

PERAN SELULER ETILEN EKSOGENUS TERHADAP PENINGKATAN PRODUKSI LATEKS PADA TANAMAN KARET (*Hevea brasiliensis* L)

The Cellular Role of Exogenous Ethylene to Increasing of Latex Yield in Rubber Tree (Hevea brasiliensis L.)

Radite Tistama

Balai Penelitian Sungei Putih, P. O. Box 1415 Medan 20001, email: balitisp@indosat.net.id

Diterima tgl 11 Desember 2012/Disetujui tgl 20 Maret 2013

Abstrak

Perlakuan etilen dalam rangka meningkatkan produktifitas tanaman karet telah dilakukan secara luas di perkebunan karet sejak dekade 1970-an. Dari beberapa hasil penelitian telah terungkap bahwa etilen di dalam jaringan kulit *Hevea* mengatur dua jalur utama peningkatan produksi lateks yaitu: a) peningkatan sintesis karet, dan b) memperpanjang lama aliran lateks. Pada tahap awal etilen menginduksi perubahan pH di dalam sitosol menjadi lebih alkali. Perubahan pH ini memicu aktivitas beberapa enzim yang berperan di dalam jalur mevalonat, dan meningkatkan ketersediaan senyawa-senyawa adenilat dan sukrosa di dalam lateks, sebagai faktor penting di dalam biosintesis karet. Etilen eksogen menginduksi ekspresi gen aquaporin di dalam jaringan kulit sehingga suplai air di sekitar bidang penyadapan meningkat, dan etilen juga dapat mempertahankan stabilitas lateks selama aliran lateks. Faktor ketersediaan air dalam jaringan dan stabilitas lateks yang tinggi berpengaruh positif terhadap lama aliran lateks tanaman karet.

Kata kunci: etilen eksogenus, *Hevea brasiliensis*, produksi lateks

Abstract

Etilen treatment for increasing rubber tree productivity has done widely in rubber estate since decade 1970. Based on several researches were known that etilen in the Hevea bark roles two pathway of the latex yield increasing: a) increase rubber biosynthesis, and b) lengthen latex flow duration. At the up stream level, ethylene induced the pH

increasing in the cytosol. The pH change to be alkaline triggered activity of several enzymes that role in the mevalonate pathway, and also promote in available of adenylate and sucrose as main factor in rubber biosynthesis. The aquaporine gene expression was increase by exogenous ethylene, so the water and nutrients flows in the tapping panel increase. Ethylene also affected latex stability for latex flow. The both prolonged latex flow duration.

Keywords: exogenous ethylene, Hevea brasiliensis, latex yield

Pendahuluan

Berbagai jenis stimulan telah diuji untuk meningkatkan produktifitas karet sejak berkembangnya agroindustri karet pada awal 1950-an. Dari pengujian tersebut etilen terbukti paling efektif meningkatkan produksi lateks. Etilen mulai digunakan secara luas di perkebunan karet sejak awal tahun 1970-an. Sejak itu penelitian yang lebih detil mengenai mekanisme etilen dalam meningkatkan produksi lateks dilakukan. Penelitian-penelitian tersebut memunculkan beberapa teori yang berkaitan dengan peran etilen di dalam jaringan latisifer. Secara ringkas beberapa teori yang berkaitan peran etilen dikemukakan sebagai berikut:

- a) Etilen awalnya diyakini mempengaruhi ukuran pembuluh lateks/latisifer. Jika ukuran latisifer yang lebih besar maka produksi lateks juga akan meningkat. Namun dari pengamatan anatomis kulit tanaman karet ternyata pembesaran sel latisifer tidak terjadi, bahkan sebaliknya etilen justru mengurangi jumlah lingkaran latisifer.

- b) Hipotesis Blackman menyebutkan bahwa tekanan dalam sel-sel latisifer meningkat sehingga saat kulit dilukai akan terjadi aliran lateks yang lebih kuat. Tekanan turgor ini dipengaruhi oleh dua faktor yaitu penurunan tekanan osmotik lateks dan peningkatan plastisitas dinding latisifer. Tetapi fakta berikutnya menyebutkan bahwa tekanan turgor biasanya langsung turun drastis beberapa menit setelah kulit diiris, sementara aliran lateks terus berlangsung meski tekanan turgor rendah.
- c) Indeks penyumbatan (IP) adalah perbandingan volume lateks 5 menit pertama terhadap volume lateks total. IP menggambarkan besarnya proses penyumbatan lateks yang ditentukan oleh stabilitas lutoid dalam lateks. Laju kerusakan lutoid ini berkorelasi positif dengan percepatan penggumpalan lateks, sehingga mempercepat penyumbatan ujung latisifer yang dilukai. Kerusakan lutoid diketahui dengan mengukur aktivitas fosfatase asam dalam sitosol dibandingkan fosfatase asam total, yang disebut *bursting index* (BI). Jika BI rendah menunjukkan stabilitas lateks tinggi sehingga aliran lateks berlangsung lebih lama, dan sebaliknya (Coupe dan Chrestin, 1989).
- d) Sumarmadji (2000) menyebutkan ada dua jalur utama peran etilen meningkatkan hasil karet yaitu dengan meningkatkan biosintesis karet dan memperpanjang lama aliran lateks. Perlakuan etilen di jaringan kulit akan menghilang beberapa jam kemudian, tetapi terjadi peningkatan etilen endogenus. Peran etilen eksogenus ini masih nyata hingga tiga kali penyadapan atau sama dengan 9 hari setelah pengolesan.

Selama rentang waktu penyadapan satu dengan penyadapan berikutnya terjadi proses regenerasi lateks in situ untuk mengganti sejumlah lateks yang telah dikeluarkan (Gidrol *et al.*, 1988). Proses regenerasi 100 ml lateks yang sempurna memerlukan waktu tiga hari, yang setara dengan kemampuan tanaman karet mensintesis 50 g karet dan 1,2 g protein.

Proses ini merupakan aktivitas metabolik yang intensif dan memerlukan sumber energi katabolik yang tinggi seperti dari glikolisis dan siklus Krebs (Tupy, 1973; Jacob *et al.*, 1989). Aktivitas lain yang meningkat adalah translokasi gula, kandungan adenilat, dan rRNA (Amalou *et al.*, 1992).

Produksi (g/p/s) pada tanaman karet yang diperlakukan dengan etilen akan meningkat 24,1 % pada klon PB 260, 73,6% pada klon PB 217 (Jetro dan Simon, 2007) dan 52% pada klon GT1 (Lacote *et al.*, 2010). Respon klon-klon *slow starter* seperti PB 217 dan GT1 terhadap etilen terbukti lebih tinggi dibandingkan klon *quick starter* seperti PB 260. Adanya peningkatan lateks yang keluar maka pengurusan isi pembuluh lateks juga semakin tinggi dan sebagai konsekuensinya tanaman juga harus meningkatkan kemampuan meregenerasikan kembali. Bagaimana tanaman mampu menggantikan lateks yang mengalir selama lebih dari 12 jam pada perlakuan gas etilen adalah pertanyaan yang menarik. Tulisan ini merupakan resultan dari berbagai penelitian yang telah dilakukan dan diharapkan menjadi inspirasi bagi penelitian yang lebih komprehensif di masa mendatang dalam kaitannya dengan peran etilen.

Biosintesis Etilen

Aplikasi etilen eksogenus meningkatkan etilen endogenus di dalam sel-sel pembuluh lateks. Induksi etilen endogenus ini berkaitan dengan peningkatan biosintesis etilen. Prekursor etilen adalah S-AdoMet yang disintesis dari asam amino metionin dengan bantuan S-adoMet sintetase (ADS), (EC 2.5.1.6). Adomet dikonversi dengan memecah satu ATP menjadi 1-aminopropane-1-asam karboksilik (ACC) oleh enzim ACC sintase (ACS). ACC kemudian dioksidasi menjadi etilen oleh ACC oksidase dengan hasil samping berupa CO₂ dan menjadi sianida. ACC dapat mengalami malonilasi menjadi malonyl-ACC (MAAC), sebuah jalur untuk mengurangi konsentrasi ACC dan mengurangi produksi etilen (Wang *et al.*, 2002).

Gen penyandi ADS tanaman telah banyak dikloning dari berbagai organisme. Gen tersebut disandikan oleh gen famili yang mempunyai banyak kesamaan pada berbagai spesies. ADS bukan hanya penting untuk biosintesis etilen tetapi masih banyak jalur metabolik lain yang diaturinya, dan gen ADS ini tidak spesifik diinduksi oleh cekaman abiotik ataupun serangan penyakit (Broekaert *et al.*, 2006). Enzim ACS juga disandikan oleh beberapa gen famili di dalam jaringan spesifik. Saat ini setidaknya telah diketahui 11 gen ACS pada arabidopsis. Pada percobaan pelukaan terhadap kotiledon maka ekspresi gen AtACS1 dan AtACS5 menurun, tetapi gen AtACS2, 4, 6, 7, 8 dan 11 justru meningkat.

Etilen diproduksi oleh tanaman pada tahap tertentu selama siklus hidupnya dan berperan meregulasi beberapa proses perkembangan, misalnya pemasakan buah, absisi daun, dan pembungaan. Sintesis etilen ini juga merupakan bentuk respon atas cekaman seperti perlukaan, kekeringan, dan genangan air. Konsentrasi ACC di dalam jaringan tanaman meningkat dengan adanya perlukaan. Pelukaan tersebut menjadi sinyal bagi tanaman untuk meningkatkan aktivitas ACC sintase (Boller dan Kende, 1980). Ekspresi gen ACS pada tanaman karnasi meningkat dengan perlakuan 2,4-D, etilen dan LiCl (Jones dan Woodson, 1999).

Aktivitas ADS meningkat dengan adanya etilen eksogen (Hu *et al.*, 1980; Diaz *et al.*, 2002). Namun induksi etilen terhadap sintesis ADS dapat ditekan dengan menggunakan 2,5-norbonadiene (Hu *et al.*, 1980) dan asam salisilat asetil. Asam salisilat asetil (ASA) merupakan sebuah senyawa inhibitor asam jasmonat dan jalur signal asam jasmonat, sehingga tanaman yang mendapat perlakuan senyawa inhibitor ini mempunyai karakter mirip dengan tanaman transgenik antisense AtACS1 dan AtACS5 (Wang *et al.*, 2002). Percobaan introduksi antisense gen penyandi ACC sintase dan ACC oksidase pada tanaman karnasi menunjukkan produksi etilen yang rendah pada jaringan dan masa segar bunga menjadi lebih lama (Iwasaki *et al.*, 2004).

Peran Etilen dalam Mengatur berbagai Aktivitas Seluler

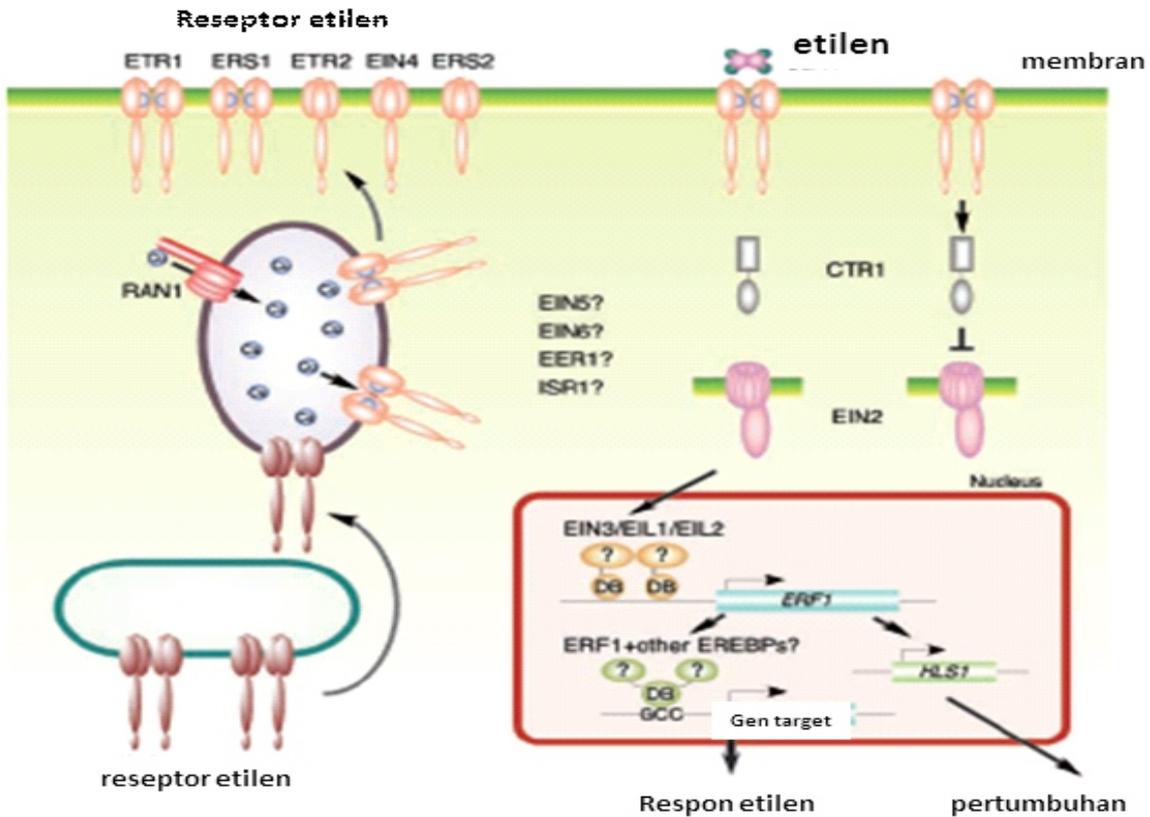
Aksi etilen diasumsikan mirip untuk setiap spesies tanaman. Etilen diterima oleh sebuah reseptor diikuti dengan pengaktifan satu atau beberapa transduksi signal yang menghasilkan respon seluler. Saat ini telah diketahui ada lima protein reseptor yaitu *ethylene receptors* 1 (ETR1), ETR2, ERS1, ERS2 dan *ethylene insensitive* 4 (EIN4). Jika tidak ada etilen, maka ETR1 akan mengaktifkan kinase dari CTR1 yang akan menekan jalur respon etilen atau tidak efek seluler dari etilen. Signal etilen baik yang eksogenus maupun endogenus akan ditangkap oleh reseptor etilen yang ada di membran sel target (Gambar 1). Reseptor tersebut akan menonaktifkan ETR1 sehingga CTR1 juga menjadi tidak aktif. Karena CTR1 tidak aktif maka tidak ada yang menghambat jalur respon etilen, dan efek seluler etilenpun akan muncul (Taiz dan Zeiger, 2002).

Jalur respon etilen yang telah diketahui adalah melalui pengaktifan EIN2 yang diikuti pengaktifan EIN3 yang menjadi faktor transkripsi dari *ethylene receptor factor* (ERF1). ERF1 merupakan faktor ekspresi yang dapat meningkatkan ekspresi gen-gen di jalur respon etilen dalam skala besar (Wang *et al.*, 2002), seperti gen-gen pertahanan kitinase (Subroto *et al.*, 1996), glukonase (Churngchow *et al.*, 1995), *heat shock protein* (hsp), *low temperature protein* (ltp), dan *disease resistance protein* (drp) (Ko *et al.*, 2003). EIN3 merupakan kunci utama regulasi respon terhadap etilen (Guo dan Ecker, 2003).

Aplikasi etepon sebagai generator etilen dilakukan dengan cara mengoles ke bekas sayatan atau kulit yang telah dikerok, atau diaplikasi dengan gas etilen yang bertekanan. Luas jaringan yang dipengaruhi meliputi jaringan di atas dan di bawah seluas 80-120 cm, termasuk di daerah kulit belakangnya (Coupe dan Chrestin, 1989; Amalou *et al.*, 1992a). Hal ini berarti sinyal dari etilen tersebut dapat transfer hingga mencapai beberapa puluh sentimeter dari jaringan di mana etilen eksogenus diberikan. Bukti bahwa sinyal

tersebut mencapai beberapa puluh sentimeter dapat diketahui dari terjadinya peningkatan aktivitas metabolik dan translokasi berbagai senyawa metabolit di dalam jaringan tersebut.

Jaringan yang dipengaruhi oleh etilen tersebut dikenal dengan daerah aliran lateks atau *drainage area*.



Gambar 1. Model peran etilen dalam mengatur respon etilen dan pertumbuhan (Wang *et al.*, 2002).

Pelukaan juga menginduksi sintesis etilen di sekitar jaringan yang terluka tersebut. Etilen yang diinduksi ini mencapai fase logaritmik pada 26 menit setelah pelukaan yaitu 2,7 nanoliter/gr/jam dan mencapai puncaknya pada 56 menit yaitu 11,3 nanoliter/gr/jam. Konsentrasi etilen kemudian menurun hingga mencapai 4 nanoliter/gr/jam (Saltviet, 1978). Etilen hasil induksi ini kemudian mempengaruhi jalur respon etilen termasuk metabolisme lateks hingga mencapai maksimum pada 36 jam. Hal ini dapat dikaitkan laporan *Gidrol et al.* (1988) yang menyebutkan proses alkalinisasi sitosol latisifer mencapai puncak 36 hingga 48 jam.

Perubahan Fisiologi oleh Etilen

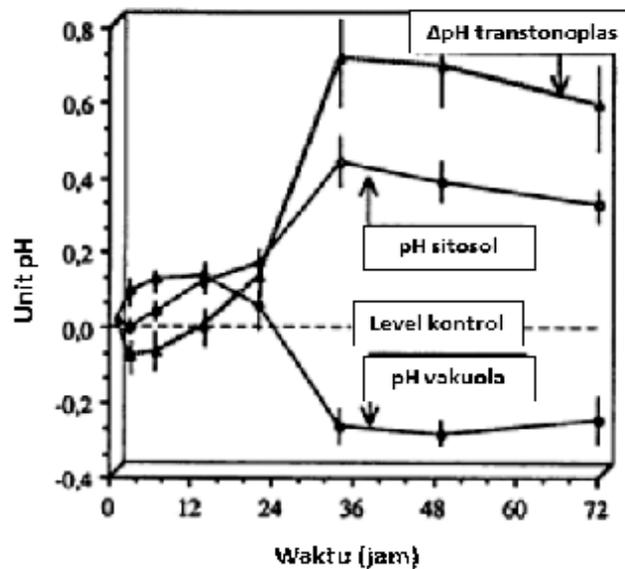
1. Etilen Meningkatkan pH Sitosol Sel-Sel Latisifer

Seperti telah diketahui pH berperan penting dalam mengendalikan berbagai aktivitas enzim di dalam sel. Perubahan pH sedikit saja dapat mengubah aktivitas suatu enzim menjadi lebih kuat atau menjadi lebih rendah, atau bahkan terhenti sama sekali aktivitasnya. Etilen eksogenus menginduksi meningkatkan pH sel-sel latisifer menjadi lebih alkalin dengan cara mengaktifkan H⁺ATPase di membran lutoid. Enzim tersebut mengalirkan

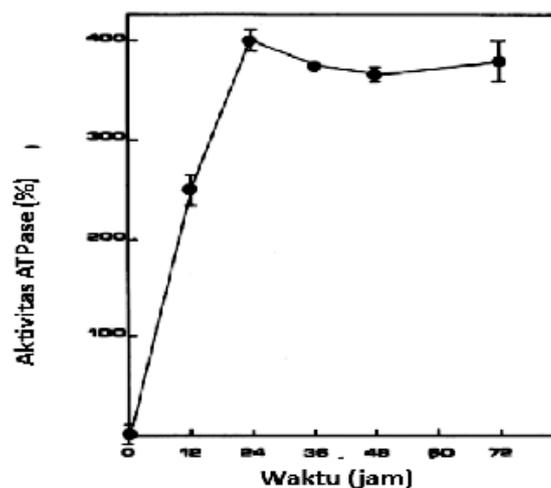
ion H^+ dari sitosol ke dalam lutoid atau vakuola. Aktivitas transporter H^+ ini meningkat setelah 12 jam perlakuan etilen dan peningkatannya mencapai 400% pada 36 - 48 jam, kemudian turun setelah 72 jam dan tidak terdeteksi lagi pada 144 jam (Gidrol *et al.*, 1988).

Pengaruh etilen terhadap perubahan pH sitosol dan lutoid di dalam pembuluh lateks dibedakan menjadi dua fase. Fase pertama yaitu kurang dari 20 jam ditandai dengan proses alkalinisasi sitosol dan asidifikasi berlangsung lambat. Fase berikutnya secara

simultan terjadi percepatan alkalinisasi sitosol dan asidifikasi lutoid yang mencapai maksimum 0,42 unit dibandingkan kontrol pada 33 jam. Pada saat yang sama terjadi penurunan pH intra vakuolar 0,2-0,3 unit dan mencapai puncak pada 33 jam sebesar 0,7 unit dibandingkan kontrol (Gambar 2) (Amalou *et al.*, 1992a). Pengaturan pH di dalam sitosol selain dilakukan oleh H^+ ATPase (Gambar 3) (Gidrol *et al.*, 1988), juga dilakukan oleh protein transporter $Mg^{2+}/2H^+$ yang terdapat pada membran lutoid (Amalou *et al.*, 1992b).



Gambar 2. Perubahan pH di dalam sel pembuluh lateks pada tanaman karet yang distimulan dengan etilen (Amalou *et al.*, 1992a)



Gambar 3. Aktivitas ATPase (%) di membran lutoid sel pembuluh lateks pada tanaman yang distimulasi dengan 2.5% etilen (Gidrol *et al.*, 1988).

2. Perubahan Aktivitas Beberapa Enzim di dalam Lateks

Perubahan pH sangat penting dalam mengatur beberapa proses glikolisis seperti invertase, sebuah enzim yang berperan penting pada awal katabolisme sukrosa dan Siklus Krebs. Pada pH 7,5, aktivitas glikolisis meningkat dibandingkan pada pH 6,5 (Jacob *et al.*, 1989). Secara spesifik Mesquita *et al.* (2006) menyebutkan bahwa aktivitas invertase yang tinggi berkorelasi positif dengan hasil karet suatu klon. Invertase berperan dalam memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Aktivitas enzim ini mencapai optimum pada pH 7,3-7,5.

Selain pH, invertase juga mempunyai aktivator lain seperti Pi, NH₄⁺, R-SH dan Cl⁻, tetapi dihambat oleh Mg²⁺ dan Cu²⁺ (Amalou *et al.*, 1992a). Tidak tertutup kemungkinan bahwa perubahan pH ini mempengaruhi kompetisi antara aktivator dengan inhibitor dalam menempel ke sisi enzim invertase atau enzim lain yang terlibat dalam glikolisis dan jalur mevalonat. Selain etilen, 2,4-Dichlorophenoxy (2,4-D) dan 2-(3,4-dichlorophenoxy)-trithylamine (2,3,4-D) juga dilaporkan meningkatkan enzim invertase, dan beberapa enzim di jalur mevalonat seperti MVA kinase, IPP isomerise, FPP sintase dan *rubber* transferase (Benedict *et al.*, 1983).

Aktivitas yang tinggi enzim invertase di jaringan latisifer mengindikasikan bahwa enzim ini juga mengatur laju masuknya sukrosa ke dalam sel-sel pembuluh lateks (Sturn, 1999). Peningkatan aktivitas enzim yang terlibat dalam biosintesis karet juga terjadi pada saat pH sitosol meningkat, seperti HMGKoA sintase yang menggabungkan asetoasetil KoA dengan asetil KoA menjadi H M G K o A (S u v a c h i t t a n o u t dan Wititsuwannakul, 1995) dan isopentini difosfat isomerase yang mengubah isopentini difosfat menjadi dimetilalildifosfat (Koyama *et al.*, 1996).

Aplikasi etilen menyebabkan peningkatan aktivitas H⁺ATPase pada membran lutoid. Enzim ini berperan dalam mengalirkan ion H⁺

dari sitosol masuk ke dalam lutoid, sehingga sitosol menjadi lebih alkalin. Peningkatan pH tersebut mengaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam biosintesis karet.

3. Peningkatan Kandungan Gula

Seperti telah diketahui bahwa lateks yang keluar dari pembuluh lateks terikut di dalamnya gula, protein, ATP, mineral dan lain-lain. Partikel karet yang komponen utamanya hidrokarbon meliputi 30-50% dari lateks dan 90% dari berat keringnya juga ikut keluar. Sel-sel latisifer secara alami mengganti semua kehilangan partikel karet tersebut dengan meningkatkan aliran sukrosa ke dalam jaringan latisifer. Latisifer merupakan jaringan *sink* sukrosa yang kuat untuk membentuk rangkai hidrokarbon dan permintaan energinya juga tinggi (Silpi *et al.*, 2007). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa proses penggantian komponen yang hilang hingga 100% memerlukan waktu 78 jam (Gidrol *et al.*, 1988). Tentu saja proses pemulihan ini sangat tergantung pada respon fisiologis tiap-tiap klon karet terhadap etilen dan pelukaan.

Suplai zat-zat yang diperlukan untuk pemulihan sel-sel pembuluh lateks membutuhkan mekanisme transport yang lebih cepat yaitu dengan mengaktifkan salah satu protein membran yang disebut aquaporin dan transpoter sukrosa. Sebuah percobaan telah membuktikan bahwa terdapat peningkatan ekspresi aquaporin di membran sel-sel pendamping dan sel pembuluh yang distimulasi dengan etilen dan penyadapan (Tungngien *et al.*, 2009).

Sampai saat ini belum banyak bukti bahwa etilen secara langsung mempengaruhi biosintesis karet. Fakta-fakta yang berkaitan dengan peningkatan produksi karet adalah peningkatan aliran lateks dan peningkatan penggunaan sukrosa (Zhu dan Zang, 2008). Transport sukrosa ke dalam sel pembuluh lateks diatur oleh dua buah protein yang berperan sebagai transporter sukrosa yaitu HbSUTT1A dan HbSUTT2A. Kedua protein ini terdapat pada latisifer dan jaringan lunak.

Aktivitas kedua transpoter tersebut dipengaruhi oleh etilen (Dusotoit-Coucaud *et al.*, 2009).

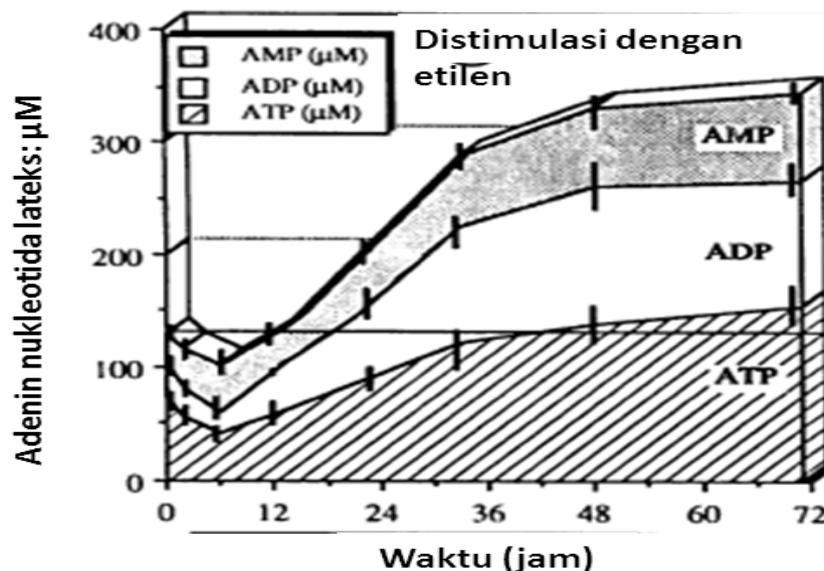
Etilen eksogenus memicu aktivitas transporter gula pada membran sel latisifer yang berperan memasukan sukrosa dari fluem ke dalam sel-sel latisifer. Aliran gula ini dimaksudkan untuk mengimbangi gula yang disintesis menjadi partikel karet. Aktivitas transporter ini memerlukan ATP yang cukup besar.

4. Peningkatan Konsentrasi Adenilat

Berkaitan dengan kebutuhan energi yang besar terbukti bahwa etilen menginduksi dengan cepat dan menandai perubahan adenilat (AMP, ADP dan ATP) dalam lateks. Efek kinetik etilen dalam kaitannya dengan perubahan konsentrasi adenilat dibagi menjadi

dua fase yaitu fase 2 jam pertama yang ditandai dengan menurunnya adenilat di dalam lateks. Kandungan ATP turun hingga 30% di bawah kontrol setelah 2 jam perlakuan kemudian turun lagi hingga 47% setelah 6 jam (Gambar 4). Sementara adenilat yang lain juga cenderung menurun. Setelah 12 jam semua adenilat ADP meningkat 400% dalam 48 jam sampai 72 jam, dan ATP meningkat 240% (Amalou *et al.*, 1992b).

Karakter perubahan adenilat pada beberapa klon juga bervariasi. Pada klon AVROS 2037 dan klon GT 1 (kelompok metabolisme rendah), peningkatan adenilat lebih tinggi dari PB 235 yang termasuk metabolisme tinggi (MT). Peningkatan adenilat tidak berbeda nyata antara AVROS dengan GT1. Jadi karakter metabolisme berkaitan dengan erat konsentrasi ATP di dalam lateks. (Coupe dan Chrestin, 1989).



Gambar 4. Perubahan konsentrasi adenilat pada tanaman yang mendapat stimulan 2.5% etilen.

Masuknya etilen eksogenus ke dalam sel memicu peningkatan sintesis senyawa adenilat sebagai sumber energi seluler. Peningkatan aktivitas tersebut mencapai puncak pada hari kedua setelah etilen diaplikasikan. Aktivitas biosintesis karet tertinggi diduga kuat terjadi pada saat sintesis adenilat mencapai puncaknya.

5. Peningkatan Metabolisme Nitrogen

Peningkatan asimilasi N diperlukan untuk mengimbangi peningkatan aliran N yang keluar dari lateks baik dalam bentuk enzim maupun protein struktural. Pada sistem penyadapan yang menggunakan etilen terjadi peningkatan aliran keluar N hingga 254%

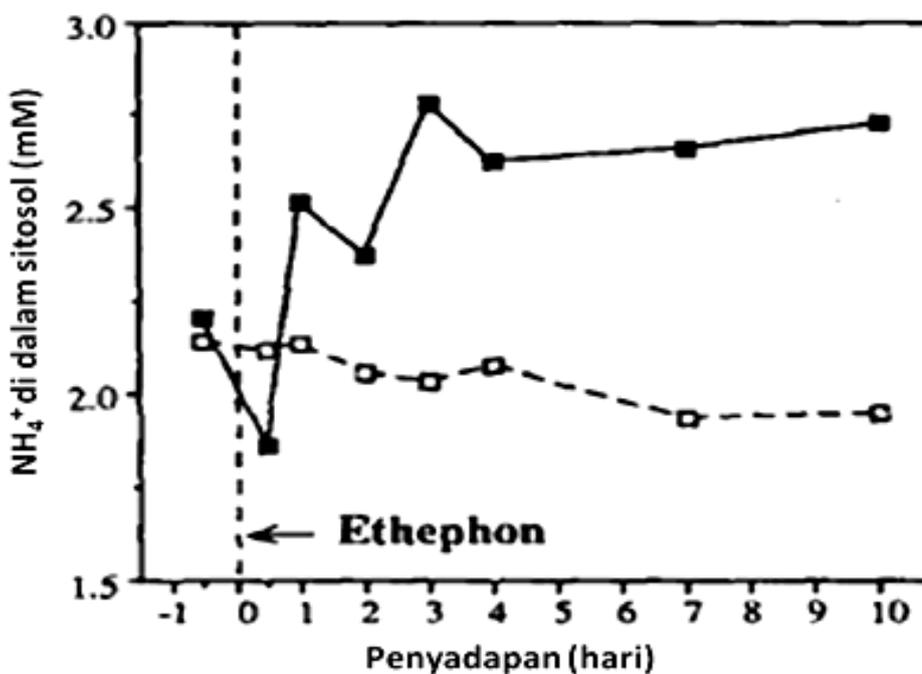
(Esbach dan Lacrotte, 1989). Peningkatan aliran nutrisi utama bagi pertumbuhan tanaman di dalam lateks ditampilkan pada Tabel 1. Untuk penggantian protein-protein fungsional maupun struktural yang hilang, pembuluh lateks perlu mengaktifkan metabolisme N yang diperankan oleh enzim glutamine sintetase (EC 6.3.1.2).

Enzim glutamine sintetase (GS) merupakan enzim kunci dalam metabolisme nitrogen. Enzim tersebut mengubah NH_4^+ ke dalam komponen asam amino yang

diperlukan untuk sintesis protein melalui jalur yang melibatkan glutamate sintase (EC 1.4.1.13). Pengujian pada level *in vitro* membuktikan bahwa GS memanfaatkan 14 mM nitrogen/hari untuk meregenerasi protein lateks. Etilen menginduksi akumulasi NH_4^+ di dalam sitosol sampai hari ke 10 setelah perlakuan etilen (Gambar 5). Akumulasi NH_4^+ ini bersifat toksik bagi sel, maka akan segera dirubah menjadi bentuk organik oleh glutamine sintetase (Pujade-Reunad *et al.*, 1994).

Tabel 1. Aliran keluar nutrisi melalui lateks pada tanaman karet dengan menggunakan sistem sadap S/2 d2.

Perlakuan	Hasil (kg/ha/tahun)	Aliran nutrisi (kg/ha/tahun)			
		N	P	K	Mg
Tanpa stimulan	1.390	9,4	2,3	8,3	1,7
Ethrel 10%	2.570	23,9	7,2	22,3	4,1



■ Tanaman karet distimulasi dengan 2,5% ethepon □ Tanaman kontrol

Gambar 5. Pengaruh etilen terhadap konsentrasi NH_4^+ di dalam sel-sel pembuluh lateks

Asimilasi N yang tinggi akan diikuti peningkatan sintesis protein. Sintesis protein pada pembuluh lateks meningkat setelah 12 jam perlakuan etilen dan bertahan hingga 72 jam dengan peningkatan 40-55% (Coupe dan Chrestin, 1989). Dalam satu hari tanaman karet mampu menyediakan 26 mmol dalam bentuk asam amino glutamine (Glu). Ekspresi glutamine sintetase berkaitan dengan tingkat penyerapan N dari tanah dan meningkatkan efektifitas fotosintesis (Fuentes *et al.*, 2001), dan peningkatan ekspresi gen ini juga meningkatkan pertumbuhan dan biomassa (Suarez *et al.*, 2002).

Etilen eksogenus meningkatkan asimilasi N di dalam sel latisifer sebagai bahan untuk mensintesis protein struktural maupun enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme sel. Kekurangan N di dalam sel menyebabkan proses metabolisme dan perkembangan sel kurang optimal.

6. Peningkatan Aktivitas Transport Air ke dalam Jaringan Latisifer

Etilen eksogenus berkorelasi positif dengan produksi etilen endogenus (Sumarmadji, 1999), yang akan memicu ekspresi beberapa gen yang mendukung produksi lateks, transport air yang cukup besar dan penundaan pembekuan lateks di sekitar daerah. Aquaporin merupakan salah satu protein membran plasma yang lebih dikhususkan untuk transport air antar sel, seperti penyerapan air oleh akar, pengaliran air ke mesofil dari xilem, dan menjaga turgor daun selama transpirasi. Sementara aquaporin di dalam vakuola (tonoplasma) berperan dalam mengatur osmoregulasi (Luu dan Maurel, 2005), dan distribusi metabolit di dalam sel (Ma *et al.*, 2004). Aquaporin dapat melewati anion seperti nitrat, fosfat dan sulfat (Marten *et al.*, 1999).

Berkaitan dengan sistem transport membran ini telah diketahui protein intrinsik membran plasma dan protein intrinsik membran tonoplasma berturut HbPIP2:1 dan HbTIP1:1. Kedua protein tersebut berperan dalam meningkatkan konduksi plasmalema.

Ekspresi HbPIP2:1 terjadi di semua jaringan kulit pada cabang muda termasuk di dalam latisifer. Ekspresi kedua protein tersebut dipengaruhi oleh etilen eksogenus, ABA, GA3 dan faktor lingkungan seperti suhu, kekeringan, dan ketersediaan nutrisi di dalam tanah (Luu dan Maurel, 2005). Ekspresi HbPIP2:1 meningkat dengan adanya stimulan etilen, tetapi ekspresi HbTIP2:1 justru berkurang. Promotor gen HbPIP2:1 juga peka terhadap auksin, koper dan sulfur (Tungngoen *et al.*, 2009). Aktivitas aquaporin di dalam jaringan latisifer dan jaringan pendukung akan menjaga tekanan turgor dan menjaga aliran lateks (Tungngoen *et al.*, 2009).

Intensitas penyadapan yang tinggi diketahui meningkatkan senyawa-senyawa radikal bebas seperti *reactive oxygene species* (ROS) yang dapat merusak fungsi aquaporin (Luu dan Maurel 2005). Kerusakan aquaporin menyebabkan transport air dan nutrisi ke dalam sel pembuluh lateks menjadi terganggu. Kekacauan transport ini mempengaruhi keseimbangan fisiologis di dalam sel-sel pembuluh lateks yang dapat berujung kepada kering alur sadap (KAS).

Etilen eksogenus memicu aktivitas ekspresi gen aquaporin yang berkaitan dengan transport air dalam jumlah besar. Adanya peningkatan aquaporin pada membran sel-sel di sekitar daerah aliran lateks akan memperpanjang aliran lateks yang keluar dari latisifer yang diiris.

Hipotesis Pengaruh Etilen terhadap Peningkatan Hasil

Sebuah model pengaruh etilen terhadap peningkatan hasil karet dapat disintesis dengan merangkai beberapa fakta yang telah diuraikan di atas. Pada tahap awal etilen memicu aktivitas H⁺ATPase untuk melewati H⁺ dari sitosol ke dalam vakuola atau lutoid (Gambar 6). Pemindahan H⁺ tersebut menyebabkan sitosol menjadi lebih alkalin sehingga meningkatkan aktivitas beberapa enzim-enzim di jalur mevalonat. Peningkatan aktivitas enzim-enzim tersebut menyebabkan biosintesis karet menjadi meningkat.

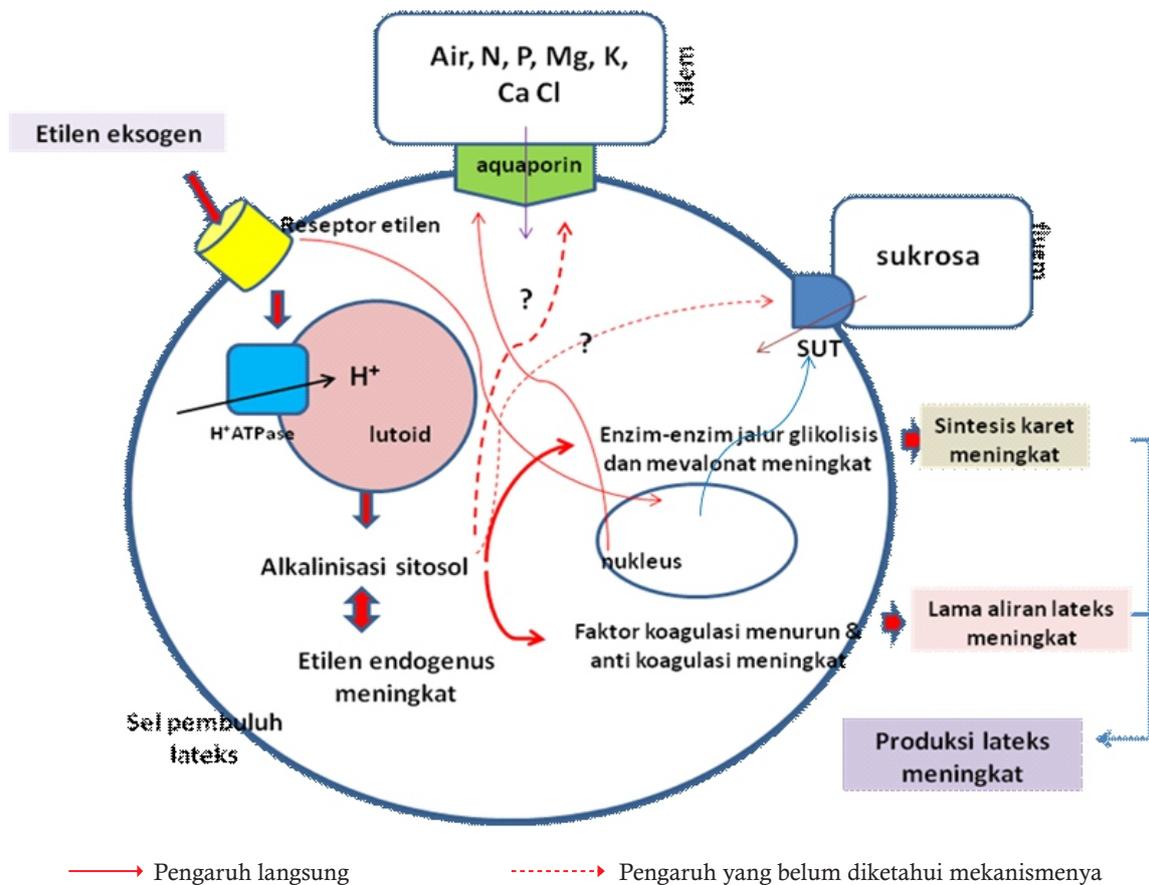
Peningkatan biosintesis karet tentu saja harus didukung dengan ketersediaan sukrosa sebagai bahan baku, nitrogen sebagai bahan protein dan fosfor sebagai bahan ATP.

Jaringan kulit di sekitar penyadapan dan aplikasi etilen sepanjang 50 cm meningkatkan serapan terhadap air, gula, dan nutrisi. Apakah peningkatan aktivitas aquaporin dan protein SUT tersebut berkaitan dengan proses alkalinisasi sitosol masih belum diketahui dengan pasti. Fakta yang tersedia saat ini adalah etilen mempengaruhi sel-sel pembuluh lateks menjadi *sink* baik berupa air, gula maupun nutrisi sehingga senyawa-senyawa tersebut diarahkan ke dalam pembuluh lateks.

Fakta penting lain adalah etilen juga mempengaruhi lama aliran lateks. Alkalinisasi sitosol berpengaruh terhadap stabilitas karet sehingga karet tidak mudah menggumpal. Lama aliran lateks dipengaruhi oleh faktor

koagulasi yang terdiri dari protein HLL, dan protein pengikat HLL (RP-HLLBP), dan faktor antikoagulasi seperti CS-HLLBP (Wititsuwannakul *et al.*, 2008). Pada kondisi pH rendah (< 6), pengikatan HLL dengan RP-HLLBP meningkat dan pengikatan CS-HLLBP rendah sehingga karet menjadi cepat menggumpal. Sebaliknya pada pH tinggi (6-8) justru pengikatan HLL dengan CS-HLLBP lebih tinggi dan pengikatan dengan RP-HLLBP berkurang. Pada kondisi tersebut proses penggumpalan karet lebih rendah atau tidak terjadi (Wititsuwannakul *et al.*, 2008; Tistama, 2009).

Lateks yang stabil dan suplai air yang memadai inilah yang menyebabkan proses aliran lateks menjadi lebih panjang. Standar aplikasi stimulan telah ditetapkan untuk tidak melakukan aplikasi stimulan selama musim gugur daun dan pembentukan daun baru.



Gambar 6. Hipotesis peningkatan produksi lateks sebagai respon tanaman karet terhadap perlakuan etilen

Kesimpulan

Secara umum perlakuan etilen direspon oleh tanaman karet dengan meningkatkan pH sitosol (lateks). Alkalinisasi sitosol tersebut akan menginduksi aktivitas sejumlah enzim yang berperan dalam jalur glikolisis dan mevalonat yang diikuti peningkatan influks sukrosa dan nutrisi lainnya ke dalam sel-sel pembuluh lateks. Alkalinisasi juga menjaga stabilitas lateks sehingga lateks mengalir lebih lama. Seluruh aktivitas tersebut berujung pada peningkatan produksi lateks.

Daftar Pustaka

- Amalou, Z., Bangratz, and H. Chrestin. 1992. Ethrel (ethylene relieaser) – induced increases in the adelilate pool and transtonoplast pH within *Hevea* latex cels. *Plant Physiol* 98: 1270-1276.
- Amalou, Z., R. Gibrat, C. Brugidou, Trouslot, and J. D. Auzac. 1992b. Evident of an amelioride $Mg^{2+}/2H^{+}$ antipoter in lutoid (vacuolar) vesicle from lateks *Hevea brasiliensis*. *Plant Physiol* 100:255-260.
- Benedict, C. R., P. H. Reibach, S. Madhavan, R. V. Stipanovic, J. H. Keithly, and H. Yokohama. 1983. Effect of 2-(3,4-dichlorophenoxy)-triethylamine on the synthesis of cis-polyisoprene in guayule plants (*Parthenium argentatum*, Gray). *Plant Physiol* 72:897-899.
- Boller, T., and Kende. 1980. Regulation of wound ethylene synthesis in plants. *Nature* 286. 359-260.
- Broekaert, W. F., S. L. Delaure, M. F. C. De Bolle, and B. P. A. Cammuel. 2006. The role of ethylene in host-pathogen interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44: 393-416.
- Chungchow, N., A. Suntaro, and R. Witisuwanankul. 1995. B-1,3-glucanase isozymes from the latex of *Hevea brasiliensis*. *Phytochem* 39(3): 505-509.
- Coupe, M. and H. Chrestine. 1989. Physico-chemical and biochemical mekanisme of hormonal (ethylene) stimulation. In: c'Auzac J, J. L. Jacob, and H. Chrestine. *Physiology of the rubber tree latex*, pp. 296-319. CRC PressInc. Boca Raton, Florida.
- Diaz, J., A. ten Have, and J. A. L. van Kan. 2002. The role of ethylene and wound signalling in resistance of tomato to *Botrytis cinerea*. *Plant Physiol* 129: 1341-1351.
- Dosutoit-Coucaud A., N. Brunel, Kongsawadworakul, Vinboonjun, A. Lacoite, J. L. Julien, H. Chrestin, and A. Sakr. 2009. Sucrose importation into laticifers of *Hevea brasiliensis*, in relation to ethylene stimulation of latex production. *Anal. Bot* 104(4): 635-647.
- Esbach, J. M. and Lacrote. 1989. Factors influencing response to hormonal yield stimulation. In: d'Auzac, J. L. Jacob, H. Chrestin. *Physiology of the rubber tree latex*, pp. 321-331. CRC Pres Inc. Bocaaton, Florida.
- Fuentes, S. I., D. J. Allen, A. Ortiz-Lopez, and G. Hernandez. 2001. Overexpression of cytosolic of glutamine synthetase increase photosynthesis and growth low nitrogen concentration. *J of Exp Bot* 52(358): 1071-1081.
- Gidrol, X., H. Chrestin, G. Mounoury, and J. d'Auzac. 1988. Early activation by ethylene of the tonoplas H^{+} -pumping ATPase in latex from *Hevea brasiliensis*. *Plant Physiol* 86: 89-903.
- Guo, H. and R. Ecker. 2003. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCFEBF1? EBF"- dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell*, 116 :667-677.
- Hu, W. Z., A. L. Liang, H. P. Qian, and K. Pang. 1980. Changes in wound-induced ethylene production and ACC oxidase in fresh-cut squash. *ISSH Acta Hort* 746 :In: International Conference on Quality Management of Fresh Cut Produce.
- Jacob, J. L., J. C. Prevote, and R. G. O. Kekick. 1989. General metabolism of *Hevea brasiliensis* latex with the exception of isoprenic anabolism. In: `Auzac, J. L. Jacob, and H. Chrestin. *Physiology of the rubber tree latex*. pp.102-141. CRC Pres Inc. Bocaaton, Florida
- Jetro, N. N. and G. M. Simon. 2010. Effects of 2-chloroethylphosphonic acid formulations. *Afric. J. of Biotechnol.* 6(5): 523-528.

- Jones, M. L. and W. R. Woodson. 1999. Differential expression of three members of the tonoplast H⁺-pumping ATPase in latex from *Hevea brasiliensis*. *Plant Physiol* 86: 899-903.
- Ko, J. H., K. S. Chow, and K. H. Han. 2003. Transcriptome analysis reveal novel feature of molecular events occurring in the laticifers of *Hevea brasiliensis* (para rubber). *Plant Mol Biol* 53: 479-492.
- Koyama, T., Wititsuwannakul, K. Asawatratanakul, R. Wititsuwannakul, N. Ohya, Y. Tanaka, and K. Ogura. 1996. Aquaporin in challenging environment: Isopentenyl diphosphate isomerise in rubber latex. *Phytochem* 43(4):769-772.
- Lacote, R., O. Gabla, S. Obouayeba, Eschbach, K. Rivano, and E. Gohet. 2010. Long-term effect of ethylene stimulation on the yield of rubber trees is linked to latex cell biochemistry. *Field Crop Res.* 115:94-98.
- Luu, D. T. and C. Maurel. 2005. Aquaporin in challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell and Envir* 28: 85-96.
- Marten, J. C., N. G. Crawford, and Schroeder. 1999. Protein for transport water and mineral nutrients across the membranes of plant cell. *The Plant Cell* 11: 661-675.
- Ma, S., T. M. Quist, A. Ulanov, R. Jolly, and H. J. Bohnert. 2004. Loss of TIP1:1 aquaporin in *Arabidopsis* leads to cell or plant death. *The Plant J* 40: 845-859.
- Mesuita, A. C., L. E. M. de Olivera, P. Mazzfera, and N. Delu-Filho. 2006. Anatomical characteristics and enzyme of the sucrose metabolism and relation with latex yield in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Braz J Plant Physiol* 18(2):263-268.
- Pujade-Renaud, V., A. Clement, C. Perrot-Rechenmann, J. C. Prevot, H. Chrestin, J. L. Jacob, and J. Cuern. 1994. Ethylene-induced increase in glutamine synthetase activity and mRNA levels in *Hevea brasiliensis* latex cells. *Plant Physiol* 105:127-132.
- Salveit, M. E. and Dilley. 1978. Rapidly induced wound ethylene from excised segmen of etiolated *Pisum sativum* L cv Alaska. I. Characterization of the response. *Plant Physiol* 61(3): 447-450.
- Siefrit, F., A. Biela, M. Eckert, B. Otto, N. Uelein, and R. Kaldenhoff. 2001. The tobacco plasma membrane aquaporin NtAQP1. *J of Exp Bot* 52(363): 1953-1957.
- Silpi, U., A. Laconte, and P. Kasempsap. 2007. Carbohydrate reserves as a competing sink: evidence from tapping rubber trees. *Tree Physiol* 27: 881-889.
- Suarez, M. F., C. Avila, F. Gallado, F. R. Canton, Garcia-Gutierrez, M. G. Claros, and F. M. Canovas. 2002. Molecular and enzymatic analysis of ammonium assimilation in woody plant. *J of Exp Bot* 53(370): 891-940.
- Sumarmadji. 1999. Respon fisiologi dan produksi lateks beberapa klon tanaman karet terhadap stimulasi etilen. Disertasi Doktor, Program Pascasarjana, IPB, Bogor.
- Sumarmadji. 2000. Sitem eksploitasi tanaman karet yang spesifik-diskriminatif. *Warta Pusat Penelitian Karet* 19(1-3): 31-39.
- Suvachittanont, W. and Witisuwannakul. 1995. 3-Hydroxy-3-methylglutaril-coenzyme, a synthase in *Hevea brasiliensis*. *Phytochem* 40(3): 757-761.
- Taiz, L. and Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3th edition. Sinauer Associated Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts. 637 p.
- Tistama, R. 2009. Fisiologi penggumpalan lateks pada tanaman karet. *Warta Perkaratan* 28(1): 9-18.
- Tupy, J. 1973. The regulation of invertase activity in the latex of *Hevea brasiliensis*. The effects of growth regulators on bark wounding and latex tapping. *J Exp Bot* 24: 516-523.
- Tungngoen, K., P. Kongsawaworakul, U. Viboonjun, M. Katsuhara, N. Brunel, S. Sakr, J. Naranga, and H. Chrestin. 2009. Involvement of HbTIP1:1, aquaporin in ethylene stimulation of latex yield through regulation of water exchanges between inner liber and latex cells in *Hevea brasiliensis*. *Plant Physiol* 151: 843-856.

- Wang, K. L. C., H. Li, and J. R. Ecker. Ethylene biosynthesis and signalling network. *The Plant Cell*: 131-151.
- Wititsuwannakul, R., P. Pasitkul, P. Jewtragon, and D. Wititsuwannakul. 2008. *Hevea* latex lectin binding protein in C-serum as an anti-latex coagulation factor and its role in proposed new model for latex coagulation. *Phytochem* 69: 656-662.
- Zhu, J. and A. Zhang. 2009. Ethylene stimulation of latex production in *Hevea brasiliensis*. *Plant Sign and Behav* 4(11): 1072-1074.