

Perubahan fisiologi dan biokimia semasa penyimpanan dan kemasakan buah betik

(Physiological and biochemical changes during storage and ripening of papaya)

M. N. Latifah*, Z. M. Ali** dan H. Lazan***

Kata penunjuk: kadar pernafasan, pengeluaran etilena, aras ACC, aktiviti ACC sintase, ACC oksidase

Abstract

Physiological and biochemical changes in packed and unpacked papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika) fruit were studied during storage at 10 °C for 6 weeks and upon exposure to ambient temperature (25–28 °C) after 2, 4 and 6-week storage periods. Respiration rates and ethylene production of unpacked fruit were always higher than the packed fruit during storage at 10 °C. A similar trend was shown when the fruit were exposed to ambient temperature. Level of internal ethylene, 1-aminocyclopropane carboxylic acid (ACC), activity of ACC synthase and ACC oxidase appeared to be affected by the stage of ripening and degree of fruit injury.

Abstrak

Perubahan fisiologi dan biokimia buah betik (*Carica papaya* L. kv. Eksotika) yang dibungkus dan tanpa pembungkus dikaji pada suhu penyimpanan 10 °C selama 6 minggu dan ketika pendedahan pada suhu ambien (25–28 °C) selepas disimpan selama 2, 4 dan 6 minggu. Kadar respirasi dan pengeluaran etilena buah tanpa pembungkus sentiasa lebih tinggi daripada buah yang dibungkus semasa disimpan pada 10 °C. Corak yang sama juga ditunjukkan apabila buah didedahkan pada suhu ambien. Aras etilena dalaman, asid-1-aminosiklopropan karboksilik (ACC), aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase kelihatannya dipengaruhi oleh tahap kemasakan dan kecederaan buah.

Pendahuluan

Penyimpanan buah-buahan pada suhu rendah boleh merencatkan respirasi dan pengeluaran etilena. Dengan itu, tempoh simpan boleh dilanjutkan melalui kesan terhadap perencatan kemasakan. Bagi buah-buahan klimakterik, kemasakan melibatkan peningkatan metabolisme etilena. Proses ini bermula dengan penukaran metionina kepada etilena melalui S-adenosil

metionina (SAM) dan asid-1-aminosiklopropan karboksilik (ACC). Enzim ACC sintase terlibat dalam penukaran SAM kepada ACC, manakala ACC oksidase pula terlibat dalam penukaran ACC kepada etilena.

Pengeluaran etilena boleh juga meningkat apabila kecederaan sejuk berlaku disebabkan oleh keupayaan tisu menghasilkan ACC meningkat seperti yang

*Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI, Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur, Malaysia

**Jabatan Biokimia, Fakulti Sains Hayat, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor, Malaysia

***Jabatan Botani, Fakulti Sains Hayat, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor, Malaysia

Nama penuh pengarang: Latifah Mohd Nor, Zainon Mohd Ali dan Hamid Lazan

©Malaysian Agricultural Research and Development Institute 1996

diperhatikan pada betik (Chan dll. 1985; Ramly dll. 1992; Latifah dll. 1994). Sebaliknya kecederaan sejuk juga akan memperlahan pengeluaran etilena seperti yang diperhatikan pada buah timun (Wang dan Adam 1982) dan avokado (Eak 1983). Kajian ini dilakukan bagi melihat perubahan fisiologi dan biokimia buah betik semasa penyimpanan pada 10 °C dan kemudian pada suhu ambien (25–28 °C). Aspek yang diperhatikan meliputi perubahan respirasi, pengeluaran etilena, aras etilena dalaman, ACC, aktiviti enzim ACC sintase dan enzim ACC oksidase.

Bahan dan kaedah

Buah betik Eksotika pada indeks 2 (5% kuning) untuk kajian ini diperoleh dari Klang, Selangor. Perlakuan operasi rumah pembungkusan (Lam dan Sepiah 1989) telah dijalankan di MARDI, Serdang, Selangor.

Sebanyak 300 biji buah digunakan. Buah-buah ini telah dibahagikan kepada dua perlakuan iaitu buah yang dibungkus dalam beg polietilena (20 cm x 30 cm, 0.04 mm tebal) secara tunggal beserta dengan penyerap etilena (Clean Pack ≈ 20 g) dan buah tanpa pembungkus (buah kawalan). Buah disimpan pada suhu 10 °C selama 6 minggu. Selepas tempoh ini, buah dikeluarkan dari beg polietilena (PE) dan dibiarkan pada suhu ambien (25–28 °C) sehingga masak. Lazimnya, buah masak selepas 4 hari. Selepas pensampelan, buah dipotong kepada tiga bahagian yang sama panjang iaitu bahagian pangkal, tengah dan hujung. Untuk pensampelan tisu, hanya bahagian tengah buah digunakan. Setelah dibuang kulit dan biji, tisu mesokarpa betik dibahagikan kepada tisu mesokarpa dalaman dan luaran (Lazan dll. 1989). Semua tisu dipotong kecil (± 10 g) dan disimpan pada suhu –70 °C untuk menentukan kandungan ACC dan aktiviti enzim ACC sintase. Penentuan ACC oksidase dilakukan terus pada setiap hari pensampelan. Hanya tisu luaran digunakan untuk penganalisan berdasarkan cerapan awal bahawa aktiviti ACC oksidase adalah

tinggi dalam tisu luaran (Chan dan Armstrong 1990; Chan 1991; Latifah 1995).

Penentuan respirasi dan pengeluaran etilena

Kadar respirasi dan pengeluaran etilena diukur sewaktu penyimpanan pada suhu 10 °C dan juga setelah buah didedahkan pada suhu 25–28 °C pada minggu ke-2, ke-4 dan ke-6. Beg PE bagi buah yang dibungkus dibuka semasa suhu 25–28 °C. Respirasi dan pengeluaran etilena pada suhu 10 °C ditentukan setiap 2 hari. Pada suhu 25–28 °C pula, pengukuran dilakukan setiap hari sehingga buah masak atau rosak akibat penyakit dan serangan kulat, ataupun akibat mengalami kecederaan sejuk yang serius. Kadar respirasi dan pengeluaran etilena diukur dengan sistem pengaliran terus manakala kadar respirasi (penghasilan CO₂) dikesan dengan kromatografi gas Varian 1420 yang dilengkapi dengan turus jenis Porapak R 80/100 dengan pengesanan kekonduksian terma. Helium merupakan gas pembawa yang telah ditetapkan pengalirannya pada halaju 30 mL/minit. Suhu turus ditetapkan pada 30 °C. Kromatografi gas Varian 1440 yang dilengkapi dengan turus Porapak T 100/200 dengan pengesanan pengionan nyala digunakan bagi menentukan gas etilena. Gas pembawa ialah nitrogen yang dialirkan pada halaju 30 mL/minit. Suhu turus ditetapkan pada 100 °C.

Penentuan aras etilena dalaman

Aras etilena dalaman buah betik ditentukan selepas buah dipindahkan daripada suhu 10 °C kepada 25–28 °C. Gas etilena diambil daripada rongga buah dengan menggunakan jarum hipodermik yang dilekatkan dengan septa silika-teflon pada bahagian pangkalnya. Jarum tersebut ditusuk ke bahagian rongga buah melalui hujung proksimal buah. Pengambilan gas daripada jarum ini kemudian disuntik ke dalam kromatografi Varian 1440 sama seperti yang telah dilakukan pada pengeluaran etilena.

Penentuan aras asid aminosiklopropan karboksilik (ACC) dan ACC sintase

Pengekstrakan ACC berdasarkan pengubahsuaian kaedah pengekstrakan ACC sintase oleh Mehta dll. (1988). Semua langkah pengekstrakan dilakukan pada suhu -4°C .

Sebanyak 20 g tisu dihomogenkan dalam 30 mL penimbal ekstraksi yang terdiri daripada 20 mM fenilmetilsulfonilfluorida (PMSF), 60 μM leupeptin, 20 mM dithiothreitol (DTT), 200 μM piridoksal-5-fosfat (PDP) dan 100 mM EPPS/KOH (pH 8.5). Penghomogenan dilakukan selama 5 minit dengan menggunakan Edmund Buhler 7400 Tubinger. Hasil homogen diempar pada kelajuan 10 000 putaran/minit selama 20 minit pada suhu 5°C . Sebanyak 4 mL daripada bahagian supernatan ini digunakan untuk menentukan kandungan ACC dan supernatan didialisis untuk menentukan aktiviti ACC sintase. Kandungan ACC ditentukan mengikut kaedah Lizada dan Yang (1979).

Hasil supernatan didialisis selama 12 jam pada suhu 5°C dalam penimbal yang mengandungi 100 mM EPPS/KOH (pH 8.5), 20 mM DTT, 200 μM PDP, 20 mM PMSF, 60 μM leupeptin. Sebanyak 4 mL daripada hasil dialisis ditambah dengan 1.2 mL 50 mM EPPS/KOH (pH 8.5) dan 0.3 mL 50 mM SAM. Campuran tersebut dieram selama 3 jam pada suhu 30°C sambil digoncang pada kelajuan 50 putaran/minit sebelum ditentukan jumlah ACC terhasil mengikut kaedah Lizada dan Yang (1979).

Penentuan aktiviti ACC oksidase

Aktiviti ACC oksidase ditentukan mengikut kaedah Chan (1986) dengan pengubahsuaian pada tempoh pengeraman. Sepuluh kepingan tisu yang bergaris pusat 8 cm dengan ketebalan 3 cm dicampurkan dengan 15 mL penimbal yang mengandungi 1 mM asid aminooksiasetik, 1 mM ACC dan 2% kalium klorida. Pengeraman bagi tindak balas penukaran ACC kepada etilena dilakukan pada suhu 25°C dengan

membiarkan sampel di atas penggoncang dengan kelajuan 120 putaran/minit selama 3 jam. Aktiviti dikesan dengan menyuntik gas etilena yang terhasil ke dalam kromatografi gas Varian 3400 dengan menggunakan turus jenis Haysep Q 80/100' dengan gas pembawa nitrogen yang ditetapkan pengalirannya pada halaju 30 mL/minit. Suhu turus, penyuntik dan pengesan masing-masing 80, 100 dan 200°C . Lengkuk piawai etilena ditentukan dengan menggunakan gas etilena piawai (Alltech Ass. Inc.) pada kepekatan yang ditentukan.

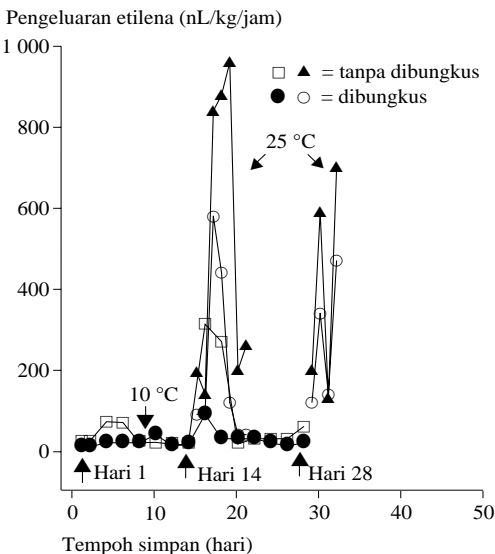
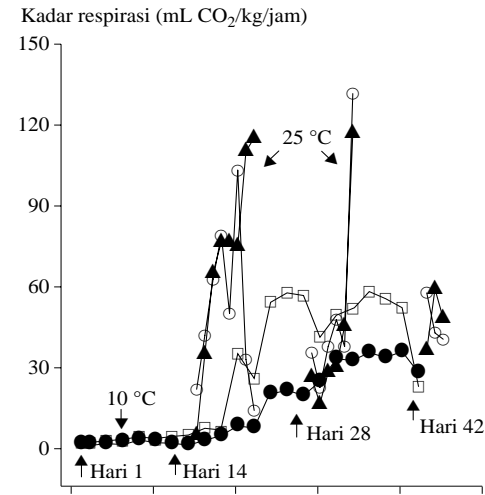
Semua bahan yang digunakan dalam penyelidikan ini bergred analisis. Hasil yang diperoleh merupakan nilai min bagi lima biji buah.

Hasil dan perbincangan

Perubahan kadar respirasi dan pengeluaran etilena

Berdasarkan *Rajah 1*, kadar respirasi dalam buah kawalan dan buah yang dibungkus kelihatan meningkat secara perlahan ketika pada suhu 10°C selama 2 minggu, dan akan meningkat dengan cepat apabila dibiarkan pada suhu $25\text{--}28^{\circ}\text{C}$. Corak yang sama telah juga diperhatikan pada betik kultivar Kundang (Lam 1990) dan pada epal (Larrigaudiere dan Vendrell 1993). Peningkatan respirasi mungkin berkaitan dengan peningkatan dalam keperluan tenaga semasa proses kemasakan (Pratt dan Goeschl 1968), mekanisme pembaikpulihan (wound repair mechanism) dan peningkatan metabolisma asid organik (Mitcham dan McDonald 1993). Peningkatan kadar respirasi didapati lebih tinggi pada buah kawalan berbanding dengan buah yang dibungkus semasa pada suhu 10°C selepas 2 minggu penyimpanan. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh kesan pertumbuhan kulat seperti yang dilaporkan berlaku pada buah belimbing (Lam dan Wan 1983).

Selepas 4 minggu penyimpanan, kadar respirasi kedua-dua perlakuan pada suhu $25\text{--}28^{\circ}\text{C}$ kelihatan semakin berkurangan. Buah yang disimpan selama 6 minggu



Rajah 1. Perubahan kadar respirasi dan pengeluaran etilena buah betik tanpa dibungkus dan dibungkus pada suhu 10 °C dan 25–28 °C

mempamerkan puncak respirasi yang lebih rendah berbanding dengan buah yang disimpan selama 4 dan 2 minggu. Hasil yang diperoleh ini secara tidak langsung menunjukkan bahawa tempoh simpan buah betik pada suhu ambien dipengaruhi oleh tempoh simpan terdahulu pada suhu sejuk.

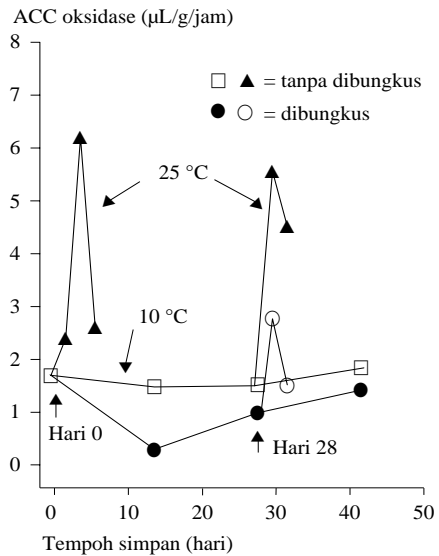
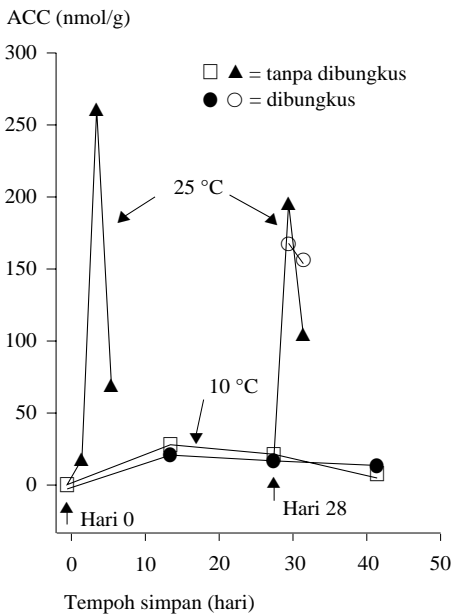
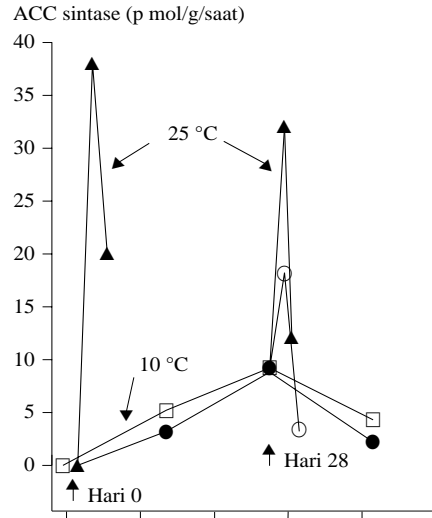
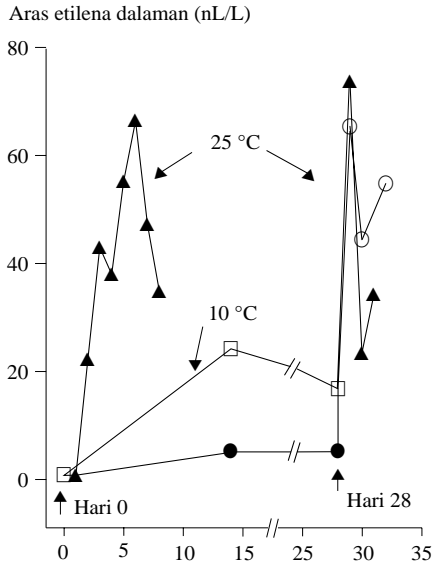
Pengeluaran etilena pada suhu 10 °C kelihatan sentiasa rendah bagi buah yang dibungkus berbanding dengan buah kawalan sepanjang tempoh 4 minggu penyimpanan. Peningkatan dalam pengeluaran etilena

berlaku pada kedua-dua perlakuan apabila buah dipindahkan pada suhu 25–28 °C (Rajah 1). Peningkatan aras etilena pada buah kawalan semasa suhu 10 °C pada minggu kedua mungkin juga dipengaruhi oleh kecederaan sejuk seperti yang berlaku pada buah belimbing (Lam dan Wan 1987), pisang (Pal dan Buescher 1993) dan epal (Wang dan Faust 1992). Pendedahan yang lama pada suhu kecederaan akan meningkatkan sintesis etilena dan pengumpulan ACC. Hal ini seterusnya akan meningkatkan pengeluaran etilena seperti yang diperhatikan pada buah timun (Wang 1982) dan betik (Ramly dll. 1992; Latifah dll. 1994). Walau bagaimanapun, selepas tempoh ini (minggu ketiga hingga minggu keempat), aras etilena merosot sehingga perubahan suhu penyimpanan. Pengurangan pengeluaran etilena mungkin juga disebabkan oleh kecederaan sejuk seperti yang diperhatikan pada buah timun (Wang dan Adam 1982) dan avokado (Eak 1983).

Perubahan aras etilena dalaman

Umumnya, aras etilena dalaman buah kawalan pada suhu 25–28 °C rendah pada peringkat awal penyimpanan iaitu ketika buah pada peringkat 5% kuning (Rajah 2). Keadaan ini disebabkan oleh sintesis ACC dan seterusnya pengeluaran etilena terbatas pada peringkat praklimakterik (Rajah 1, Hoffman dan Yang 1981). Aras etilena mencapai tahap maksimum pada peringkat 75% kuning iaitu hari keenam dan menyusut pada hari ketujuh hingga kelapan ketika buah masak sepenuhnya (75–100% kuning). Keadaan ini berlaku kerana pada peringkat pasca-klimakterik pengurangan dalam keupayaan buah menukar ACC kepada etilena (Yang 1981).

Aras atau magnitud puncak etilena dalaman buah betik Eksotika kelihatannya dipengaruhi oleh tempoh simpan. Buah yang disimpan selama 4 minggu pada suhu 10 °C mempamerkan aras puncak etilena yang lebih tinggi sedikit daripada buah yang disimpan selama 2 minggu. Keadaan ini telah diperhatikan berlaku pada buah



Rajah 2. Perubahan aras etilena dalaman dan ACC buah betik tanpa dibungkus dan dibungkus pada suhu 10 °C dan 25–28 °C

kawalan dan buah yang dibungkus (data tidak ditunjukkan). Corak yang sama juga dilaporkan berlaku pada betik Kapoho Solo yang disimpan pada suhu 5 °C, manakala keadaan yang sebaliknya berlaku pada buah yang disimpan pada suhu 10 °C selama 3 minggu (Chan 1986).

Rajah 3. Perubahan aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase buah betik tanpa dibungkus dan dibungkus pada suhu 10°C dan 25–28 °C

Perubahan aras ACC, aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase

Aras ACC (Rajah 2), aktiviti ACC sintase (Rajah 3) dan ACC oksidase (Rajah 3) buah kawalan pada suhu 25–28 °C kelihatannya rendah semasa peringkat praklimakterik (kulit buah 5–25% kuning). Aras ACC, aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase meningkat apabila buah mencapai peringkat pasca-klimakterik (kulit buah 50–75%

kuning), iaitu pada hari keempat penyimpanan, kemudiannya menyusut apabila buah masak sepenuhnya (kulit buah 75–100% kuning) sama seperti yang diperhatikan pada aras etilena dalaman (*Rajah 2*).

Semasa disimpan pada suhu 10 °C, buah kawalan dan buah yang dibungkus telah mempamerkan aras ACC, aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase yang rendah. Aras dan aktiviti ini meningkat apabila suhu penyimpanan berubah. Corak peningkatan yang berlaku sama seperti pola perubahan bagi pengeluaran etilena (*Rajah 1*) dan aras etilena dalaman (*Rajah 2*) dengan buah kawalan menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi daripada buah yang dibungkus. Keadaan ini mungkin juga berkaitan dengan tahap kemasakan dan kecederaan yang berlaku. Buah kawalan tidak masak seragam walaupun sehingga hari keempat pada suhu ambien, manakala buah yang dibungkus telah masak secara normal (Latifah dll. 1995). Buah kawalan juga mengalami kecederaan sejuk dengan gejala bintik-bintik perang yang ketara sejurus selepas dipindahkan daripada suhu 10 °C. Gejala ini meningkat semasa buah didedahkan pada suhu ambien (Latifah dll. 1995). Kedua-dua gejala kecederaan sejuk ini mungkin telah mempengaruhi corak aras ACC, aktiviti enzim ACC sintase dan ACC oksidase. Kesan yang serupa juga diperhatikan pada betik Eksotika dalam kajian awal (Latifah dll. 1994). Penyusutan mendadak yang berlaku pada hari keempat mungkin ada kaitan dengan kemerosotan yang serius pada sistem membran apabila sel-sel mula mengalami kesenesenan (Yang 1981).

Kesimpulan

Pada suhu 10 °C, pembungkusan buah betik dengan filem polietilena dapat merencat kadar respirasi dan pengeluaran etilena, dengan itu berupaya memanjangkan tempoh simpan buah betik sehingga 6 minggu. Aras ACC dan aktiviti ACC sintase dan ACC oksidase rendah pada suhu 10 °C dan meningkat sejajar dengan kemasakan buah

apabila suhu penyimpanan berubah. Kedua-dua enzim ini kelihatan juga mempengaruhi fenomena kecederaan sejuk dengan mempamerkan peningkatan aktiviti secara mendadak.

Rujukan

- Chan, H. T. (1986). Effect of heat treatment on the ethylene forming enzyme system in papaya. *J. Fd. Sci.* **51**: 581–3
- (1991). Ripeness and tissue depth effect on heat inactivation of papaya ethylene-forming enzyme. *J. Fd. Sci.* **56(4)**: 996–9
- Chan, H. T. dan Armstrong, J. W. (1990). Effect of heat treatment on the delayed light emission and ethylene-forming enzyme system in papaya. *Acta Hort.* **269**: 459–67
- Chan, H. T., Sanxter, S. P. dan Couey, H. H. (1985). Electrolyte leakage and ethylene production induced by chilling injury of papaya. *HortScience* **20(6)**: 1070–2
- Eak, I. L. (1983). Effect of chilling on respiration and ethylene production of 'Hass' avocado fruit at 20 °C. *HortScience* **18**: 235–7
- Hoffman, N. E. dan Yang, S. F. (1982). Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic-acid content in ripening fruits in relation to their production rates. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* **105**: 492–5
- Lam, P. F. (1990). Respiration rate, ethylene production and skin colour change of papaya at different temperatures. *Acta Hort.* **269**: 257–66
- Lam, P. F. dan Sepiah, M. (1989). Pengendalian lepas tuai betik Eksotika untuk pasaran tempatan dan eksport. *Proc. MARDI-MAPPS Johor Bahru*, m.s. 117–24. Serdang: MARDI
- Lam, P. F. dan Wan, C. K. (1983). Climacteric nature of the carambola fruit. *Pertanika* **6(3)**: 181–4
- (1987). Ethylene and carbon dioxide production of starfruit (*Averrhoa carambola*) stored at various temperatures and in different gas and relative humidity atmosphere. *Trop. Agric.* **64(3)**: 181–4
- Latifah, M. N. (1995). Effect of modified atmosphere and low temperature on chilling injury and storage life of papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). Tesis M Sc., Universiti Kebangsaan Malaysia
- Latifah, M. N., Ali, Z. M. dan Lazan, H. (1994). Effect of storage temperature on ethylene metabolism of papaya. *Prosid. Tahunan ke-19 Persatuan Biokimia dan Biologi Molekul Malaysia* (Tema: Cabaran biokimia menuju abad ke-21) 31 Okt.–1 Nov. 1994, Bangi,

- Selangor, m. s. 143–6. Bangi: Persatuan Biokimia dan Biologi Molekul Malaysia
- (1995). Physiological changes in papaya stored at low temperature: Effect of modified atmosphere storage. Kertas kerja yang dibentangkan dalam Persid. Kongres sains dan teknologi Malaysia, 22–25 Ogos 1995, Kuala Lumpur, 7 hlm. Penganjur: Kementerian Sains, Teknologi dan Alam Sekitar, Malaysia
- Larrigaudiere, C. dan Vendrell, M. (1993). Cold-induced activation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in rewarmed ‘Granny Smith’ apples: Consequences on ripening. *Scientia Horticulturae* **55**: 263–72
- Lazan, H., Ali, Z. M., Liang, K. S. dan Yee, K. L. (1989). Polygalacturanase activity and variation in ripening of papaya fruit with tissue depth and heat treatment. *Physiol Plant.* **77**: 93–8
- Lizada, M. C. dan Yang, S. F. (1979). A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal Biochem.* **100**: 140–5
- Mehta, A. M., Jordon, R. L., Anderson, J. D. dan Mattoo, A. K. (1988). Identification of a unique isoform of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by monoclonal antibody. *Proc. Natl Sci. USA* **85**: 8810–14
- Mitcham, E. J. dan Mc Donald, R. E. (1993). Respiration rate, internal atmosphere, and ethanol and acetaldehyde accumulation in heat treated mango fruit. *Postharvest Biology and Technology* **3**: 77–86
- Pal, R. K. dan Buescher, R. W. (1993). Respiration and ethylene evolution of certain fruits and vegetables in response to carbon dioxide in controlled atmosphere storage. *J. Food Sci. Technol.* **30(1)**: 29–32
- Pratt, H. K. dan Goeschl, J. D. (1968). The role of ethylene in fruit ripening. Dalam *Biochemistry and physiology of plant growth substances* (Weightman, F. dan Setterfield, G., penyunting) m.s. 1259–301. Ottawa, Canada: The Runge Press Ltd.
- Ramly, Z., Ali, Z. M. dan Lazan, H. (1992). Chilling injury of papaya fruit: Effect on ethylene metabolism. *Proc. Malaysian Biochem. Soc. Con.* **17**: 61–5
- Wang, C. Y. (1982). Physiological properties and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortScience* **17**: 173
- Wang, C. Y dan Adam, D. O. (1982). Ethylene production by chilled cucumber (*Cucumis sativis* L.). *Physiol. Plant.* **66**: 841–43
- Wang, S. Y. dan Faust, W. (1992). Polyamines in horticulturally hydrolase in fruit ripening. *Physiol. Plant.* **59**: 546–9
- Yang, S. F. (1981). Biosynthesis of ethylene and its regulation. Dalam *Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables* (Friend, J. dan Rhodes, M. J. C., penyunting) m.s. 91–106. London: Academic Press