

Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Tia Setiawati*, Alma Ayalla, Anandira Witri

Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor

*e-mail : tia@unpad.ac.id

Abstract

Chrysanthemum is an ornamental plant that contains many secondary metabolites such as flavonoids and various volatile compounds that have the potential as medicinal ingredients. Production of secondary metabolites from plants can be carried out *in vitro* through callus culture. The purpose of this study was to determine the effect of Plant Growth Regulators (PGR) combination on callus formation from explants of leaves and stems of *Chrysanthemum* plantlets in Murashige & Skoog (MS) media. The study was conducted using a Completely Randomized Design (CRD) with a single factor in the form of 10 combinations of 2,4-D + kinetin for callus induction from stem explants and 12 combinations of NAA + BAP for callus induction from leaf explants. Observations were conducted on two months after planting. Observation data were analyzed descriptively. The results showed that callus formation occurred both from stem and leaf explants in all treatment combinations. In the group of stem explant, a combination of 3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin resulted in the highest average of callus size, wet weight, and dry weight, ie 13 (clay models); 1.186 grams; 0.316 grams respectively with a compact texture and light green, brownish dark green. Pada kelompok ekplan daun, kombinasi 1 ppm NAA + 1 ppm BAP rata-rata ukuran, berat basah dan berat kering kalus tertinggi berturut-turut sebesar 17 (skala clay models); 1,3921 gram dan 0,1024 gram dengan tekstur kompak dan berwarna hijau muda. In the leaf explant group, a combination of 1 ppm NAA + 1 ppm BAP, the highest average of size, fresh weight and dry weight of callus at 17 (clay models); 1,3921 grams and 0.1024 grams with compact texture and light green color.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium*, calli, NAA, BAP, kinetin

PENDAHULUAN

Chrysanthemum morifolium atau yang lebih dikenal dengan krisan, merupakan salah satu tanaman hias berasal dari famili Asteraceae yang memiliki banyak manfaat. Krisan sudah banyak digunakan sebagai bahan obat-obatan tradisional, termasuk dijadikan minuman seperti teh. Menurut Mustakim et al. (2015), bunga krisan mengandung zat antioksidan

yang bermanfaat bagi detoksifikasi racun di dalam tubuh dan membantu melancarkan peredaran darah. Selain itu, krisan biasa digunakan untuk mengobati flu, bahan dasar obat antibiotik, dan meningkatkan sistem penglihatan (Mani and Senthil 2011; Lin & Harnly, 2010).

Sun et al. (2010) melaporkan bahwa tanaman *C. morifolium* mengandung 12 jenis flavonoid dan 58 senyawa volatil di

antaranya quercetin-3-galactoside, luteolin-7-glucoside, quercetin-3-glucoside, quercitrin, myricetin, luteolin, apigenin, kaempferol. Flavonoid menjadi perhatian karena peranannya bersifat obat dalam pencegahan kanker dan penyakit kardiovaskular (Neldawati et al. 2013).

Produksi senyawa aktif dari tumbuhan dapat dilakukan secara *in vitro* melalui kultur kalus. Kalus merupakan massa sel yang tidak terdeferensiasi, serta dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif produksi metabolit sekunder pada tumbuhan (Razavi et al. 2016; Ikeuchi et al. 2013). Menurut Swarna et al. (2016), kultur kalus sangat efektif untuk memperoleh metabolit sekunder dan menjadi alternatif untuk membantu konservasi keberadaan tumbuhan di alam.

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam menginduksi kalus dalam teknik *in vitro* adalah pemilihan bahan eksplan. Eksplan merupakan potongan atau bagian jaringan yang diisolasi dari tanaman yang digunakan untuk inisiasi suatu kultur *in vitro* (Hendaryono & Wijayani 1994). Pembentukan kalus pada eksplan sangat dipengaruhi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media terutama ZPT golongan auksin dan sitokinin. Salah satu ZPT golongan auksin yang sering

digunakan untuk menginduksi kalus adalah Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). Jika dibandingkan dengan jenis auksin lainnya, 2,4-D secara efektif dapat merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus (Rivai & Helmanto 2015).

Dalam menginduksi kalus penambahan auksin sering dikombinasikan dengan sitokinin di antaranya kinetin dan Benzyl Amino Purin (BAP). Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi ZPT endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan (Lestari 2011). Kombinasi antara auksin dan sitokinin dapat menunjukkan hasil morfologi dan tekstur kalus yang berbeda setelah dua minggu masa tanam (Mastuti et al. 2017). Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan kinetin pada media MS berhasil menginduksi pembentukan kalus dari eksplan batang *Telfairia occidentalis* (Sakpere et al. 2014).

Tujuan dari penelitian adalah mengetahui pengaruh pemberian kombinasi konsentrasi 2,4-D + kinetin dan NAA + BAP terhadap induksi kalus dari eksplan

batang dan daun planlet krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. Yulimar).

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah NAA, BAP, kinetin, 2,4-D, agar pemat, alkohol 70%, alkohol 95%, aquades, medium Murashige & Skoog, spirtus, sukrosa, planlet krisan (*C. morifolium* Ramat.) cv. Yulimar.

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

a. Untuk induksi kalus eksplan batang perlakuan terdiri dari 10 kombinasikonsentrasi 2,4-D dan kinetin meliputi 1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin; 1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin; 2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin; 2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin; 2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin; 2 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin; 3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin; 3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin; 3 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin; 3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin.

b. Untuk induksi kalus eksplan daun, perlakuan terdiri dari 12 kombinasi konsentrasi NAA dan BAP, yaitu 1 ppm NAA + 0,5 ppm BAP ; 1 ppm NAA + 1 ppm BAP ; 1 ppm NAA + 1,5 ppm kinetin; 1 ppm NAA + 2 ppm BAP; 2 ppm NAA +

*Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium**

0,5 ppm BAP ; 2 ppm NAA + 1 ppm BAP ; 2 ppm NAA + 1,5 ppm BAP ; 2 ppm NAA + 2 ppm BAP ; 3 ppm NAA + 0,5 ppm BAP; 3 ppm NAA + 1 ppm BAP ; 3 ppm NAA + 1,5 ppm BAP ; 3 ppm NAA + 2 ppm BAP.

Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui waktu muncul kalus pertama kali, sedangkan parameter tekstur dan warna kalus, ukuran, berat basah dan berat kering kalus diamati pada 60 hari setelah tanam (HST)

Tata Kerja Penelitian

Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan disterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121 °C dengan tekanan 17,5 - 20 psi (*pounds per square inch*) selama 1 jam. *Laminar air flow* disterilisasi sebelum digunakan untuk penanaman dengan cara dibersihkan menggunakan alkohol 70%, lampu ultraviolet (UV) diaktifkan selama 60 menit.

Pembuatan Larutan Stok ZPT dan Media Perlakuan

Larutan stok ZPT dibuat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm, sebelumnya dilarutkan terlebih dahulu dengan beberapa tetes NaOH untuk auksin dan HCl untuk golongan sitokinin. Penambahan aquades steril pada larutan

stok ZPT disesuaikan dengan konsentrasi yang akan dibuat.

Pembuatan media perlakuan dilakukan dengan cara menimbang media MS sebanyak 4,43 g/L, 30 g/L sukrosa, 7 g/L bubuk agar dan dimasukkan ke dalam gelas kimia yang telah berisi akuades. Selanjutnya ditambahkan ZPT sesuai konsentrasi yang telah ditentukan. Banyaknya bahan-bahan yang ditambahkan disesuaikan dengan volume medium yang akan dibuat. Media dihomogenkan dan pH media diukur dengan pH meter hingga 5,6 - 5,8. Media dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan ke setiap botol kultur sebanyak \pm 15 ml lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit pada tekanan 17,5 psi.

Penanaman Eksplan dan Pengamatan

Eksplan batang planlet dipotong dengan ukuran 1 cm, sedangkan eksplan daun 0,5 cm² lalu ditanam dalam media perlakuan. Kultur diinkubasi dengan suhu 18°C-27°C dan intensitas cahaya 600-1000 lux. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui waktu muncul kalus dan pada 60 HST dilakukan pengamatan terhadap tekstur dan warna kalus, ukuran kalus, berat basah, dan berat kering. Ukuran kalus diukur menggunakan skala *clay models*. Data dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Kalus (Tekstur, Warna, dan Respon Lain)

Pengamatan morfologi kalus yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2, Gambar 1 dan 2. Kalus terbentuk ditandai dengan pembengkakan jaringan (elongasi) pada hari ke - 3 yang diikuti dengan terbentuknya bulir-bulir kecil berwarna bening pada luka bekas irisan eksplan. Pada eksplan batang terjadi di kedua ujung batang atau salah satunya, sedangkan pada eksplan daun terjadi pada permukaan daun yang dilukai. Hariyati et al. (2016) menuturkan bahwa pertumbuhan kalus ditandai dengan adanya pembengkakan berwarna kuning keputihan/ bening di sekitar luka irisan eksplan dan akhirnya menutupi seluruh permukaan. Menurut Hendaryono & Wijayani (1994), terbentuknya massa sel atau kalus pada seluruh permukaan irisan eksplan ditandai sebagai respon terhadap hormon bbaik secara eksogen maupun endogen. Tekstur dan warna kalus yang berasal dari eksplan batang planlet krisan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa sebagian besar kalus yang terbentuk dari eksplan batang memiliki tekstur kompak dan pada beberapa perlakuan bertekstur kombinasi kompak dan remah. Demikian juga kalus

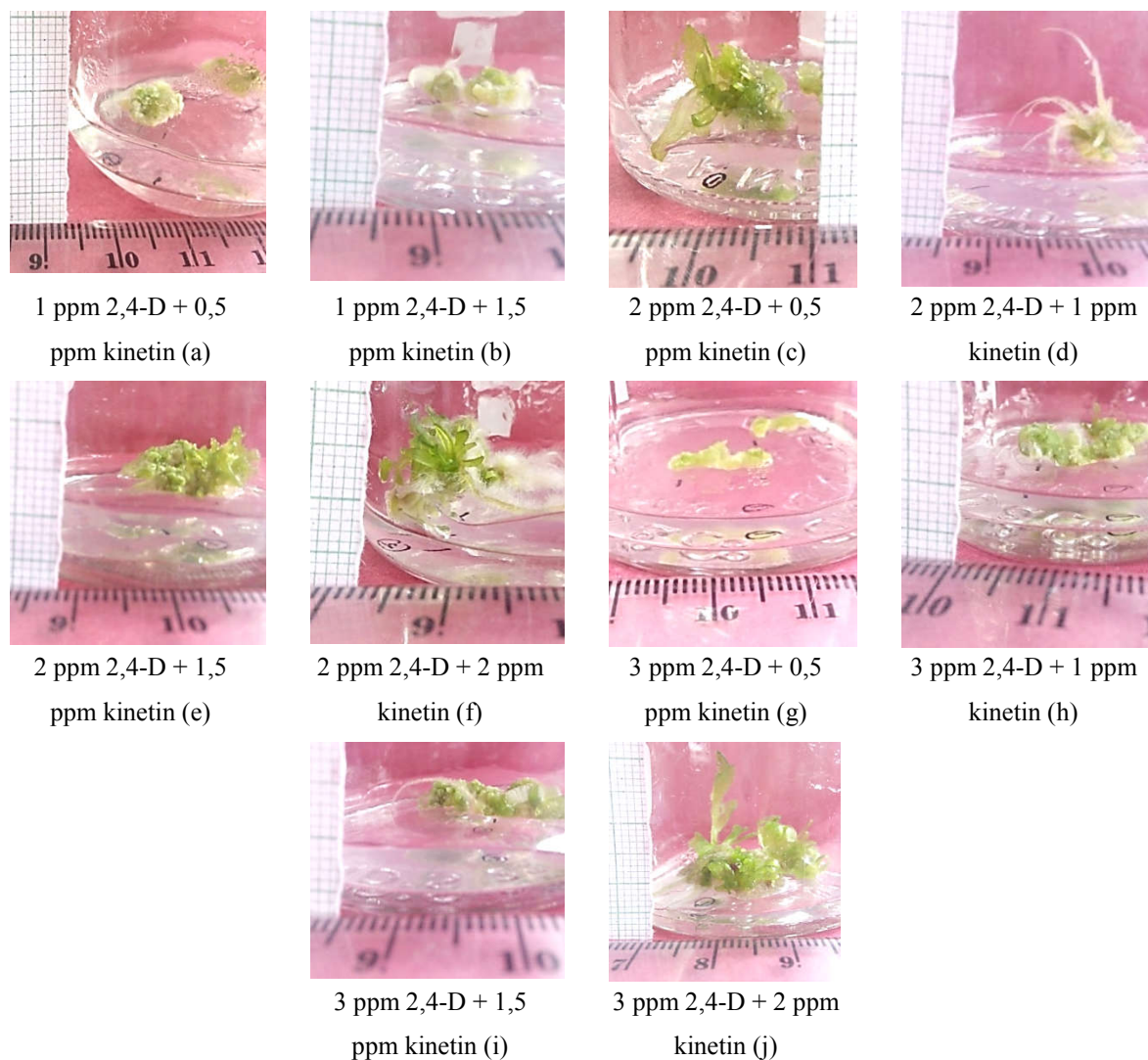
asal esplan daun memiliki tekstur kalus yang bervariasi, namun secara umum bertekstur kompak (Tabel 2). Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu kompak, remah, dan campuran keduanya. Kalus remah memiliki struktur sel-selnya renggang dan mudah rapuh sedangkan kalus bertekstur kompak memiliki ciri-ciri susunan sel yang rapat dan membentuk tonjolan padat (Santoso & Nursandi 2003). Menurut Mahadi et al. (2016) tekstur kalus

yang remah mengalami pembelahan sel yang cepat daripada tekstur kalus yang kompak.

Dominansi tekstur kompak pada penelitian ini dapat disebabkan oleh efek pemberian sitokinin pada media kultur. Sesuai dengan pernyataan Purwianingsih et al. (2007) bahwa tekstur kalus kompak merupakan efek dari sitokinin yang berperan dalam transport zat hara.

Tabel 1. Tekstur dan warna kalus, serta respon lain eksplan batang krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

No	Perlakuan	Tekstur Kalus	Warna Kalus	Respon lain
1	1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	Kompak & Remah	Hijau muda-hijau tua	-
2	1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	Kompak	Hijau muda	Tumbuh akar
3	2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	Kompak	Hijau muda-hijau tua	Tumbuh akar dan tunas
4	2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin	Kompak	Hijau tua	Tumbuh akar
5	2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	Kompak	Hijau muda-hijau tua	-
6	2 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin	Kompak	Hijau tua	Tumbuh akar dan daun
7	3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	Kompak	Hijau muda	Tumbuh akar
8	3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin	Kompak	Hijau muda-hijau tua	Tumbuh akar dan tunas
9	3 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	Kompak & Remah	Hijau muda-hijau tua	Tumbuh akar
10	3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin	Kompak	Hijau tua kecoklatan	Tumbuh akar dan tunas



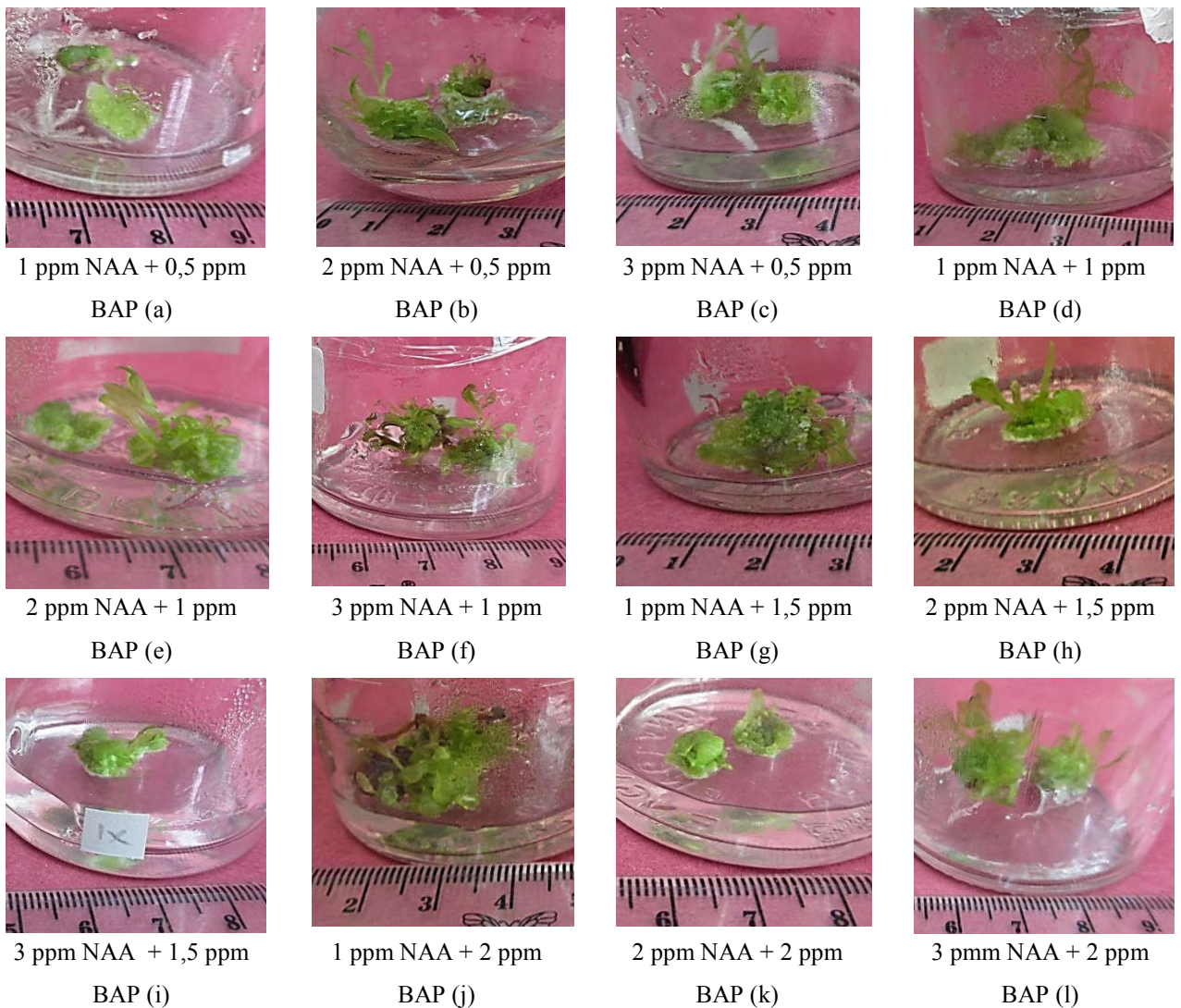
Gambar 1. Morfologi kalus asal eksplan batang planlet krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

Tabel 2. Tekstur dan warna kalus, serta respon lain eksplan daun krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

No	Perlakuan	Tekstur Kalus	Warna Kalus	Respon lain
1	1 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	Kompak	hijau kecoklatan	akar
2	2 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	Remah	hijau kecoklatan	Akar dan tunas
3	3 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	Remah	hijau bening	Akar dan tunas
4	1 ppm NAA + 1 ppm BAP	Kompak	Hijau muda	Tunas
5	2 ppm NAA + 1 ppm BAP	Remah	Hijau Muda	Tunas

Induksi Kalus Krisan (Chrysanthemum morifolium

6	3 ppm NAA + 1 ppm BAP	Kompak	Hijau kecoklatan	Tunas
7	1 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	Kompak	Hijau muda	Tunas
8	2 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	Remah	Hijau muda	Tunas
9	3 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	Remah	Hijau muda	Tunas
10	1 ppm NAA + 2 ppm BAP	Kompak	Hijau tua	Tunas
11	2 ppm NAA + 2 ppm BAP	Remah	Hijau muda	Tunas
12	3 ppm NAA + 2 ppm BAP	Kompak	Hijau tua kecoklatan	Tunas



Gambar 2. Morfologi kalus asal eksplan daun planlet krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

Sitokinin berperan dalam transport air dan zat hara melalui pembuluh angkut dan mempengaruhi potensial osmotik sel. Sukrosa yang terkandung dalam media kultur akan menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut muncul akibat adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara dari media akan masuk ke dalam sel melalui osmosis dan menyebabkan dinding-dinding sel menjadi kaku, dan membuat kalus menjadi kompak. Demikian pula menurut Mahadi et al. (2016) bahwa tekstur kompak disebabkan kalus mengalami lignifikasi sehingga mempunyai tekstur yang keras. Dwi et al. (2012) menyatakan bahwa tekstur kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat, sehingga sel menjadi lebih kaku. Pada beberapa kombinasi perlakuan menunjukkan bahwa kalus asal daun bertekstur remah (Tabel 2). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel (Rosmaina 2015).

Pemberian berbagai kombinasi konsentrasi 2,4-D dan kinetin mengakibatkan warna yang berbeda-beda pada kalus eksplan batang (Tabel 1 dan

Gambar 1) dan eksplan daun (Tabel 2 dan Gambar 2).

Sebagian besar kalus asal eksplan batang pada awalnya berwarna hijau muda dan pada akhir pengamatan berubah menjadi lebih gelap (hijau tua). Sesuai dengan pernyataan Roy et al. (2008), bahwa pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin pada kalus batang *Gymnema sylvestris* menghasilkan warna kalus hijau muda hingga hijau tua. Begitu pula dengan warna kalus asal eksplan daun sebagian besar berwarna hijau. Warna hijau pada kalus mengidentifikasi kandungan klorofil dalam jaringan, semakin banyak klorofil pada tanaman.

Pada beberapa perlakuan, kalus yang terbentuk berwarna hijau kecoklatan (Tabel 1 dan 2; Gambar 1 dan 2). Warna kecoklatan ini dapat terjadi karena beberapa faktor, seperti adanya proses metabolisme senyawa fenol yang berlebih (Dwi et al. 2012) atau proses perubahan adaptif tanaman terhadap pengaruh fisik (Rohmah 2007). Senyawa fenol yang terbentuk pada kalus dalam penelitian ini merupakan bentuk respon eksplan terhadap luka karena pengirisan. Jika fenol yang terbentuk mengalami oksidasi maka dapat menyebabkan warna coklat pada kalus. Purnamaningsih & Ashrina (2011) menyatakan bahwa perubahan kalus

menjadi coklat menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan kalus memasuki fase stasioner (penuaan) yang selanjutnya kalus menjadi mati.

Respon eksplan terhadap ZPT selain membentuk kalus, pada beberapa kombinasi perlakuan muncul akar, tunas, dan daun (Tabel 1 dan 2; Gambar 1 dan 2). Menurut George & Sherrington (1984), penambahan konsentrasi auksin dan sitokinin dalam perbandingan tertentu dapat memacu pertumbuhan eksplan beregenerasi membentuk organ. Banyaknya akar yang tumbuh pada kalus asal eksplan batang pada kombinasi konsentrasi 3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin dapat disebabkan

perbandingan konsentrasi 2,4-D yang lebih tinggi daripada konsentrasi kinetin (Gambar 4h). Hendaryono & Wijayani (1994) menuturkan apabila auksin yang ditambahkan dosisnya lebih tinggi, maka akan memacu pembentukan akar, sedangkan jika kadar sitokinin lebih tinggi, maka akan memacu pembentukan tunas.

Ukuran, berat basah dan berat kering kalus

Pengamatan terhadap ukuran, berat basah dan berat kering kalus asal eksplan batang dan daun planlet krisan dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Ukuran, berat basah dan berat kering kalus asal eksplan batang krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

No	Kombinasi Kinetin dan 2,4-D	Ukuran (skala clay models)	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)
1	1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	10	0,375	0,032
2	1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	10	0,407	0,032
3	2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	11	0,836	0,061
4	2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin	10	0,356	0,030
5	2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	12	0,401	0,031
6	2 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin	12	0,493	0,039
7	3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin	12	0,481	0,035
8	3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin	10	0,245	0,026
9	3 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin	11	0,596	0,059
10	3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin	13	1,186	0,316

Tabel 4. Ukuran, berat basah dan berat kering kalus asal eksplan daun krisan (*C. morifolium* Ramat cv. Yulimar)

No	Kombinasi Kinetin dan 2,4-D	Ukuran (skala clay models)	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)
1	1 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	9	0,3143	0,0293
2	2 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	12	1,2472	0,0865
3	3 ppm NAA + 0,5 ppm BAP	13	0,9778	0,0632
4	1 ppm NAA + 1 ppm BAP	17	1,3921	0,1024
5	2 ppm NAA + 1 ppm BAP	11	0,8583	0,0662
6	3 ppm NAA + 1 ppm BAP	13	1,0985	0,0613
7	1 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	14	1,5621	0,1906
8	2 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	5	0,399	0,0378
9	3 ppm NAA + 1,5 ppm BAP	8	0,4213	0,0861
10	1 ppm NAA + 2 ppm BAP	12	1,4831	0,0471
11	2 ppm NAA + 2 ppm BAP	6	0,3495	0,0347
12	3 ppm NAA + 2 ppm BAP	15	1,5318	0,1047

Pertumbuhan kalus dalam penelitian ini ditentukan dengan mengukur ukuran, berat basah dan berat kering kalus. Pertumbuhan kalus asal eksplan batang dan daun krisan yang terbaik berturut-turut terdapat pada perlakuan 3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin dan 1 ppm NAA + 1 ppm BAP. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata ukuran kalus, berat basah dan berat kering kalus tertinggi yang terjadi pada kedua kombinasi tersebut. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kombinasi 3 ppm 2,4-D + 2 ppm, kalus dari eksplan batang memiliki ukuran, berat basah dan berat kering tertinggi berturut-turut sebesar 13 (skala *clay models*); 1,186 gram dan 0,316 gram. Rata-rata ukuran, berat basah dan berat

kering kalus tertinggi asal eksplan daun yang terdapat pada kombinasi 1 ppm NAA + 1 ppm BAP berturut-turut sebesar 17 (skala *clay models*); 1,3921 gram dan 0,1024 gram (Tabel 4).

Berat basah secara fisiologis terdiri dari dua kandungan materi yaitu air dan karbohidrat. Berat basah kalus yang besar disebabkan oleh kandungan airnya yang tinggi. Berat basah yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus (Andaryani 2010). Pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh perimbangan ZPT auksin dan sitokinin yang ditambahkan dalam media serta interaksinya dengan ZPT

endogen yang dihasilkan secara alami oleh jaringan eksplan. George & Sherington (1984) menyatakan bahwa auksin dan sitokinin adalah dua senyawa penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis kultur sel, jaringan, dan organ tanaman. Interaksi perimbangan antara ZPT yang diberikan dalam media dan yang diproduksi sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Menurut Rahayu (2003), proses pembentukan kalus tidak terlepas dari pembelahan, pembesaran, dan perpanjangan sel. Auksin berperan dalam pembentukan kalus tersebut, sehingga auksin dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, sehingga air, ion-ion organik dan molekul-molekul anorganik masuk ke dalam sel. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya penambahan ukuran dan berat kering kalus yang tidak dapat balik. Pertumbuhan berkaitan dengan penambahan volume dan jumlah sel, pembentukan protoplasma baru, penambahan berat dan selanjutnya meningkatkan berat keringnya.

Kombinasi 2,4-D + kinetin dan NAA + BAP yang digunakan untuk menginduksi kalus dalam penelitian ini dengan perbandingan yang tepat dapat mempengaruhi cepatnya pertumbuhan sel kalus dan penambahan massa kalus. Hasil serupa dilaporkan Karimian *et al.* (2014)

bahwa kombinasi antara 2,4-D dan kinetin efektif dalam meningkatkan berat basah dan berat kering pada kalus batang *Taxus brevifolia*. Pemberian kinetin tunggal dengan konsentrasi yang cukup banyak memiliki efek hambatan pada pertumbuhan kalus dan berat basah kalus, sedangkan penambahan 2,4-D memiliki efek stimulasi linear pada penambahan massa kalus.

KESIMPULAN

Pembentukan kalus yang diinduksi dari eksplan batang dan daun planlet krisan terjadi pada seluruh perlakuan kombinasi 2,4-D + kinetin dan NAA + BAP. Sebagian besar kalus yang terbentuk memiliki tekstur kompak dengan warna kehijauan. Ukuran kalus, berat basah dan berat kalus tertinggi yang diinduksi dari eksplan batang dan daun krisan berturut-turut terdapat pada kombinasi 3 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin dan 1 ppm NAA + 1 ppm BAP. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan rujukan dasar untuk menginduksi kalus krisan yang bermanfaat sebagai sumber metabolit sekunder dan bahan perbanyakan tanaman krisan secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini terselenggara atas dana Hibah Internal Universitas Padjadjaran Skema Riset Fundamental Unpad. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Rektor Universitas Padjadjaran dan Departemen Biologi FMIPA Unpad.

DAFTAR PUSTAKA

Andaryani S. 2010. Kajian penggunaan berbagai konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap induksi kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dwi, N.M., Waenati, Muslimin & I.N. Suwastika. 2012. Pengaruh penambahan air kelapa dan berbagai konsentrasi hormon 2,4-D pada medium MS dalam menginduksi kalus tanaman anggur hijau (*Vitis vinifera L.*) *Jurnal Natural Science* 1(1): 53-62.

George, E.F., & T.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directionary of Commercial Laboratories.* England.

Hariyati, M., I. Bachtiar, & P. Sedijani. 2016. Induksi kalus tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dengan pemberian benzil amino purin (BAP) dan Dichlorofenoksi acetyl acid (2,4-D). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA* 2 (1).

Hendaryono D.P.S., & A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern.* Yogyakarta : Kanisius.

Ikeuchi, M., K. Sugimoto, & A. Iwase. 2013. Plant callus: Mechanism of induction and repression. *The Plant Cell* 25: 3159-3173

Karimian, R., M. Lahouti, & S.J. Davarpanah. 2014. Effects of different concentrations of 2, 4-D and bTaxus Brevifolia Nutt. *Journal of Applied Biotechnology Reports* 1(4):167-170.

Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7 (1): 63-68.

Lin, L.Z., & J.M. Harnly. 2010. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium Ramat*). *Food Chemistry* 120: 319–326.

Mahadi, I., I.W. Syafi', & Y. Sari. 2016. Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)* 21 (2): 84-89.

Mani, T., & K. Senthil. 2011. Multiplication of Chrysanthemum through somatic embryogenesis. *Asian*

- Journal Pharma Technology* 1 (1) :13-16.
- Mustakim, B., F. Wahidah, & A. Al-Fauzy. 2015. Pengaruh penambahan air kelapa terhadap pertumbuhan stek mikro tanaman krisan (*Chrysanthemum indicum*) secara in vitro. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics* 2: 76-83.
- Purnamaningsih R., & M. Ashrina. 2011. The effect of BAP and NAA on callus induction and artemisinin content of *Artemisia annual*. *Berita Biologi* 10(4).
- Purwaningsih, W., S. Febri, & Kusdianti. 2016. Formation flavonoid secondary metabolites in callus culture of *Chrysanthemum cinerariifolium* as alternative provision medicine. *Proceedings of International Seminar on Mathematics, Science, and Computer Science Education (MSCEIS 2015)*.
- Rahayu, W.P. 2003. *Klasifikasi Bahan Pangan dan Resiko Keamanannya*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Razavi, S.M., H. Arshneshin, & A. Ghasemian. 2016. In vitro callus induction and isolation of volatile compounds in callus culture *Lallemantia iberica (M. Beib.) Fisch. & C.A. Mey. Journal of Plant Process and Function* 5(18).
- Rivai, R.R. & H. Helmanto. 2015. Induksi kalus *Chrysanthemum indicum* untuk meningkatkan keragaman genetic dari sel somatic. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON* 1(1): 167-170.
- Rohmah, S.N. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D dalam Kultur In Vitro Iles-iles (*Amorphophallus muelleri Blume*). *Tugas Akhir*. Bogor : ITP
- Rosmaina, Z., P. Sutejo, Ulfiatun, & Maisupratina. 2015. Induksi kalus pasak bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) melalui eksplan daun dan petiol. *J. Agroteknologi* 6(1): 33-40.
- Roy, A., S. Ghosh, M. Chaudhuri, & P.K. Saha. 2008. Effect of different plant hormones on callus induction in *Gymnema sylvestris* R.Br. (Asclepiadaceae). *African Journal of Biotechnology* 7(13): 2209-2211.
- Sakpere, A.M.A., S.A. Ajayi, & A.A. Adelusi. 2014. Effect growth regulators and explant types on callus induction in *Telfairi occidentalis Hook F. Afr. J. Biothechnol* 13(20): 2015 – 2021.

Santoso, U., & F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Pusbitan UMM.

Sari, I.A., Sukarsa & S. Samiyarsih. 2016. Analisis fenetik kultivar krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Biosfera* 33(2): 52-59.

Sun, Q.L., S. Hua, S., Ye, J.H., Zheng, X.Q., & Liang, Y.R. 2010. Flavonoids and

volatiles in *Chrysanthemum morifolium* Ramat flower from Tongxiang County in China. *African Journal of Biotechnology* 9(25):3817-3821.

Swarna, S.J., Y. Dilruba, Md. Mostafizur, & A. Firoz. 2016. Callus induction and indirect organogenesis in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Int. J. Biosci* 9(3): 139-149.