

Aktivitas Hormon Endogen dalam Buah Anggur *Muscat of Alexandria* Muda Tanpa Biji Hasil Induksi Antibiotika

Endogenous Hormone Activity in Young Seedless Berry of Muscat of Alexandria Grapes Induced by Antibiotics

Winarso Dradjad Widodo¹⁾

ABSTRACT

The experiment was conducted to determine the activity of endogenous hormones in young seedless berry of Muscat of Alexandria (MOA) grapes induced by streptomycin (SM) and spectinomycin (SE). Young berries dipped in 200 ppm M or 200 ppm SE at 3 days before full-bloom and untreated berries were analyzed for the activity of endogenous auxin, cytokinin, gibberellin and abscisic acid (ABA). The experiment was conducted at the Laboratory of Pomology, Faculty of Agriculture, Okayama University, Japan, from February 1999 to August 1999. Both SM and SE treatments did not affect ABA activities of young berries. Cytokinin activity were slightly decreased by SM and SE treatments at 6 days after treatment (DAT) and became more severe at 10 and 13 DAT. The response of berry auxin activity to antibiotic treatment was similar but stronger than cytokinins. Antibiotic treatments significantly decreased the activity of GA at 6 and 10 DAT.

Keywords : Antibiotics, Endogenous hormones, Spectinomycin, Streptomycin

PENDAHULUAN

Pembentukan buah (*fruit setting*) yang dipicu oleh hormon yang terkandung dalam tepung sari dan kemudian pertumbuhannya distimulasi oleh hormon yang terutama disintesis dalam biji muda, telah banyak diteliti (Archbold dan Dennis, Jr., 1985; Gustafson, 1937; Nitsch, 1950; Mapelli *et al.*, 1978; Rotino *et al.*, 1997). Pertumbuhan buah anggur telah dibuktikan dikontrol oleh lima kelompok hormon, yaitu auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat (ABA) dan etilen (Coombe, 1973; Weaver, 1973). Banyak studi telah dilakukan untuk mempelajari hubungan antara kandungan hormon dengan berbagai fase pertumbuhan dan perkembangan buah anggur berbiji dan tidak berbiji (Farmahan dan Pandey, 1976; Iwahori *et al.*, 1968).

Kesimpulan dari berbagai studi itu menunjukkan bahwa biji merupakan faktor penentu pertumbuhan buah dan keberhasilan buah mencapai periode kritis dalam perkembangannya yaitu periode kerontokan buah atau *berry shatter period*. Dengan demikian induksi buah berbiji menjadi tidak berbiji berarti menghilangkan sumber hormon endogen. Banyak peneliti telah membuktikan bahwa jumlah biji di dalam buah menentukan ukuran dan bentuk, kandungan gula dan

asam buah. Penelitian-penelitian tentang hal itu menunjukkan bahwa hormon yang terbentuk di dalam biji, selanjutnya ditranslokasikan ke dinding buah dan mengatur pembelahan sel, pembesaran sel dan perubahan komposisi zat di dalam dinding buah (Coombe, 1960; Inaba *et al.*, 1976; Iwahori *et al.*, 1968; Nitsch *et al.*, 1960).

Antibiotika streptomisin (SM) dan spektinomisin (SE) telah terbukti dapat menginduksi buah tanpa biji pada anggur *Muscat of Alexandria* (MOA) hingga 100% (Widodo *et al.*, 1998; Widodo *et al.*, 1999). Namun demikian, ukuran buah tanpa biji hasil induksi SM dan SE tersebut berukuran sangat kecil, kurang dari 30% ukuran buah berbiji. MOA adalah kultivar dari species *Vitis vinifera* yang sangat peka terhadap efek penebalan dan pengayuan tandan buah bila diberi perlakuan giberelin (GA) untuk pembesaran buah. Jadi meskipun induksi buah tanpa biji dengan antibiotika dapat terjadi, namun tidak dapat dipraktekkan untuk tujuan komersial. Teknik induksi buah tanpa biji ini baru dapat diterapkan untuk MOA bila diketahui metode perlakuan pembesaran buah yang tidak menimbulkan efek samping penebalan dan pengayuan tangkai buah tersebut.

1) Laboratorium Produksi Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Untuk menemukan metode pembesaran buah tersebut informasi yang lebih lengkap tentang kandungan hormon dan kandungan nutrisi buah muda perlu dipelajari. Tujuan percobaan ini adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan antibiotika terhadap kandungan hormon endogen dan kandungan nutrisi buah muda.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Percobaan dimulai pada bulan Pebruari 1999 di kebun anggur percobaan (*research vineyard*) Universitas Okayama, Jepang. Tanaman uji adalah pohon anggur MOA berumur 5 tahun dan ditanam di lapangan pada bed individual dengan sistem budidaya zona akar terbatas di bawah lorong plastik (*plastic tunnel*). Analisis kandungan hormon endogen dan status nutrisi buah muda dilakukan di Laboratorium Pomologi, Fakultas Pertanian, Universitas Okayama.

Perlakuan Antibiotika

Dua macam antibiotika digunakan untuk menginduksi buah tanpa biji, yaitu streptomisin (SM) dalam bentuk AGREPT produksi *Meiji Pharmaceutical Industry* yang mengandung 25% bahan aktif dan spektinomisin (SE). Perlakuan antibiotika dilakukan dengan metode pencelupan tandan bunga ke dalam larutan 200 mg/l SM atau 200 mg/l SE tiga hari sebelum bunga mekar penuh. Tandan bunga tanpa perlakuan antibiotika dijadikan perlakuan kontrol. Setiap perlakuan diberikan kepada delapan tandan bunga.

Pengamatan Pertumbuhan Buah

Pertumbuhan buah diamati pada 3 tandan untuk setiap perlakuan. Dalam setiap tandan ditentukan 10 buah secara proporsional, 3 di pangkal tandan, 4 di bagian tengah tandan dan 3 di bagian ujung tandan. Perubahan pertumbuhan yang diamati adalah diameter buah muda. Pengukuran dengan jangka sorong 'digital' dilakukan setiap minggu sejak 1 minggu hingga 8 minggu setelah bunga mekar penuh (> 50% kuntum bunga setiap tandan mekar).

Analisis Hormon Endogen

Persiapan Bahan Analisa

Bahan analisis berupa buah muda diambil sebagai contoh-ganda (*double sample*) masing-masing berbobot 5 - 10 gram. Pemanenan contoh dilakukan pada 6, 10 dan 13 hari setelah perlakuan (HSP). Buah-buah muda segera dihilangkan tangkainya dan dibersihkan dari sisa-sisa perhiasan bunga sebelum dibekukan dengan cepat dalam nitrogen cair. Buah beku kemudian dihancurkan dan dikeringkan dengan *freeze-dryer* dan kemudian

disimpan pada suhu - 30°C hingga analisis siap dilakukan.

Ekstraksi dan Pemurnian Bahan untuk Analisis Hormon

Ekstraksi dan pemurnian bahan untuk analisis dilakukan sesuai prosedur yang dikembangkan oleh Bertling dan Bangerth (1995). Tepung buah beku disiapkan kira-kira 0.25 g, kemudian diekstraksi selama satu malam dengan methanol 80% pada temperatur 4°C. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan tekanan rendah dan dilarutkan dengan 0.1 M amonium asetat (pH 8) dan dipisahkan dengan kolom 2 tingkat yang berisi polyvinylpyrrolidone (PVP) dan DAE-Sephadex (Pharmacia) serta dieluasi ke dalam C18SERPAK cartridge (*Waters*).

Kolom PVP disiapkan dengan memasukan 2.5 g PVP ke dalam 'syringe-injector' 25 ml yang dasarnya telah dilapisi kertas saring, kemudian dibilas dua kali dengan air bebas ion untuk membersihkan partikel-partikel lembut. Kolom DEAE-Sephadex disiapkan dengan memasukkan 0.5 g DEAE-Sephadex ke dalam 'syringe-injector' 10 ml, kemudian dibilas dua kali dengan 0.1 M amonium asetat. Kolom PVP diletakkan di atas kolom DEAE-Sephadex, kemudian diekualibrasi dengan 15 ml amonium asetat 0.1 M yang diikuti dengan 25 ml amonium asetat 0.01 M. Kemudian satu SERPAK-cartridge dipasang ke dasar kolom DEAE-Sephadex setelah diaktivasi terlebih dahulu dengan methanol dan diekualibrasi dengan asam asetat 0.1 M. Ekstrak kemudian dimasukkan merata di permukaan kolom PVP, kemudian dieluasi dengan 0.01 M amonium asetat.

Eluat yang keluar dari separasi pertama digunakan sebagai bahan analisis aktivitas sitokinin, sedang eluat yang tertahan pada SERPAK cartridge dieluasi dengan 1.5 M asam asetat dan kemudian dengan 40% metanol digunakan untuk analisis aktivitas IAA. Ujung kolom DEAE-Sephadex kemudian ditutup dengan SERPAK cartridge baru yang telah diaktivasi untuk mengeluarkan GA dan ABA dengan mengeluasi kolom dengan 65% methanol dalam 0.1 M asam asetat.

Prosedur analisis aktivitas/kandungan masing-masing hormon endogen, viz. GA, auksin (IAA), ABA dan sitokinin dilakukan sebagai berikut :

1. Analisis aktivitas GA dilakukan dengan uji aktivitas amilase menurut metode dari Coombe *et al.* (1967); dengan GA3 sebagai standar.
2. Analisis aktivitas IAA dilakukan dengan metode *straight growth of avena coleoptile*.
3. Kandungan ABA dianalisis dengan metode kromatografi gas (*GLC-ECD method*).
4. Aktivitas sitokinin (dengan standar ribo-zeatine) dilakukan dengan metode dari Manos dan Goldthwaite (1976).

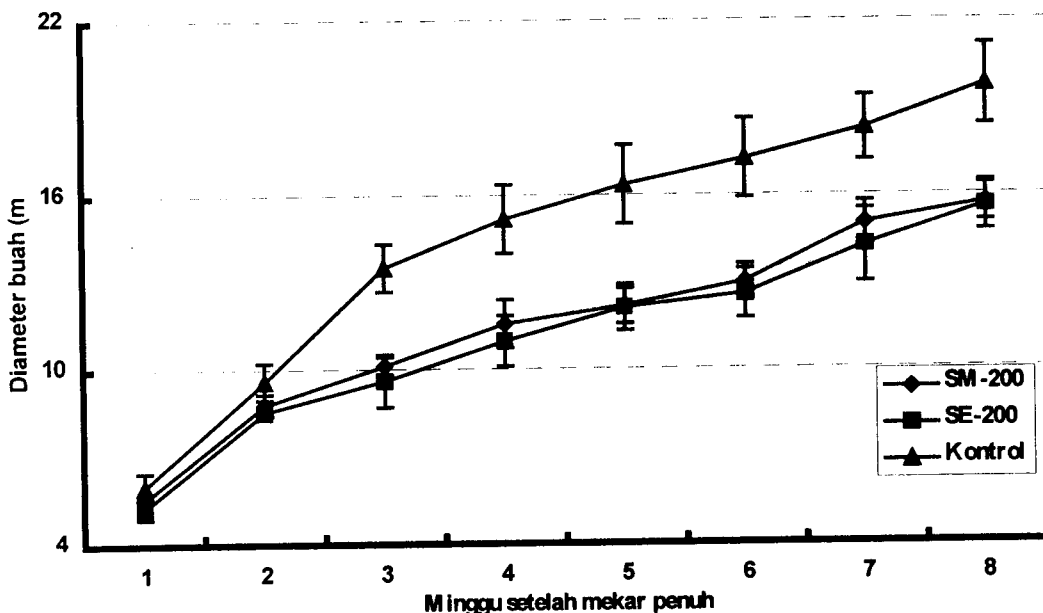
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Antibiotika terhadap Pertumbuhan Buah

Perlakuan SM maupun SE menghambat pertumbuhan buah (Gambar 1). Penghambatan pertumbuhan ini telah dapat dideteksi sejak 3 minggu setelah bunga mekar penuh (24 hari setelah perlakuan). Penghambatan pertumbuhan menjadi semakin kuat dengan bertambahnya umur buah.

Respon penghambatan pertumbuhan ini memberikan indikasi bahwa buah yang diberi perlakuan gagal mencapai kemampuan buah memiliki kekuatan

sink minimal. Hal ini menunjukkan pentingnya keberadaan biji dalam menstimulasi pertumbuhan buah. Biji muda akan tumbuh secara *autocatalytic* setelah menerima pasokan fotosintat sehingga kekuatan *sink* meningkat (Ganeshaiah dan Shaanker, 1994; Shaanker *et al.*, 1995). Peningkatan kekuatan *sink* buah muda distimulasi oleh hormon-hormon promotor yang dihasilkan oleh benih muda. Hal ini membuktikan terjadinya perubahan susunan dan komposisi hormonal dan nutrisi di dalam buah tanpa biji muda sebagai akibat induksi pengguguran biji (*stenopermy*) oleh antibiotika.



Gambar 1. Pengaruh antibiotika terhadap diameter buah anggur MOA 1 hingga 8 minggu setelah bunga mekar penuh; SM : Streptomisin 200 mg/l, SE : Spektomisin 200 mg/l

Pengaruh Antibiotika terhadap Hormon Endogen

Tidak ada perbedaan kandungan ABA yang nyata antara buah dari tandan dengan perlakuan antibiotika dengan buah dari tandan kontrol pada 6 dan 13 hari setelah perlakuan (HSP) (Tabel 1). Pada 10 HSP, perbedaan kandungan ABA menjadi sangat nyata pada 10 HSP; buah berbiji memiliki kandungan ABA hampir

3 kali lipat dibandingkan buah dari tandan perlakuan. Kandungan yang tidak berpola tersebut menunjukkan bahwa ABA bukan merupakan faktor penting dalam menghasilkan buah berukuran kecil. Scienza *et al.* (1978) menemukan adanya dua puncak kandungan ABA dalam pertumbuhan buah, yaitu segera setelah *fruit setting* dan selama proses pematangan. Kandungan ABA juga dilaporkan tidak berhubungan dengan jumlah buah dalam tandan (Cawthon dan Moris, 1982).

Table 1. Pengaruh antibiotika terhadap kandungan ABA dalam buah MOA 3 - 10 hari setelah bunga mekar penuh (ng/g bobot kering)

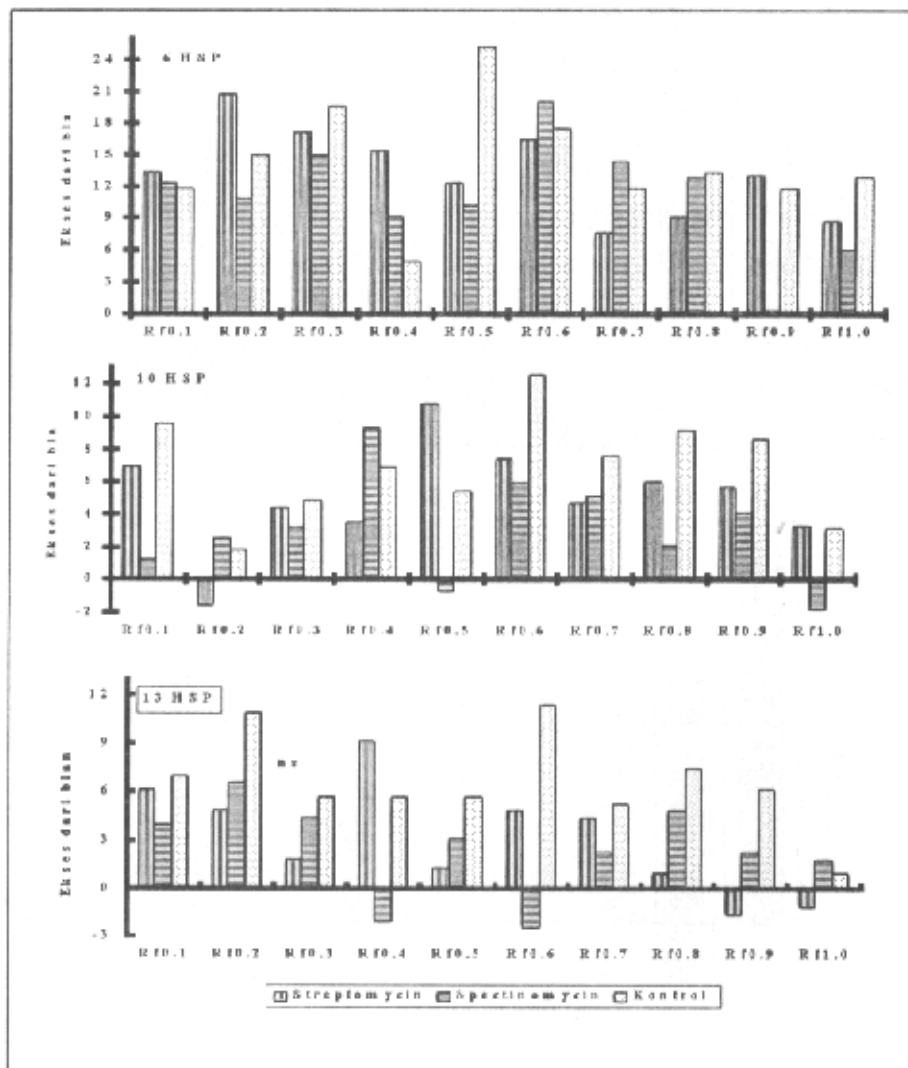
Perlakuan ¹	6 HSP	10 HSP	13 HSP
Kontrol	728	2066a ²	1077
SM-200	973	664b	667
SE-200	550	621b	588

¹ Kontrol : tanpa perlakuan; SM-200: streptomisin 200 mg/l; SE-200: spektinomisin 200 mg/l, HSP : hari setelah perlakuan

² Uji beda nilai tengah dilakukan dengan uji jarak berganda dari Duncan ($p \leq 0.05$); data ditransformasikan ke $y = (x + 0.5)^{0.5}$

Meskipun dengan kecenderungan yang tidak stabil, perlakuan antibiotika menurunkan aktivitas IAA pada 6 hari setelah perlakuan (HSP). Penurunan aktivitas IAA

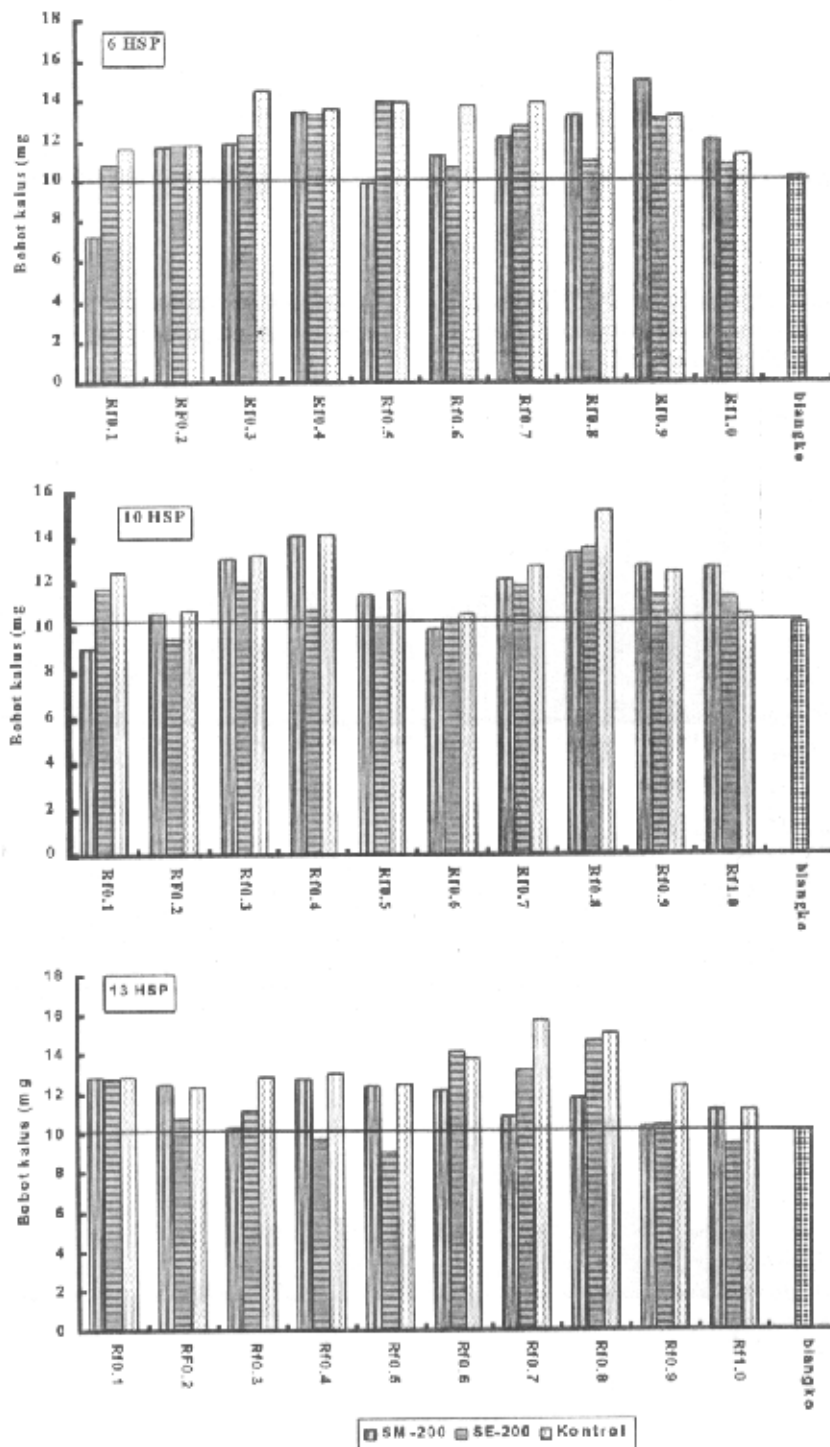
semakin kuat pada 10 dan 13 HSP. Aktivitas IAA sangat rendah tercatat pada Rf 0.6 - Rf 0.9 (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh antibiotik terhadap auksin endogen 6 hingga 13 hari setelah perlakuan (HSP)

Gambar 3. menunjukkan aktivitas sitokin endogen buah. Perlakuan antibiotika sedikit menurunkan aktivitas sitokin pada 6 HSP yang terdeteksi pada Rf0.7 dan Rf0.8. Penurunan aktivitas sitokin pada buah dari tandan yang diberi perlakuan

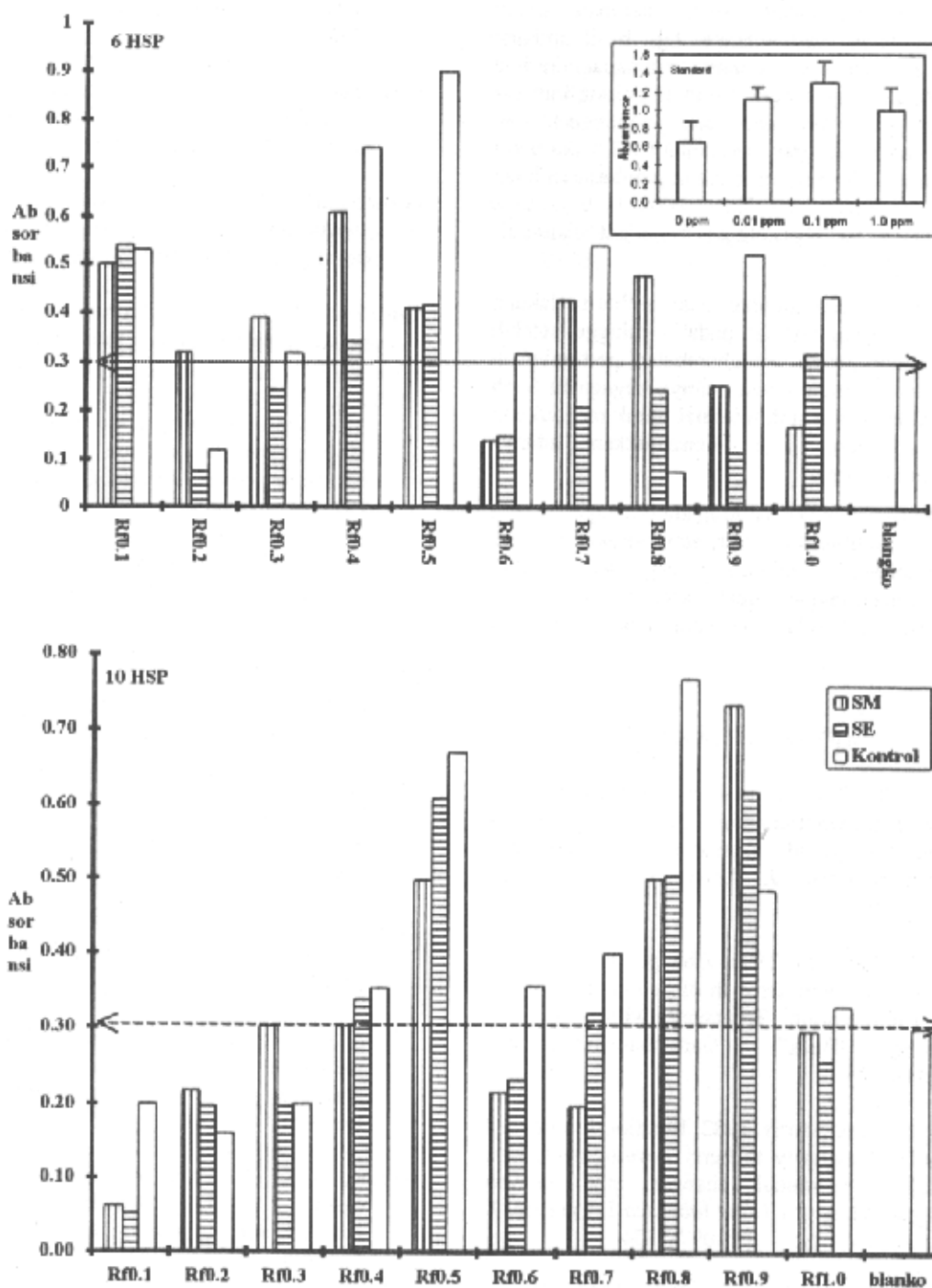
antibiotika menjadi semakin jelas pada 10 dn 13 HSP. Kromatogram Rf0.6 - Rf0.9 dan Rf0.2 - Rf0.3 memberikan pengaruh penekanan antibiotika terhadap aktivitas sitokin yang lebih jelas dibandingkan bagian kromatogram yang lain.



Gambar 3. Pengaruh antibiotika terhadap aktivitas sitokin endogen 6 hingga 13 hari setelah perlakuan (HSP)

Aktivitas GA dari buah tanpa biji muda nyata lebih rendah dibandingkan buah kontrol pada Rf 0.4-0.7 untuk 6 HSP dan Rf 0.4-0.8 pada 10 HSP (Gambar 4). Aktivitas GA yang rendah pada buah tanpa biji muda diduga sebagai penyebab utama penghambatan pertumbuhan buah. Hasil penelitian Gustafson (1937),

Nitsch (1950) dan Shiozaki *et al.* (1995) menunjukkan bahwa buah tanpa biji mempunyai kandungan GA yang lebih rendah dibandingkan buah berbiji *counterpart*-nya karena ketiadaan biji. Lebih lanjut Shiozaki *et al.* (1995) menemukan bahwa perlakuan GA terhadap buah tanpa biji meningkatkan kandungan auksin.



Gambar 4. Pengaruh antibiotika terhadap aktivitas giberelin endogen 6 dan 10 hari setelah perlakuan (HSP)

Aktivitas GA yang rendah ini bila dihubungkan dengan jumlah dan ukuran sel buah muda, menunjukkan hubungan yang sangat erat. Dengan demikian, GA dapat diduga sebagai faktor utama pertumbuhan buah muda, baik langsung dalam pembesaran buah, maupun tidak langsung dengan peningkatan kandungan auksin (Shiozaki *et al.*, 1997; Sugiura dan Inaba, 1967). Jadi perlakuan GA merupakan suatu harapan untuk menghasilkan buah MOA tanpa biji hasil induksi antibiotika agar mencapai ukuran yang dapat diterima konsumen. Akan tetapi karena MOA tergolong kultivar yang sangat peka terhadap efek penebalan dan pengayuan tandan buah dari perlakuan GA, maka perlu diuji konsentrasi GA yang tepat untuk pembesaran buah tersebut.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Penghambatan pertumbuhan buah akibat perlakuan antibiotika mulai terlihat pada 3 minggu setelah bunga mekar penuh. Penghambatan pertumbuhan buah, selain menunjukkan adanya kegagalan buah mencapai kekuatan sink minimal untuk mendukung pengisian buah, juga menunjukkan adanya gangguan hormonal.
2. Aktivitas IAA dan GA lebih nyata dipengaruhi oleh perlakuan antibiotika. Aktivitas sitokinin buah dengan perlakuan antibiotika hanya sedikit lebih rendah dibandingkan buah kontrol, sedangkan kandungan ABA tidak terpengaruh oleh perlakuan antibiotika.

DAFTAR PUSTAKA

- Archbold, D. D., F. G. Dennis Jr. 1985. Strawberry receptacle growth and endogenous IAA content as affected by growth regulator application and achene's removal. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110:816-820.
- Bertling, I., F. Bangerth. 1995. Changes in Hormonal Pattern of the New Growth of *Sclerocarya birrea* after Rejuvenation Treatment with GA₃ and "Heading Back". *Gartenbauwissenschaft.* 60:S.119-124.
- Cawthon, D. L., J. R. Moris. 1982. Relationship of seed number and maturity to berry development, fruit maturation, hormonal changes, and uneven ripening of 'Concord' (*Vitis labrusca* L.) grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107:1097-1104.
- Coombe, B. G., D. Cohen, L. G. Paleg. 1967. Barley endosperm bioassay for gibberellins. I. Parameters of the response system. *Plant Physiol.* 42:105-112.
- Coombe, B. G. 1960. Relationship of growth and development to changes in sugars, auxins, and gibberellins in fruit of seeded and seedless varieties of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* 35:241-250.
- Coombe, B. G. 1973. The regulation of set and development of the grape berry. *Acta Hort.* 1:261-271.
- Farmahan, H. L., R. M. Pandey. 1976. Hormonal regulation of the lag phase in seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 15:227-235.
- Ganeshaiah, K. N., R. U. Shaanker. 1994. Seed and fruit abortion as a process of self organization among developing sinks. *Plant Physiol.* 91:81-89.
- Gustafson, F. G. 1937. Parthenocarphy induced by pollen extracts. *Amer. J. Bot.* 24:102-107.
- Inaba, A., M. Ishida, Y. Sobajima. 1976. Changes in endogenous hormone concentrations during berry development in relation to the ripening of Delaware grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 45:245-252.
- Iwahori, S., R. J. Weaver, R. M. Pool. 1968. Gibberellin-like activity in berries of seeded and seedless Tokay grapes. *Plant Physiol.* 43: 33-337.
- Manos, P. J., J. Goldthwaite. 1976. An improved cytokinin bioassay using cultured soybean hypocotyl sections. *Plant Physiol.* 57:894-897.
- Mapelli, S., C. Frova, G. Torti, G. P. Soressi. 1978. Relationship between set, development and activities of growth regulators in tomato fruits. *Plant and Cell Physiol.* 19:1281-1288.
- Nitsch, J. P. 1950. Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. *Amer. J. Bot.* 31:-211-215.
- Nitsch, J. P., C. Pratt, C. Nitsch. 1960. Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development. *Amer. J. Bot.* 47:566-576.
- Rotino, G. L., E. Perri, M. Zottini, H. Sommer, A. Spina. 1997. Genetic engineering of parthenocarpic plants. *Nature Biotechnology.* 15:1398-1401.
- Scienza, A., R. Miravalle, C. Visai and M. Fregoni. 1978. Relationship between seed number, gibberellin and abscisic acid levels and ripening in

- Cabernet Sauvignon grape berries. *Vitis* 17:361-368.
- Shaanker, R. U., K. N. Ganeshaiyah, K. Krishnamurthy. 1995. Development of seeds as self-organizing units: Testing the prediction. *Int. J. Plant Sci.* 156:650-657.
- Shiozaki, S., Y. Ueda, T. Ogata, S. Horiuchi, K. Kawase. 1995. Synergism of Gibberellin and Auxin in 'Delaware' Grape Ovary Development in Vitro. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 63:703-710.
- Shiozaki, S., T. Miyagawa, T. Ogata, S. Hirouchi, and K. Kawase. 1997. Differences in cell proliferation and enlargement between seeded and seedless grape berries induced parthenocarpically by gibberellin. *J. Hort. Sci.* 72:705-712.
- Sugiura, A., A. Inaba. 1967. Studies on the mechanism of gibberellin-induced seedlessness of Delaware grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 35:31-39.
- Weaver, R. J. 1973. Altering set and size of grapes with growth regulators. *Acta Hort.* 1:275-278.
- Widodo, W. D., G. Okamoto, K. Hirano. 1998. The effects of bactericidal and bacteriostatical antibiotics on seedless ness in grapevines. *Suppl. J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 67:79.
- Widodo, W. D., G. Okamoto, K. Hirano. 1999. Effects of Application Date of Antibiotic on Seedless ness and Berry Size in 'Muscat of Alexandria' and 'Neo Muscat' Grapes. *Sci. Reports Fac. Agric. Okayama Univ.* 88:73-78.
- Widodo, W.D. 2000. Antibiotik sebagai Indikator Buah tanpa Biji pada Anggur. *Buletin Agronomi.* 28(1) : 27-36.