

Kandungan Asam Lemak Rantai Pendek Selama Perkembangan Biji dan Hubungannya dengan Dormansi pada Biji Apel

(Short Chain Fatty Acid Content during Seed Development and Its Relationship to Apple Dormancy)

BAMBANG SAPTA PURWOKO

Jurusan Budi Daya Pertanian Faperta IPB, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144

Diterima 25 April 1995/Disetujui 30 Mei 1995

Short chain fatty acids (SCFA), straight chain carboxylic acids with carbon number between 6-12, have been reported to have a role in dormancy of several species. This study was conducted to determine the change of short chain fatty acid content and its relationship to apple seed dormancy. In the bioassay, nonanoic and decanoic acids inhibited germination of non-dormant embryo at concentration range of $(1-5) \times 10^{-3}$ M. The inhibition could be alleviated by GA₄₊₇. Embryo dormancy started to develop at 105 days after full bloom (DAFB) and fully developed at 120 DAFB. Hexanoic acid was the major SCFA in all seed parts. However, hexanoic acid was considered to be a weak inhibitor. In general, the trend of SCFA content during seed development was either increased or relatively constant. When there was any increase in SCFA content, the increase occurred after the embryo acquired substantial degree of dormancy. It was concluded that SCFA change during seed development did not have a strong role in dormancy induction.

PENDAHULUAN

Biji apel dan spesies lain di dalam famili Rosaceae ada dalam keadaan dorman waktu buah dipanen. Inhibitor telah lama diakui berperan dalam mengendalikan dormansi pada biji apel. Selama ini asam absisat (ABA) dianggap sebagai inhibitor yang berperan dalam dormansi. Bukti yang terkumpul sejauh ini tidak sepenuhnya mendukung bahwa ABA merupakan satu-satunya inhibitor yang bertanggung jawab terhadap induksi dan pemeliharaan dormansi biji apel (Balboa-Zavala dan Dennis, 1977; Powell, 1987; Subbaiah dan Powell, 1992).

Asam lemak rantai pendek (ALRP), yaitu asam karboksilat berantai lurus dengan jumlah karbon 6-12, telah dilaporkan berperan dalam dormansi beberapa spesies di antaranya umbi lapis iris (Ando dan Tsukamoto, 1974), biji oats liar (Berrie *et al.*, 1975 dan 1979), dan biji padi (Majumder *et al.*, 1989). Asam lemak rantai pendek juga telah dilaporkan dapat menghambat perkecambahan (Berrie *et al.*, 1975 dan 1979), biji padi (Majumder *et al.*, 1989), biji selada (Berrie *et al.*, 1975), embrio apel (Purwoko dan Powell, 1994a), dan pertumbuhan pucuk apel (Rogoyski dan Powell, 1981). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan ALRP pada bagian-bagian biji apel selama perkembangan biji dan kaitannya dengan induksi dormansi.

BAHAN DAN METODE

Bioasai. Biji apel kultivar Northern Spy tahun 1991 digunakan untuk bioasai. Biji dikeluarkan dari buah apel tua

segera setelah dipanen dan disimpan pada suhu ruang sampai digunakan untuk bioasai. Biji apel diimbibisikan semalam, disterilkan dengan natrium hipoklorit (Clorox), dibilas dengan air yang telah dideionisasi. Biji distratifikasi pada suhu $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$ dalam keadaan gelap di dalam cawan Petri yang telah diisi dengan kertas filter Whatman No. 42 dan 6 ml air dideionisasi. Embrio yang digunakan untuk bioasai adalah embrio nondorman yang dikeluarkan dari biji yang telah distratifikasi selama 40 hari.

Asam lemak rantai pendek yang dicoba ialah asam nonanoat (C9) dan asam dekanooat (C10) dengan tingkat konsentrasi: 0, 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 3×10^{-3} , 5×10^{-3} , dan 7×10^{-3} M. Perlakuan pada percobaan pengaruh asam giberelat (GA)₄₊₇ dan C10 ialah: konsentrasi GA₄₊₇ 0, 10^{-5} , dan 10^{-4} M, dan konsentrasi C10 0, 1×10^{-3} , dan 5×10^{-3} M. Asam lemak rantai pendek dan GA dilarutkan dalam penyangga suksinat yang telah diberi Tween 80 dan diatur hingga pH 4.9. Pada percobaan bioasai ini, setiap percobaan terdiri atas 6 ulangan. Percobaan diulang dua kali. Embrio dikecambahkan dalam keadaan gelap pada suhu $20 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 14 hari. Kriteria perkecambahan ialah jika radikel telah mencapai lebih dari dua milimeter.

Studi Perkembangan Biji. Pada studi perkembangan biji, diameter buah diukur dan sampel biji dikeluarkan dari buah pada 60, 75, 90, 105, 120, dan 135 hari sesudah berbunga penuh (HSBP). Hari panen komersial untuk buah apel kultivar Northern Spy kira-kira 150-160 HSBP. Biji dikeluarkan dari buah dan disterilkan seperti di atas. Kulit biji dan membran nuselus dibuang untuk pengujian perkecambahan embrio, sedangkan biji utuh digunakan pada pengujian perkecambahan

biji. Sebanyak 20 embrio dan biji masing-masing dengan enam ulangan dikecambahkan seperti pada bioasai tetapi di dalam media air.

Analisis Asam Lemak Rantai Pendek. Untuk analisis ALRP, 40 biji dipisahkan ke dalam bagian-bagian kulit biji, membran nuselus, dan embrio, kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai analisis. Pada percobaan ini digunakan dua ulangan. Ekstraksi dan purifikasi ALRP dilakukan sesuai dengan metode Purwoko dan Powell (1994b). Analisis ALRP secara rutin dilakukan dalam bentuk asam (bukan ester) dengan Kromatografi Gas Hewlett Packard Model 5730A dengan kolom gelas panjang tiga kaki yang telah dipak dengan 10% SP- 216 PS pada 100/120 *Supelcoport*. Laju nitrogen ialah 20 ml/menit. Injektor dan *Flame Ionization Detector* dijaga pada suhu berturut-turut 200°C dan 250°C . Oven diprogram dari $100-190^{\circ}\text{C}$ dengan laju $8^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ tanpa program isothermal pada suhu awal. Suhu akhir 190°C dipertahankan selama 8 menit.

HASIL

Bioasai. Bioasai pengaruh asam nonanoat dan asam dekanat terhadap perkecambahan embrio apel Northern Spy menunjukkan bahwa penghambatan antara kedua ALRP mulai dari $(1-5) \times 10^{-3}$ M (Tabel 1). Penghambatan kedua ALRP tersebut hampir sama kecuali pada konsentrasi 5×10^{-3} M, C10 agak lebih kuat dibandingkan dengan C9. Pada konsentrasi 7×10^{-3} M, radikel mengalami pencoklatan, menandakan adanya toksisitas kedua ALRP pada konsentrasi tersebut. Penghambatan perkecambahan yang diakibatkan oleh C10 dapat diatasi oleh GA_{4+7} , jika konsentrasi C10 1×10^{-3} M. GA_{4+7} tidak dapat mengatasi penghambatan C10 secara penuh pada konsentrasi C10 5×10^{-3} M (Tabel 2).

Perkembangan Biji. Selama periode pengambilan contoh, diameter buah meningkat secara linear dari 4.78 cm pada 60 HSBP sampai 7.53 cm pada 120 HSBP. Pertambahan diameter ini semakin lambat sesudah 120 HSBP. Bobot biji meningkat dari 47.2 mg/biji pada 60 HSBP menjadi 60.3 mg/biji pada 90 HSBP (Tabel 3). Bobot biji tidak banyak berubah sampai dengan 120 HSBP. Pada 135 HSBP bobot biji mengalami penurunan menjadi 55.2 mg/biji, kemungkinan disebabkan pengurangan kadar air selama proses pematangan. Kulit biji mulai berubah warna dari putih menjadi coklat pada 105 HSBP. Semua biji yang diambil pada 135 HSBP berwarna coklat gelap.

Biji dan embrio yang digunakan dalam studi ini dikecambahkan tanpa perlakuan stratifikasi terlebih dahulu. Tidak satupun biji berkecambah. Embrio mulai berkecambah pada 75 HSBP dan mencapai maksimum pada 90 HSBP (29.2%). Pada 105 HSBP, persen perkecambahan embrio mulai berkurang (15.0%) dan mencapai sekitar 3% pada 120 dan 135 HSBP (Tabel 3).

Kandungan Asam Lemak Rantai Pendek Selama Perkembangan Biji. Pada analisis ALRP dapat dideteksi asam heksanoat (C6), asam oktanoat (C8), atau nonanoat (C9), dan asam dekanat (C10). Hanya C6 dan C9 yang disajikan karena kandungan C8 dan C10 sangat rendah. Tidak ada pola yang teratur pada perubahan kandungan asam heksanoat (C6) di dalam embrio selama perkembangan biji (Tabel 4). Perubahan kandungan C6 terlihat tidak nyata (Tabel 5). Kandungan asam nonanoat (C9) di dalam embrio tidak mengalami perubahan yang berarti (Tabel 5).

Tabel 1. Pengaruh Asam Nonanoat dan Asam Dekanoat terhadap Perkecambahan Embrio Apel Kultivar Northern Spy

Molaritas	Perkembangan Embrio Apel (%)	
	Asam Nonanoat C9	Asam Dekanoat C10
0	95.0 ± 1.9	95.0 ± 1.9
5×10^{-4}	95.8 ± 1.5	93.3 ± 1.9
10^{-3}	88.3 ± 1.1	85.0 ± 1.5
3×10^{-3}	75.8 ± 2.2	72.5 ± 3.2
5×10^{-3}	25.0 ± 3.5	6.7 ± 2.8
7×10^{-3}	0	0

Tabel 2. Pengaruh Asam Dekanoat dan Asam Giberelat₄₊₇ pada Perkecambahan Embrio Apel Kultivar Northern Spy

Asam Giberelat ₄₊₇	Perkembangan Embrio Apel (%)		
	Asam Dekanoat		
	0 M	10^{-3} M	5×10^{-3} M
0 M	95.8 ± 1.4	85.8 ± 2.2	16.6 ± 2.8
10^{-3} M	99.1 ± 0.8	99.1 ± 0.8	49.1 ± 7.2
10^{-4} M	99.1 ± 0.8	100.0	58.3 ± 7.8

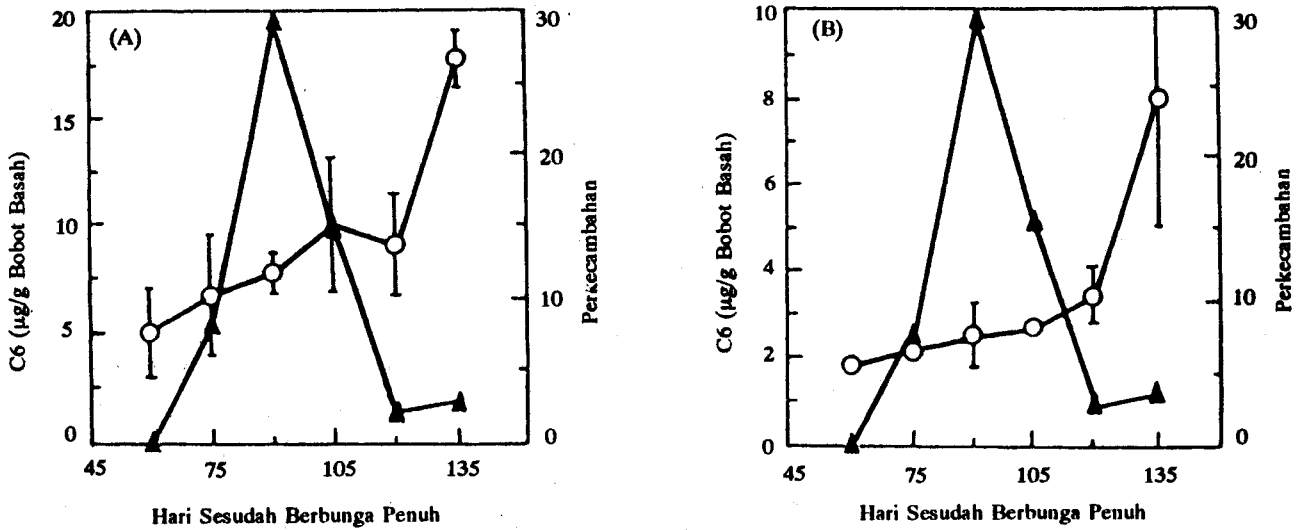
Tabel 3. Diameter Buah, Bobot Biji, Perkecambahan Embrio dan Biji Apel Kultivar Northern Spy Selama Perkembangan Biji

Hari Sesudah Berbunga Penuh	Diameter Buah (cm)	Bobot Biji (mg/biji)	Perkecambahan Embrio (%)	Perkecambahan Biji (%)
60	4.78 ± 0.09	47.2 ± 0.4	0	0
75	5.38 ± 0.13	52.0 ± 0.6	8.3 ± 6.8	0
90	6.06 ± 0.14	60.3 ± 1.1	29.2 ± 8.3	0
105	6.93 ± 0.17	60.2 ± 0.4	15.0 ± 5.0	0
120	7.53 ± 0.1	60.3 ± 0.5	2.5 ± 2.5	0
135	7.55 ± 0.07	55.2 ± 0.6	3.3 ± 2.3	0

Kandungan C6 di dalam membran nuselus meningkat secara linear (Tabel 5) dari 5.18 $\mu\text{g/g}$ sampel pada 60 HSBP menjadi 17.90 $\mu\text{g/g}$ sampel pada 135 HSBP (Tabel 4). Sidik ragam juga menunjukkan bahwa kandungan C9 di dalam membran nuselus meningkat secara linear selama perkembangan biji (Tabel 5). Kandungan tertinggi C6 dan C9 tercapai pada 135 HSBP (Gambar 1).

Kandungan asam heksanoat pada kulit biji cenderung meningkat selama perkembangan biji. Pada 60 HSBP, kandungan C6 adalah 1.7 $\mu\text{g/g}$ sampel menjadi 4.6 $\mu\text{g/g}$ sampel pada 105 HSBP (Tabel 4). Kandungan C9 di dalam kulit biji selama perkembangan biji berkisar antara 0.8 dan 3.0 $\mu\text{g/g}$ sampel. Tidak ada pola yang teratur dalam perubahan kandungan C9 selama perkembangan biji (Tabel 4).

Selama perkembangan biji, terjadi peningkatan kandungan C6 dari 132 ng/biji pada 60 HSBP menjadi 369 ng/biji pada 135 HSBP, walaupun tidak terdapat peningkatan antara 75-105 HSBP (Tabel 6). Kandungan C9 juga mengalami peningkatan dari 31.7 ng/biji pada 60 HSBP menjadi 118.4 ng/biji pada 135 HSBP.



Gambar 1. Hubungan Perkecambahan Embrio dengan Perubahan Kandungan Asam Heksanoat (A) dan dengan Asam Nonanoat (B) dalam Membran Nuselus selama Perkecambahan Biji. Simbol: \circ — C6 atau C9 dalam membran nuselus, \blacktriangle perkecambahan embrio

Tabel 4. Kandungan Asam Lemak Rantai Pendek pada Embrio, Membran Nuselus, dan Kulit Biji Apel Kultivar Northern Spy Selama Perkecambahan Biji

Hari Sesudah Berbunga Penuh	Embrio		Membran Nuselus		Kulit Biji	
	Asam Heksanoat ($\mu\text{g/g}^*$)	Asam Nonanoat ($\mu\text{g/g}^*$)	Asam Heksanoat ($\mu\text{g/g}^*$)	Asam Nonanoat ($\mu\text{g/g}^*$)	Asam Heksanoat ($\mu\text{g/g}^*$)	Asam Nonanoat ($\mu\text{g/g}^*$)
60	3.86 \pm 1.49	0.48 \pm 0.04	5.83 \pm 2.35	1.83 \pm 0.06	1.73 \pm 0.74	0.83 \pm 0.41
75	7.41 \pm 0.95	0.89 \pm 0.31	6.75 \pm 3.06	2.18 \pm 0.08	2.93 \pm 1.49	1.66 \pm 0.67
90	5.90 \pm 0.57	1.63 \pm 0.26	7.88 \pm 1.12	2.42 \pm 0.82	1.85 \pm 1.75	2.97 \pm 1.91
105	4.36 \pm 0.06	1.42 \pm 0.55	10.17 \pm 3.19	2.62 \pm 0.05	4.66 \pm 0.64	1.95 \pm 0.33
120	7.07 \pm 1.65	1.18 \pm 0.08	9.10 \pm 2.53	3.53 \pm 0.70	4.03 \pm 0.74	1.70 \pm 0.00
135	6.70 \pm 1.25	1.28 \pm 0.15	17.9 \pm 1.51	8.02 \pm 3.17	4.65 \pm 0.72	2.56 \pm 0.08

* Dalam bobot basah

Tabel 5. Sidik Ragam Kandungan Asam Lemak Rantai Pendek pada Embrio, Membran Nuselus, dan Kulit Biji Apel Kultivar Northern Spy Selama Perkecambahan Biji

Sumber	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah					
		Embrio		Membran Nuselus		Kulit Biji	
		Asam Heksanoat	Asam Nonanoat	Asam Heksanoat	Asam Nonanoat	Asam Heksanoat	Asam Nonanoat
Hari	5	4.32	0.33	40.39*	10.75*	3.56	1.12
Linear	1	3.85	0.62	153.10**	35.45*	12.21	1.73
Kuadratik	1	0.18	0.71*	18.23	12.97	0.03	0.89
Lack of fit	3	5.87	0.11	10.21	1.78	1.84	1.01
Kelompok	1	1.00	0.52	38.47	0.93	0.04	3.50
Galat	5	2.91	0.10	6.33	4.32	2.93	1.06

* Berbeda nyata (5%), ** Berbeda sangat nyata (1%)

Tabel 6. Kandungan Asam Lemak Rantai Pendek Biji Apel Kultivar Northern Spy Selama Perkecambahan Biji

Hari Sesudah Berbunga Penuh	Asam Heksanoat (ng/biji)	Asam Nonanoat (ng/biji)
60	132.6	31.7
75	248.5	53.2
90	257.7	106.3
105	262.2	87.3
120	333.2	82.9
135	369.6	118.4

PEMBAHASAN

Penghambatan perkecambahan embrio apel oleh C9 dan C10 terjadi pada konsentrasi $(1-5) \times 10^{-3}$ M. Purwoko dan Powell (1994a) telah melaporkan bahwa aktivitas ALRP bergantung pada panjang rantai karbon dan jumlah karbon 9 dan 10 merupakan asam yang terkuat. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Berrie *et al.* (1975) pada biji *oats* liar dan selada, Majumder *et al.* (1989) pada biji padi, dan LePoidevin (1965) pada biji mustard. Purwoko dan Powell (1994a) juga melaporkan bahwa perkecambahan embrio apel pada asam heptanoat (C7) dan oktanoat (C8) konsentrasi 10^{-2} M berturut-turut mencapai 60 dan 50%.

Berrie *et al.* (1975) melaporkan GA₃ dapat mengatasi penghambatan perkecambahan biji selada oleh ALRP (C6 sampai dengan C10). Asam gibberelat telah dilaporkan dapat memecahkan dormansi pada biji apel (Bulard, 1985) dan spesies lain dalam famili Rosaceae seperti *peach* (Diaz dan Martin, 1972), dan *plum* (Lin dan Boe, 1972).

Embrio pada 60 HSBP tidak berkecambah (Tabel 3), kemungkinan embrio tersebut belum sepenuhnya berkembang. Pada 120 HSBP, perkecambahan embrio rendah sesudah mencapai maksimum pada 90 HSBP. Ini menunjukkan bahwa dormansi mulai terjadi pada tahap akhir perkembangan-biji. Tidak berkecambahnya semua biji selama periode perkembangan biji menunjukkan adanya faktor penghambat pada nuselus membran dan kulit biji disamping karena embrio yang dorman.

Dari tiga bagian biji, konsentrasi ALRP tertinggi terdapat pada membran nuselus (Tabel 4). Asam heksanoat adalah ALRP yang paling banyak terdapat pada semua bagian biji. Ini terlihat pada banyaknya C6 per biji (Tabel 6). Ini konsisten dengan hasil yang diperoleh pada analisis ALRP selama stratifikasi (Purwoko dan Powell, 1994b). Telah dilaporkan bahwa asam heksanoat dianggap inhibitor yang lemah di antara rangkaian ALRP dengan rantai karbon 6-12 (Le Poidevin, 1964; Berrie *et al.*, 1975; Ando dan Tsukamoto, 1981; dan Hyodo dan Tanaka, 1982). Konsentrasi ALRP yang paling kuat pada penelitian ini (C9 BM = 158) kurang dari 10^{-4} M yang terdapat pada membran nuselus, sedangkan kandungan C10 (BM = 172; data tidak disajikan) jauh lebih rendah dibandingkan dengan C9. Bioasai menunjukkan bahwa kisaran yang efektif untuk kedua asam tersebut berkisar $(1-5) \times 10^{-3}$ M (Tabel 1).

Kecenderungan perubahan kandungan ALRP pada berbagai bagian biji selama perkembangan biji ialah terjadinya peningkatan atau relatif konstan. Perubahan ini juga terlihat jika data dikonversi ke kandungan ALRP/biji (Tabel 6). Akan tetapi terlihat bahwa kecenderungan ini tidak berhubungan dengan induksi dormansi. Peningkatan ALRP yang cukup besar terjadi pada nuselus membran pada 135 HSBP (Tabel 4; Gambar 1). Pada embrio tidak terjadi peningkatan ALRP (Tabel 5) baik pada asam heksanoat maupun asam nonanoat. Sementara itu embrio sudah dalam keadaan dorman pada 120 HSBP (Tabel 3). Kecenderungan demikian mirip dengan apa yang telah

ditemukan Balboa-Zavala dan Dennis (1977) yang meneliti kandungan ABA pada berbagai bagian biji apel selama perkembangan biji. Temuan ini berlawanan dengan hasil Berrie *et al.* (1979) yang melaporkan peningkatan ALRP selama perkembangan biji *oats* liar sejalan dengan perkembangan dormansi. Walaupun ALRP tidak berperan dalam induksi dormansi, kemungkinan ALRP berperan dalam memperkuat dormansi. Purwoko dan Powell (1994b) yang melakukan analisis ALRP selama stratifikasi melaporkan bahwa ALRP kurang penting dalam proses pemecahan dormansi. Kandungan ALRP mengalami penurunan atau konstan selama stratifikasi pada 5 dan 20°C, tetapi hanya suhu 5°C yang mampu memecahkan dormansi. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ALRP tidak berperan dalam induksi dormansi pada biji apel.

DAFTAR PUSTAKA

- Ando, T. and Y. Tsukamoto. 1974. Capric Acid : a Growth Inhibiting Substance from Dormant *Iris hollandica* Bulbs. *Phytochemistry* 13:1031-1032.
- Balboa-Zavala, O. and F.G. Dennis. 1977. Abscisic Acid and Apple Seed Dormancy. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102:633-637.
- Berrie, A.M.M., D. Buller, R. Don, and W. Parker. 1979. Possible Role of Volatile Fatty Acids and Abscisic Acid in the Dormancy of Oats. *Plant Physiol.* 63:758-764.
- Berrie, A.M.M., R. Don, D. Buller, M. Alam, and W. Parker. 1975. The Occurrence and Function of Short Chain Fatty Acids in Plants. *Plant Sci. Letters* 6:163-173.
- Bullard, C. 1985. Intervention by Gibberellin and Cytokinin in the Release of Embryos from Dormancy : Reappraisal. *New Phytol.* 101:241-249.
- Diaz, D.H. and G.C. Martin. 1972. Peach Seed Dormancy in Relation to Endogenous Inhibitors and Applied Growth Substances. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:651-654.
- Hyodo H. and K. Tanaka. 1982. Inhibition of Ethylene Production by Fatty Acids in Fruit and Vegetable Tissues. *Plant Cell Physiol.* 23:1237-1243.
- LePoidevin, N. 1965. Inhibition of the Germination of Mustard Seeds by Saturated Fatty Acids. *Phytochemistry* 4:525-526.
- Lin, C.F. and A.A. Boe. 1972. Effect of Some Endogenous and Exogenous Growth Regulators on Plum Seed Dormancy. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:41-44.
- Majumder, M.K., D.V. Seshu, and V.V. Shenoy. 1989. Implication of Fatty Acids and Seed Dormancy in a New Screening Procedure for Cold Tolerance in Rice. *Crop Sci.* 29:1298-1304.
- Powell, L.E. 1987. Hormonal Aspects of Bud and Seed Dormancy in Temperate Zone Woody Plants. *HortScience* 22:845-850.
- Purwoko, B.S. and L.E. Powell. 1994a. Short Chain Fatty Acids, Stratification, and Gibberellin Relationships in Apple Embryo Germination. *Buletin Agron.* 22(1):19-29.
- Purwoko, B.S. and L.E. Powell. 1994b. Identification and Analysis of Short Chain Fatty Acid in Apple Seed Parts during Stratification. *Buletin Agron.* (In Press)
- Rogoyski, M.K. and L.E. Powell. 1981. Short-Chain Fatty Acids in Apple, and Their Possible Significance as Growth Inhibitors. *Acta Hort.* 120:37-42.
- Subbaiah, T.K. and L.E. Powell. 1992. Abscisic Acid Relationships in the Chill-Related Dormancy Mechanism in Apple Seeds. *Plant Growth Regul.* 11:115-123.