

Pengaruh Pemberian Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Palea dan Lemma Padi Melalui Kultur *In Vitro*

Kamsinah, Triani Hardiyati dan Sugiyono

Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto

Abstract

A research has been carried out with the aims to: 1. study the influence of both the kind and concentration of cytokinins on palea and lemma growth in *in vitro* culture; 2. study the influence of palea and lemma age towards external application of cytokinin in *in vitro* culture; and 3. determine the best palea-lemma age, kind and concentration of cytokinin which resulted the best growth of palea and lemma in *in vitro* culture. The used experimental method was Completely Randomised Design (CRD) with factorial treatment pattern. The applied treatment consisted of three factors i.e. palea-lemma age (U): (55, 60, and 65 days after planting); kind of cytokinin (S): (BAP and Kinetin); and Cytokinin Concentration (K): (0, 5, 10, and 15 μ M) with 3 replications. The observed variables were the palea and lemma growth with the parameters were palea-lemma length and width. The results showed that the kind of cytokinin had influenced the growth of palea-lemma in *in vitro* culture, and kinetin has better influence on the palea-lemma growth. The age of the palea-lemma determined the responsiveness of the palea-lemma towards external application of cytokinin. Older palea-lemma showed less responsive than younger ones towards external application of plant growth regulators. Moreover, the treatment combination (U1S2K2) (10 μ M Kinetin applied to 55-day-old rice palea-lemma) had the best effect on increasing the size of palea-lemma of IR 64 rice.

Key words: Palea-lemma, *in vitro* culture, BAP, Kinetin

Pendahuluan

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan terpenting di dunia, karena merupakan bahan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk, terutama di negara-negara berkembang di Asia (Liu *et al.*, 1992; Tran, 2001). Konsumen beras meningkat dengan laju sekitar 1,8 % setiap tahunnya (Khush, 1997).

Varietas padi yang memiliki potensi hasil yang tinggi dapat dikembangkan dengan cara meningkatkan jumlah biji per area, meningkatkan berat masing-masing biji, atau kombinasi keduanya. Kariopsis yang berukuran besar dan berat hanya dapat diperoleh ketika ruang yang dibentuk oleh palea dan lemma juga berukuran besar, sehingga memungkinkan kariopsis untuk membesar dan memenuhi ruang yang tersedia. Ukuran biji padi kemungkinan dapat diperbesar dengan cara meningkatkan ukuran palea dan lemma sehingga ruangan yang terbentuk pun menjadi lebih besar dan memungkinkan kariopsis untuk tumbuh lebih besar lagi (Ebenezer *et al.*, 1990; Ebenezer *et al.*, 2001).

Dalam perkembangannya, palea dan lemma telah terdeferensiasi secara sempurna pada saat anthesis, atau bahkan sesaat sebelum anthesis. Struktur tersebut biasanya tidak sensitif terhadap pemberian zat pengatur tumbuh eksternal. Oleh karena itu, usaha untuk mengubah ukuran palea dan lemma harus dilakukan pada tahap awal inisiasi malai (Krishnan *et al.*, 1999; Ebenezer *et al.*, 1990; Ebenezer *et al.*, 2001).

Upaya manipulasi ukuran palea dan lemma dapat dilakukan dengan melalui pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) eksogen atau dengan cara memanipulasi jalur biosintesis zat pengatur tumbuh tersebut melalui teknik rekayasa genetika. Pemberian sitokinin eksogen nampaknya merupakan suatu alternatif yang dapat dipertimbangkan.

Kultur *in vitro* merupakan sistem yang sangat tepat digunakan untuk mempelajari pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan palea-lemma secara *in vivo*.

Dalam sistem kultur *in vitro*, semua faktor lingkungan dikendalikan sehingga respon fisiologis dari palea-lemma dapat lebih mudah diamati.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan: 1. mempelajari pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap pertumbuhan palea dan lemma padi pada kultur *in vitro*; 2. mempelajari pengaruh umur palea dan lemma terhadap penambahan sitokinin eksternal pada kultur *in vitro*; dan 3. menentukan umur, jenis dan konsentrasi sitokinin yang terbaik dalam memacu pertumbuhan palea dan lemma pada kultur *in vitro*.

Materi dan Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan rancangan dasar acak lengkap dengan pola perlakuan faktorial. Perlakuan yang dicobakan terdiri dari tiga faktor : 1. umur malai/palea-lemma (U) yaitu pada umur 55, 60; 65 hari setelah tanam (hst); 2. jenis sitokinin (S) yaitu BAP dan Kinetin; dan 3. konsentrasi sitokinin (K) yang terdiri dari 0, 5, 10 dan 15 μM ; dengan 3 ulangan. Media yang digunakan dalam adalah media MS yang mengandung agar 8 g/L dan sukrosa 20 g/L. Parameter yang diukur adalah panjang dan lebar palea dan lemma. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji F dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 95 % dan 99 %.

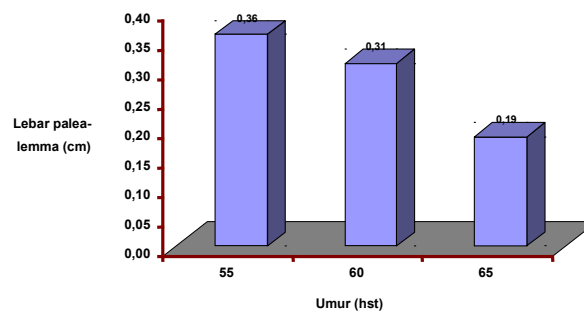
Hasil dan Pembahasan

Matriks hasil analisis ragam data hasil penelitian tertera pada (Lampiran 1). Dari lampiran tersebut terlihat bahwa perlakuan yang dicobakan berpengaruh sangat nyata terhadap ketiga parameter penelitian yaitu pertambahan panjang, lebar dan rasio panjang-lebar palea-lemma. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu BAP dan Kinetin tidak kehilangan aktivitasnya, meskipun sudah mengalami pemanasan pada saat *autoclaving*, dan eksplan yang digunakan masih viabel dan responsif terhadap perlakuan zat pengatur tumbuh eksternal, sehingga mampu tumbuh meskipun dalam kondisi *in vitro*.

Hasil analisis penambahan panjang palea-lemma pemberian sitokinin berpegaruh nyata (Lampiran 1) setelah di uji lanjut (Lampiran 2) ternyata kinetin lebih baik dari pada BAP. Bahwa perkembangan palea dan lemma sangat bergantung pada peran zat pengatur tumbuh tanaman khususnya sitokinin, karena sitokinin berperan merangsang sintesis DNA dan RNA, serta memacu sintesis protein khususnya pada tahap mitosis dan sitokinesis. Meskipun pada beberapa kasus, BAP lebih baik dari kinetin terutama pada pembentukan kalus, regenerasi kalus, induksi dan perpanjangan tunas, namun pada penelitian ini justru kinetin lebih baik dari BAP. Hal tersebut diduga berkaitan dengan fakta bahwa meskipun kinetin belum pernah dapat di isolasi dari jaringan tumbuhan, namun dari hasil-hasil kromatografi ekstrak tumbuhan mengindikasikan adanya zat pengatur tumbuh kinetin pada tubuh tanaman, meskipun dalam taraf konsentrasi yang rendah (Wattimena, 1987), sehingga palea-lemma lebih tanggap terhadap pemberian kinetin. Sedang analisis umur, pemberian sitokinin berpengaruh sangat nyata terhadap perpanjangan palea dan lemma (Lampiran 1 dan 2), umur sangat menentukan responsivitas palea-lemma terhadap perlakuan zat pengatur tumbuh eksogen. Palea dan lemma telah terdefrensiasi secara sempurna pada saat anthesis, atau bahkan saat sebelum anthesis (Ebenezer *et al.*, 2001), setelah anthesis biasanya tidak sensitif terhadap zat pengatur tubuh eksogen (Krishnan *et al.*, 1999, Ebenezer *et al.*, 1990, Ebenezer *et al.*, 2001). Pada palea-lemma mencapai panjang maksimumnya bersamaan dengan waktu pembungaan (anthesis). Pada saat anthesis palea dan lemma membuka sehingga memungkinkan anther keluar yang memakan waktu 1-2,5 jam. Selanjutnya palea dan lemma akan tertutup selama 30 hari seiring perkembangannya kariopsis menuju kedewasaan (Ebenezer *et al.*, 1990, Ebenezer *et al.*, 2001). Bahwa semakin tua umur palea-lemma pertumbuhannya semakin kecil. Hal tersebut mengindikasikan bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh eksogen sebaiknya diberikan sebelum padi berumur 55

hst. Penentuan masa inisiasi malai nampaknya sangat menentukan sehingga perlakuan dapat diberikan sebelum waktu inisiasi malai tersebut. Hasil penelitian ini juga mengindikasikan bahwa inisiasi malai pada padi IR64 terjadi sebelum 55 hst, seperti terlihat dari histogram pengaruh umur terhadap perpanjangan/pelebaran palea-lemma.

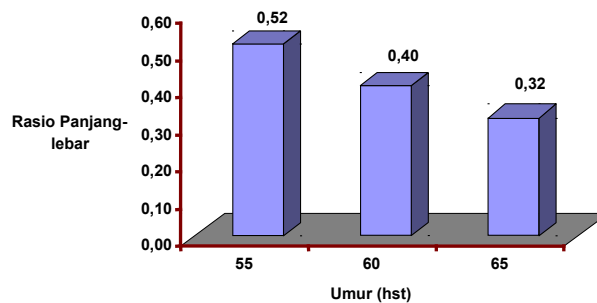
Hasil analisis ragam lebar palea-lemma, pemberian sitokinin menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap pelebaran palea-lemma (Lampiran 1). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pelebaran palea-lemma dipengaruhi oleh umur, jenis sitokinin yang digunakan dan konsentrasi sitokinin yang diberikan. Lebih lanjut, hasil analisis menunjukkan pula bahwa pelebaran palea-lemma sangat dipengaruhi oleh umur, seperti ditunjukkan pula pada hasil Uji Beda Nyata Terkecil (lampiran 2), semakin tua umur palea-lemma, semakin kecil pelebaran yang terjadi (Gambar 1.), dan responsivitas palea-lemma pada 65 hst nampaknya paling kecil. Hal ini sejalan dengan panjang palea dan lemma bahwa semakin tua umur tanaman sitokinin yang diberikan pengaruhnya semakin kecil, karena pembelahan sel terjadi pada bagian yang bersifat embrionik, mengingat bahwa peran zat pengatur tumbuh dalam pembelahan sel adalah mempercepat transisi dari fase G1 (Gap 1) ke S (Synthesis) dan transisi dari fase G2 (Gap 2) ke M (Mitosis) dalam siklus sel. Selain itu, sitokinin juga berperan dalam meningkatkan pembentukan RNA, meningkatkan rasio piliribosom-monosom, meningkatkan afinitas ribosom sebagai cetakan dan afinitas mRNA terhadap ribosom yang ke semuanya akan bermuara pada peningkatan sintesis protein yang sangat diperlukan dalam pembelahan sel (Ordas *et al.*, 1992. Jacobs, 1992).



Gambar 1. Histogram pengaruh umur pada pelebaran palea-lemma
Figure 1. Histogram showing the effect of age on palea-lemma widening

Hasil analisis rasio panjang-lebar palea-lemma menunjukkan bahwa perlakuan sitokinin yang dicobakan berpengaruh sangat nyata terhadap rasio panjang lebar palea-lemma (Lampiran 1). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa perubahan panjang dan lebar palea-lemma dipengaruhi umur, jenis sitokinin yang digunakan dan konsentrasi sitokinin. Hal ini disebabkan karena terjadinya perubahan ukuran palea-lemma akibat adanya pertumbuhan palea-lemma. Proses perpanjangan dan pelebaran pada dasarnya terjadi karena perubahan ukuran sel atau pertumbuhan sel. Pertumbuhan pada taraf seluler didefinisikan sebagai kenaikan jumlah material hidup yang mengakibatkan peningkatan ukuran sel dan selanjutnya akan mempengaruhi pembelahan sel (Waering dan Phillips, 1981). Pada umur palea-lemma, pemberian sitokinin menunjukkan pengaruh nyata terhadap rasio panjang-lebar palea-lemma, dari hasil uji lanjut (Lampiran 2) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rasio panjang-lebar palea-lemma yang nyata antar palea-lemma pada umur yang berbeda akibat zat pengatur eksogen. Terlihat pula bahwa semakin tua umur palea-lemma rasio panjang-lebar palea-lemmanya (palea-lemma cenderung lebih melebar) (Gambar 2). Hal ini diduga semakin tua umur palea-lemma semakin tidak responsif terhadap perlakuan zat pengatur tumbuh eksogen

sehingga penambahan sitokinin eksogen tidak mampu merangsang perpanjangan dan pelebaran palea-lemma namun demikian 55 hst yang diberi kinetin konsentrasi 10 μ M (U1 S2 K2) menghasilkan penambahan rasio panjang lebar palea-lemma terbesar. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kinetin pada konsentrasi 10 μ M yang dipaparkan ketika umur malai relatif muda cukup efektif untuk merangsang pembelahan dan pembesaran sel secara longitudinal yang berujung pada peningkatan rasio panjang-lebar palea-lemma.



Gambar 2. Histogram pengaruh umur pada rasio panjang-lebar palea-lemma
Figure 2. histogram showing the effect of age on width-length ration of palea-lemma

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah Jenis sitokinin berpengaruh terhadap pertumbuhan palea dan lemma padi pada kultur *in vitro*, dan Kinetin berpengaruh lebih baik terhadap pertumbuhan palea dan lemma padi pada kultur *in vitro*. Umur palea dan lemma menentukan responsivitasnya terhadap penambahan sitokinin eksternal pada kultur *in vitro*, semakin tua umur palea-lemma semakin tidak responsif terhadap pemberian zat pengatur tumbuh eksternal. Kinetin 10 μ M yang diberikan pada saat padi berumur 55 hst (U1S2K2) merupakan kombinasi perlakuan terbaik untuk meningkatkan ukuran panjang palea-lemma.

Daftar Pustaka

- Ebenezer, G.A.I., Amirthalingham, M., Ponsamuel, J., and Dayanandan, P., 1990. Role of palea and lemma in the development of rice caryopsis. *Journal of Indian Botany Society* 69: 245 – 250
- Ebenezer, G.A.I., Krishnan, S., and Dayanandan, P., 2001. Structure of rice caryopsis in relation to strategies for enhancing. *In* Peng, S. and Hardy, B. (editors). *Rice Research For Food, Security and Poverty Alleviation*. Proceeding of the International Rice Research Conference, 31 March - 3 April 2000. Los Banos Philippines. Los banos (Philippines). International Rice Research Institute. 692 p.
- Jacobs, T., 1992. Reviews: Control of the Cell Cycle. *Developmental Biology* 153: 1 - 15.
- Khush, G.S., 1997. Origin, dispersal, cultivation of rice. *Plant Molecular Biology* 35: 25-34.
- Krishnamoorthy, H.N., 1981. Plant growth substances including applications in agriculture. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi.
- Krishnan, S., Azhakanandam, K., Ebenezer, G.A.I., Samson, N.P., and Dayanandan, P., 1999. Brassinosteroids and benzylaminopurine increase yield in IR50 indica rice. *Current Science* 76(2): 145 - 147.

- Liu, C.N., Li, X.Q., and Gelvin, S.B., 1992. Multiple copies of *virG* enhance the transient transformation of celery, carrot and rice tissues by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Molecular Biology* 20: 1071-1087.
- Ordas, R.J., Fernandez, B., and Rodriguez, R., 1992. Benzyl Adenin Controlled Protein Synthesis and Growth in Apple Cell Suspensions. *Physiologia Plantarum* 84 (2): 229-235.
- Tran, D.V., 2001. Closing the rice yield gap for food security. *In*. Peng, S., and Hardy, B., (Editors). Rice research for food security and poverty alleviation. Proceeding of the International Rice Research Conference, 31 March - 3 April 2000, Los Banos, Philippines. Los Banos (Philippines): International Rice Research Institute. 692 p.
- Wareing, P.F., and Phillips, I.D.J., 1981. Growth and differentiation in plant (3rd edition). Pergamon Press, Oxford.
- Wattimena, G.A., 1987. Diktat Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB, Bogor.

Lampiran 1. Matriks hasil analisis ragam data hasil penelitian
Annex 1. Matrices of ANOVA analysis on research data

Sumber ragam	dB	Panjang			Lebar			Rasio panjang-lebar			F Tabel				
		JK	KT	Fhitung	JK	KT	Fhitung	JK	KT	Fhitung					
Perlakuan	20	1.9571	0.09785	4.05	**	0.98143	0.04907	4.1508	**	1.366	0.068	4.237	**	1.84	2.37
	2	1.1394	0.56970	23.6	**	0.33677	0.16838	14.2429	**	0.414	0.207	12.849	**	3.23	1
	6	0.3928	0.06546	2.71	*	0.21497	0.03583	3.0305	*	0.328	0.055	3.393	**	2.4	3.29
	12	0.4249	0.03541	1.46	ns	0.42970	0.03581	3.0289	**	0.624	0.052	3.224	**	2	2.66
Kontrol															
vs ZPT	1	0.0010	0.00103	0.04	ns	0.00960	0.00960	0.8123	ns	0.089	0.089	5.528	*	4.08	7.31
BAP vs															
Kinetin	1	0.1120	0.11202	4.63	*	0.13869	0.13869	11.7312	**	0.003	0.003	0.162	ns	4.08	7.31
BAP															
Lin	1	0.1700	0.17002	7.03	*	0.00107	0.00107	0.0903	ns	0.037	0.037	2.284	ns	4.08	7.31
BAP															
Kuad	1	0.1073	0.10734	4.44	*	0.05780	0.05780	4.8891	*	0.030	0.030	1.867	ns	4.08	7.31
Kinetin															
Lin	1	0.0308	0.03082	1.27	ns	0.23207	0.23207	19.6297	**	0.047	0.047	2.937	ns	4.08	7.31
Kinetin															
Kuad	1	0.0347	0.03467	1.43	ns	0.00002	0.00002	0.0019	ns	0.181	0.181	11.252	**	4.08	7.31
Kontrol															
vs ZPT	1	0.1495	0.14949	6.18	*	0.02805	0.02805	2.3727	ns	0.105	0.105	6.494	*	4.08	7.31
BAP vs															
Kinetin	1	0.0304	0.03042	1.26	ns	0.01869	0.01869	1.5808	ns	0.105	0.105	6.506	*	4.08	7.31
BAP															
Lin	1	0.0028	0.00282	0.12	ns	0.00602	0.00602	0.5090	ns	0.043	0.043	2.657	ns	4.08	7.31
BAP															
Kuad	1	0.0421	0.04205	1.74	ns	0.00245	0.00245	0.2072	ns	0.005	0.005	0.296	ns	4.08	7.31
Kinetin															
Lin	1	0.0104	0.01042	0.43	ns	0.01602	0.01602	1.3548	ns	0.160	0.160	9.949	**	4.08	7.31
Kinetin															
Kuad	1	0.0249	0.02494	1.03	ns	0.00534	0.00534	0.4516	ns	0.003	0.003	0.200	ns	4.08	7.31

Sumber ragam	dB	Panjang			Lebar			Rasio panjang-lebar			F Tabel	
		JK	KT	Fhitung	JK	KT	Fhitung	JK	KT	Fhitung		
Kontrol												
vs ZPT	1	0.0051	0.00508	0.21 ns	0.00356	0.00356	0.3014 ns	0.060	0.060	3.723 ns	4.08 7.31	
BAP vs												
Kinetik	1	0.0027	0.00269	3.42 ns	0.00161	0.00161	0.1338 ns	0.068	0.068	4.231 *	4.08 7.31	
BAP												
Kondisi	Lin	1	0.0006	0.00060	0.02 ns	0.07707	0.07707	6.5168 *	0.110	0.110	6.028 *	4.08 7.31
U3 BAP												
Kuad	1	0.0064	0.00642	0.27 ns	0.00380	0.00380	2.8590 ns	0.000	0.000	0.015 ns	4.08 7.31	
Kinetik												
Lin	1	0.0028	0.00282	0.12 ns	0.00602	0.00602	0.5090 ns	0.004	0.004	0.248 ns	4.08 7.31	
Kinetik												
Kuad	1	0.0041	0.00405	0.17 ns	0.00681	0.00681	0.5739 ns	0.000	0.000	0.019 ns	4.08 7.31	
Gadit												
	42	1.0160	0.02419		0.49653	0.01182		0.677	0.016			
Total												
	62	2.9731			1.47797			2.043				

Lampiran 2. Matriks hasil uji beda nyata terkecil beberapa parameter
 Annex 2. matrices of least significant different for some parameters

Perlakuan		Panjang		Lebar		Rasio	
		Rataan		Rataan		Rataan	
Antar Umur	U1	0.550	b	0.359	b	0.517	b
	U2	0.507	b	0.310	b	0.404	b
Kondisi U1	U3	0.245	a	0.185	a	0.319	a
	Kontrol vs ZPT						
	Kontrol	0.567	a	0.307	a	0.358	a
	ZPT	0.547	a	0.368	a	0.544	b
Antar ZPT	BAP	0.468	a	0.280	a	0.532	a
	Kinetin	0.626	b	0.456	b	0.556	a
Kondisi U2	Kontrol vs ZPT						
				LSD=0.097		LSD=0.067	LSD=0.079
	Kontrol	0.300	a	0.220	a	0.231	a
	ZPT	0.541	b	0.324	a	0.433	b
Antar ZPT	BAP	0.500	a	0.357	a	0.509	b
	Kinetin	0.582	a	0.292	a	0.356	a
Kondisi U3	Kontrol vs ZPT						
	Kontrol	0.283	a	0.153	a	0.188	a
	ZPT	0.187	a	0.158	a	0.279	a
Antar ZPT	BAP	0.171	a	0.200	a	0.280	a
	Kinetin	0.307	b	0.181	b	0.403	b