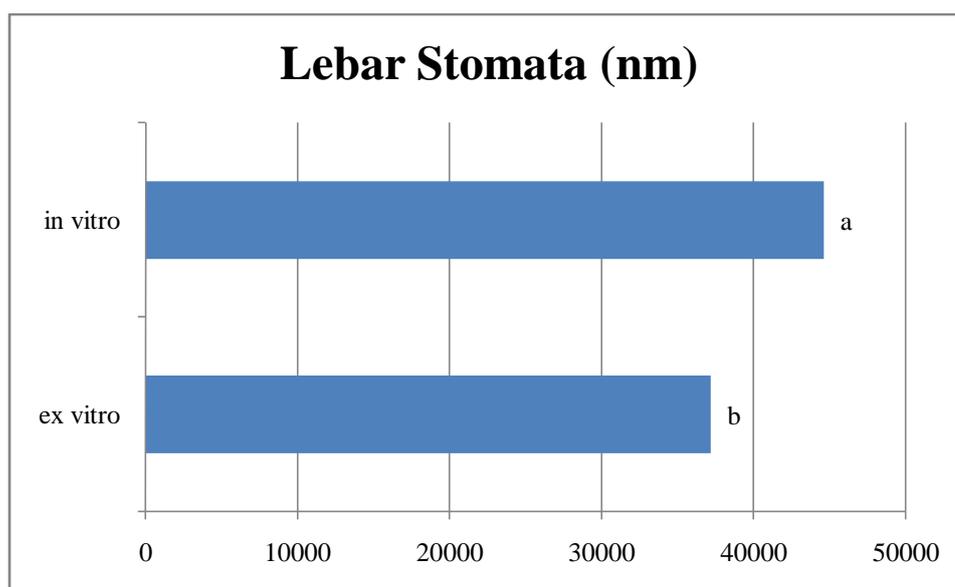
Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan antara perlakuan *In Vitro* dan *Ex Vitro*



Gambar 8. Grafik Jumlah Stomata

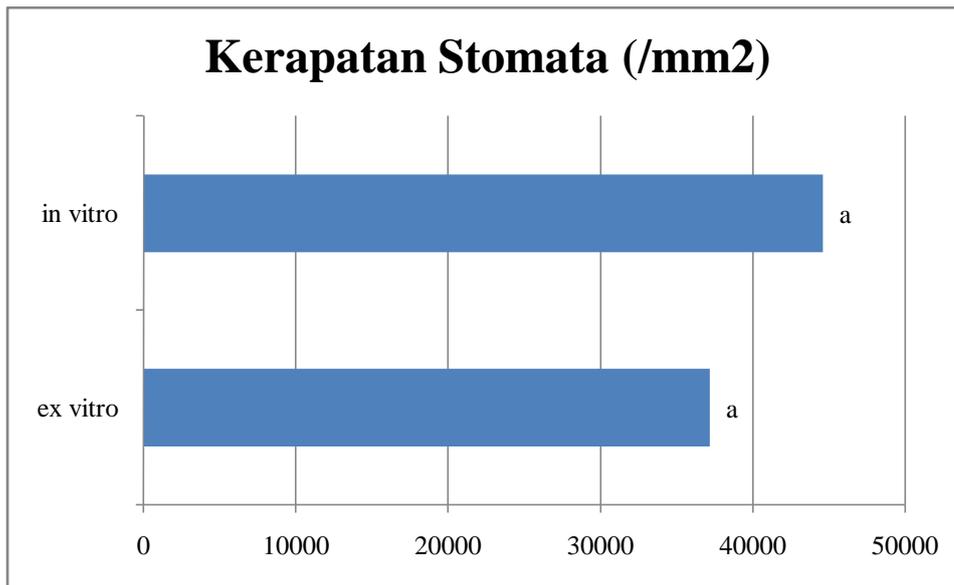
Pada (Gambar.8) terlihat bahwa jumlah stomata daun pada lingkungan ex vitro lebih banyak dari pada invitro. Menurut Prawiranata *et al* (1981),

tanaman yang tumbuh pada lingkungan ex vitro cenderung memiliki stomata yang banyak.



Gambar 9. Grafik Lebar Stomata

Pada (Gambar.9) terlihat bahwa lebar stomata daun pada lingkungan in vitro lebih tinggi dari pada ex vitro.



Gambar10. Grafik Kerapatan Stomata

Pada (Gambar.10) terlihat bahwa kerapatan stomata daun pada lingkungan in vitro lebih tinggi dari pada ex vitro.

Pada (Tabel 5), penyebaran stomata tunas pada perlakuan ex vitro berpengaruh nyata pada lebar stomata dengan nilai 37174, 23 lebih kecil dibanding dengan lebar stomata pada in vitro yaitu 44620,92. Terlihat pada (Gambar 7) bahwa bentuk stomata dalam kondisi menutup terdapat pada daun krisan yang ditanam pada kondisi Ex vitro. Sehingga dapat dikatakan stomata akan berperan sebagai pengatur penguapan dalam peristiwa fotosintesis. Menurut Palit ( 2008), bahwa aktivitas fotosintesis sangat bergantung pada pembukaan dan penutupan stomata.

## KESIMPULAN

1. Perbanyak secara fotoautotrop melalui pucuk adalah yang terbaik dalam perbanyak tunas krisan
2. Penyebaran stomata dipengaruhi oleh lingkungan ex vitro dan in vitro, dimana jumlah stomata pada ex vitro lebih tinggi. Sedangkan lebar dan kerapatan stomata yang lebih tinggi terdapat pada daun yang berasal dari in vitro.

## DAFTAR PUSTAKA

Kitaya Y (2005). Importance of air movement for promoting gas and leaf exchange between plants and atmosphere under controlled environment. In: Omassa et al. (eds.) Plant Responses to Air Pollution and Global Change. Springer-Verlag Tokyo. p. 185-193.

- Kozai, T. et al. 1992a. Effect of the difference between photoperiod and darkperiod temperatures, and photosynthetic photon flux density on the shoot length and growth of potato plantlets in vitro J. Japan Soc. Hort. Sci. J. 61 (1):p. 93-98.
- Kozai T & C Kubota (2005). Concepts, definitions, ventilation methods, advantages and disadvantages. In: T. Kozai et al. (eds.) Photoautotrophic (Sugar-Free Medium) Micropropagation As a New Micro-Propagation and Transplant Production System. The Netherlands, Springer, p. 19-29.
- Lucchesini M, Mensuali-Sodi A, Massai R & Gucci R. 2001. Development of autotrophy and tolerance to acclimatization of *Myrtus communis* transplants cultured in vitro under different aeration. *Biologia Plantarum*. 44:167–174.
- Noggle, G. R. and G. J. Fritz 1983. *Introductory Plant Physiology*. Prentice Hall. P.627.
- Palit, J. 2008. Teknik Penghitungan Jumlah Stomata Beberapa Kultivar Kelapa. *Buletin Teknik Pertanian* Vol. 13 No. 1, 2008. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/bt131083.pdf>
- Prawiranata, W.S., P. Harran, dan P. Tjondronegoro. 1981. *Dasardasar Fisiologi Tumbuhan*. Departemen Botani, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, E.S. 2015. *Kultur Fotoautotrofik: Solusi Mikropopagasi Tumbuhan Berkayu*. FMIPA Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Rukmana, R. Dan A. E. Mulyana. 1997. *Krisan. Seri bunga potong*. Penerbit kanisius, Yogyakarta.
- Woelanningsih, S. 1984. *Botani Dasar. Penuntun Praktis Sitologi*. Fakultas Biologi. UGM. Yogyakarta.