

PENGARUH FOTOPERIOD DAN GIBERELIN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PEMBUNGAAN *IN VITRO* KRISAN (*Chrysanthemum* sp.)

Oleh:

Angga Adriana Imansyah¹⁾,
Sugiyono, SSi., Ph.D.²⁾ dan
Ir. Allice Yuniaty, MSc., PhD.²⁾

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh interaksi antara fotoperiode dengan giberelin (GA_3) dan menentukan kombinasi terbaik antara fotoperiode dengan konsentrasi GA_3 untuk pertumbuhan dan pembungaan krisan (*Chrysanthemum* sp.) secara *in vitro*. Penelitian dilakukan secara ekperimental menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah fotoperiode yang terdiri dari empat taraf yaitu P_1 (13,5 jam gelap dan 10,5 jam terang), P_2 (15 jam gelap dan 9 jam terang), P_3 (16,5 jam gelap dan 7,5 jam terang), dan P_4 (18 jam gelap dan 6 jam terang), dan faktor kedua adalah konsentrasi GA_3 yang terdiri dari empat taraf yaitu G_1 (0 μM GA_3), G_2 (1,5 μM GA_3), G_3 (3 μM GA_3) dan G_4 (4,5 μM GA_3). Secara total terdapat 16 kombinasi perlakuan dan diulang 3 kali. Data yang diperoleh dianalisis ragam atau *analysis of variant* (ANOVA) dengan menggunakan Instrumen SAS. Jika perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) guna mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan fotoperiode dan GA_3 tidak mampu menginduksi pembungaan krisan (*Chrysanthemum* sp.) secara *in vitro*, akan tetapi fotoperiode secara tunggal yaitu P_4 (18 jam gelap dan 6 jam terang) mempengaruhi tinggi tanaman, jumlah ruas, panjang ruas, jumlah daun, dan panjang akar.

Kata kunci: Krisan, *In Vitro*, Pembungaan, Fotoperiode, GA_3

The research aimed to study the interaction of photoperiod and gibberelin on growth and in vitro flower induction, as well as to determine the best combination of photoperiod and gibberelin concentration on in vitro flowering induction. The research used experimental method and was designed in a Randomized Complete Block with two factors, photoperiod and gibbereline. Photoperiod factor consisted of four levels. i.e. P_1 (13.5 hours dark and 10.5 hours light periods), P_2 (15 hours dark and 9 hours light periods), P_3 (16.5 hours dark and 7.5 hours light periods) and P_4 (18 hours dark and 6 hours light periods). Four levels of gibberelin factor were G_1 (0 μM GA_3), G_2 (1.5 μM GA_3), G_3 (3 μM GA_3), and G_4 (4.5 μM GA_3). There were 16 treatment combinations in total, each was replicated three times. Data was analysed using the Analysis of Variant (ANOVA) Test run by the SAS program. Differences between treatments were analysed using the Duncan Multiple Range Test (DMRT) at 5% significance level. Based on the results of observation and analysis of test data photoperiod and GA_3 Not able to induce flowering chrysanthemums. However photoperiod That Operate single P_4 (18 hours Dark and 6 hours of light) can be influence the plant height, total segment, length segmentts, number of leave, and root length.

Keywords: *Chrysanthemum*, *In Vitro*, Flowering, Photoperiod, GA_3

1)* Dosen Fakultas Sains Terapan UNSUR, Universitas Surya Kencana

2)* Dosen Pengajar Pascasarjana Pertanian UNSOED, Universitas Jenderal Soedirman

PENDAHULUAN

Tanaman hias krisan (*Chrysanthemum* sp.) merupakan tanaman penghasil bunga potong yang penting di dunia sehingga sangat potensial untuk dibudidayakan. Pengembangan krisan berdampak positif terhadap perekonomian di daerah pedesaan, khususnya terhadap peningkatan pendapatan petani dan masyarakat (Rukmana dan Mulyana 1997).

Induksi pembungaan secara *in vitro* telah dilakukan melalui manipulasi genetik untuk studi

fisiologi pembungaan (Victorio dan Lage, 2009). Proses pembungaan merupakan titik kritis dalam pembuahan tanaman (Lizawati, 2008) karenanya pengaturan pembungaan penting dilakukan pada tanaman krisan.

Teknik kultur *in vitro* merupakan teknik pembibitan secara masal dan sangat berguna bagi proses pemuliaan karena memungkinkan dilakukannya persilangan *in vitro*, menghasilkan biji *in vitro* dan untuk mengetahui fenotip bunga jenis baru dari hasil persilangan. Menurut

Bodhipadmaa *et al.*, (2010) pembungaan secara *in vitro* berguna untuk aplikasi pembungaan secara praktis, seperti pembibitan tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi yang sulit untuk ditumbuhkan.

Fotoperiode merupakan salah satu faktor yang dapat mengubah respon tanaman dan dapat mempengaruhi pemanjangan batang, pertumbuhan daun, gugur daun dormansi, dan pembentukan organ (Salisbury dan Ross, 1995). Pengaturan fotoperiode dapat menstimulasi pembungaan. Respon pembungaan terhadap fotoperiode tergantung pula pada jenis tanaman dan zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media kultur *in vitro*.

Giberelin Acid (GA) adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang mempengaruhi pembungaan (Abidin, 1990; Davies, 2004; Zhang dan Leung, 2002). Giberelin membantu proses perubahan pucuk menjadi bunga dan memberikan pengaruh terhadap pemanjangan batang pada tanaman (Thingnaes *et al.*, 2003; Yamaguchi, 2008). Biosintesis giberelin diatur oleh faktor lingkungan seperti cahaya dan fotoperiode (Geekiyana *et al.*, 2006; Yamaguchi dan Kamiya, 2000). Giberelin yang banyak digunakan dalam berbagai penelitian adalah GA₃.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2012 sampai dengan Februari 2013, di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidik dan Tenaga Kependidikan (PPPPTK) Pertanian Cianjur Jawa Barat.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), autoklaf, kompor gas, botol kultur/ tabung reaksi, alat diseksi (seperti pinset dan skalpell), rak, cawan Petri, *Erlenmeyer*, *timer*, gelas ukur, alat pencuci, *spatula*, ember, sendok, pipet tetes, *handsprayer*, lampu bunsen, gunting, kamera, *beaker glass*, timbangan digital, timbangan analitik, *hot plate & magnetic stirrer*, pH meter, kulkas/*fridge*, pipet lurus, mikro pipet, labu ukur, penggaris, poster hitam dan kain hitam, lampu TL 40 watt, *mikrofilter*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya: bibit krisan varietas Kusuma Patria (subkultur ke-4) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) media Murashige & Skoog-1962 (MS-1962), zat pengatur tumbuh GA₃, gula pasir, agar, kertas tissue, alkohol 70% dan 96%, spirtus, *wrapping plastic*, plastik penutup media, karet gelang, kertas label, pensil dan korek api.

Rencana Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola perlakuan faktorial dengan 2 faktor. Adapun faktor yang dicoba adalah sebagai berikut.

- Faktor I : Fotoperiode (P) yang terdiri atas :
 $P_1 = 13,5/10,5$ jam (gelap/terang)
 $P_2 = 15/9$ jam (gelap/terang)
 $P_3 = 16,5/7,5$ jam (gelap/terang)
 $P_4 = 18/6$ jam (gelap/terang)
- Faktor II : Konsentrasi GA₃ (G) yang terdiri atas :
 $G_1 = 0 \mu\text{M GA}_3$
 $G_2 = 1,5 \mu\text{M GA}_3$
 $G_3 = 3 \mu\text{M GA}_3$
 $G_4 = 4,5 \mu\text{M GA}_3$

Total kombinasi perlakuan berjumlah 16 (Tabel 3.1), masing kombinasi perlakuan terdiri dari 3 ulangan dan setiap unit percobaan terdiri atas 3 botol yang masing masing berisi 1 eksplan, sehingga jumlah keseluruhan eksplan yaitu $16 \times (3 \times 3) = 144$ eksplan.

Teknik Analisis Data

Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan menggunakan analisis ragam atau *Analysis of Variant* (ANOVA) dengan menggunakan Instrumen SAS (aplikasi) dan dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembungaan

Sepanjang periode penelitian tidak ditemukan tanda-tanda perubahan pucuk tunas menjadi kuncup bunga. Sampai dengan akhir penelitian pembungaan tidak terjadi. Diduga fotoperiode yang diberikan tidak mampu menginduksi pembungaan krisan yang dikultur sekalipun didukung oleh zat pengatur tumbuh GA₃ yang merupakan zat pengatur tumbuh yang memediasi pembentukan bunga. Oleh karena itu parameter pengamatan waktu kemunculan bunga, jumlah bunga dan ukuran bunga tidak bisa diukur dan dianalisis.

Tidak terjadinya pembungaan pada penelitian ini patut diduga karena perlakuan penyinaran tidak mampu merangsang pembungaan. Dua hal terkait pencahayaan yang diduga berkontribusi terhadap kegagalan pembungaan adalah ketidaksesuaian panjang gelombang (λ) dan jumlah radiasi yang diberikan (foton). Respon pembungaan akan terjadi pada

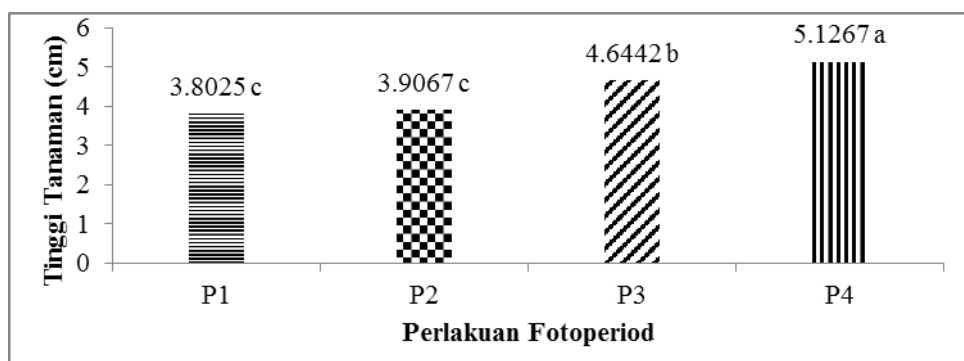
jenis cahaya merah panjang (730 nm), karena akan memacu akumulasi Pfr, dengan iradiasi yang tinggi (Chailakhyan, 1968). Sementara pada penelitian ini digunakan pencahayaan dengan lampu TL yang pada umumnya memiliki range panjang gelombang 400-650 nm, dengan hanya memiliki energi 10-50 mmol.m⁻².s⁻¹. Oleh karena itu diduga jenis dan iradiasi cahaya yang digunakan dalam penelitian tidak mampu menginduksi pembungaan krisan secara *in vitro*.

Kekurangan iradiasi cahaya, nampaknya direspon tumbuhan sebagaimana tumbuhan merespon kondisi ternaungi. Pertumbuhan vegetatif tumbuhan yang dipengaruhi cahaya disebabkan oleh respon fitokrom merah (Pr) dan merah jauh (Pfr) (Campbell *et al.*, 2003; Kurepin *et al.*, 2007; Taiz and Zieger, 2002). Jika tanaman ternaungi atau kekurangan cahaya maka tanaman akan melakukan pemanjangan batang (Nakamura *et al.*, 2005). Respon fitokrom akan mendorong pertumbuhan vegetatif karena cahaya yang tersedia tidak mampu merangsang pembungaan. Respon elongasi batang pada tanaman ternaungi atau kekurangan cahaya terutama diatur oleh gen fitokrom yaitu gen *phyB* (Halliday *et al.*, 1994; Smith dan Whitelam, 1997; Kurepin *et al.*, 2006).

Dalam penelitian ini, zat pengatur tumbuh giberelin eksogen yang diberikan pada media diduga lebih berperan dalam proses pemanjangan batang dan belum mampu merangsang pembungaan. Menurut Yamaguchi (2008), zat pengatur tumbuh giberelin tidak hanya dapat menginduksi pembungaan namun dapat menginduksi pemanjangan batang. Rai *et al.*

(2006) menyatakan bahwa kandungan giberelin endogen akan meningkat dalam masa vegetatif dan ketika memasuki masa generatif jumlah giberelin endogen akan menurun. Hal ini terjadi akibat tanaman memacu pembelahan dan pemanjangan sel di bagian apeks/pucuk sehingga terjadi pertumbuhan vegetatif (Salisbury dan Ross, 1995). Proses pemanjangan batang pada tanaman berawal dari respon cahaya yang diterima oleh *phyB* yang memacu aktivitas enzim GA20ox sehingga meningkatkan pembentukan GA₁ dan GA₄ yang kemudian mengakibatkan pemanjangan serat xilem (Hedden dan Phillips, 2000). Selain itu enzim GA20x dapat dihasilkan dari biosintesis auksin/IAA dan dapat menekan Della protein (Teale *et al.*, 2006; Weiss dan Ori, 2007; Reid *et al.*, 2011).

Proses pemanjangan sel oleh auksin terjadi melalui stimulasi pemompaan proton pada membran plasma di daerah pemanjangan tunas dan menurunkan pH di dalam dinding sel sehingga potensial membran meningkat dan memungkinkan air masuk secara osmosis. Masuknya air secara osmosis bersamaan dengan penambahan plastisitas dinding sel sehingga dinding sel memanjang (Campbell *et al.*, 2003; Rayle dan Cleland, 1992;). Akibat ketiadaan/rendahnya iradiasi cahaya dalam jangka waktu lama produksi auksin akan semakin tinggi yang mengakibatkan rangsangan pemanjangan sel dan dapat mendorong meningkatnya tinggi tanaman dan tidak terjadinya pembungaan (Salisbury dan Ross, 1995).



Gambar 1. Histogram tinggi tanaman krisan pada berbagai perlakuan Fotoperiode

Tinggi Tanaman

Perlakuan lama penyinaran 18 jam gelap dan 6 jam terang (P₄) menunjukkan tinggi tanaman tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan 16 jam gelap dan 7.5 jam terang (P₃), perlakuan 15 jam gelap dan 9 jam terang (P₂) dan 13,5 jam gelap dan 10 jam terang (P₁). Pengaruh

perlakuan P₂ dan P₁ terhadap tinggi tanaman tidak berbeda satu sama lain (Gambar. 4.1)

Periode gelap memberikan respon fisiologis yang mengarah pada pemanjangan batang. Susanto dan Sundari (2011) menyatakan bahwa tanaman yang kekurangan cahaya tumbuh lebih tinggi dibanding tanaman pada lingkungan yang

memiliki cahaya penuh. Hal senada ditemukan oleh Kristina (2009) dalam penelitiannya dengan tanaman kedelai.

Pemanjangan batang yang lebih tinggi pada tanaman yang diberikan perlakuan GA3 dan periode gelap lebih panjang terjadi baik karena aktivitas GA3 maupun aktivitas yang dipacu oleh auksin. Konsentrasi auksin yang tinggi pada kondisi gelap terjadi karena tingginya produksi auksin dan rendahnya fotooksidasi auksin. Kandungan auksin yang tinggi mengakibatkan rangsangan pemanjangan sel dan dapat mendorong meningkatnya tinggi tanaman dan tidak terjadinya pembungaan (Salisbury dan Ross, 1995).

Pertambahan tinggi tanaman terjadi akibat pemanjangan *internode* atau elongasi hipokotil yang dipengaruhi oleh lamanya periode gelap. Pendeknya jangka waktu periode terang dapat menyebabkan tanaman mengalami elongasi. Kekurangan cahaya akan berdampak pada elongasi pada batang (Franklin dan Whitelam, 2005). Proses elongasi akibat fotoperiode tersebut dipengaruhi oleh respon fitokrom merah (Pr) dan merah jauh (Pfr) dan aktivitas gen phyB (Campbell et al., 2003; Franklin dan Whitelam, 2005; Kurepin et al., 2007). Respon elongasi terhadap kekurangan cahaya di tangkap oleh phyB dengan berinteraksi dengan Phytochrome Interacting Faktor (PIF) seperti faktor transkripsi Arabidopsis Thaliana Homeobox Protein2 (ATHB2) (Jiao et al., 2007).

ATHB2 merupakan gen yang mengkode protein homeodomain-leucin zipper yang diinduksi oleh adanya perubahan fitokrom R:FR yang dapat menginduksi respon elongasi atau shade avoidance (Devlin et al. 1996; Ohgish et al., 2001). Ekspresi ATHB memberikan sinyal kepada auksin yaitu IAA29 dan pembentukan IAA29 memuncak pada saat petang (Kunihiro et

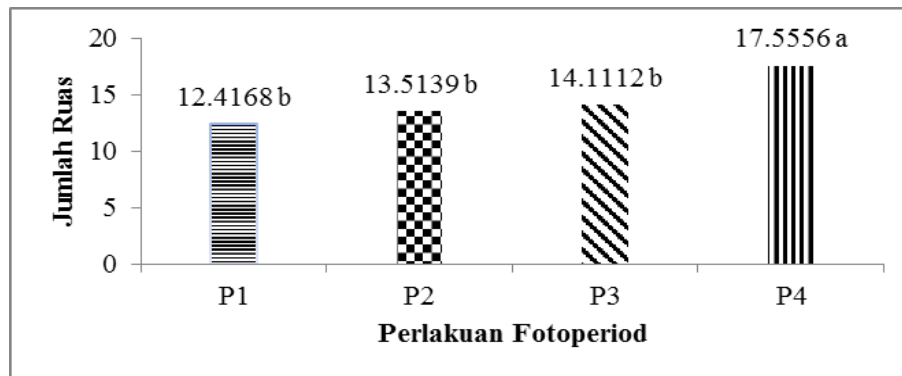
al., 2011). IAA29 merupakan anggota auksin yang berperan aktif untuk menekan represor Aux/IAA dan mengaktifkan Auxin Responsif Factor (ARF) sehingga membantu proses terjadinya elongasi pada batang (Mockaitis dan Estelle, 2008; Kunihiro et al., 2011).

Jumlah Ruas

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi GA3 dan interaksi antara GA3 dan fotoperiode tidak berpengaruh terhadap jumlah ruas tanaman krisan. Namun demikian, perlakuan fotoperiode memberikan pengaruh yang nyata terhadap rata-rata jumlah ruas tanaman krisan.

Berdasarkan hasil uji DMRT terhadap rata-rata jumlah ruas, perlakuan P4 (18 jam gelap dan 6 jam terang) menghasilkan jumlah ruas paling banyak dengan rata-rata 17.56. Perlakuan tersebut berbeda dengan semua perlakuan lainnya. Tidak terdapat perbedaan antara perlakuan P3 (16 jam gelap dan 7.5 jam terang) P2 (15 jam gelap dan 9 jam terang) dan P1 (13.5 jam gelap dan 10 jam terang) (Gambar 2.).

Perlakuan P4 menghasilkan jumlah ruas paling banyak karena tanaman lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Sementara itu, perlakuan P3, P2 dan P1 menghasilkan jumlah ruas lebih sedikit karena tinggi tanamannya juga lebih pendek. Selain itu juga dipengaruhi oleh pemberian fotoperiodisasi dengan waktu periode terang yang lebih lama. Pembentukan jumlah ruas diakibatkan periode gelap yang lama sehingga memicu biosintesis auksin. Pembentukan ruas batang diduga akibat pembentukan primordia pucuk lateral yang dipicu oleh auksin (De Reuille et al., 2006; Shani et al., 2006).



Gambar 2. Jumlah ruas tanaman krisan pada berbagai perlakuan fotoperiode

Auksin endogen yang berada dalam Shoot Apikal Meristem (SAM) didistribusikan secara polar melalui PIN1 protein ke daerah Peripheral Zone (PZ) yang berperan dalam proses organogenesis primordia pucuk lateral dan membentuk ruas pada tanaman (Shani et al., 2006; Bohn, 2010). PIN1 protein merupakan fasilitas pembawa auksin keluar sel (Taiz dan Zeiger, 2002; Friml, 2003; Blakeslee et al., 2005; Paponov et al., 2005). Semakin terakumulasinya auksin akan memicu terjadinya biosintesis giberelin (Frigerio et al., 2006). Menurut Frigerio et al. (2006) tanaman *A. thaliana* yang diberi tambahan NAA eksogen akan mengalami peningkatan transkripsi gen *AtGA20ox2* yang menghasilkan GA20ox yang memicu biosintesis giberelin.

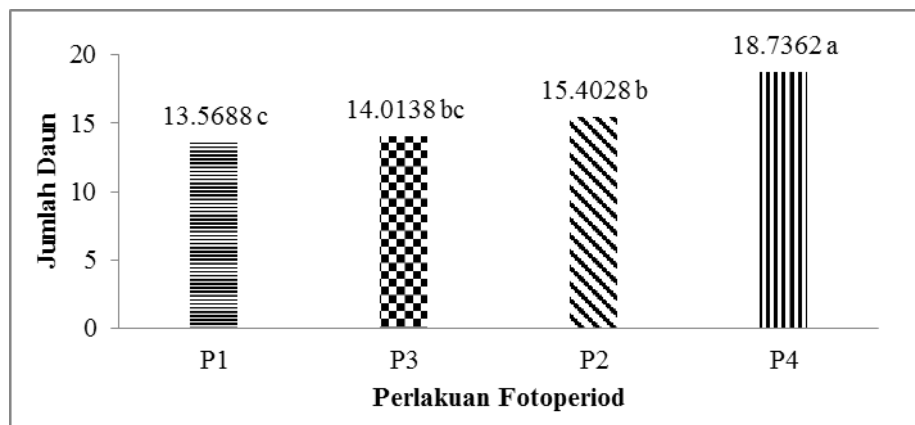
Seiring pembentukan primordia pucuk lateral yang dipicu oleh auksin di daerah SAM dalam masa periode gelap, berlangsung pula pemanjangan pada bagian internode. Hal ini terjadi akibat respon gen Phytochrome Interacting Factors 4 (PIF4) terhadap phyB yang memberikan sinyal kepada ATHB sehingga mengaktifkan biosintesis auksin dan giberelin endogen yang memberikan efek elongasi pada tanaman (Vandenbussche, 2005).

Panjang Ruas

Data panjang ruas terlebih dahulu ditransformasi dengan $\sqrt{(x+0,5)}$ untuk kemudian

dianalisis secara statistik. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi GA3 dan interaksi antara GA3 dan fotoperiode tidak berpengaruh terhadap panjang ruas tanaman krisan, namun perlakuan fotoperiode memberikan pengaruh nyata terhadap rata-rata panjang ruas. Berdasarkan hasil uji DMRT perlakuan P4 dengan 18 jam gelap dan 6 jam terang menghasilkan panjang tuna ruas tertinggi dengan rata-rata panjang ruas 1,1534 cm. Perlakuan P3, P2 dan P1 tidak berbeda satu sama lain.

Perlakuan 18 jam gelap dan 6 jam terang menunjukkan pemanjangan ruas paling tinggi diduga akibat internode mengalami elongasi yang cukup panjang. Elongasi yang terjadi pada internode karena masa periode malam atau gelap lebih lama dibandingkan periode siang. Hal ini diduga terjadi akibat adanya respon phyB dengan mengikat Phytochrome Interacting Factors 4 (PIF4) dimana PIF sebagai faktor transkripsi yang merespon cahaya serta mengatur konversi antara Pr dan Pfr (Lorrain et al., 2008; Smith dan Whitelam, 1997; Stamm dan Kumar, 2010). PIF4 mengaktifkan ATHB2 yang memberikan rangsangan terhadap biosintesis auxin melalui jalur PIN (Devlin et al., 2003; Stamm dan Kumar, 2010).



Gambar 3. Jumlah daun tanaman krisan pada berbagai perlakuan foto-periode

Rangsangan biosintesis auksin mengakibatkan terjadinya pemanjangan *internode* akibat periode gelap. Selain auksin, pemanjangan *internode* diduga karena pengaruh giberelin endogen. Biosintesis giberelin endogen terjadi akibat degradasi Aux/IAA protein sehingga mengaktifkan ARF7 (Tale et al., 2006). Aktivitas

ARF7 menghasilkan protein GA20ox yang merupakan sinyal pembentukan giberelin (O'Neill dan Ross, 2002). Pembentukan giberelin endogen memberikan pengaruh elongasi pada *internode* atau ruas karena giberelin memacu pertumbuhan batang dalam keadaan periode gelap (Alabadí et al., 2004). Hal ini terjadi karena

berkurangnya aktivitas gen DELLA sehingga memacu biosintesis giberelin yang kemudian menyebabkan elongasi hipokotil dan elongasi batang. Gen DELLA dapat menekan biosintesis giberelin (Dill *et al.*, 2001).

Jumlah Daun

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi GA₃ dan interaksi antara GA₃ dan fotoperiode juga tidak berpengaruh terhadap jumlah daun tanaman krisan, namun perlakuan fotoperiode memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah daun yang diukur pada 90 HST. Perlakuan P₄ menghasilkan jumlah daun paling banyak dengan rata-rata 18,74 daun. Perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan P₃, P₂ dan P₁. Perlakuan P₂ dan P₁ tidak berbeda nyata dan keduanya berbeda dengan P₃ (Gambar 4).

Perlakuan P₄ menghasilkan jumlah daun paling banyak diduga karena periode gelap lebih lama memacu pembentukan daun.

Fotoperiode sangat penting bagi tanaman karena dapat memacu fotomorfogenesis (Han *et al.*, 2007). Fotoperiode direspon oleh fitokrom dengan merangsang auksin untuk memicu terjadinya morfogenesis pada primordia daun (Geekiyange *et al.*, 2006).

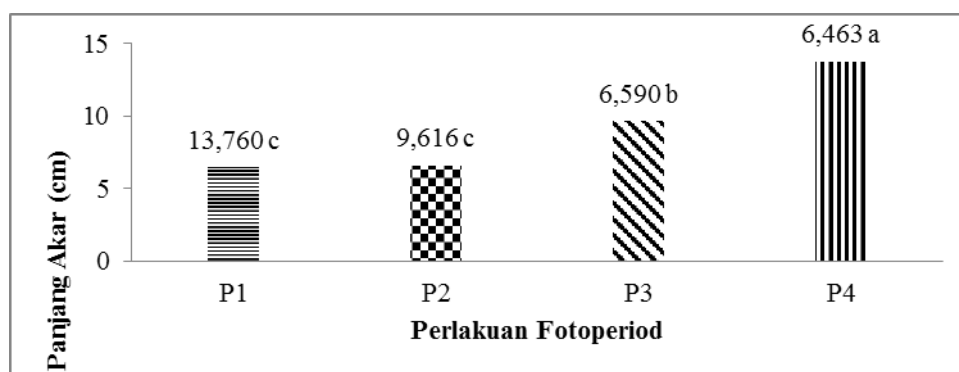
Periode gelap yang lebih lama dapat merangsang biosintesis auksin endogen dengan bantuan fitokrom (Devlin *et al.*, 2003; Sumitomo *et al.*, 2012) sehingga membantu proses pembentukan daun (Scarpella *et al.*, 2010). Pembentukan daun nampaknya terkait dengan pertumbuhan tinggi tanaman dan pembentukan ruas pada tanaman karena pembentukan daun terjadi akibat terakumulasinya auksin di meristem pucuk

(*Central Zone*) dan disistribusikan ke daerah PZ sehingga terjadi pembentukan ruas dan primordia daun (Shani *et al.*, 2006; Bohn, 2010). Produksi auksin endogen akan meningkat apabila tanaman kekurangan cahaya atau pada saat masa periode gelap pada meristem pucuk, hal ini mengakibatkan terjadinya elongasi dan seiring elongasi maka akan terjadi pembentukan primordia daun pada pucuk meristem (Reinhardt *et al.*, 2000).

Panjang Akar

Data panjang akar terlebih dahulu ditransformasi juga dengan $\sqrt{x+0,5}$ lalu dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi GA₃ dan interaksi antara GA₃ dan fotoperiode tidak berpengaruh terhadap panjang akar tanaman krisan, namun perlakuan fotoperiode memberikan pengaruh nyata terhadap panjang akar. Hasil uji lanjut DMRT menunjukan bahwa perlakuan P₄ memberikan respon panjang akar tertinggi yaitu 13,760 cm. Perlakuan tersebut berbeda dengan perlakuan P₃, P₂ dan P₁ (Gambar 5).

Perlakuan P₄ merupakan perlakuan yang memiliki respon pemanjangan akar terbaik. Diduga periode gelap yang lebih lama berpengaruh terhadap biosintesis auksin yang memicu pemanjangan akar. Pembentukan akar pada eksplan akibat pengaruh fotoperiode dimediasi oleh *phyB* yang diinduksi pada periode gelap (Correll dan Kiss 2005; Kiss *et al.*, 2003) dan didistribusikan melalui jalur jaringan vaskular (Salisbury *et al.*, 2007)



Gambar 4. Panjang akar tanaman krisan pada berbagai perlakuan fotoperiod

Pembentukan akar pada tanaman rata-rata didahului oleh pembentukan kalus. Pembentukan kalus terjadi pada tempat pemotongan pada saat penanaman sebagai upaya

eksplan untuk memperbaiki jaringan yang terluka (Indah dan Ermavitalini, 2013). Pembentukan kalus tersebut diduga akibat pengaruh auksin

endogen. Setelah terbentuk kalus kemudian akar tumbuh dari eksplan krisan.

Auksin terakumulasi di pucuk akibat periode gelap dan didistribusikan ke daerah luka. Akibat sifat auksin yang menjauhi cahaya maka auksin didistribusikan ke pangkal batang ekplan sehingga akan menginduksi pembentukan akar (Abidin, 1990). Distribusi auksin secara polar pada proses translokasi antar sel mengakibatkan pemanjangan akar di daerah zona pemanjangan akar di belakang meristem akar (Teale *et al.*, 2005; Blilou *et al.*, 2005).

Penelitian ini menunjukkan bahwa periode gelap yang lebih lama menghasilkan pertumbuhan akar lebih tinggi. Kontrol panjang akar dilakukan oleh *phyB* dan auksin yang mengakibatkan terjadinya pemanjangan akar, disisi lain fitokrom mengontrol auksin untuk memberikan rangsangan terhadap akar (Salisbury *et al.*, 2007). Pemanjangan akar sangat memerlukan peran auksin dan kapasitas auksin endogen yang optimal dapat meningkatkan jumlah meristem akar (Chapman dan Mark, 2009; Su *et al.*, 2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Berbagai perlakuan fotoperiode dan konsentrasi giberelin yang dicobakan tidak mampu menginduksi pembentukan bunga pada kultur *in vitro* tanaman krisan.
2. Berbagai konsentrasi gibberelin dan interaksi antara fotoperiode dengan gibberelin tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman krisan dalam kultur *in vitro*.
3. Kondisi fotoperiode dengan 18 jam periode gelap dan 6 jam periode terang merupakan kondisi terbaik bagi pertumbuhan tanaman krisan dalam kultur *in vitro*.

Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan jenis dan iradiasi cahaya yang berbeda untuk menginduksi pembungaan krisan secara *in vitro*.
2. Perlu adanya penelitian menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh seperti auksin dan ABA dengan faktor lingkungan seperti temperatur (vernalisasi dan peningkatan suhu) untuk menghambat *apical dominance* dan memacu pembungaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 1990. *Dasar-Dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Penerbit Angkasa: Bandung.
- Alabadí, D., G. Joan, B. A. Miguel, G. Martínez, and L. José. 2004. Gibberellins repress photomorphogenesis in darkness. *Plant physiology*. 134(3): 1050-1057
- Blakeslee, J. J., P. A. Wendy, M. S. Angus. 2005. Auxin transport. *Current opinion in plant biology*. 8(5): 494-500.
- Blilou, I. X., J. Wildwater, M. Willemsen, V. Paponov, I. Friml, J. Heidstra, R. Aida, M. Palme, K. Scheres, and Ben. 2005. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature*. 433(7021): 39-44.
- Bodhipadma, K., S. Noichinda, I. Yadbuntunga, W. Buaciana, and D.W.M. Leung. 2010. Comparison of *in vitro* and *in vivo* inflorescence of common cockscomb (*Celosia argentea* var. *cristata*). *Science-Asia*. 36:68-71.
- Bohn-Courseau, and Isabelle. 2010. Auxin: a major regulator of organogenesis. *Comptes Rendus Biologies* 333(4): 290-296.
- Campbell, N. A., J.B. Reece, and L. E. Mitchell. 2003. *Biologi jilid 2*. Terjemahan. Rahayu L, E. I. M. Adil, N Anita, Andri, W.F. Wibowo, dan W Manalu. Erlangga: Jakarta
- Chailakhyan, M. K. 1968. Internal factors of plant flowering. *Annual Review of Plant Physiology*. 19:1-37.
- Chapman, E. J., and E. Mark. 2009. Cytokinin and auxin intersection in root meristems. *Genome Biol*. 10(2): 1-5.
- Correll, M. J. and J. Z. Kiss. 2005. The roles of phytochromes in elongation and gravitropism of roots. *Plant and Cell Physiology*. 46(2): 317-323.
- Davies, P. J. 2004. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action! *Springer*. 63-94
- De Reuille, P. B., B. Courseau, I. Ljung, K. Morin, H. Carraro, N. Godin, C. Traas, and Jan. 2006. Computer simulations reveal properties of the cell-cell signaling network at the shoot apex in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(5): 1627-1632.
- Devlin, P. F., K. J. Halliday, N. P. Harberd, and G. C. Whitelam, . 1996. The rosette habit of *Arabidopsis thaliana* is dependent upon phytochrome action: novel phytochromes control internode elongation and flowering time. *The Plant Journal*. 10(6): 1127-1134.

- Devlin, P. F. Y., M. J. Kay, and A. Steve. 2003. A genomic analysis of the shade avoidance response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 133(4): 1617-1629.
- Dill A. J., H. S. Sun, and Tai-ping. 2001. The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA. *Proceedings of the National Academy of Science*. 98(24): 14162-14167.
- Franglin, K.A., and G.C. Whitelam. 2004. Light signals, phytochromes and cross-talk with other environmental cues. *Journal of Experimental Botan*. 55: 271–276.
- Franklin, K. A. and G. C. Whitelam . 2005. Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. *Annals of Botany*. 96(2): 169-175.
- Frigerio, M. A., D. Pérez-Gómez, J. García-Cárcel, L. Phillips, A. L. Hedden, P. Blázquez, and A Miguel. 2006. Plant responses to photoperiod. *New Phytologist*. 181(3): 517-531
- Friml, J. 2003. Auxin transport—shaping the plant. *Current Opinion in Plant Biology*. 6(1): 7-12.
- Geekiyange, S. T., T. Watanabe, S. Fukai, S. Kiyosue, and T. 2006. The combined effect of photoperiod, light intensity and GA 3 on adventitious shoot regeneration from cotyledons of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant Biotechnology*. 23(4): 431-435.
- Halliday, K. J., K. Maarten, and G. C. Whitelam. 1994. Phytochrome B and at least one other phytochrome mediate the accelerated flowering response of *Arabidopsis thaliana* L. to low red/far-red ratio. *Plant Physiology*. 104(4): 1311-1315.
- Han, Y. J. S., P. S. Kim, and Jeong-ll. 2007. Phytochrome-mediated photomorphogenesis in plants. *Journal of Plant Biology*. 50(3): 230-240.
- Hedden, P., and A. L. Phillips. 2000. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends in Plant Science*. 5(12): 523-5,
- Jiao, Y., O.S. Lau, and X.W. Deng. 2007. Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews Genetics*. 8(3): 217-230.
- Kiss, J. Z., J. L. Mullen, M. J. Correll and R. P. Hangarter. 2003. Phytochromes A and B mediate red-light-induced positive phototropism in roots. *Plant Physiology*. 131(3): 1411-1417.
- Kristina, N. N. 2009. Induksi tunas tabat barito (*Ficus deltoidea* JACK) secara *in vitro* menggunakan Benzil Adenin (BA) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA). *Jurnal Littri*. 15: 33-39.
- Kunihiro, A., Y. Takafumi, N. Norihito, N. Yusuke, N. Hanayo, and M Takeshi. 2011. Phytochrome-interacting factor 4 and 5 (PIF4 and PIF5) activate the homeobox ATHB2 and auxin-inducible IAA29 genes in the coincidence mechanism underlying photoperiodic control of plant growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and cell physiology*. 52(8): 1315-1329.
- Kurepin, L. V., L. J. Walton, D. M. Reid, R. P. Pharis, and C. C. Chinnappa. 2006. Growth and ethylene evolution by shade and sun ecotypes of *Stellaria longipes* in response to varied light quality and irradiance. *Plant, cell & environment*. 29(4): 647-652.
- Lizawati. 2008. Induksi Pembungaan dan pembuahan tanaman buah dengan penggunaan retardan. *Jurnal Agronomi*. 12 (2) : 1-5.
- Mitrović, A., Z. Giba, and Ć. Ljubinka. 2007. The photoperiodic control of growth and development of *Chenopodium rubrum* L. plants *in vitro*. *Archives of Biological Science*. 59(3): 203-208.
- Mockaitis, K. and M. Estelle. 2008. Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. *Annual Review of Cell And Developmental Biology*. 24: 55-80.
- Nakamura, E.M., S. Araki, T. Mochizuki, N. Nagatani, and Akira. 2005. Phytochrome B in the mesophyll delays flowering by suppressing FLOWERING LOCUS T expression in *Arabidopsis* vascular bundles. *The Plant Cell Online*. 17(7): 1941-1952.
- Ohgishi, M, O. Atsuhiro. M. Giorgio, R. Ida, and A. Takashi. 2001. Negative autoregulation of the *Arabidopsis* homeobox gene ATHB-2. *The Plant Journal*. 25(4): 389-398.
- O'Neill, D. P. and J. J. Ross. 2002. Auxin regulation of the gibberellin pathway in pea. *Plant Physiology*. 130(4): 1974-1982.
- Paponov, I. A., Teale. D. William, T. Martina, B. Ikram, P. Klaus, 2005. The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives. *Trends in Plant Science*. 10(4): 170-177.
- Rai, N.I. Poerwanto., R. Darusman., K.L. Purwoko., dan B. Sapt. 2006. Perubahan kandungan giberelin dan gula total pada fase-fase perkembangan bunga manggis. changes of gibberellin and total sugar content in flower developmental stages of mangosteen. *Journal of Biosciences*. 13(3): 101-106.
- Rayle, D. L. and R. E. Cleland. 1992. The Acid Growth Theory of auxin-induced cell

- elongation is alive and well. *Plant Physiology*. 99(4): 1271-1274.
- Reid, B.D. James, E.R. Sandra., and J. John. 2011. Auxin acts independently of DELLA proteins in regulating gibberellin levels. *Plant Signaling and Behavior*. 6(3): 406-408.
- Reinhardt, M. Didier, K. Therese., and Cris. 2000. Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *The Plant Cell Online*. 12(4): 507-518.
- Rukmana R. dan Mulyana. 1997. *Budidaya Krisan*. Kanisius: Yogyakarta.
- Salisbury, F. J. H., G. Anthony, S. H. Claire, and J. Karen. 2007. Phytochrome coordinates *Arabidopsis* shoot and root development. *The Plant Journal* 50(3): 429-438.
- Salisbury, F. J. and C. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan jilid 3 edisi 4*. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryono. ITB: Bandung
- Samach, A Samach, A., O. Hitoshi, G. E. . Scot,t. D. S. Gary, Schwarz-Sommer, Z, Yanofsky, M, F. Coupland, G..2000. CONSTANS target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science*. 288(5471): 1613-1616.
- Smith, H. and G. Whitelam, 1997. The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell & Environment*. 20(6): 840-844.
- Stamm P. and P.P. Kumar. 2010. The phytohormone signal network regulating elongation growth during shade avoidance. *Journal of Experimental Botany*. 61(11): 2889-2903.
- Su, YH., L. Yu-Bo, and Z. Xian-Sheng. 2011. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular plant*. 4(4): 616-625.
- Sumitomo, K. Tsuji, T. Yamagata, A. Ishiwata, M. Yamada, M. Shima, K. Hisamatsu, and Tamotsu. 2012. Spectral sensitivity of the extension growth of tulips grown with night lighting under a natural photoperiod. *Jarg-Japan Agricultural Research Quarterly*. 46(1): 95-103.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology 3rd edn*. Sinauer Associates, Massachusetts: Sunderland
- Teale, W. D., P. A. Ivan, D. Franck, and P. Klaus, 2005. Auxin and the developing root of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*. 123(2): 130-138.
- Teale, W. D., I. A. Paponov and K. Palme. 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 7(11): 847-859.
- Thingnaes, E., T. Sissel, E. Arild, M. Roar. 2003. Day and night temperature responses in *Arabidopsis*: effects on gibberellin and auxin content, cell size, morphology and flowering time. *Annals of botany*. 92(4): 601-612.
- Valverde, F., M. Aidyn, S. Wim, R. Dean, S. Alon, and C. George. 2004. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science*. 303(5660): 1003-1006.
- Vandenbussche F., R. Pierik, F.F. Millenaar, L.A.C.J. Voesenek, and D. Van Der Straeten. 2005. Reaching out of the shade. *Current Opinion in Plant Biology*. 8(5): 462-468.
- Weiss, D. and N. Ori. 2007. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant physiology*. 144(3): 1240-1246
- Yamaguchi, S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 225-251.
- Yamaguchi, S. and Y. Kamiya. 2000. Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant and cell physiology*. 41(3): 251-257.
- Zhang, Z., and D. M Leung. 2000. A comparison of *in vitro* with *in vivo* flowering in gentian. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 63:223-6.
- _____. 2002. Factors influencing the growth of micropropagated shoots and *in vitro* flowering of gentian. *Plant Growth Regulation*. 36(3): 245-251