



**OPTIMASI PERTUMBUHAN PLANTLET *Chrysanthemum indicum* L.
SECARA *IN VITRO*
MELALUI PENINGKATAN LUAS PERMEABILITAS TUTUP BOTOL
KULTUR DAN PENURUNAN KONSENTRASI SUKROSA**

Skripsi

**disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi**

oleh

Nunik Triyastuti

4411411017

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

2018

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan skripsi yang berjudul: “Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Chrysanthemum indicum* L. secara *in Vitro* melalui Peningkatan Luas Permeabilitas Tutup Botol Kultur dan Penurunan Konsentrasi Sukrosa” dan seluruh isinya adalah benar-benar karya sendiri, bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 27 Desember 2017



Nunik Triyastuti

4411411017

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Chrysanthemum indicum* L. secara *in Vitro* melalui Peningkatan Luas Permeabilitas Tutup Botol Kultur dan Penurunan Konsentrasi Sukrosa

disusun oleh

Nunik Triyastuti


4411411017

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada tanggal 03 Januari 2018.




Panitia
Ketua
Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.
NIP 196412231988031001

Sekretaris



Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP 196511161991032001

Ketua penguji



Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si.
NIP 196007121990032001

Anggota Penguji/
Pembimbing I



Prof. Dr. Enni Suwarsi R., M.Si.
NIP 196009161986012001

Anggota Penguji/
Pembimbing II



Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 198009292005012004

MOTTO

Jangan pernah menunggu. Waktunya tidak akan pernah tepat (Napoleon Hill).

Yakinlah kau bisa dan kau sudah separuh jalan menuju ke sana (Theodore Roosevelt).

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk Ibu Warsiyah, Bapak Sumaryo, dan keluarga saya tercinta,

Untuk Mas Safri Nazala,

Teman-teman seperjuangan biologi 2011.

PRAKATA

Puji syukur senantiasa terucap kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya tersusunlah skripsi berjudul “Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Chrysanthemum indicum* L. secara *in Vitro* melalui Peningkatan Luas Permeabilitas Tutup Botol Kultur dan Penurunan Konsentrasi Sukrosa”.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar. Untuk itu ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di UNNES.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi yang membantu kelancaran administrasi penulis dalam penyelesaian skripsi.
4. Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. selaku dosen pembimbing sekaligus penguji II yang selalu memberikan masukan dan pengarahan selama pembimbingan skripsi.
5. Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing sekaligus penguji III yang selalu memberikan masukan dan pengarahan selama pembimbingan skripsi.
6. Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. selaku dosen penguji I yang telah memberikan kritik dan saran dalam menguji kelayakan naskah skripsi saya.

7. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang dibeikan pada penulis.
8. Kepala Laboratorium dan Staf Laboratorium Biologi FMIPA UNNES atas semua pelayanan dan fasilitas dalam menyelesaikan penelitian.
9. Bapak Sumaryo, Ibu Warsiyah, dan Safri Nazala atas dukungan, doa dan kesabarannya.
10. Teman-teman Biologi 2011 khususnya di laboratorium kultur jaringan, Amel, Novita, Ady, Queen, Resti, Laila, Ida, dan Tiara terima kasih untuk semangat dan perhatiannya. Teman-teman kos Nila, Rizka, Tuti, dan Lanjar terima kasih untuk kebersamaannya selama ini.
11. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Semoga hasil penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan skripsi ini.

Semarang, 27 Desember 2017

Penulis

ABSTRAK

Triyastuti, N. 2018. Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Chrysanthemum indicum* L. secara *in Vitro* melalui Peningkatan Luas Permeabilitas Tutup Botol Kultur dan Penurunan Konsentrasi Sukrosa. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. & Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D.

Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) adalah salah satu jenis tanaman hias yang memiliki potensi ekonomi tinggi. Sebagian besar bibit krisan berasal dari luar negeri. Untuk mengurangi ketergantungan bibit krisan dari luar negeri diperlukan teknik perbanyakan yang efisien, antara lain dengan kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan luas permeabilitas tutup botol kultur dan konsentrasi sukrosa yang optimal dalam medium kultur terhadap pertumbuhan plantlet krisan. Peningkatan luas permeabilitas tutup dilakukan dengan pembuatan lubang seluas 0.2 cm² pada tutup botol kultur yang kemudian dilapisi dengan membran mikropori berukuran 0.5 µm. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan dua faktor, yaitu luas permeabilitas (0 cm², 0.2 cm², 0.4 cm² dan 0.6 cm²) dan konsentrasi sukrosa (0 g/l, 10 g/l, 20 g/l dan 30 g/l) dalam media Murashige and Skoog (MS). Parameter yang diamati ialah waktu munculnya tunas, jumlah dan tinggi tunas, jumlah dan luas daun, serta jumlah dan panjang akar. Data dianalisis dengan Anava dua arah dan *Duncan's Multiple Range Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa luas permeabilitas tutup botol kultur, konsentrasi sukrosa dan interaksinya berpengaruh terhadap pertumbuhan plantlet *Chrysanthemum indicum* L. Luas permeabilitas tutup botol kultur, konsentrasi sukrosa dan interaksinya mempercepat waktu munculnya tunas krisan. Konsentrasi sukrosa meningkatkan tinggi tunas, jumlah daun dan luas daun plantlet. Medium MS yang mengandung sukrosa 20 g/l dengan semua taraf permeabilitas dapat mengoptimalkan pertumbuhan plantlet krisan. Perlakuan tersebut menghasilkan tunas tertinggi, daun terluas, dan mampu mendorong munculnya tunas yang lebih cepat. Berdasarkan hasil tersebut disarankan menumbuhkan krisan secara *in vitro* dalam media MS mengandung sukrosa 20 g/l dengan atau tanpa peningkatan permeabilitas tutup botol kultur.

Kata kunci: konsentrasi sukrosa, kultur *in vitro*, luas permeabilitas, pertumbuhan plantlet *Chrysanthemum indicum* L.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Penegasan Istilah	6
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	8
2.1 Tinjauan Pustaka	8

2.2 Kerangka Berpikir	17
2.3 Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	19
3.2 Bahan Penelitian	19
3.3 Variabel Penelitian	19
3.4 Rancangan Penelitian	20
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.6 Prosedur Penelitian	22
3.7 Metode Pengumpulan Data	24
3.8 Metode Analisis Data	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil	26
4.2 Pembahasan	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN-LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Perbandingan Komposisi Senyawa Nutrisi Anorganik resep Hoagland, MS, WPM, dan Gamborg-B5	20
3.1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian	21
3.2. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	22
4.1. Respon pertumbuhan tunas krisan terhadap luas permeabilitas tutup botol kultur dan variasi konsentrasi sukrosa	26
4.2. Hasil Anava dua arah untuk parameter waktu munculnya tunas krisan pada 8 minggu inkubasi	27
4.3. Hasil Anava dua arah untuk parameter jumlah tunas krisan pada 8 minggu inkubasi	28
4.4. Hasil Anava dua arah untuk parameter tinggi tunas krisan pada 8 minggu inkubasi	28
4.5. Hasil uji <i>Duncan</i> luas permeabilitas tutup botol pada waktu munculnya tunas krisan	29
4.6. Hasil uji <i>Duncan</i> konsentrasi sukrosa pada waktu munculnya tunas krisan tunas dan tinggi tunas krisan	30
4.7. Ringkasan hasil uji <i>Duncan</i> interaksi antara luas permeabilitas tutup botol dan sukrosa pada rerata waktu munculnya tunas krisan tunas (hst) krisan	32
4.8. Respon pertumbuhan daun plantlet krisan terhadap terhadap luas permeabilitas tutup botol kultur dan variasi konsentrasi sukrosa ...	33
4.9. Hasil Anava dua arah untuk parameter jumlah daun (helai) plantlet krisan pada 8 minggu inkubasi	34

4.10. Hasil Anava dua arah untuk parameter luas daun (cm ²) plantlet krisan pada 8 minggu inkubasi	34
4.11. Hasil uji Duncan konsentrasi sukrosa pada jumlah dan luas daun plantlet krisan	35
4.12. Respon pertumbuhan akar plantlet terhadap terhadap luas permeabilitas tutup botol kultur dan variasi konsentrasi sukrosa ...	36
4.13. Hasil Anava dua arah untuk parameter jumlah akar plantlet pada 8 minggu inkubasi	37
4.14. Hasil Anava dua arah untuk parameter panjang akar (cm) krisan pada 8 minggu inkubasi	38
4.15. Ringkasan perlakuan yang mampu mengoptimalkan pertumbuhan plantlet krisan selama 8 minggu inkubasi	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Morfologi bunga <i>C. indicum</i>	9
2.2. Kerangka berfikir	17
3.1. Denah pengacakan multiplikasi tunas krisan (<i>C. indicum</i> L.)	21
4.1. Pertumbuhan tunas krisan 7 hari setelah tanam	31
4.2. Pertumbuhan plantlet krisan 8 minggu setelah tanam	31
4.3. Pertumbuhan daun krisan 8 minggu setelah tanam	36
4.4. Pertumbuhan akar plantlet krisan 8 minggu setelah tanam	38
4.5. Ilustrasi siklus sel	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Rekap data pengamatan pertumbuhan plantlet <i>C. indicum</i> L. terhadap luas permeabilitas tutup botol dan variasi konsentrasi sukrosa selama 8 minggu penyimpanan	58
2 Analisis data parameter pertumbuhan tunas	61
3 Analisis data parameter pertumbuhan daun	64
4 Analisis data parameter pertumbuhan daun	67

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman hias merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai prospek agribisnis yang cukup besar di Indonesia. Salah satu jenis tanaman hias yang memiliki potensi ekonomi tinggi adalah krisan (*Chrysanthemum indicum* L.). Krisan merupakan bunga potong yang populer di Indonesia. Bunga yang termasuk dalam famili Asteraceae ini mempunyai keunggulan pada variasi warna, ukuran, bentuk, ketahanan bunga dan ketegaran tangkai bunga, serta harga bunga yang menjadi bahan pertimbangan konsumen dalam pembelian bunga krisan (Nurmalinda & Hayati 2014). Krisan juga berkontribusi terhadap devisa negara. Kontribusi krisan dilihat dari nilai ekonominya terhadap devisa negara pada Juli 2016 adalah sebesar 47,841 USD. Nilai ini merupakan sumbangan devisa terbesar dibandingkan dengan anggrek, mawar dan lili pada subsektor florikultura (BPS 2016).

Selain merupakan bunga potong yang populer, krisan mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan. Ekstrak bunga krisan mengandung banyak senyawa fenolik dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas di dalam tubuh (Husain & Kumar 2015), mencegah pembentukan tumor (Jing *et al.* 2015), bersifat *hepatoprotective* (Jeong *et al.* 2013), memperbaiki struktur ginjal (Amrani *et al.* 2016), mencegah kelainan janin (Amrani *et al.* 2012), bersifat *neuroprotective* (Yoo *et al.* 2016) dan bersifat

antiaging (Sun *et al.* 2016). Selain itu, ekstrak bunga krisan terbukti dapat dijadikan insektisida dan ovusida alami yang dapat membunuh nyamuk dan menghambat daya tetas telur *Aedes aegypti* yang merupakan vektor penyakit demam berdarah (Boesri *et al.* 2015; Mayangsari *et al.* 2015). Daun tanaman krisan juga bersifat antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Alviana 2016).

Pengembangan agribisnis bunga potong krisan memiliki prospek yang menjanjikan untuk direalisasikan guna meningkatkan angkatan kerja dan pendapatan petani (Andri 2013). Menurut Pratomo & Andri (2013), secara finansial budidaya krisan memberikan keuntungan, yaitu dalam satu musim tanam memberikan profitabilitas 70% dari dana yang diinvestasikan. Namun demikian, menurut Andri (2013) 80% bibit krisan masih bergantung pada suplai impor. Upaya mengurangi ketergantungan kebutuhan bibit bunga krisan impor perlu dilakukan suatu teknik perbanyakan yang efisien sehingga kebutuhan bibit dapat terpenuhi baik jumlahnya maupun varietas yang diinginkan (sesuai kebutuhan pasar).

Salah satu teknik perbanyakan tanaman yang efisien adalah teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Kultur jaringan adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, organ, embrio yang dipelihara dan ditumbuhkan dalam media buatan yang steril agar mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan antara lain adalah zat pengatur tumbuh dan lingkungan abiotik (Zulkarnain 2009).

Kondisi lingkungan *in vitro* berbeda dengan kondisi lingkungan *ex vitro*. Kondisi lingkungan *in vitro* ditandai dengan kelembaban udara yang tinggi, intensitas cahaya rendah, konsentrasi CO₂ rendah, pergerakan udara terbatas, dan adanya kandungan gula dalam media kultur (Hazarika 2003), sedangkan kondisi lingkungan *ex vitro* ditandai dengan kelembaban udara yang rendah, intensitas cahaya tinggi, konsentrasi CO₂ tinggi, pergerakan udara tidak terbatas, dan tidak adanya kandungan gula dalam tanah. Kondisi lingkungan yang berbeda tersebut, sering menyebabkan tanaman hasil kultur *in vitro* mengalami kerusakan stomata, penipisan lapisan lilin epikutikuler, pemanjangan tunas berlebihan, penurunan konsentrasi klorofil dan hiperhidrasi sehingga intensitas pertumbuhan dan peluang hidup dalam lingkungan *ex vitro* juga rendah karena proses adaptasi yang ekstrim (Lucchesini *et al.* 2001; Hazarika 2006; Chaum *et al.* 2011). Oleh karena itu, perlu pengendalian kondisi lingkungan *in vitro* menjadi seperti kondisi lingkungan *ex vitro* untuk menghasilkan tanaman yang lebih mudah beradaptasi dengan lingkungan *ex vitro* (Rahayu 2015).

Kultur fotoautotrofik adalah metode mikropropagasi yang menggunakan medium bebas atau sedikit gula, sehingga kebutuhan karbohidrat untuk pertumbuhan tergantung pada fotosintesis. Oleh karena itu, teknik ini disebut pula sebagai mikropropagasi fotosintetik atau mikropropagasi bebas gula (Kozai & Kubota 2005a). Teknik mikropropagasi fotoautotrofik diwujudkan melalui modifikasi medium dan lingkungan kultur untuk menjamin terjadinya fotosintesis yang optimal dan terbentuknya plantlet yang adaptatif di lingkungan *ex vitro*. Penggunaan bahan pengisi medium bersama larutan nutrien anorganik di bawah

kondisi lingkungan terkendali merupakan ciri-ciri kultur fotoautotrofik (Kubota 2002).

Kultur fotoautotrofik telah banyak dilakukan pada berbagai tanaman. Melalui membran yang permeabel gas (termasuk CO₂) dari luar botol kultur dapat masuk ke dalam sehingga menyebabkan konsentrasi CO₂ di dalam botol meningkat. CO₂ merupakan bahan dasar fotosintesis yang menghasilkan glukosa atau karbohidrat sederhana. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang menyimpulkan bahwa pengayaan CO₂ dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan daun dan tunas pada planlet *Protea cynaroides* L. Planlet yang dikulturkan dalam media dengan pengayaan CO₂ memiliki bobot kering tunas lebih tinggi dibandingkan dengan planlet yang dikulturkan tanpa pengayaan CO₂. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada translokasi fotosintat yang cukup besar dari daun ke tunas plantlet (Wu & Lin 2013). Penelitian Silva *et al.* (2014) pada spesies *Cattleya walkeriana* menggunakan metode *natural ventilation system*, yaitu pembuatan lubang pada tutup botol yang kemudian dilapisi dengan membran filter menunjukkan bahwa pasokan CO₂ memberikan hasil optimal dalam pertambahan panjang tunas *Cattleya walkeriana*. Menurut hasil penelitian Norikane *et al.* (2013) pengayaan kadar CO₂ menunjukkan jumlah daun dan akar, tunas, serta berat segar dan berat kering akar yang lebih baik pada perbanyakan plantlet *Oncidesa*. Saldanha *et al.* (2013) juga menjelaskan pengayaan CO₂ dapat menjadi metode yang sesuai untuk perbanyakan *Brazilian ginseng* [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. Pengayaan CO₂ pada media menunjukkan jumlah akar, panjang akar, luas permukaan akar, berat segar, dan berat kering pada

plantlet *Macadamia tetraphylla* L. 'Keaau' yang lebih baik dari pada media tanpa pengayaan CO₂ (Chaum *et al.* 2011).

Selain kadar CO₂, faktor yang berpengaruh terhadap perkembangan kultur adalah konsentrasi sukrosa. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Gabryszewska (2011), penggunaan sukrosa dengan konsentrasi yang rendah (5 g/l) dapat meningkatkan jumlah tunas ketiak terbanyak pada tanaman *Syringa vulgaris* L. Implementasi pengayaan CO₂ tanpa sukrosa menunjukkan jumlah akar, bobot akar, dan kekuatan akar yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasi pengayaan CO₂ dan penggunaan sukrosa 30 g/l pada plantlet *Zantedeschia* (Wang *et al.* 2016).

Berdasarkan uraian di atas, variasi CO₂ dan konsentrasi sukrosa yang digunakan terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan plantlet. Penelitian mengenai pengaturan suplai CO₂ dan sukrosa terhadap tanaman krisan belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian tentang peningkatan kualitas pertumbuhan plantlet krisan (*C. indicum*) dengan mengatur suplai CO₂ dan sukrosa secara *in vitro* perlu dilakukan. Dalam penelitian ini suplai CO₂ diatur dengan meningkatkan luas permeabilitas tutup botol kultur yang diwujudkan melalui pembuatan lubang seluas 0.2 cm² pada tutup botol kultur yang kemudian dilapisi dengan membran mikropori berukuran 0.5 μm. Jumlah lubang menentukan luas permeabilitas tutup botol kultur.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah yang perlu diteliti adalah sebagai berikut.

1. Apakah peningkatan luas permeabilitas tutup botol kultur dapat meningkatkan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*?
2. Apakah penurunan konsentrasi sukrosa dalam media Murashige and Skoog (MS) dapat meningkatkan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*?
3. Bagaimanakah interaksi peningkatan luas permeabilitas tutup botol kultur dan penurunan konsentrasi sukrosa terhadap pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*?
4. Berapakah luas permeabilitas tutup botol kultur dan konsentrasi sukrosa yang paling optimal dalam pertumbuhan plantlet krisan secara *in vitro*?

1.3 Penegasan Istilah

Batasan-batasan terhadap beberapa istilah untuk menghindari salah pengertian dalam memahami isi skripsi ini adalah sebagai berikut.

1. Optimasi adalah suatu proses untuk mencapai hasil yang ideal atau optimal (nilai efektif yang dapat dicapai). Optimasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah optimasi terhadap parameter waktu munculnya tunas, jumlah tunas cabang setiap eksplan dan tinggi tunas, jumlah dan luas daun, serta jumlah dan panjang akar.
2. Luas permeabilitas tutup botol dalam penelitian ini ditentukan dengan pembuatan lubang seluas 0.2 cm^2 pada tutup botol kultur yang kemudian

dilapisi dengan membran mikropori berukuran 0.5 μm agar terjadi difusi udara alami ke dalam botol kultur sehingga meningkatkan kadar CO_2 dan gas-gas lain, namun tidak memungkinkan mikroorganisme masuk ke dalam botol.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis:

1. luas permeabilitas tutup botol kultur terhadap peningkatan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*,
2. penurunan konsentrasi sukrosa dalam media Murashige and Skoog (MS) terhadap peningkatan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*,
3. interaksi luas permeabilitas tutup botol kultur dan penurunan konsentrasi sukrosa terhadap peningkatan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*,
4. luas permeabilitas tutup botol kultur dan konsentrasi sukrosa yang paling optimal dalam peningkatan pertumbuhan plantlet krisan secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan perbanyakan bibit krisan secara *in vitro* dan sebagai acuan bagi pelaku usaha budidaya krisan untuk mendapatkan bibit krisan yang seragam, steril dan berkualitas dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif singkat tanpa bergantung pada luas lahan, kondisi lingkungan dan musim.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Biologi Krisan

Krisan merupakan salah satu tanaman semusim yang berbatang tegak, habitus berupa semak setinggi 30-200 cm. Umumnya masyarakat Indonesia mengenal krisan dengan nama seruni atau bunga emas (*golden flower*). Tanaman ini memiliki sistem perakaran tunggang. Daun pada tanaman krisan bercelah atau bergerigi dengan pertulangan daun menyirip. Daun tersusun secara berselang seling pada batang. Bunga krisan termasuk bunga majemuk lengkap terminalis yang terdiri atas bunga pita dan bunga tabung (Purwanto & Martini 2009). Klasifikasi krisan menurut *United Stated Department of Agriculture* (2008) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Chrysanthemum*
Spesies : *Chrysanthemum indicum* L.



Gambar 2.1. Morfologi bunga *C. indicum* (Triyastuti 2017). *Scale bar*: 1 cm

Menurut Soedarjo *et al.* (2012), krisan dapat tumbuh dengan baik pada dataran sedang sampai dataran tinggi dengan ketinggian berkisar antara 650 sampai 1.200 mdpl. Media tanam yang baik untuk pertanaman krisan adalah tanah bertekstur liat berpasir dengan kerapatan jenis 0,2-0,8 g/cm³ dengan total porositas 50-75%. Kandungan air yang baik untuk media berkisar 50-70% dan kandungan udara dalam pori 10-20% dengan pH sekitar 5,5-6,5.

2.1.2 Metode Perbanyakan Tumbuhan dengan Kultur *in Vitro* Fotoautotrofik

Kultur jaringan atau kultur *in vitro* adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, organ, dan embrio yang dipelihara dan ditumbuhkan pada media buatan yang steril agar mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain 2009). Media merupakan salah satu faktor yang penting dalam kultur jaringan. Media tumbuh dalam kultur jaringan harus dapat memenuhi kebutuhan eksplan. Berbagai komposisi standar telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman

antara lain komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1956), Gamborg dkk. B5 (1976), Linsmaier dan Skoog (1965), Murashige dan Skoog (1962) serta *Woody Plant Medium* (Lloyd dan McCown 1980). Murashige dan Skoog (MS) merupakan media yang umum digunakan sebagian besar spesies tumbuhan. Media MS mengandung unsur dan persenyawaan yang lebih lengkap dibanding dengan medium lain (Tabel 2.1). Media kultur jaringan umumnya mengandung nutrisi berupa garam anorganik dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh (ZPT).

Tabel 2.1. Perbandingan Komposisi Senyawa Nutrisi Anorganik Resep Hoagland, MS, WPM, dan Gamborg-B5

Komponen senyawa	Kadar senyawa (ppm)			
	Hoagland	MS	WPM	Gamborg-B5
Senyawa makro				
NH ₄ NO ₃	850,00	1.650,00	400,00	-
KNO ₃	210,00	1.900,00	-	2500,00
Ca(NO ₃) ₂	-	-	386,00	-
CaCl ₂ . 2H ₂ O	200,00	440,00	72,50	113,24
KH ₂ PO ₄	31,00	170,00	170,00	-
KHSO ₄	-	-	990,00	-
(NH ₄) ₃ PO ₄	-	-	-	150,00
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	134,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	48,00	370,00	180,70	122,09
Senyawa mikro				
H ₃ BO ₃	0,50	6,20	6,20	3,00
Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	0,10	0,25	0,25	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	0,025	-	0,025
KI	-	0,83	-	0,75
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,50	16,90	22,30	10,00
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,05	8,60	8,60	2,00
CuSO ₄ .7H ₂ O	0,02	0,025	0,25	0,025
FeSO ₄ .7H ₂ O	1 - 5,00	27,80	27,85	27,80
Na ₂ EDTA	-	37,30	37,30	37,26

Sumber: Rahayu 2015.

Selain media, faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan adalah lingkungan kultur. Lingkungan kultur merupakan hasil interaksi antara bahan tanaman, wadah tanaman, dan lingkungan eksternal ruang kultur yang

memengaruhi sistem kultur jaringan. Sejumlah faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur adalah suhu, cahaya, karbondioksida, oksigen, dan kelembaban.

Kultur fotoautotrofik adalah metode kultur jaringan yang menggunakan medium bebas gula, sehingga kebutuhan karbohidrat untuk pertumbuhan tergantung pada fotosintesis. Oleh karena itu, teknik ini disebut pula sebagai mikropropagasi fotosintetik atau mikropropagasi bebas gula (Kozai & Kubota 2005a). Teknik mikropropagasi fotoautotrofik diwujudkan melalui modifikasi medium dan lingkungan kultur untuk menjamin terjadinya fotosintesis yang optimal dan terbentuknya plantlet yang adaptatif di lingkungan *ex vitro*. Penggunaan bahan pengisi medium bersama larutan nutrien anorganik di bawah kondisi lingkungan terkendali merupakan ciri-ciri kultur fotoautotrofik (Kubota 2002).

Konsep mikropropagasi fotoautotrofik dikembangkan melalui penelitian yang menunjukkan bahwa jaringan atau organ berkhlorofil mampu melakukan fotosintesis ketika dipelihara dalam kultur *in vitro*, dan dapat dioptimalkan dengan meningkatkan kecepatan pertukaran udara. Dalam beberapa penelitian, dihasilkan plantlet yang memiliki kelebihan dalam satu hingga beberapa aspek morfologi, antara lain area daun lebih luas, diameter batang lebih lebar dan sistem perakaran lebih baik. Aspek fisiologi yang meliputi kapasitas transpor elektron, kandungan klorofil, fungsi stomata, fotosintesis bersih, berat segar dan kering juga lebih tinggi dibandingkan yang ditumbuhkan dalam medium dengan gula. Selain itu

kontaminasi mikroorganisme dapat ditekan dan persentase kelangsungan hidup pada kondisi *ex vitro* meningkat (Rahayu 2015).

2.1.3 Peranan Sukrosa dalam Kultur *in Vitro*

Semua medium kultur *in vitro* dilengkapi dengan sumber karbon dan energi. Hampir semua kultur memperlihatkan respon pertumbuhan yang optimum dengan pemberian disakarida dalam bentuk sukrosa. Apabila sukrosa digantikan oleh monosakarida atau disakarida lain maka akan terlihat adanya keragaman yang nyata pada pertumbuhan kultur. Menurut Da Silva (2004), sukrosa merupakan salah satu jenis gula yang siap dimetabolisir selain glukosa dan fruktosa. Ketersediaan sukrosa dalam medium pertumbuhan berperan sebagai sumber energi yang langsung dapat diserap oleh eksplan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan, melalui pembentukan metabolit, pembentukan polimer, regulator siklus sel dan pembelahan sel (Ruan 2012).

Namun, ketersediaan sukrosa dalam medium pertumbuhan cenderung membuat plantlet bergantung pada sukrosa dan tidak terlalu bergantung pada CO₂. Hal tersebut terutama terjadi apabila konsentrasi CO₂ dalam botol kultur rendah (Kubota *et al.* 2001). Selain itu, diketahui bahwa plantlet yang dikulturkan dalam media yang mengandung sukrosa biasanya memiliki mesofil yang kurang berkembang dengan sel palisade yang kecil. Hal tersebut mempengaruhi pemanfaatan CO₂ dan menyebabkan reduksi fotosintesis (Gouk *et al.* 1997).

Beberapa penelitian menyebutkan penggunaan sukrosa dengan konsentrasi yang rendah dapat meningkatkan pertumbuhan plantlet. Menurut penelitian yang dilakukan Gabryszewska (2011), penggunaan sukrosa dengan konsentrasi 5 g/l

dapat meningkatkan jumlah tunas ketiak terbanyak pada tanaman *Syringa vulgaris* L. Wu *et al.* (2014) menyatakan konsentrasi sukrosa 10 g/l merupakan konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan *protocorm-like bodies* (PLB) tanaman anggrek *Renanthera imschootiana* Rolfe. Konsentrasi sukrosa yang rendah (20 g/l) juga mampu menghasilkan tunas terbanyak pada tanaman *Magnolia × soulangiana* ‘Coates’ (Wojtania *et al.* 2015). Bahkan implementasi pengayaan CO₂ tanpa sukrosa menunjukkan jumlah akar, bobot akar, dan kekuatan akar yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasi pengayaan CO₂ dan penggunaan sukrosa 30 g/l pada plantlet *Zantedeschia* (Wang *et al.* 2016).

2.1.4 Peranan Permeabilitas Tutup Botol Kultur dalam Kultur *in Vitro*

Komponen udara yang berperan dalam metabolisme tumbuhan terutama adalah gas O₂ dan CO₂. Seperti pada tumbuhan yang hidup di alam, gas-gas tersebut diperoleh melalui mekanisme difusi. Eksplan memperoleh gas-gas yang dibutuhkan dari udara di atas medium dalam bejana kultur dan dari medium. Intensitas difusi dalam bejana kultur dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut adalah 1) gradien konsentrasi gas antara bagian dalam dan luar bejana, 2) gradien tekanan udara dan temperatur antara bagian dalam dan luar bejana; dan 3) kecepatan dan pola pergerakan udara di sekitar bejana (Fujiwara *et al.* 1988; Kozai & Kubota 2005b).

Konsentrasi gas di dalam bejana kultur juga dipengaruhi oleh beberapa faktor. Tiga faktor utama yang mempengaruhi konsentrasi gas adalah 1) bejana (volume dan bentuk bejana, permeabilitas dan luas membran tutup bejana); 2) plantlet (biomasa, jumlah, karakteristik fotosintetik plantlet); dan 3) lingkungan

ruang kultur (konsentrasi gas dalam ruang kultur, intensitas cahaya, dan kecepatan pergerakan udara).

Konsentrasi O₂ di udara ambien biasanya sekitar 21% (volume). Konsentrasi ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan pompa udara di luar bejana. Peningkatan konsentrasi O₂ di dalam bejana dapat mengikuti peningkatan tersebut bila digunakan tutup dari bahan membran yang permeabel terhadap gas. Dalam kultur yang tertutup rapat konsentrasi dapat menurun drastis karena penggunaan O₂ oleh kultur mengakibatkan defisit lokal. Defisit tersebut tidak dapat segera dikompensasi karena hambatan difusi bila penutupan bejana sangat rapat.

Selain oksigen, komponen gas dari atmosfer yang berperan penting dalam kultur jaringan adalah CO₂. Gas ini merupakan komponen utama penyusunan glukosa melalui fotosintesis. Dalam medium kultur, eksplan berkhlorofil atau plantlet mampu melakukan fotosintesis. Bila konsentrasi CO₂ rendah peningkatan cahaya tidak akan meningkatkan *nett photosynthesis rate* (NPR) dan plantlet akan terdorong untuk berkembang menjadi heterotrof atau fotomiksotrof. Konsentrasi CO₂ yang rendah juga akan meningkatkan kerentanan tumbuhan terhadap stres oksidatif jika radiasi terlalu tinggi. Stres seperti ini dapat membatasi pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Kubota 2002).

Konsentrasi CO₂ ambien di lingkungan alamiah adalah 0,03%. Dalam bejana tertutup konsentrasi CO₂ menurun drastis pada saat ada cahaya. Oleh karena itu agar fotosintesis tetap berjalan optimal konsentrasi CO₂ harus ditingkatkan. Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, untuk mengoptimal pertumbuhan dan perkembangan eksplan, konsentrasi O₂ dan CO₂ dalam bejana

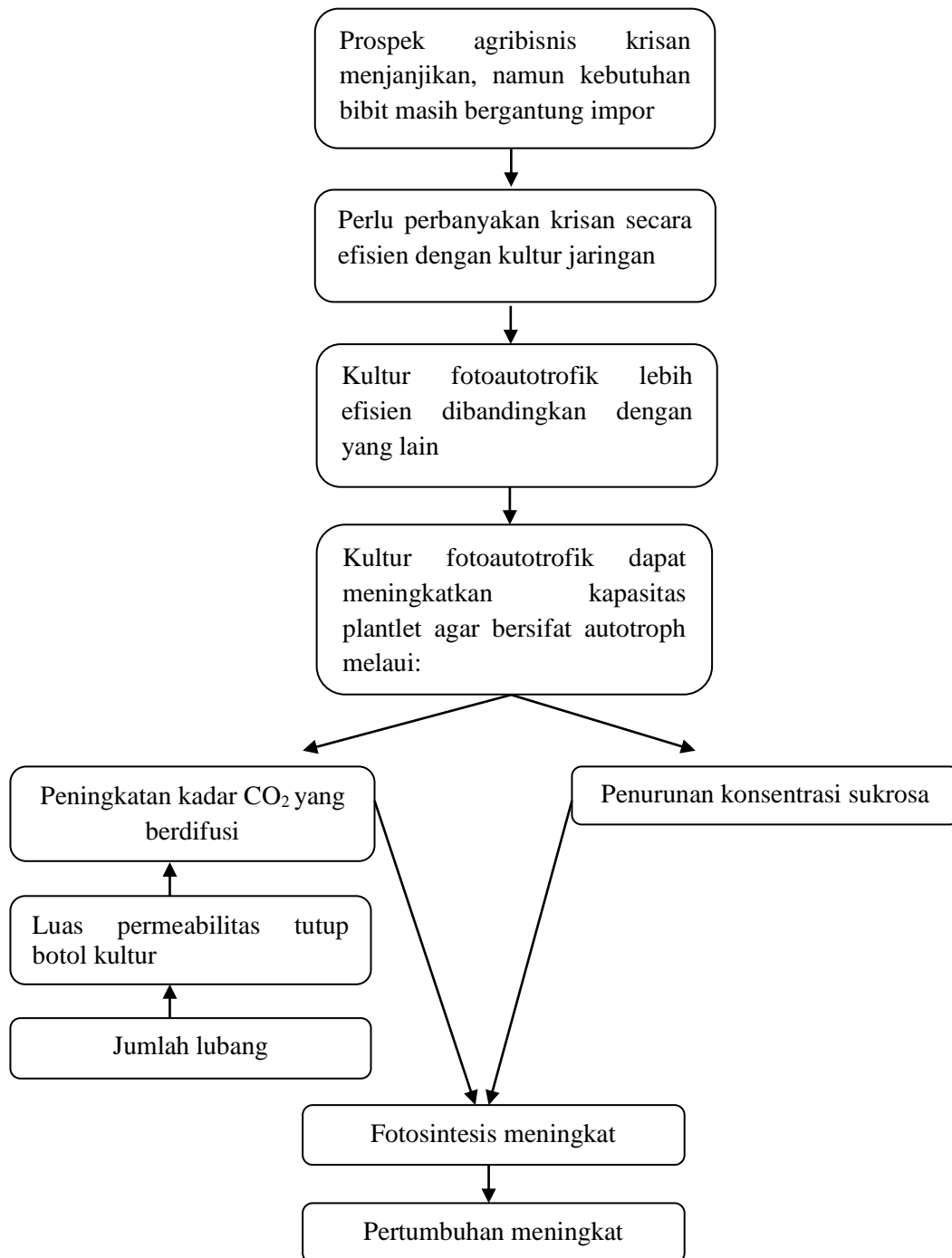
perlu ditingkatkan. Ada beberapa teknik peningkatan konsentrasi gas, yaitu melalui penggunaan bahan penutup, bahan bejana, *forced ventilation* (pertukaran udara yang diperkuat), dan penambahan senyawa kimia penghasil CO₂.

Selama ini berbagai jenis bahan yang biasa digunakan untuk tutup bejana kultur jaringan adalah aluminium foil, logam, dan plastik (Zobayed *et al.* 2000; Tanaka *et al.* 2005). Bahan-bahan tersebut tidak permeabel terhadap gas. Bahan penutup khusus yang permeabel terhadap gas antara lain film *micropolypropylene* dan filter mikropori dengan ukuran pori 0,5 µm. Filter ini tersedia dalam bentuk potongan berbentuk bulat atau lembaran. Kozai (2007) menemukan bahwa pertukaran udara per jam dalam bejana yang ditutup dengan aluminium foil paling kecil dibandingkan dengan yang ditutup plastik atau *micropolypropylene*. Dengan menggunakan membran yang permeabel terhadap gas, difusi udara alami dalam bejana kultur dapat ditingkatkan (Cui *et al.* 2000; Kitaya *et al.* 2005).

Penelitian Silva *et al.* (2014) pada spesies *Cattleya walkeriana* menggunakan metode *natural ventilation system*, yaitu pembuatan lubang pada tutup botol yang kemudian dilapisi dengan membran filter menunjukkan bahwa pasokan CO₂ memberikan hasil optimal dalam pertambahan panjang tunas *Cattleya walkeriana*. Menurut hasil penelitian Norikane *et al.* (2013) pengayaan kadar CO₂ menunjukkan jumlah daun dan akar, tunas, serta berat segar dan berat kering akar yang lebih baik pada perbanyakan plantlet *Oncidesa*. Saldanha *et al.* (2013) juga menjelaskan pengayaan CO₂ dapat menjadi metode yang sesuai untuk perbanyakan *Brazilian ginseng* [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen].

Pengayaan CO₂ pada media menunjukkan jumlah akar, panjang akar, luas permukaan akar, berat segar, dan berat kering pada plantlet *Macadamia tetraphylla* L. 'Keaau' yang lebih baik dari pada media tanpa pengayaan CO₂ (Chaum *et al.* 2011).

2.2 Kerangka berfikir



Gambar 2.2. Kerangka berfikir tentang optimasi pertumbuhan plantlet *Chrysanthemum indicum* L. secara *in vitro* melalui peningkatan luas permeabilitas tutup botol kultur dan penurunan konsentrasi sukrosa

2.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Peningkatan luas permeabilitas tutup botol kultur dapat meningkatkan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*.
2. Penurunan konsentrasi sukrosa dalam media Murashige and Skoog (MS) dapat meningkatkan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*.
3. Interaksi peningkatan luas permeabilitas tutup botol kultur dan penurunan konsentrasi sukrosa dapat meningkatkan pertumbuhan planlet krisan secara *in vitro*.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa luas permeabilitas tutup botol kultur, konsentrasi sukrosa dan interaksinya berpengaruh terhadap pertumbuhan plantlet *Chrysanthemum indicum* L. Konsentrasi sukrosa, luas permeabilitas tutup botol kultur, dan interaksi keduanya berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan tunas krisan. Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap tinggi tunas, jumlah daun dan luas daun. Konsentrasi sukrosa 20 g/l mampu menghasilkan plantlet dengan tunas tertinggi, daun terluas, dan mendorong munculnya tunas yang lebih cepat. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang mampu mengoptimalkan pertumbuhan plantlet krisan adalah perlakuan konsentrasi sukrosa 20% baik dengan penambahan permeabilitas tutup botol maupun tidak.

5.2 Saran

Penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk mengembangkan pertumbuhan plantlet krisan yang optimal, namun perlu penelitian lebih lanjut tentang daya hidup plantlet pada lingkungan *ex vitro* agar menjadi metode optimasi yang lengkap. Selain itu, penelitian lebih lanjut menggunakan metode pengayaan CO₂ yang lain juga perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil yang maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Alviana N. 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Krisan (*Chrysanthemum morifolium* syn. *Dendrathera grandiflora*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Yogyakarta: Biologi Fakultas Teknologi Universitas Atma Jaya.
- Amrani A., Zama D, Boubekri N, Benaissa O, Meraihi Z, Benayache F, Benayache S & Bettuzzi S. 2012. The protective effect of *Chrysanthemum fantanesii* extract, vitamin E and C on sodium valproate-induced embryotoxicity in pregnant mice. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(19): 3535-3544.
- Amrani A, Benaissa O, Boubekri N, Biod K, Djabari R, Beroal N, Zama D, Benayache F & Benayache S. 2016. Impact of *Chrysanthemum fontanesii* extract on sodium valproate mediated oxidative damage in mice kidney. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(04): 067-071.
- Andri KB. 2013. Analisis rantai pasok dan rantai nilai bunga krisan di daerah sentra pengembangan jawa timur. *SEPA*, 10(1): 1-10.
- Badr A 2011. *In vitro and Ex Vitro Potato Plantlets (Solanum tuberosum) Metabolic Response to Exogenously Supplied Sucrose: A Metabolomic Approach*. Dissertation of PhD. Departement De Phytologie Faculté Des Sciences De L'agriculture Et De L'alimentation Université Laval Québec.
- Banyo Y & Ai NS. 2011. Konsentrasi klorofil daun sebagai indikator kekurangan air pada tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11 (2): 166-173.
- Boesri H, Heriyanto B, Susanti L & Handayani SW. 2015. Uji repelen (daya tolak) beberapa ekstrak tumbuhan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue. *Vektora*, 7(2): 79-84.
- Bey Y, Syafii W & Sutrisna. 2006. Pengaruh pemberian giberelin (GA3) dan air kelapa terhadap perkecambahan bahan biji anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara *in vitro*. *Jurnal Biogenesis*, 2(2): 41-46.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi tanaman florikultura Indonesia. *On line at <http://bps.go.id/site/pilihdata>* [diakses tanggal 11 Oktober 2016].
- Chaum S, Chanseetis C, Chintakovid W, Pichakum A & Supaibulwatana K. 2011. Promoting root induction and growth of *in vitro* macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keaau') plantlets using CO₂-enriched photoautotrophic conditions. *Journal of Plant Biotechnology*, 106: 435.

- Cui YY, Hahn EJ, Kozai T & Paek KY. 2000. Number of air exchanges, sucrose concentration, photosynthetic photon flux, and differences in photoperiod and dark period temperatures affect growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 62:219–226.
- Da Silva, J.A.T. 2004. The effect of carbon source on *in vitro* organogenesis *Chrysanthemum* thin cell layers. *Bragantia, Campinas* 63(2):165-177.
- Figueroa CM & Lunn JE. 2016. A tale of two sugars: trehalose 6-phosphate and Sucrose. *Plant Physiology* 172: 727.
- Fischer, K.S. & Fukai S.. 2003. How rice respond to drought. Breeding rice for drought-prone environment. IRRI.
- Fujiwara K, Kozai T & Watanabe. 1988. Development of a photoautotrophic tissue culture system for shoots and/or *plantlets* at rooting and acclimatization stages. *Acta Horticulturae*, 230:153-158.
- Gabryszewska E. 2011. Effect of various levels of sucrose, nitrogen salts and temperature on the growth and development of *Syringa vulgaris* L. shoots *in vitro*. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 19(2): 133-148.
- Gaudin V, Lunness PA, Fobert PR, Towers M, Riou-Khamlichi C, Murray JA, Coen E & Doonan JH. 2000. The expression of D-cyclin genes defines distinct developmental zones in snapdragon apical meristems and is locally regulated by the Cycloidea gene. *Plant Physiol.*, 122 (2000): 1137-1148.
- Gouk SS, Yong JWH, & Hew CS. 1997. Effects of super-elevated CO₂ on the growth and carboxylating enzymes in an epiphytic CAM orchid plantlet. *J. Plant Physiol.*, 151:129–136.
- Hazarika BN. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current science*, 85: 1704-1712.
- . 2006. Morphophysiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Horticulturae*, 108:105–120.
- Husain N & Kumar A. 2015. Comparative evaluation of antioxidant property of chrysanthemum flower with that of melatonin in recovery of oxidative stress. *Int. J. Pharmacol. Bio. Sci*, 9(1): 33-39.
- Inayah Titik. 2015. Pengaruh konsentrasi sukrosa pada induksi embrio somatik dua kultivar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*. *Jurnal Agribisnis*, 9(1): 61-70.
- Jeong SC, Kim SM, Jeong YT & Song CH. 2013. Hepatoprotective effect of water extract from *Chrysanthemum indicum* L. Flower. *Chinese Medicine journal*, 8(7): 1-7.

- Jing S, Zhang X & Yan LJ. 2015. Antioxidant activity, antitumor effect, and antiaging property of proanthocyanidins extracted from *kunlun chrysanthemum* flowers. *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*:1-10.
- Kitaya Y, Ohmura Y, Kubota C & Kozai T. 2005. Manipulation of the culture environment on *in vitro* air movement and its impact on plantlets photosynthesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 83:251–257.
- Kubota C, Kakizaki N, Kozai T, Kasahara K, & Nemoto J. 2001. Growth and net photosynthetic rate of tomato plantlets during photoautotrophic and photomixotrophic micropropagation. *Hort. Science*, 36:49–52.
- Kubota C. 2002. Photoautotrophic micropropagation: importance of controlled environment in plant tissue culture. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society*. 52: 609-613.
- Kunz S, Pesquet E & Kleczkowski LA. 2014. Functional dissection of sugar signals affecting gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 9(6): e100312
- Kozai T & Kubota C. 2005a. Concepts, definitions, ventilation methods, advantages and disadvantages. Dalam Kozai T, Afreen F, Zobayed SMA (Eds.). *Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System*. Dordrecht, Netherlands: Springer. 19 – 30.
- Kozai T & Kubota C. 2005b. *In vitro* aerial environments and their effects on growth and development of plants. Dalam Kozai T, Afreen F, Zobayed SMA (Eds.). *Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System*. Dordrecht, Netherlands: Springer. 31 – 52.
- Kozai T. 2007. Propagation, grafting and transplant production in closed systems with artificial lighting for commercialization in Japan. *Propagation of Ornamental Plants*, 7:145–149.
- Lapenna S & Giordano A. 2009. Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat. Rev. Drug Discov*. 8(7): 547-566.
- Latifah R, Suhermiatin T & Ermawati N. 2017. Optimasi pertumbuhan plantlet *Cattleya* melalui kombinasi kekuatan media murashige-skoog dan bahan organik. *Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1 (1): 59-68.
- 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.

- Mayangsari I, Umiana T, Sidharti L & Kurniawan B. 2015. The effects of krisan flower (*Crhysanthemum morifollium*) extract as ovicide of *Aedes aegypti*'s egg. *J. Majority*, 4(5): 29-34.
- Murti H, Boediono A, Setiawan B & Sandra F. 2007. Regulasi siklus sel: kunci sukses *somatic cell nuclear transfer*. *Cdk*, 34(6): 159-164.
- Najati N. 2016. *Induksi Tunas Lateral Keji Beling (Strobilanthes cripus) Menggunakan Kombinasi IBA dan BAP Pada Media MS secara In Vitro*. Skripsi. Malang: Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Norikane A, Takamura T, Morokuma M & Tanaka M. 2010. In vitro growth and single leaf photosynthetic response of Cymbidium plantlets to super-elevated CO₂ under cold cathode fluorescent lamps. *Plant Cell Rpt*, 29: 273–283.
- Norikane A, da Silva JAT & Tanaka M. 2013. Growth of in vitro Oncidesa plantlets cultured under cold cathode fluorescent lamps with super-elevated CO₂ enrichment. *AoB Plants Journal*, 5: 044-053.
- Nurmalinda & Hayati. 2014. Preferensi konsumen terhadap krisan bunga potong dan pot (Consumer preferences chrysanthemum cut flowers and pot). *J. Hort*, 24 (4): 363-372.
- Pratomo AG & Andri KB. 2013. Aspek sosial ekonomi dan potensi agribisnis bunga krisan di kabupaten pasuruan jawatimur. *J. Hort. Indonesia*, 4 (2): 70-76.
- Purwanto AW & Martini T. 2009. *Keisan Bunga Seribu Warna*. Yogyakarta: Kanisius
- Rahayu ES. 2015. *Kultur Fotoautotrofik Solusi Mikropropagasi Tumbuhan Berkayu*. Semarang: CV. Swadaya Manunggal.
- Rai SP, Wiendi NMA & Krisantini. 2015. Optimasi produksi bibit tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) kultivar granola dengan teknik fotoautotrofik. *Bul. Agrohorti*, 3(1): 28-38.
- Ramesh Y & Ramassamy V. 2014. Effect of gelling agents in in vitro multiplication of banana var. Poovan. *Int. J. Advanced Bio. Research*, 4(3): 308-311.
- Raven PH, Evert RF & Eichhorn SE. 2012. *Biology of Plants Eighth Edition*. Worth Publishers, Inc., NY.
- Riou-Khamlichi C, Menges M, Healy JM & Murray JA. 2000. Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of Arabidopsis D-type cyclin gene expression. *Mol. Cell. Biol.*, 20: 4513–4521.

- Roostika I, Purnamaningsih R & Noviati AV. 2017. Pengaruh sumber karbon dan kondisi inkubasi terhadap pertumbuhan kultur *in vitro* purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). *Jurnal AgroBiogen*, 4 (2):65-69.
- Ruan Y, Jin Y, Yang Y, Li G, & Boyer J. 2010. Sugar Input, Metabolism, and Signaling Mediated by Invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, 3 (6): 942-955.
- Ruan Y. 2012. Signaling role of sucrose metabolism in development. *Mol. Plant*, 5:763-765.
- Saldanha CW, Otoni CG, Notini MM, Kuki KN, da Cruz CF, Neto AR, Dias LLC & Otoni WC. 2013. A CO₂-enriched atmosphere improves *in vitro* growth of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata*(Spreng.) Pedersen]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 49 (4): 433–444.
- Silva AB, Lima PP, Oliveira LES & Moreira AL. 2014. In vitro growth and leaf anatomy of *Cattleya walkeriana* (Gardner, 1839) grown in natural ventilation system. *Rev. Ceres, Viçosa*, 61 (6): 883-890.
- Sitorus EN, Hastuti ED & Setiari N. 2011. Induksi kalus binahong (*Basella rubra* L.) secara in vitro pada media murashige & skoog dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda. *Bioma*, 13 (1): 1-7.
- Soedarjo M, Shintiavira H, Supriyadi Y & Nasihin Y. 2012. Teknologi budidaya untuk menghasilkan bunga krisan yang berkualitas dan berdaya saing secara komersial. *Agroinovasi*, 3447: 10-16.
- Sun S, Jiang P, Su W, Xiang Y, Li J, Zeng L & Yang S. 2016. Wild chrysanthemum extract prevents UVB radiation-induced acute cell death and photoaging. *J. of Cytotechnology*, 68 (2): 229-240.
- Tanaka M, Dam TTG & Murakami A. 2005. Application of a novel disposable film culture system to photoautotrophic micropropagation of *Eucalyptus uro-grandis* (*Urophyllia x grandis*). *In Vitro Cellular & Development Biology – Plant*, 41: 173–180.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2008. Plant profile for *Chrysanthemum indicum* L. On line at http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=C_HMO14 [diakses tanggal 16 Oktober 2016].
- Wang Z, Song Y, Shi L, Guo Y, Shang W, He D & He SL. 2016. Effects of different sucrose concentrations in the culture medium on the growth of colored *Zantedeschia in vitro* under CO₂ enrichment conditions. *Flower Research Journal*, 24 (2): 102-109.

- Wojtania A, Skrzypek E & Gabryszewska E. 2015. Effect of cytokinin, sucrose and nitrogen salts concentrations on the growth and development and phenolics content in *Magnolia × soulangiana* 'Coates' shoots in vitro. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 14(3):51-62.
- Wu HC & Lin CC. 2013. Carbon dioxide enrichment during photoautotrophic micropropagation of *Protea cynaroides* L. plantlets improves in vitro growth, net photosynthetic rate, and acclimatization. *Hort. Science*, 48 (10): 1293–1297.
- Yoo KY, Kim IH, Cho JH, Ahn JH, Park JH, Lee JC, Tae HJ, Kim DW, Kim DK, Hong S, Won MH & Kang IJ. 2016. Neuroprotection of *Chrysanthemum indicum* Linne against cerebral ischemia/reperfusion injury by anti-inflammatory effect in gerbils. *J. of Neural Regen Res*, 11 (2): 270–277.
- Zhang M, Zhao D, Ma Z, Li X & Xiao Y. 2009. Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. *Hort. Science*, 44: 757–763.
- Zobayed S, Afreen-Zobayed F, Kubota C & Kozai T. 2000. Mass propagation of *Eucalyptus camaldulensis* in a scaled-up vessel under *in vitro* photoautotrophic condition. *Annals of Botany*, 85: 587-592.
- Zobayed S. 2005. Ventilation in micropropagation. In: Photoautotrophic (sugar-free media) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System. 147–186, Netherlands: Springer.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara