



## Perbanyak Tanaman Chrysanthemum pada Kondisi Fotoautotropik Secara in Vitro

Elisa Apriliani<sup>1\*</sup>, Dwi Widyajayantie<sup>1,2</sup>, Ummu F Hidayah<sup>1</sup>, Yoshua S Yudha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup>Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia

Corresponding Author: [elisaapr07@gmail.com](mailto:elisaapr07@gmail.com)

Info Artikel	Abstrak
<p>Kata Kunci: <i>Chrysanthemum</i>, <i>fotoautotropik</i>, <i>in vitro</i>, <i>glukosa</i>, <i>zat pengatur tumbuh</i>.</p> <p>Diterima: 20 November 2023</p> <p>Disetujui: 20 Desember 2023</p>	<p>Perbanyak bibit melalui kultur jaringan yang dilakukan dapat memberikan solusi untuk meningkatkan ketersediaan bibit krisan (<i>Chrysanthemum</i> sp.) yang berkualitas, terbebas dari virus maupun hama penyakit, dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat, dan bersifat seragam. Pengendalian lingkungan <i>in vitro</i> bertujuan untuk menghasilkan tanaman yang lebih mudah untuk beradaptasi pada lingkungan <i>ex vitro</i> salah satunya melalui sistem kultur fotoautotropik. Pada penelitian ini dilakukan studi mengenai keefektifan modifikasi media dan kondisi kultur menggunakan sistem autotropik. Penelitian dilakukan secara deskriptif dengan pengujian tiga jenis media MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP (M1); MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP (M2); dan MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP (M3). Serta pemberian 1 lubang ventilasi (V1); 2 lubang ventilasi (V2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi gula dapat meningkatkan pertumbuhan tunas, namun bila dalam jumlah banyak juga dapat menghambat pertumbuhan tunas aksilar. Penggunaan lubang ventilasi pada sistem autotropik dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi yang lebih banyak, hal ini dapat dikurangi dengan mengontrol sterilitas eksplan yang digunakan serta lingkungan yang sesuai seperti kelembaban, suhu, dan intensitas cahaya yang sesuai.</p>

### 1. PENDAHULUAN

Krisan (*Chrysanthemum* sp.) atau sering disebut sebagai seruni atau bunga emas merupakan bunga yang termasuk ke dalam famili Asteraceae yaitu salah satu komoditas florikultura atau tanaman bunga hias yang paling diminati oleh masyarakat karena memiliki nilai estetika yang tinggi untuk digunakan sebagai dekorasi. Nilai estetika yang dimiliki komoditas krisan, terlihat dari segi warna dan bentuk bunganya yang bervariasi. Krisan yang telah dibudidayakan menjadi salah satu bunga potong maupun tanaman pot juga paling populer di perdagangan internasional. Menurut Handajaningsih & Wibisono (2009), krisan berada pada 10 besar tanaman hias populer yang telah dipasarkan oleh lebih dari 150 negara. Adanya permintaan pasar dalam negeri maupun luar negeri yang masih sangat tinggi dibandingkan tanaman hias lainnya menyebabkan budidaya krisan memiliki potensi sebagai bisnis florikultura yang masih tetap diminati oleh kalangan pengusaha pada kurun waktu yang relatif panjang. Hal ini dibuktikan pada periode tahun 2007-2016 pertumbuhan konsumsi krisan di Indonesia berfluktuasi dengan rata-rata 26.06% (Hayati et al. 2018). Namun, selama ini sebanyak 80% bibit

krisan masih bergantung pada suplai impor (Andri 2013). Salah satu upaya untuk mengatasi masalah tersebut yaitu melalui perbanyak bibit dengan teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro*.

Perbanyak bibit melalui kultur jaringan yang dilakukan di dalam negeri dapat memberikan solusi untuk mengurangi suplai impor dan meningkatkan ketersediaan bibit krisan yang berkualitas, terbebas dari virus maupun hama penyakit, dapat menghasilkan jumlah yang banyak dengan waktu yang singkat, memiliki kesamaan sifat dengan induknya dan bersifat seragam (Kozai & Kubota 2005). Kondisi lingkungan *in vitro* diketahui memiliki kelembaban udara yang tinggi, intensitas cahaya rendah, konsentrasi CO<sub>2</sub> rendah, pergerakan udara yang terbatas dan adanya kandungan gula dalam media kultur (Hazarika 2003). Berdasarkan kondisi inilah tanaman hasil kultur secara *in vitro* dapat mengalami penurunan konsentrasi klorofil, kerusakan stomata, penipisan lapisan lilin epikutikuler dan hiperhidrasi sehingga intensitas pertumbuhan ketika dipindahkan ke dalam lingkungan *ex vitro* juga rendah dikarenakan proses adaptasi yang ekstrim (Lucchesini et al. 2001; Hazarika, 2006; Chaum et al. 2011)

Salah satu cara pengendalian lingkungan *in vitro* agar dapat menghasilkan tanaman yang lebih mudah untuk beradaptasi pada lingkungan *ex vitro* yaitu melalui metode mikropropagasi dengan sistem kultur fotoautotropik. Teknik ini merupakan teknik yang dilakukan dengan memodifikasi kondisi medium pertumbuhan dengan cara mengurangi konsentrasi gula dan modifikasi lingkungan kultur. Modifikasi lingkungan kultur bertujuan agar terjadinya proses fotosintesis yang optimal, kebutuhan karbohidrat terpenuhi, dan menghasilkan plantlet yang lebih adaptif pada lingkungan *ex vitro* (Kozai & Kubota, 2005; Xiao et al. 2010). Oleh karena itu dilakukan studi mengenai keefektifan modifikasi media dan kondisi kultur menggunakan sistem autotropik, yaitu pada jumlah kandungan gula, penggunaan hormon, dan pemberian ventilasi udara pada wadah kultur secara *in vitro*.

## 2. METODE PENELITIAN

### **Waktu dan Tempat**

Percobaan dilaksanakan pada bulan Januari 2022 di Laboratorium Hortikultura, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB.

### **Bahan dan Alat**

Alat yang digunakan dalam percobaan adalah Laminar Air Flow (LAF), petridish, pinset dan pisau scalpel, botol kultur, lampu bunsen, serta tisu kering. Adapun bahan yang digunakan adalah eksplan tunas krisan aseptik yang telah diperbanyak, Media dasar Murashige and Skoog (MS), zat pengatur tumbuh, dan alkohol 70%.

### **Prosedur Penelitian**

Penelitian menggunakan 3 jenis media yang berbeda. Adapun kandungan dari tiap media adalah, media pertama mengandung media dasar MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP (M1), media kedua memiliki komposisi MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L Naphtaleine Acetic Acid (NAA) + 1 mg/l Benzyl Amino Purine (BAP) (M2), dan media ketiga dengan komposisi MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP (M3). Sebagai kontrol pembanding disediakan media MS tanpa zat pengatur tumbuh. Masing-masing perlakuan media terdiri dari dua botol kultur. Satu botol dengan 1 lubang ventilasi (V1) dan satu botol yang lainnya dengan 2 lubang ventilasi (V2) pada bahan penutup botol.

Tunas krisan dipotong 1 buku di atas pangkal batang. Tunas selanjutnya dipotong-potong menjadi 1 buku tunas. Pada daun-daun tunas dipotong setengahnya, kecuali daun pada pucuk terminal. Setiap botol terdiri dari 4 eksplan stek buku dan 1 eksplan pucuk terminal. Setiap botol ditutup kembali menggunakan penutup berbahan plastik yang telah diberi 1 lubang ventilasi atau 2 lubang ventilasi. Setiap botol diberi plastic wrap untuk mencegah terjadinya kontaminasi dan lubang ditutup dengan *micro tape*.

Percobaan dilakukan dengan 10 ulangan untuk setiap jenis media, sehingga terdapat 40-unit pengamatan stek buku dan 10 pucuk terminal. Pengamatan dilakukan setiap minggu dari minggu ke-1 hingga minggu ke-6. Peubah yang diamati antara lain waktu munculnya tunas aksilar pada eksplan

stek buku tunggal, jumlah buku, jumlah daun, waktu terbentuknya akar, jumlah akar, dan jumlah eksplan yang membentuk kalus.

### Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan selanjutnya diolah secara deskriptif menggunakan bantuan Microsoft Exel dan disajikan dalam tabel dan grafik.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplan krisan dengan sistem autotropik secara *in vitro* pada 6 minggu setelah perlakuan (MSP) terdapat perbedaan antara media yang diberi perlakuan dengan 1 lubang ventilasi dengan media yang diberi 2 lubang ventilasi. Eksplan dengan 2 lubang ventilasi (Tabel 1), memiliki persentase eksplan hidup yang lebih kecil yaitu sekitar 50-70% pada stek buku maupun pucuk dibandingkan eksplan yang diberi perlakuan 1 lubang ventilasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa, persentase kontaminasi eksplan pada eksplan yang diberi perlakuan 2 lubang ventilasi lebih tinggi yaitu 30-50% pada stek batang maupun pucuk dibandingkan dengan eksplan yang menggunakan 1 lubang ventilasi.

Pada eksplan yang terkontaminasi bakteri menunjukkan perubahan warna media menjadi kuning kecoklatan (Gambar 1b). Hal ini dapat disebabkan adanya reaksi oksidasi antara senyawa fenolik dengan oksigen yang berdifusi dengan sel akibat eksplan mengalami pelukaan pada saat pemotongan eksplan sehingga selanjutnya jaringan eksplan menjadi coklat atau hitam dan menghambat pertumbuhan (Jain *et al.* 2009).

Media yang diberi perlakuan 1 dan 2 lubang ventilasi pada sistem autotropik, kemungkinan mengalami kontaminasi lebih besar dibandingkan dengan control (Gambar 1a; 1b; 1c). Lubang ventilasi yang ditutup dengan *micropore tape* menyebabkan terjadinya pertukaran udara yang terdapat di dalam botol kultur ke luar lingkungan, begitupun sebaliknya. Pertukaran udara inilah yang selanjutnya meningkatkan persentase kontaminasi eksplan oleh bakteri atau jamur.



**Gambar 1.** Eksplan krisan yang mengalami kontaminasi oleh jamur (a), terkontaminasi oleh bakteri (b) dan eksplan krisan yang tidak terkontaminasi (c)

Kontaminasi pada kultur *in vitro* merupakan permasalahan yang sering terjadi, biasanya hal ini disebabkan oleh kondisi media dengan kandungan sukrosa, unsur hara, kelembaban dan suhu yang relatif tinggi. Hal ini memungkinkan mikroorganisme seperti spora jamur dapat tumbuh dan berkembang pada media kultur. Mikroorganisme penyebab kontaminasi dapat berupa jamur maupun bakteri. Kontaminasi oleh jamur ditandai dengan munculnya benang halus berwarna putih hingga hitam, yang merupakan miselium jamur penginfeksi jaringan hingga menyebabkan matinya eksplan (Shinta *et al.* 2014). Sedangkan kontaminasi oleh bakteri ditandai dengan munculnya lapisan berlendir pada media maupun eksplan, lapisan yang berwarna putih hingga kekuningan pada media merupakan koloni bakteri (Pandiangan, 2006). Sedangkan kultur yang tidak terkontaminasi dapat tumbuh secara normal (Gambar 2).

**Tabel 1. Nilai rata-rata persentase eksplan hidup dan kontaminasi eksplan krisan**

Media	Jumlah eksplan awal		Eksplan hidup (%)		Kontaminasi ekplan (%)	
	Stek buku	Pucuk	Stek buku	Pucuk	Stek buku	Pucuk
Kontrol	4	1	100	100	0	0
M1V1	40	10	90	90	10	10
M1V2	40	10	70	60	30	40
M2V1	40	10	80	90	20	10
M2V2	40	10	50	50	50	50
M3V1	40	10	70	70	30	30
M2V2	40	10	70	60	30	40

Keterangan: M= media (M1= MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP; M2= MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP; M3= MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP), V= ventilasi (V1= 1 lubang ventilasi; V2= 2 lubang ventilasi)

**Gambar 2. Eksplan krisan dengan sistem autotropik *in vitro* pada 1 MSP**

### **Waktu Munculnya Tunas Aksilar**

Pembentukan tunas aksilar pada Tabel 2 menunjukkan waktu yang hampir sama diantara media, yaitu pada 1 MSP. Sedangkan tunas aksilar pada media M2 yang mengandung gula lebih tinggi dengan tambahan hormon NAA dan BAP muncul pada 2 MSP, 1 minggu lebih lama dibandingkan media lainnya. Menurut Basri (2008) penggunaan hormon sitokinin dan auksin dengan konsentrasi seimbang dapat menyebabkan pembelahan dan pembesaran sel secara cepat dan menghasilkan jumlah yang banyak.

Pemberian kedua hormon tersebut berpengaruh nyata terhadap pembentukan tunas. Namun, pada media kultur terbentuknya tunas aksilar pada eksplan juga dapat didorong dengan penambahan gula atau sukrosa sebagai sumber energi dan sumber karbon (Afreeen 2005; Ruan 2012). Dapat disimpulkan bahwa eksplan akan lebih cepat membentuk tunas aksilar dan mengalami pembelahan sel (Sitorus *et al.* 2011), bila ditanam pada media yang memiliki kandungan gula dengan konsentrasi tinggi. Namun pada penelitian ini menunjukkan hal yang sebaliknya. Hal ini berkaitan pada peran sukrosa yaitu selain sebagai sumber energi, sukrosa atau gula juga dapat berperan sebagai regulator osmotik.

Sukrosa yang ditambahkan ke dalam media kultur yang memiliki konsentrasi tinggi, dapat menurunkan potensial osmotik sehingga nutrisi yang menyebar ke dalam jaringan eksplan atau tanaman akan berjalan lambat. Aliran nutrisi lambat inilah yang menyebabkan pertumbuhan kultur atau munculnya tunas juga terhambat (Roostika *et al.* 2017).

Selain konsentrasi gula, faktor lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas aksilar yaitu konsentrasi karbondioksida (CO<sub>2</sub>). Karbon dioksida merupakan sumber karbon dalam proses pertumbuhan tunas, CO<sub>2</sub> yang dapat masuk ke dalam botol kultur dengan perlakuan lubang ventilasi akan meningkatkan konsentrasi CO<sub>2</sub> di dalam botol kultur meningkat (Wu & Lin 2013). Pada sistem

autotropik ini akan cenderung membuat eksplan atau tanaman tidak bergantung pada ketersediaan sukrosa dalam media kultur, melainkan bergantung pada CO<sub>2</sub> sebagai sumber energinya dalam proses fotosintesis.

**Tabel 2. Nilai rata-rata waktu terbentuk tunas aksilar pada stek buku**

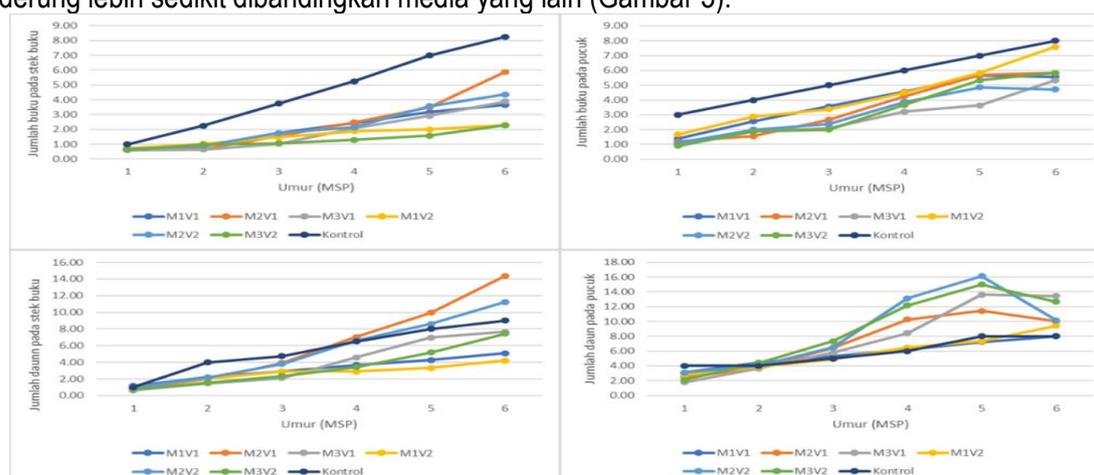
Media	Nilai rata-rata waktu terbentuk tunas aksilar (MSP)
Kontrol	1.50
M1V1	1.33
M1V2	0.94
M2V1	2.13
M2V2	2.20
M3V1	1.55
M2V2	1.38

Keterangan: M= media (M1= MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP; M2= MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP; M3= MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP), V= ventilasi (V1= 1 lubang ventilasi; V2= 2 lubang ventilasi)

Apabila konsentrasi CO<sub>2</sub> rendah pada botol kultur maka dapat mendorong eksplan menjadi heterotrof dan jika terpapar oleh radiasi yang terlalu tinggi dapat meningkatkan kerentanan tanaman terhadap stress oksidatif yang dapat memicu terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Kubota 2002).

### Jumlah Buku dan Jumlah Daun

Pada Gambar 3 jumlah buku pada eksplan stek buku menunjukkan bahwa media M3 dengan konsentrasi gula atau sukrosa yang rendah yaitu 15 g/L memiliki jumlah buku dan jumlah daun yang cenderung rendah, sedangkan media yang mengandung konsentrasi gula tinggi dan yang diberi perlakuan 2 lubang ventilasi menunjukkan jumlah buku dan jumlah daun yang relatif lebih banyak dan mengalami peningkatan dari 1 MSP hingga 6 MSP. Kandungan gula yang terkandung dalam media dapat meningkatkan pertumbuhan buku dan daun pada eksplan. Pada media M1 tanpa penggunaan hormon atau zat pengatur tumbuh seperti NAA dan BAP, jumlah daun menunjukkan jumlah daun yang cenderung lebih sedikit dibandingkan media yang lain (Gambar 3).



**Gambar 3. Nilai rata-rata jumlah buku dan jumlah daun pada eksplan stek buku dan pucuk dari 1 MSP hingga 6 MSP**

Perbedaan konsentrasi antara zat pengatur tumbuh memiliki kemampuan yang berbeda dalam merangsang pertumbuhan eksplan. Semakin tinggi ketersediaan sitokinin akan memicu pertumbuhan dan perkembangan eksplan lebih cepat (Lydianthy & Nihayati 2019). Penambahan sitokinin pada

konsentrasi tinggi dan auksin pada konsentrasi rendah akan menghasilkan jumlah daun yang banyak (Purba 2017).

Secara umum grafik menunjukkan bahwa, peningkatan jumlah buku juga diikuti dengan peningkatan jumlah daun, dikarenakan pertumbuhan eksplan mulai terjadi pada nodus dan internodus yang merupakan tempat melekatnya daun pada batang. Jadi, semakin banyak nodus yang terbentuk maka akan semakin banyak daun yang dihasilkan dari pembelahan sel pada meristem pucuk (Triyastuti *et al.* 2018).

### Waktu Terbentuknya Akar dan Jumlah Akar

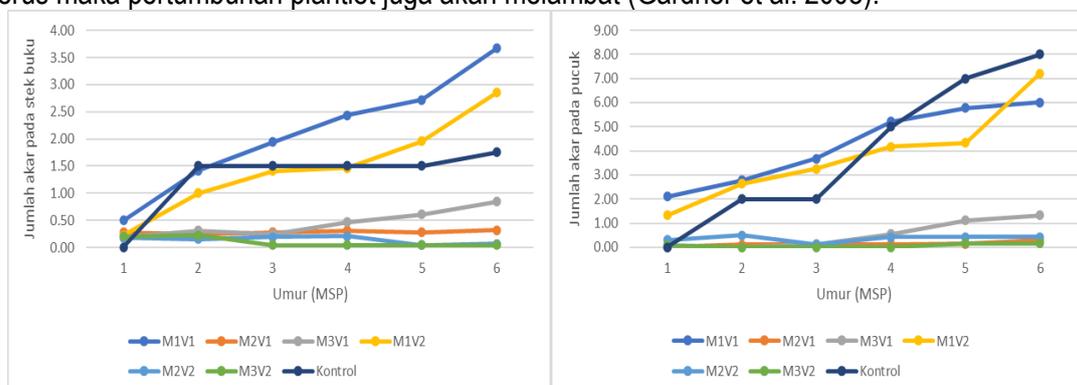
Pertambahan jumlah akar tiap minggu secara keseluruhan mengalami peningkatan (Gambar 4). Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata waktu terbentuknya akar terjadi pada 1 MSP. Dibandingkan dengan eksplan stek buku, waktu terbentuknya akar pada beberapa eksplan pucuk lebih sulit untuk membentuk akar. Hal ini juga terlihat pada jumlah akar yang terbentuk, pada eksplan dari stek batang maupun pucuk yang ditumbuhkan pada media M2 dan M3 dengan penambahan zpt menghasilkan eksplan yang menghasilkan jumlah akar yang lebih sedikit dan terhambatnya pembentukan akar. Hal ini dikarenakan penambahan zat pengatur tumbuh BAP yang dikombinasikan dengan NAA pada media kultur ternyata lebih terfokus pada perbanyak tunas dibandingkan pada pembentukan akar (Lydianthy *et al.* 2019).

**Tabel 3. Nilai rata-rata waktu terbentuk akar pada stek buku dan pucuk**

Media	Nilai rata-rata waktu terbentuk akar (MSP)	
	Stek Buku	Pucuk
Kontrol	1.10	1.00
M1V1	1.10	1.53
M1V2	1.22	1.64
M2V1	0.20	0.38
M2V2	1.00	0.33
M3V1	0.80	0.23
M2V2	0.67	0.23

Keterangan: M= media (M1= MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP; M2= MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP; M3= MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP), V= ventilasi (V1= 1 lubang ventilasi; V2= 2 lubang ventilasi)

Eksplan pada media M3 dengan penurunan konsentrasi gula menyebabkan menurunnya jumlah akar dan lamanya waktu pembentukan akar atau terhambatnya pembentukan akar bila dibandingkan dengan media lain dan kontrol. Apabila pertumbuhan akar terhambat dan jumlah akar yang dihasilkan relatif sedikit maka akan semakin sedikit unsur hara yang dapat diserap oleh tanaman, bila terjadi terus menerus maka pertumbuhan plantlet juga akan melambat (Gardner *et al.* 2008).



**Gambar 4. Nilai rata-rata jumlah akar pada eksplan stek buku dan pucuk dari 1 MSP - 6 MSP**

Penggunaan jenis eksplan pucuk menunjukkan pertumbuhan jumlah akar yang lebih cepat dan banyak dibandingkan eksplan dari stek batang. Hal ini dikarenakan pada pucuk terdapat hormon auksin yang lebih banyak untuk selanjutnya digunakan dalam pembelahan sel bila dibandingkan dari stek buku yang memerlukan energi lebih banyak dalam pertumbuhannya (Gunawan 1992).

### **Jumlah Eksplan yang Membentuk Kalus**

Jumlah eksplan yang membentuk kalus pada 6 MSP paling banyak terdapat pada eksplan yang ditanam pada media yang diberi perlakuan 2 lubang ventilasi bila dibandingkan dengan eksplan yang ditanam pada media yang diberi perlakuan 1 lubang ventilasi (Tabel 4). Pembentukan kalus pada eksplan disebabkan karena adanya hormon endogen auksin yang cukup tinggi di dalam eksplan tersebut (Mahadi *et al.* 2014).

Pada eksplan dari stek buku, media dengan penambahan zpt yaitu media M2 dan M3 memiliki persentase jumlah eksplan yang membentuk kalus lebih banyak dibandingkan media lainnya dan kontrol. Zat pengatur tumbuh seperti sitokinin dan auksin dalam media kultur dapat meningkatkan pembentukan kalus hingga selanjutnya membentuk tunas (Gunawan 1992).

**Tabel 3. Persentase jumlah eksplan yang membentuk kalus pada 6 MSP**

Media	Jumlah eksplan membentuk kalus (%)	
	Stek buku	Pucuk
Kontrol	0	100
M1V1	13	33.33
M1V2	25	40
M2V1	50	71.43
M2V2	33	85.71
M3V1	56	55.55
M2V2	71	66.67

Keterangan: M= media (M1= MS + 30 g/L gula + 2 mg/L CaP; M2= MS + 30 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP; M3= MS + 15 g/L gula + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP), V= ventilasi (V1= 1 lubang ventilasi; V2= 2 lubang ventilasi)

## **4. KESIMPULAN DAN SARAN**

Keefektifan perbanyakkan bibit krisan dengan sistem autotropik memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Sistem autotropik juga dipengaruhi oleh komposisi media meliputi konsentrasi gula dan zat pengatur tumbuh, serta dipengaruhi tingkat ventilasi yang digunakan. Peningkatan konsentrasi gula dapat meningkatkan pertumbuhan tunas, namun bila dalam jumlah banyak juga dapat menghambat pertumbuhan tunas aksilar.

Diperlukan optimasi percobaan lebih lanjut mengenai konsentrasi gula yang lebih dapat meningkatkan pertumbuhan tunas. Lubang ventilasi pada sistem autotropik dapat memungkinkan terjadinya kontaminasi yang lebih banyak, hal ini dapat dikurangi dengan mengontrol sterilitas eksplan yang digunakan serta lingkungan yang sesuai seperti kelembaban, suhu dan intensitas cahaya yang sesuai. Penggunaan eksplan pucuk menunjukkan pertumbuhan jumlah akar dan tunas yang lebih tinggi dibandingkan eksplan dari stek buku.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Afreen, F. (2005). Physiological and anatomical characteristics. *Dalam*: Kozai T, Afreen F, Zobayed S M A, (Eds). Photoautotroph (sugar-free Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System. Netherlands.

Andri, K.B. (2013). Analisis rantai pasok dan rantai nilai bunga krisan di daerah sentra pengembangan Jawa Timur. *SEPA*. 10 (1):1-10.

- Basri. (2008). Multiplikasi empat varietas krisan melalui teknik kultur jaringan. *Jurnal Agroland*. 15 (3): 271 – 277.
- Chaum, S., Chanseetis, C., Chintakovid, W., Pichakum, A., Supaibulwatana, K. (2011). Promoting root induction and growth of in vitro *Macadamia* (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keauu') plantlets using CO<sub>2</sub>-enriched photoautotrophic conditions. *J Plant Biotechno*. 106: 435.
- Gunawan, L.W. (1992). *Teknik kultur jaringan tumbuhan*. Institut Pertanian Bogor
- Handajaningsih, M., & Wibisono, T. (2009). Pertumbuhan dan pembungaan krisan dengan pemberian abu janjang kelapa sawit sebagai sumber kalium. *J. Akta Agrosia*. 12 (1) : 8–14.
- Hayati, N.Q., Nurmalinda, N., Marwoto, B. (2018). Inovasi teknologi tanaman krisan yang dibutuhkan pelaku usaha. *J Hort*. 28(1): 147-162.
- Hazarika, B.N. (2003). Acclimatization of tissue-cultured plants. *Curr Sci*. 85: 1704-1712.
- Hazarika, B.N. (2006). Morphophysiological disorders in in vitro culture of plants. *Sci Horti*. 108:105-120.
- Jain, N., Bairu, M.W., Stirk, W.A., Van, S.J. (2009). The effect of medium, carbon source and explant on regeneration and control of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens*. *South African Journal of Botany*, 75: 117–121.
- Kozai, T., & Kubota, C. (2005). 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.
- Kubota, C. (2002). *Photoautotrophic micropropagation: Importance of controlled environment in plant tissue culture*. Combined Proceedings International Plant Propagators' Society. 52: 609-613.
- 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. *Biol Plant*. 44: 167-174.
- Lydianthy, H., & Nihayati, E. (2019). Pengaruh penggunaan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap presentase tumbuh bahan tanam krisan (*Chrysanthemum morifolium*) secara in vitro. *Jurnal Produksi Tanaman*, 7(10): 1878-1884.
- Pandiangan, P., Samse, S., Nainggolan, T. (2006). Pengaruh pemberian giberelin Ga3 dan air kelapa terhadap pertumbuhan planlet tanaman Anggrek *dendrobium* sp secara in vitro. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 18(2) : 76 -79.
- Purba, S. (2017). Pengaruh BAP dan NAA pada perbanyakan tunas krisan secara in vitro. *Jurusan Pendidikan Biologi*, 1(1) : 187 – 188.
- Roostika, I., Purnamaningsih, R., Noviaty, A.V. (2017). Pengaruh Sumber Karbon dan Kondisi Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Kultur in Vitro Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). *J AgroBiogen*. 4(2):65-69.

- Ruan, Y. (2012). Signaling role of sucrose metabolism in development. *Mol Plant*. 5: 763-765.
- Shinta, S., Masna, M. (2014). Identifikasi dan pencegahan kontaminasi pada kultur cair sistem perendaman sesaar. *Jurnal Menara Perkebunan*, 82(2) : 66 – 69.
- Sitorus, E.N, Hastuti, E.D., 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.
- Triyastuti, N., Rahayu, E.S., Widiatningrum, T. (2018). Optimasi pertumbuhan plantlet krisan melalui peningkatan permeabilitas tutup botol dan penurunan sukrosa. *Jurnal MIPA*, 41(1): 20-26.
- Wu, H.C., & Lin, C.C. (2013). Carbon dioxide enrichment during photoautotrophic micropropagation of *Protea cynaroides* L. plantlets improves in vitro growth, net photosynthetic rate, and acclimatization. *Hort Sci.*, 48(10): 1293-1297.
- Xiao, V., Niu, G., Kozai, T. (2010). Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 105: 149-158.