

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim dan protein batang atas pada okulasi tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.)

The effect of root stocks on isozymes and protein patterns of scion the budgrafting of rubber plant (Hevea brasiliensis Muell Arg.)

N. TORUAN-MATHIUS¹⁾, LIZAWATI²⁾, H. ASWIDINNOOR³⁾
& I. BOERHENDY⁴⁾

¹⁾ Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor 16151, Indonesia

²⁾ Jurusan Agronomi, Universitas Jambi, Jambi.

³⁾ Jurusan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB, Bogor 16151.

⁴⁾ Balai Penelitian Karet Sembawa, Palembang 300001.

Ringkasan

Heterogenitas batang bawah pada sistem okulasi *Hevea brasiliensis* dapat menyebabkan interaksi batang bawah dengan batang atas dapat menimbulkan berbagai tingkat keragaman respons antar individu batang atas dari klon yang sama. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai jenis batang bawah terhadap respons batang atas dari klon karet yang sama pada okulasi, berdasarkan perubahan pola pita protein, dan isoenzim esterase (EST), asam fosfatase (AP), malat dehidrogenase (MDH), fosfogluko oksaloasetat (PGD), fosfo glukosa isomerase (PGI), peroksidase (PER), sikimik dehidrogenase (SKD), glutamat oksaloasetat (GOT) dan leusin aminopeptidase (LAP) dari daun atau lateks batang atas. Kombinasi diuji adalah klon (a) batang atas klon PB260 yang dikombinasikan dengan PR255, BPM1, LCB1320, PR300, AVROS2037, RRIM712 dan GT1, sebagai kontrol GT1/GT1. (b) sebagai batang atas adalah BPM1, BPM24, RRIC100 dan RRIC102 yang dikombinasikan dengan batang bawah BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102 dan RRIC110. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perubahan pola pita protein lateks PB260 yang diokulasikan pada PR255, BPM1, LCB1320, PR300, AVROS2037, RRIM712 sebagai batang bawah. BPM1, BPM24,

RRIC100, RRIC102 sebagai batang atas dengan BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102 dan RRIC110 menyebabkan terjadinya perubahan pola pita protein lateks dari klon yang sama. Terjadi induksi pembentukan protein baru dengan BM 24 kDa pada kombinasi okulasi PB260/ PR255, BPM1/RRIC100, BPM24/ RRIC100, BPM24/RRIC102 dan BPM24/ RRIC110. Hasil analisis isoenzim pada lateks dan daun batang atas menunjukkan bahwa isoenzim MDH, PGD, PGI, PER, SKD, GOT dan LAP menghasilkan pita yang monomorfik untuk seluruh kombinasi okulasi yang diuji. Polimorfisme EST ditemukan pada PR255/PB260, LCB1320/ PB260, GT1/PB260, BPM24/ RRIC100 dan BPM24/RRIC101. Sedang polimorfisme AP ditemukan pada PR255/ PB260, LCB1320/PB260, GT1/ PB260, BPM24/ RRIC101, BPM24/ RRIC102, dan RRIC100/RRIC110. Polimorfisme untuk MDH dan SKD juga ditemukan pada PR255/PB260, LCB1320/PB260 dan GT1/ PB260. Berdasarkan sidik gerombol dan UPGMA dari penggabungan data analisis SDS-PAGE protein dan isoenzim menunjukkan bahwa batang atas dari klon yang sama yang diokulasikan pada berbagai batang bawah yang berbeda, umumnya berada dalam satu sub kelompok yang sama. Namun tingkat kesamaan genetiknya beragam, hal ini menunjukkan adanya perbedaan pengaruh batang bawah terhadap batang atas yang sama.

Summary

The heterogeneity of root stocks leads to stock-scion interactions resulting in considerable variation at different level among the population of a single clone. The aim of this research is to study the effect of several rootstock on scion of the rubber clone, based on the changes on budding patterns of leaf or latex protein and isozymes esterase (EST, acid phosphatase (AP), malat dehydrogenase (MDH), phosphogluco oxaloacetate (PGD), phospho glucose isomerase (PGI), peroxidase (PER), shikimic dehydrogenase (SKD), glutamate oxaloacetate (GOT) and leucyne aminopeptidase (LAP), bands pattern. The combinations stocks/scions tested were (a) scion PB260 clone combined with PR255, BPM1, LCB1320, PR300, AVROS2037, RRIM712 and GT1. Control combinations used were GT1/GT1 and (b) as a scion BPM1, BPM24, RRIC100 dan RRIC102 combined with BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102 and RRIC110. The results showed that latex protein bands pattern of PB 260 as a scion were changed in combination with PR255, BPM1, LCB1320, PR300, AVROS2037, RRIM712 as a rootstocks. BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102 and RRIC110 as a rootstocks caused the changes of the latex protein patterns of BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC102 as a scion. The interaction among stock/scion showed by the changes on the levels proteins or the presence of new proteins with MW 24-63 kDa especially in combination of BPM1/ RRIC100, BPM24/ RRIC100, BPM24/ RRIC102 and BPM24/ RRIC110. BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC102 and PB260 in combined with all the stocks were tested. Analyses of leaf and latex isozymes showed that MDH, PGD, PGI, PER, SKD, GOT and LAP produced monomorphic isozyme bands. The polymorphism were found on EST of PR255/PB260, LCB1320/PB260, GT1/PB260, BPM24/RRIC100 and BPM24/ RRIC101. While the combination of PR255/ PB260, LCB1320/ PB260, GT1/ PB260, BPM24/RRIC101, BPM24/ RRIC102, and RRIC100/RRIC110 produced AP polymorphism. Polymorphism for MDH and SKD were also found in PR255/ PB260, LCB1320/PB260 and GT1/PB260. Cluster and

UPGMA analyses of protein and isozyme pattern showed combinations of a scion with several different rootstocks belong to the same sub group. However, genetic similarities among individuals were varieties, it showed that the differences effect of rootstock to the scion from the same clone.

[Key words: *Hevea brasiliensis*, rubber plant, budding incompatibility, isoenzym patterns, SDS-PAGE protein, latex rubber.]

Pendahuluan

Okulasi adalah salah satu cara perbanyakkan secara vegetatif yang dilakukan dengan menempelkan mata tunas entres dari satu tanaman ketanaman sejenis dengan tujuan mendapatkan sifat unggul. Menurut Boerhendhy (1990) dan Lasminingsih (1990) perbanyakkan tanaman karet dengan okulasi bertujuan untuk mendapatkan kombinasi genetik yang lebih baik yaitu produksi yang tinggi, tahan terhadap penyakit daun dan akar, serta tahan terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Sedang Lubis *et al.* (1981) menyatakan bahwa apabila okulasi adalah kompatibel dapat mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan produksi batang atas.

Madjid (1974) mengemukakan bahwa okulasi tanaman karet yang inkompatibel dapat menurunkan produksi sampai 40%, yang baru dapat diketahui setelah tanaman menghasilkan yaitu sekitar 5 tahun setelah tanam. Hal tersebut sangat merugikan pekebun karena produktivitas tanaman tidak mencapai kemampuan produksi sesungguhnya. Menurut Boerhendhy (1989) inkompatibilitas pada okulasi karet dapat berupa pembengkakan batang di sekitar tempat pertautan, penghambatan pertumbuhan dan tingkat produksi yang rendah. Krisnakumar *et al.* (1992)

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...

menemukan bahwa penggunaan batang bawah dari klon karet yang berbeda yang diokulasikan dengan batang atas dari klon RRII 105, menyebabkan terjadinya variasi yang cukup besar pada pola pita isoenzim aspartat aminotransferase (AAT), LAP, AP, alkalin fosfatase (ALP) dan PGI yang berperan penting dalam proses metabolisme.

Beberapa penelitian telah memperlihatkan terjadinya perubahan struktur anatomi kulit batang akibat inkompatibilitas pada okulasi. Inkompatibilitas pada okulasi apel menyebabkan penyatuan kulit kayu yang tidak mulus akibat digantinya pembuluh xilem oleh jaringan parenkhim di daerah pertautan (Warmund *et al.*, 1993). Prawoto *et al.* (1987) menemukan adanya perbedaan anatomi kulit batang pada daerah pertautan antar okulasi yang kompatibel dengan yang inkompatibel pada tanaman kakao. Okulasi yang kompatibel ditunjukkan dengan batas pertautan yang tidak kelihatan, sedang okulasi yang inkompatibel ditunjukkan dengan banyaknya akumulasi lignin pada daerah pertautan. Hal tersebut berpengaruh terhadap translokasi air dan unsur hara dari batang bawah ke atas serta terhambatnya translokasi hasil asimilat ke akar. Prawoto *et al.* (1990a & 1990b) juga menemukan bahwa batang bawah mempengaruhi daya hasil batang atas namun tidak mempengaruhi mutu hasil batang atas kakao.

Inkompatibilitas pada okulasi juga dapat menyebabkan berbagai efek fisiologis. Pada okulasi *peach* dengan *plum* terjadi penurunan kandungan protein dan asam amino di seluruh organ (Moreno *et al.*, 1994). Sedang Yagishita *et al.* (1990) melaporkan bahwa pada okulasi *Capsicum annum* kul. Yatsubusa dengan paprika Spanyol manis, terjadi penurunan kemampuan biosintesis kapsisin secara genetik dan mengubah bentuk dan warna buah secara konsisten. Agbaria *et al.* (1997)

menemukan pembentukan pita protein baru yang disebut *heat shock proteins* (HSP) dalam daun bunga ros kultivar Mercedes yang disambungkan pada berbagai jenis batang bawah. Agbaria *et al.* (1998) juga menemukan bahwa penyambungan mempengaruhi aktivitas enzim untuk pembungaan pada bunga ros yaitu nitrat reduktase dan glutamin sintetase dalam daun.

Toruan-Mathius *et al.* (1999 & 2000) menemukan bahwa batang atas PB260 yang diokulasikan pada berbagai klon batang bawah menyebabkan polimorfisme pita protein lateks batang atas dan terbentuknya protein baru dengan berat molekul 20-25 kDa. Hal ini menunjukkan bahwa pada sistem okulasi tanaman karet, batang bawah yang berbeda-beda mempengaruhi metabolisme batang atas dari klon yang sama. Di samping itu ditemukan juga adanya lapisan sel-sel baru antar pertautan batang bawah dan batang atas yang inkompatibel.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai klon batang bawah terhadap pola pita protein dan beberapa isoenzim lateks batang atas dari klon yang sama pada sistem okulasi tanaman karet.

Bahan dan Metode

Kombinasi okulasi tanam karet yang digunakan dalam penelitian ini berumur lima tahun diperlihara di kebun percobaan (a) Ciomas, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan Bogor dan (b) Balai Penelitian Karet Sembawa, Palembang (Tabel 1).

Untuk mengetahui pengaruh berbagai jenis batang bawah terhadap klon batang atas yang sama dilakukan analisis terhadap (i) pola pita protein lateks batang atas dan (ii) analisis isoenzim lateks atau daun muda batang atas. Isoenzim yang diuji adalah

isoenzim esterase (EST), asam fosfatase (AP), malat dehidrogenase (MDH), fosfo-gluko oksaloasetat (PGD), fosfo glukosa isomerase (PGI), peroksidase (PER), sikimik dehidrogenase (SKD), glutamat oksaloasetat (GOT) dan leusin amino-peptidase (LAP).

Analisis SDS - PAGE protein lateks

Protein untuk analisis SDS - PAGE diekstraksi dari sebanyak 10 mL lateks segar untuk klon batang atas yang diuji, menggunakan metode pembekuan pada suhu -20°C selama 24 jam. Serum dikeluarkan dengan cara menekan gumpalan karet

dengan batang porselein, kemudian dipipet ke dalam tabung. Konsentrasi protein dalam serum lateks ditetapkan menurut prosedur Bradford (1976). Sedang protein dalam serum lateks dipisahkan dengan SDS-PAGE gel poliakrilamida menurut prosedur Laemmli (1970).

Elektroforesis SDS-PAGE dilakukan menggunakan gel pemisah yaitu 10% gel poliakrilamida (Tris-HCL 1,5 M, pH 8,8, 10% SDS, 10% bisakrilamida, 10% amonium sulfat dan 0,25% TEMED), sedang *stacking gel* berupa 4% akrilamida (Tris HCl 0,5%, pH 6,8, 10% SDS, 4% akrilamida, 10% amonium persulfat dan 0,4% TEMED). Elektroforesis dilakukan

Tabel 1. Kombinasi batang atas dengan batang bawah tanaman karet yang digunakan dalam percobaan serta lokasi tempat tumbuh.

Table 1. Rootstocks and scions combination of rubber plant were used in the experiment and location of plant growth.

No	Batang atas <i>Scions</i>	Batang bawah <i>Rootstocks</i>	Lokasi <i>Location</i>
1.	PB 260	PR 255 BPM1 LCB 1320 AVROS 2037 RRIM 712	Ciomas, Bogor
2.	GT1	GT 1	Ciomas, Bogor
3.	BPM1	BPM1 BPM 24 RRIC 100 RRIC 102	Sembawa, Palembang
4.	BPM 24	BPM1 BPM 24 RRIC 100 RRIC 102	Sembawa, Palembang
5.	RRIC 100	BPM1 BPM 24 RRIC 100 RRIC 102	Sembawa, Palembang
6.	RRIC 102	BPM1 BPM 24 RRIC 100 RRIC 102	Sembawa, Palembang

dalam Mini Protean I (Biorad). Sebanyak 75 µL contoh protein dimasukkan ke dalam gel poliakrilamida, menggunakan bufer elektroda Tris base, glisin dan SDS pH 8,3 pada 100 V selama 90 menit. Standar protein menggunakan MW-SDS-200 KIT SIGMA. Pewarnaan yang digunakan adalah komasi biru, hasil elektroforesis kemudian diawetkan menggunakan selopan. Berat molekul pita-pita protein dari masing-masing contoh dianalisis langsung dari gel poliakrilamida berdasarkan Rf.

Analisis isoenzim daun dan lateks

Isoenzim diekstraksi dari lateks dan daun muda untuk percobaan (a), sedang untuk percobaan (b) hanya dilakukan analisis isoenzim dari lateks batang atas dari kombinasi okulasi yang diuji. Isoenzim yang dianalisis berasal dari serum C didinginkan pada suhu 4° C. Ekstrak serum C lateks kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 x g pada 4° C selama 10 menit. Sebelum dilakukan analisis, ke dalam 30 µL ekstrak daun maupun serum C lateks ditambahkan 15 µL bromofenol biru.

Elektroforesis isoenzim

Cetakan gel yang berisi 35 µL contoh diletakkan pada alat elektroforesis yang bagian bawahnya telah diisi dengan penyangga elektroda yang diencerkan 1/10 kalinya sampai dengan 3/4 bagian bejana dan bagian atas juga diisi dengan larutan penyangga elektroda. Isoenzim dielektroforesis selama 4 jam dengan tegangan listrik awal 70 Volt, dan setelah satu jam tegangan listrik dinaikkan menjadi 90 Volt. Elektroforesis dilaksanakan dalam ruang pada suhu 4° C, elektroforesis dihentikan apabila indikator mobilitas telah hampir mencapai ujung gel.

Pewarnaan masing-masing isoenzim

sangat spesifik yang dilakukan menurut metode Lebrun & Chevallier (1980). Sebelum dimasukkan ke dalam larutan pewarna, dilakukan penandaan posisi awal dari masing-masing individu gel dengan cara memotong salah satu bagian ujung dari gel separasi. Gel yang telah ditandai segera dimasukkan ke dalam bak pewarna sistem enzim dan diinkubasi sampai terbentuk pita isoenzim. Gel dicuci beberapa kali untuk menghilangkan sisa pewarnaan dan diawetkan menggunakan selopan.

Analisis pita SDS-PAGE protein dan isoenzim

Pengaruh interaksi batang bawah terhadap batang atas dipelajari berdasarkan ada tidaknya pita protein dan isoenzim yang dimiliki bersama berdasarkan berat molekul dan Rf. Di samping itu juga diamati tebal tipisnya pita protein dan isoenzim yang menunjukkan perbedaan konsentrasinya. Perubahan pola pita protein dari hasil analisis SDS-PAGE untuk tiap kombinasi okulasi, ditetapkan berdasarkan ada tidaknya pita protein yang tidak dimiliki secara bersama pada tiap individu dari klon yang sama dengan berbagai batang bawah yang berbeda. Pembacaan pita terhadap pita tegas dan tipis dilakukan secara konsisten. Pita hasil elektroforesis yang dimiliki secara bersama diberi skor 1 (ada) atau tidak ada pita diberi skor 0. Hal yang sama juga dilakukan terhadap hasil elektroforesis isoenzim.

Analisis data untuk percobaan SDS-PAGE protein dan isoenzim menggunakan analisis gerombol, dengan teknik berhierarki, yang dalam program NTSYS dipilih metode SAHN (Rohlf, 1993). Pengelompokan dengan teknik berhierarki dapat digambarkan dalam bentuk dendrogram. Ukuran derajat kedekatan genetik antar genotipe berdasarkan koefisien

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...

kesamaan atau jarak genetik dengan metode rata-rata yang dalam program NTSYS dipilih metode UPGMA. Pengelompokan data matriks dan pembuatan dendrogram dilakukan dengan metode UPGMA, fungsi SIMQUAL program NTSYS (Rohlf, 1993). Data matriks dihitung melalui koefisien Dice (S).

Hasil dan Pembahasan

Analisis SDS - PAGE protein

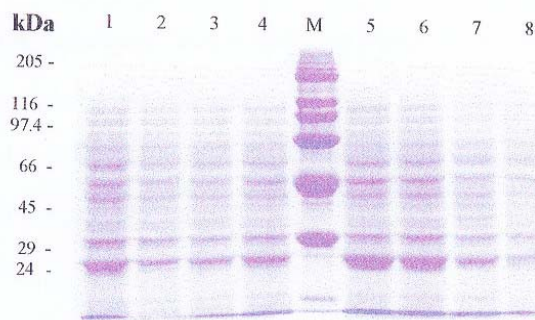
(a). PB 260 sebagai batang atas

Hasil elektroforesis lateks yang diperoleh menunjukkan bahwa PB 260 sebagai batang atas yang diokulasikan dengan tujuh jenis batang bawah yang berbeda memiliki protein dengan berat molekul 15-205 kDa. Tampak adanya perbedaan intensitas ketebalan pita protein terutama pada protein dengan berat molekul sekitar 24 kDa. Pita protein lateks PB260 yang tampak lebih tebal diperoleh dari kombinasi okulasi PB260/PR255, PB260/

AVROS2037, dan PB260/ LCB1320 khususnya pada protein dengan BM sekitar 24 kDa. Sedangkan pada kombinasi okulasi lainnya menghasilkan pita-pita protein yang relatif lebih tipis. Polimorfisme pola pita protein kulit batang atas PB260 terutama diperoleh dari kombinasi PB260/PR255 (Gambar 1).

(b). BPM1, BPM24, RRIC100 dan RRIC102 sebagai batang atas

Hasil elektroforesis lateks batang atas klon BPM1 yang dikombinasikan dengan berbagai batang bawah menghasilkan pita-pita protein yang relatif sama, namun terjadi induksi protein baru dengan BM 24 KDa pada kombinasi okulasi BPM1/RRIC100, BPM24/RRIC100, BPM24/RRIC102, dan BPM24/RRIC 110. Protein tersebut tidak ditemukan pada kombinasi okulasi BPM24/BPM1, BPM24/RRIC101 dan BPM24/BPM24 sebagai kontrol (Gambar 2).



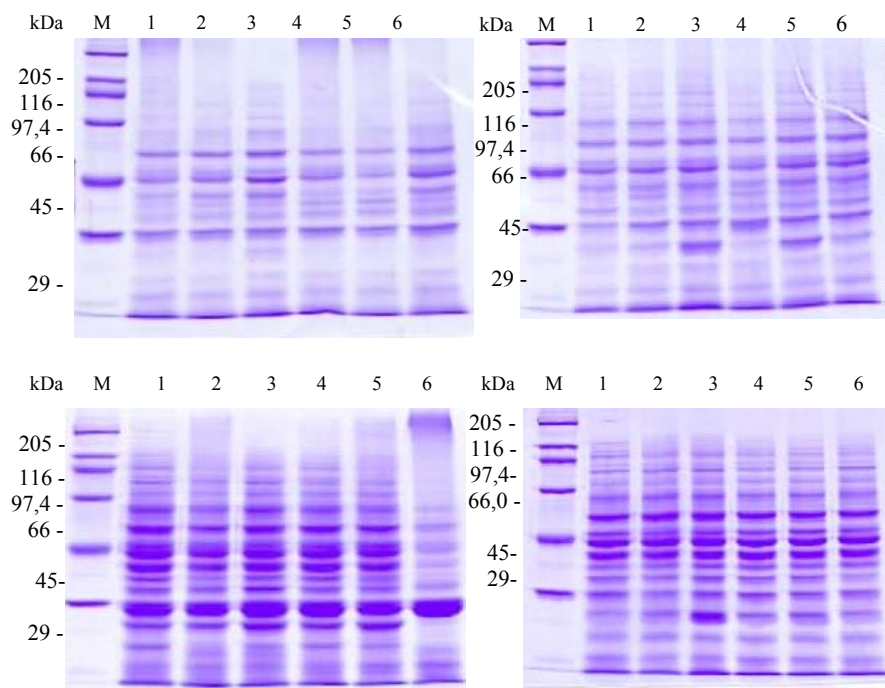
Gambar 1. Elektroforegram protein lateks batang atas klon PB260 dikombinasikan dengan batang bawah (1)PR255, (2) BPM1, (3) PR300, (4)GT1, M: standar rotein, (5)AVROS2037, (6)LCB1320, (7)BPM712, dan (8)GT1/GT1.

Figure 1. Electrophoregram protein latex of scion PB260 clone combination with rootstock (1)PR255, (2) BPM1, (3) PR300, (4)GT1, M: standard prtein, (5)AVROS2037, (6)LCB1320, (7)BPM712, and(8)GT1/GT1.

Gambar 2. Elektroforegram protein lateks batang atas klon (A)BPM1, (B)BPM24, (C)RRIC100, (D)RRIC102 yang dikombinasikan dengan batang bawah (1)BPM1, (2)BPM24, (3)RRIC100, (4)RRIC101, (5)RRIC102, (6) RRIC110, dan (M)standar protein.

Figure 2. Electrophoregram protein latex of scion (A)BPM1, (B)BPM24,(C)RRIC100, (D)RRIC102 clones, combination with rootstocks of (1)BPM1, (2)BPM24, (3)RRIC100, (4)RRIC101, (5)RRIC102, (6)RRIC110, and (M) standard protein.

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...



Gambar 2. Elektroforegram protein lateks batang atas klon (A) BPM1, (B) BPM24, (C) RRIC100, (D) RRIC102 yang dikombinasikan dengan batang bawah (1)BPM1, (2)BPM24, (3) RRIC100, (4) RRIC 101, (5)RRIC 102, (6)RRIC110 dan (M) Standar protein.

Figure 2. Electrophoregram protein latex of scion (A) BPM1, (B) BPM24, (C) RRIC100, (D) RRIC102 clones combination with rootstock of bawah (1)BPM1, (2)BPM24, (3) RRIC100, (4) RRIC101, (5)RRIC 102, (6)RRIC110 and (M) Standar protein.

Toruan-Mathius *et al.* (2000) pada kombinasi okulasi karet yang sama yaitu PB260/PR255, PB260/AVROS2037, dan PB260/LCB1320 juga menemukan adanya polimorfisme pola pita protein kulit batang dengan BM 24 kDa. Viestra (1993) menjelaskan bahwa tebal tipisnya pola pita protein kemungkinan merupakan salah satu bentuk reaksi tanaman terhadap perubahan keadaan yang tidak menguntungkan yaitu sebagai protektan kerusakan jaringan dan juga menjaga agar tidak terjadinya kerusakan protein. Menurut Hartman *et al.* (1997)

penyatuan dua tanaman yang diokulasikan dapat mengakibatkan perubahan respons fisiologis pada tanaman hasil okulasi. Sedang Moreno *et al.* (1994) menemukan terjadinya perubahan aktivitas biosintesis protein di seluruh organ pada *peach* yang diokulasikan dengan *pulm* sebagai batang bawah. Hal tersebut terjadi disebabkan adanya interaksi batang bawah dengan batang atas akibat kombinasi okulasi yang tidak kompatibel.

Agbaria *et al.* (1997) menemukan adanya pita-pita protein baru dalam daun

tanaman batang atas *Rosa hybrida* cv Mercedes, yang dikenal sebagai *heat-shock* Sedang menurut Ohta (1991) di antara beberapa karakteristik akibat penyambungan terhadap perubahan secara genetis adalah perubahan alel secara simultan, atau perubahan secara simultan pada gen yang komplemen, serta terjadinya khimeras.

Elektroforesis isoenzim

(a). PB 260 sebagai batang atas

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan batang bawah PR255, LCB1320 dan GT 1 menyebabkan terjadinya perubahan pola pita isoenzim dari daun muda klon PB 260 yaitu EST-05, EST-0,58, dan EST 0,70. Di samping itu tampak adanya perbedaan ketebalan pita isoenzim daun batang atas dengan Rf tertentu sebagai akibat pengaruh batang bawah (Gambar 3). Kombinasi okulasi yang sama juga menyebabkan terjadinya polimorfisme pada pita isoenzim AP, MDH, dan SKD. Khususnya pada kombinasi PB260/PR255 menyebabkan terjadinya hambatan terhadap aktivitas keempat isoenzim yang diuji. Hal tersebut terlihat dari tipis atau tidak adanya pita dari keempat isoenzim yang diperoleh (Gambar 3). Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim lateks berbeda dengan pola pita daun muda dari batang atas yang sama yaitu klon PB260. Dari hasil elektroforesis keempat isoenzim lateks yang diuji tampak bahwa hanya isoenzim EST yang menghasilkan polimorfisme pada EST-0,50 dan EST-0,58 yaitu pada kombinasi PB260/BPM1, PB260/PR300 dan PB260/AVROS2037 (Gambar 3).

(b). BPM1, BPM24, RRIC100 dan RRIC102 sebagai batang atas

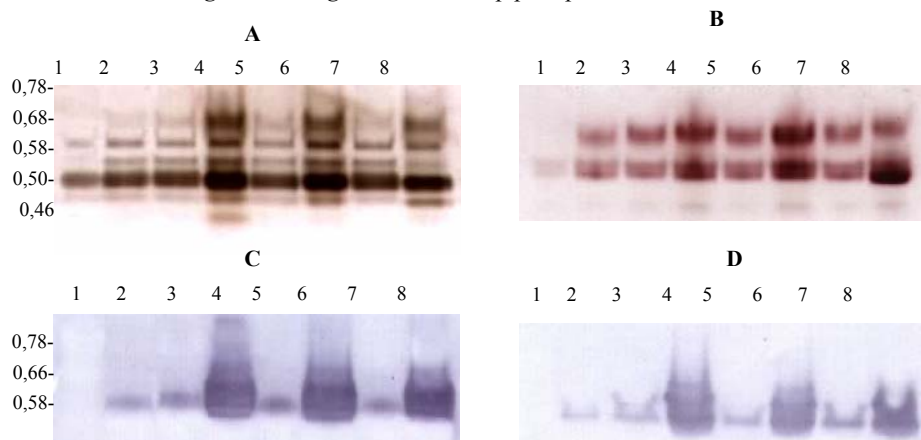
Pada percobaan ini hanya dua sistem

proteins (HSP) sebagai respons terhadap batang bawah dari kultivar yang berbeda isoenzim yang menghasilkan pita, sedang yang lainnya tidak menghasilkan pita. Hasil elektroforesis isoenzim EST menunjukkan bahwa batang bawah klon RRIC101 dan RRIC102 menyebabkan terjadinya polimorfisme khususnya untuk pita EST-0,53 pada kombinasi BPM1/RRIC102, BPM24/RRIC101 dan BPM24/RRIC102. Polimorfisme juga terjadi pada EST-0,46 dari kombinasi okulasi RRIC100 dengan batang bawah BPM1, BPM24, RRIC101 dan RRIC102 (Gambar 4 & Tabel 1). Sedang kombinasi keenam batang bawah dengan batang atas klon RRIC102 tidak menyebabkan terjadinya perubahan pada pola pita EST.

Polimorfisme isoenzim AP-0,55, AP-0,52, dan AP 0,58 masing-masing dari kombinasi BPM24/RRIC101 dan BPM24/RRIC102, RRIC100/BPM24 dan RRIC100/BPM24, serta RRIC102/BPM24 (Gambar 4 & Tabel 2). Menurut Bertrand & Etienna (2001) okulasi yang kurang sesuai pada tanaman kopi (*Coffea arabica*) terjadi karena adanya hambatan dalam proses translokasi berbagai senyawa yang diperlukan dalam proses metabolisme tanaman. Kemungkinan lainnya adalah terbentuknya jaringan parenkhima secara berlebihan pada daerah pertautan, menyebabkan terhambatnya hubungan vaskular antar batang bawah dengan batang atas yang dapat menimbulkan masalah translokasi unsur hara dan asimilat sehingga menghambat aktivitas biologis tanaman.

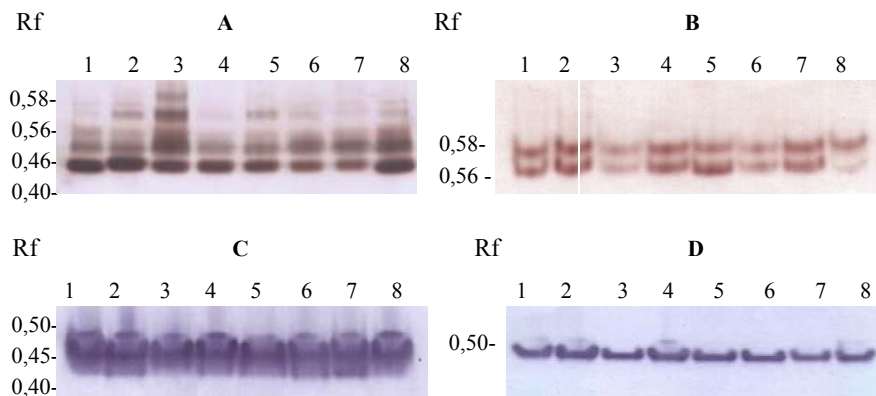
Krishnakumar *et al.* (1992) menemukan keragaman yang cukup besar pada pola pita isoenzim aspartat aminotransferase (AAT), LAP, AP, fosfatase alkalin (ALP) dan PGI pada tunas batang atas tanaman karet klon RR1105 yang dikombinasikan dengan 22 jenis batang bawah yang berbeda. Keragaman ini diduga akibat

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...



Gambar 3. Elektroforegram isoenzim (A)esterase, (B)asam fosfatase, (C)malat dehidrogenase, dan (D)sikimat dehidrogenase dari daun dan lateks batang atas klon PB260 berkombinasi dengan (1)PR255, (2)BPMI, (3)PR300, (4)LCB1320, (5) AVROS2037, (6)GT1, (7)RRIM712 dan GT1/GT1.

Figure 3. Electrophoregram of isoenzyme (A)esterase, (B)Acid phosphatase, (C)malat dehydrogenase, and (D)sikimic dehydrogenase of scion latex PB260 clone combination with (1)PR255, (2)BPMI, (3)PR300, (4) LCB1320, (5) AVROS2037, (6)GT1, (7) RRIM712 and GT1/GT1.



Gambar 4. Elektroforegram isoenzim esterase dan asam fosfatase lateks batang atas klon, (A)BPM1, (B)BPM24, (C)RRIC100, dan (D)RRIC102 berkombinasi dengan batang bawah, (1)BPM1, (2)BPM24, (3)RRIC100, (4)RRIC101, (5)RRIC102 dan (6)RRIC110

Figure 4. Electrophoregram isoenzym esterase and acid phosphatase of scion latex (A)BPM1, (B)BPM24, (C)RRIC100, and (D)RRIC102 combination with rootstock, (1)BPM1, (2)BPM24, (3)RRIC100, (4)RRIC101, (5)RRIC102 and (6)RRIC110

Tabel 2. Kombinasi okulasi yang menyebabkan terjadinya polimorfisme pada pola pita isoenzim esterase dan asam fosfatase.

Table 2. Budding combination which was caused polymorphism on band patterns of esterase and acids phosphatase isozymes.

No.	Sistem isoenzim <i>Isozymes system</i>	Kombinasi batang bawah/batang atas <i>Combination of rootstock.scion</i>
1.	EST-0,46	BPM1/RRIC100 BPM24/RRIC100 RRIC101/RRIC100 RRIC102/RRIC100
2.	EST-0,50	PR255/PB260 PR300/PB260 BPM1/PB260
3.	EST-0,53	BPM1/RRIC101 BPM1/RRIC102 BPM24/RRIC101 BPM24/RRIC102
4.	EST-0,58	LCB1320/PB260 BPM1/PB260 AVROS2037/PB260 PR300/PB260
5.	EST-0,70	GT1/PB260
6.	AP-0,52	BPM24/RRIC102
7.	AP-0,55	RRIC100/BPM24 RRIC100/RRIC102
8.	AP-0,58	RRIC102/BPM24

adanya interaksi antara batang atas dari klon yang sama dengan batang bawah yang Akotinas (AKT), Isositrat Dehidrogenase (ISD), LAP, dan GPI pada okulasi kultivar mangga. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya perubahan pola isoenzim pada setiap perubahan genomik batang atas maupun batang bawah yang diokulasikan. Perubahan pola pita protein maupun isoenzim pada batang atas dari klon yang sama tampaknya erat kaitannya dengan

berbeda-beda. Sedang Degani *et al.* (1990) mempelajari pola pita isoenzim aktivitas metabolisme batang atas yang mungkin disebabkan adanya pengaruh genetik atau faktor lingkungan. Pada okulasi, dua individu tanaman dengan latar belakang sifat genetik yang berbeda digabungkan menjadi satu tanaman baru. Adanya perbedaan yang besar antar mitrklonal mungkin disebabkan adanya perbedaan antar tanaman batang bawah

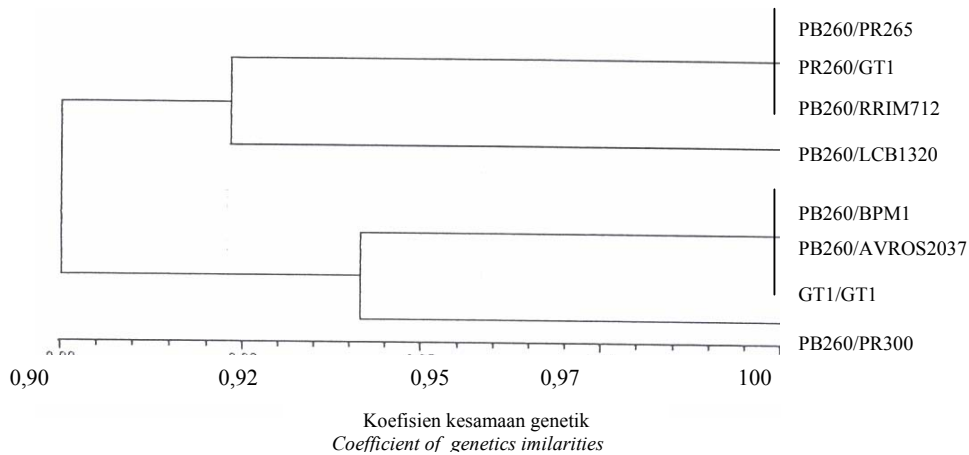
Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...

yang secara genetik bersifat heterogeneous sedang batang atas umumnya klonal yang cukup besar antar tanaman batang bawah dengan batang atas menunjukkan adanya pengaruh terhadap batang atas. Agbaria *et al.* (1998) melaporkan bahwa aktivitas nitrat reduktase dan glutamin sintetase dalam daun *Rosa hybrida* cv Ilseta & Mercedes yang diokulasikan pada berbagai batang bawah lebih rendah dibandingkan dengan tanaman yang tidak diokulasi. Sedang Huang *et al.* (1994) menemukan bahwa ternyata aktivitas isoenzim isoperoksidase dari kambium batang atas tidak dapat digunakan sebagai indikator kompatibilitas batang atas/batang bawah pada sistem okulasi tanaman *Castanea mollissima*, *C. dentata* dan *C. crenata* yang dikombinasikan dengan dua nomor *C. crenata*.

memiliki sifat genetik yang homogeneous. Di samping itu simpangan baku yang

Pengelompokan kombinasi okulasi

UPGMA berdasarkan penggabungan hasil elektroforesis protein dan isoenzim PB260 yang diokulasikan pada tujuh batang bawah yang berbeda, menghasilkan pengelompokan yang cenderung mengikuti pola pita berdasarkan hasil elektroforesis isoenzim daun. Diperoleh dua kelompok, kelompok I yaitu PB260/ PR255, PB260/ GT1, PB260/RRIM712. Sedang kelompok II terdiri dari dua sub kelompok yaitu PB260/BPM1, PB260/ AVROS2037 dan GT1/GT1 serta PB260/ PR300 dalam sub kelompok lainnya pada koefisien kesamaan 80% (Gambar 5). Berdasarkan hasil analisis



Gambar 5. Dendrogram kombinasi okulasi batang atas PB260 klon dengan batang bawah PR255, BPM1, PR300, AVROS2037, LCB1320, RRIM712 dan GT1 berdasarkan pola pita SDS-PAGE protein dan isoenzim EST, AP, MDH dan SKD.

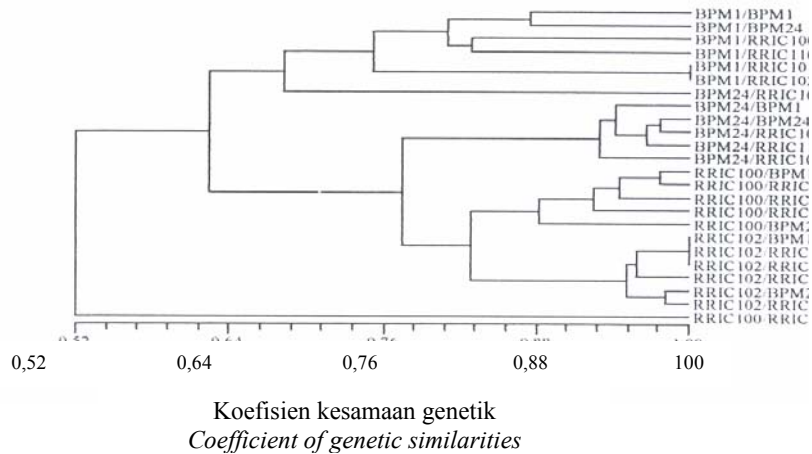
Figure 5. Dendrogram the combination grafting of scion PB260 clone with PR255, BPM1, PR300, AVROS2037, LCB1320, RRIM712 and GT1 based on the pattern of SDS-PAGE protein and isozymes EST, AP, MDH and SKD bands.

matriks kesamaan ternyata diperoleh korelasi antara matriks berdasarkan pola pita protein dan pola pita isoenzim, yang tidak nyata ($r = 0,19$; $p = 0,87$). Hal ini disebabkan hanya sedikit jenis isoenzim yang mampu menunjukkan polimorfisme, sehingga tidak mampu mengungkapkan keragaman sifat isoenzim dari setiap kombinasi okulasi yang diuji.

UPGMA gabungan dari hasil elektroforesis protein dan isoenzim BPM1, BPM24, RRIC 100 dan RRIC 102 yang diokulasikan pada enam batang bawah yang berbeda menghasilkan pengelompokan yang cenderung mengikuti pengelompokan berdasarkan pola pita protein. Nilai korelasi kesamaan antar matriks yang berdasarkan pola pita protein dan isoenzim adalah tidak

nyata dengan nilai $r = 0,45$; $p = 1,00$. Dari hasil UPGMA tampak bahwa umumnya batang atas yang sama berkombinasi dengan ber-bagai batang bawah berada dalam kelompok yang sama, kecuali pada kombinasi RRIC110/RRIC100, BPM24/RRIC101 dan PB260/PR300 (Gambar 6). Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya pengaruh berbagai jenis batang bawah yang digunakan terhadap batang atas dari klon yang sama.

Premakumari *et al.* (2001) menemukan bahwa benih monoklonal ternyata lebih seragam daripada benih komersial. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan benih monoklonal merupakan salah satu alternatif untuk menjamin keseragaman kecambah batang bawah untuk menekan



Gambar 6. Dendrogram kombinasi okulasi batang atas BPM1, BPM24, RRIC100, dan RRIC102 dengan batang bawah BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102, dan RRIC 110 berdasarkan gabungan pola pita SDS-PAGE protein dan isoenzim EST dan AP

Figure 6. Dendrogram the combination grafting of scion BPM1, BPM24, RRIC100, and RRIC102 clones With rootstocks BPM1, BPM24, RRIC100, RRIC101, RRIC102, and RRIC 110 based on the pattern of of SDS-PAGE protein and isozymes EST and AP bands.

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...

pengaruh negatif yang mungkin ditimbulkan dari interaksi batang bawah dengan batang atasnya. Huang *et al.* (1994) melaporkan bahwa kompatibilitas penyambungan antar spesies *Castanea* tidak sepenuhnya disebabkan oleh inkompatibilitas karena adanya perbedaan genetik antar spesies. Dilaporkan juga bahwa isoenzim isoperoksidase tidak dapat digunakan sebagai penanda kesesuaian atau ketidak-sesuaian penyambungan antar spesies *Castanea*. Menurut Almansa *et al.* (2002) kombinasi tertentu antar batang bawah/ batang atas tanaman *Citrus limonum* ber-pengaruh terhadap aktivitas isoenzim superoksida dismutase (SOD) yang berperan dalam toleransi tanaman tersebut terhadap salinitas. Namun pada kombinasi yang berbeda aktivitas isoenzim tersebut tidak berpengaruh. Xu *et al.* (2002) melaporkan bahwa pada tanaman apel ada hubungan antar aktivitas isoenzim POD dan IOD yang berfungsi untuk mengontrol akumulasi IAA pada akar tanaman batang bawah dengan vigor batang atas. Pada kom-binasi batang bawah/batang atas tertentu aktivitas POD dan IOD meningkat yang menyebabkan akumulasi IAA pada daerah akar juga meningkat. Selanjutnya IAA akan ditransmisikan ke batang bagian atas yang dapat meningkatkan pertumbuhannya.

Untuk mendapatkan gambaran yang lebih jelas mengenai pengaruh batang bawah terhadap batang atas peubah berupa perubahan pola pita protein dan isoenzim perlu dihubungkan dengan peubah agro-nomis lainnya a.l. kualitas lateks, penambahan lilit batang, dan hasil lateks.

Kesimpulan

Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim dan protein batang atas pada okulasi tanaman karet yang menunjukkan adanya interaksi batang bawah terhadap batang atas adalah :

- (i) Terbentuknya protein lateks dengan BM 24 kDa pada beberapa kombinasi batang bawah terhadap batang atas dari klon tertentu yang sama.
- (ii) Terjadi polimorfisme Isoenzim AP dan Est pada beberapa kombinasi batang bawah terhadap batang atas dari klon-klon tertentu yang sama.
- (iii) Tingkat polimorfisme pola pita protein dan isoenzim tertinggi diperoleh dari kombinasi okulasi RRIC100/RRIC110, PM24/RRIC101 dan PB260/PR255. Sedangkan kombinasi okulasi yang tidak memberikan perubahan baik terhadap pola pita protein dan isoenzim yang diuji adalah RRIC 102/RRIC101 dan PB260/GT1.

Daftar Pustaka

- Agbaria, H., B. Heuer & N. Zieslin (1996). Root-shoot interaction effects on nitrate reductase and glutamine synthetase activities in rose (*Rosa hybrida* cvs. Ilseta and Mercedes) graftings. *J. Plant Physiol.*, **149**, 559-563.
- Agbaria, H., B. Heuer & N. Zieslin (1997). Rootstock imposed formation of proteins in leaves of rose (*Rosa hybrida* cv Mercedes). *Adv. Hort. Sci.*, **11**, 159-160.
- Agbaria, H., B. Heuer & N. Zieslin (1998). Rootstock-imposed alterations in nitrate reductase and glutamine synthetase activities in leaves of rose plants. *Biol. Plant.*, **41** (1), 85-91.
- Almansa, M.S., J.A. Hernandez, A. Jimenez, M.A. Botella & F. Sevilla (2002). Effect of

- salts stress on the superoxide dismutase activity in leaves of *Citrus limonum* in different rootstock-scion combinations. *Biol. Plant.*, **45** (4), 545-549.
- Bertrand, B. & H. Etienne (2001). Growth, production and bean quality of *Coffea Toruan Mathius* et al.
- arabica* as affected by interspecific grafting: Consequences for rootstock breeding. *J. Hort. Sci.*, **36**, 269-273.
- Boerhendhy, I. (1989). Efek okulasi tajuk terhadap beberapa sifat anatomi dan fisiologi tanaman karet. *Bull. Perkebunan Rakyat*, **2**, 13-20.
- Boerhendhy, I. (1990). Hubungan sifat anatomi, fisiologi dan morfologi tanaman karet okulasi tajuk dengan produksi. *Bull. Perkebunan Rakyat*, **6**, 70-72.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- Degani, C., R. El-Bastari & S. Gazit (1990). Enzyme polymorphism in Manggo. *J. Am Soc. Hort. Sci.*, **115**, 844-847.
- Hartman, H.T., D.E. Keser, F.T. Davis Jr., & R.L. Geneve. (1997). *Plant propagation*. New Jersey, Prentice Hall Int. Inc. p, 392-435.
- Huang, H., J.D. Noorton, G.E. Boyhan & B.R. Abrahams (1994). Graft compatibility among chesnut (*Castanea*) species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **119** (6), 1127-1132.
- Krishnakumar, R., M.P. Asokan & M.R. Sethuraj (1992). Polymorphic isozyme expression caused stock-scion interaction in *Hevea brasiliensis* clone RR11 105. *Indian J. Nat. Rub. Res.*, **5** (1&2), 161-1.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685.
- Lasminingsih, M. (1990). Evaluasi beberapa pengujian lanjutan klon-klon karet harapan di Pusat Penelitian Perkebunan Sembawa. *Bul. Perk. Rakyat*, **6**, 1-11.
- Lebrun, P. & M.H. Chevallier (1980). Starch polyacrilamide gel electrophoresis of *Hevea brasiliensis*. *IRCA*, 6-14.
- Lubis, P., Basuki & T. Bastari (1981). Masalah batang bawah pada tanaman karet. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan Tanjung Morawa*.
- Madjid, A. (1974). Bahan tanaman karet untuk peremajaan. *Menara Perkebunan*, **42** (5), 267-269.
- Moreno, M.A., J.P. Gaudilere & A. Moing (1994). Protein and amino acid content in compatible and incompatible peach/plum grafts. *J. Hort. Sci.*, **69** (6), 955-962.
- Prawoto, A.A. W. Soerodikoemo & J. Isbandi (1987). Kajian okulasi pada tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). III. Anatomi pertautan batang bawah dan batang atas. *Pelita Perkebunan*, **3** (1), 23-30.
- Prawoto, A.A. W. Soerodikoemo, S. Sastriowinoto & H. Hartiko (1990a). Kajian okulasi pada tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) V. Pengaruh batang bawah terhadap daya hasil batang atas. *Pelita Perkebunan*, **6** (1),

- 13-20.
- Prawoto, A.A. W. Soerodikoesoemo, S. Sastriwinoto & H. Hartiko (1990b). *Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim...* batang atas. *Pelita Perkebunan*, **6** (2), 38-46.
- Premakumari, D., K.M. Mary, T.A. Soman & M.A. Nazeer (2001). Estimates of variability and associations of characters of root stocks seeds and resultant seedlings and comparison of seed types in rubber. *Indian J. of Nat. Rub.*, **14** (2), 165-169.
- Rohlf, J.R. (1993). NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.80. New York, Exeter Software.
- Toruan-Mathius, N., S.A. Adimihardja & I. Boerhendhy (1999). Rootstock-scion interaction in hevea. Bark protein patterns and anatomy in correlation with genetic similarities. *J. Penelitian Bioteknologi Perkebunan*, **67** (1), 1-12.
- Toruan-Mathius, N., I. Boerhendhy, Moedji-Akbar & Kuswanhadi (2000). Rootstock-scion interaction induced the alteration of protein banding patterns of scion, and its correlation with genetic similarities in *Hevea brasiliensis* Muell Arg. *In Proc. Kajian okulasi pada tanaman kakao (Theobroma cacao L.) V. Pengaruh batang bawah terhadap mutu hasil*
- Indonesian Rubb. Conf. & IRRDB Symposium*. Bogor, 12-14 September 2000. volume I .p. 169-179.
- Warmund, M.R., B.H. Barritt, J.M. Brown, K.L. Schaffer & B.R. Jeong (1993). Detection of vascular discontinuity in bud union of “Jonagold” apple on mark rootstock with magnetic resonance imaging. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **118**, 92-96.
- Viestra, R.D. (1993). Protein degradation in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **44**, 385- 410.
- Xu, Ji-zhong, Shi, Bao-sheng, Ma, Bao-kun, Guo, Run-fang, Li, Xiao-dong & Zhang, Xian-bin (2002). Studies on the POD and IOD activities of the dwarfing stocks and the red fuji apple grafted on corresponding interstocks. *Agric. Sciences in China*, **1** (5), 562-567.
- Yagashita, N., Y. Hirata, M. Mizukami, H. Ohashi & K. Yamashita (1990). Genetic nature of low capsaicin content in the variant strains induced by grafting in *Capsicum annum* L. *Euphytica*, **46**, 249-252.