

BAKTERI ENDOFIT SUMBER PENGHASIL SENYAWA ANTIOKSIDAN

Sogandi, M.Si

BAKTERI ENDOFIT SUMBER PENGHASIL SENYAWA ANTIOKSIDAN

Oleh: Sogandi, M.Si

Hak Cipta © 2020, pada penulis

Dilarang memperbanyak, memperbanyak
sebahagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk
apapun, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Cetakan ke - 01
Tahun 2020
ISBN : 978-602-6723-63-5

Penerbit

Komojoyo Press

Jl. Komojoyo 21A RT11 RW4, Mrican,

Caturtunggal, Depok, Sleman 55281

PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena berkat dan rahmat-Nyalah kami bisa menyelesaikan Bahan Ajar ini tepat pada waktu yang kami rencanakan. Bahan Ajar ini dibuat sebagai salah satu alat bantu mahasiswa farmasi yang menempuh mata kuliah Kimia Bahan Alam dalam mempelajari, dan memahami materi tentang senyawa antioksidan dari sumber alami.

Bahan Ajar ini dapat terselesaikan karena bantuan dari teman-teman sejawat di Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, maka dari itu kami mengucapkan banyak-banyak terima kasih.

Akhir kata mudah-mudahan Bahan Ajar ini ada manfaatnya bagi para pembaca khususnya mahasiswa farmasi yang tertarik akan penelitian dan pengembangan senyawa antioksidan alami.

Jakarta, Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
BAB I	
BAKTERI ENDOFIT	
A. Peran Bakteri Endofit	3
BAB II	
RADIKAL BEBAS	
A. Radikal Bebas.....	8
B. Efek Radikal Bebas.....	9
C. Sumber Radikal Bebas.....	13
BAB III	
ANTIOKSIDAN	
A. Jenis ANtioksidan	19
B. Enzim Antioksidan	22
C. Superoksida Dismutase.....	22
D. Katalase.....	26
E. Glutation Peroksidase	27
F. Senyawa Antioksidan Alami.....	29
G. Peran Senyawa Metabolit Sekunder	31
H. Malondialdehida	38
I. Stres Oksidatif	39
J. Kapasitas Antioksidan	44

BAB IV

ANALISIS SENYAWA ANTIOKSIDAN

A. Kapasitas Antioksidan	47
B. Pengaruh Antioksidan	48
C. Pengukuran Antioksidan dengan DPPH	49
D. Pengukuran Antioksidan Endogen.....	52
E. Analisis Aktivitas Enzim SOD	52
F. Analisis Aktivitas Enzim Katalase (CAT)	53
G. Analisis Aktivitas Enzim Glutation Peroksida (GPx).....	53
H. Analisis Kadar 8-OHdG.....	54
I. Analisis Kadar MDA	56
J. Pemeriksaan dengan metoda Imunohistokimia	57
K. Deteksi Imunohistokimia terhadap Cu, Zn-SOD.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	62

BAB I BAKTERI ENDOFIT

Endofit secara alami merupakan bagian dari tanaman sehat, karena itulah endofit didefinisikan sebagai mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan efek negatif (Ghimire dan Hyde, 2004; Schulz dan Boyle, 2006). Meskipun pada perkembangannya saat ini yang dikategorikan endofit adalah semua mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman baik bersifat netral, menguntungkan maupun merugikan (Backman dan Sikora, 2008).

Endofit umumnya berasal dari golongan jamur ataupun bakteri. Sekitar 300.000 spesies tanaman diketahui merupakan inang endofit dengan berbagai bentuk hubungan seperti simbiosis mutualistik, komensalistik, dan parasitic. Dalam satu tanaman bisa terdapat beberapa spesies bakteri endofit baik gram positif maupun gram negative. Sedangkan jamur endofit umumnya memiliki inang yang spesifik, meskipun ada juga genusgenus seperti *Phomopsis*, *Phoma*, *Colletotrichum*, dan *Phyllosticta* memiliki inang yang cukup luas. Isolasi jamur endofit dari berbagai jenis tanaman yang tumbuh mulai dataran rendah hutan tropik Panama sampai hutan semi kutub

(borealis) di Quebec diperoleh sekitar 1202 isolat jamur endofit (Aly *et al.* 2011).

Endofit dapat berperan sebagai perangsang pertumbuhan tanaman dan meningkatkan hasil melalui produksi fitohormon dan penyedia hara; sebagai penetral kontaminan tanah sehingga meningkatkan fitoremediasi, dan agensia pengendali hayati. Magnani *et al* (2010) menemukan *Enterobacter*, *Kluyvera ascorbata* SUD165 yang mampu merangsang pertumbuhan tanaman dan resisten terhadap logam berat. Ghimire dan Hyde (2004) dalam reviewnya mencatat beberapa fungsi endofit selain yang tersebut di atas, yaitu: mengurangi infeksi nematoda, meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stress, memproduksi metabolit sekunder seperti alkaloid, paxilline, lolitrems dan steroid-steroid kelompok tertraenone.

Melalui kemajuan bioteknologi, saat ini endofit dimanfaatkan sebagai sarana produksi antibiotik untuk keperluan obat dan farmasi, biomasa dan biofuel serta sarana transgenik gen-gen ketahanan. Zhao *et al.* (2010) mendaftar sejumlah jamur endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa-senyawa antikanker maupun antimikroba seperti *paclitaxel*, *podophyllotoxin*, *camptothecine*, *vinblastine*, *hypericin* dan *diosgenin* secara lengkap sehingga sangat bermanfaat bagi dunia farmasi dan kedokteran. Sekitar 100 senyawa metabolit

dihasilkan oleh endofit yang bermanfaat bagi dunia farmasi maupun pertanian selama selama kurun 2000-2007, dan meningkat dengan jumlah yang sama hanya dalam satu tahun.

A. Peran Bakteri Endofit

1. Meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik
Mekanisme endofit dalam merangsang pertumbuhan tanaman belum jelas, kecuali beberapa spesies memiliki kemampuan dalam memproduksi fitohormon seperti etilen, auksin, sitokinin atau meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap hara. Kelompok bakteri yang dikenal menghasilkan fitohormon tersebut antara lain adalah: *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Azotobacter* dan *Azospirillum*. Nassar *et al* (2005) melaporkan endofit jagung dari kelompok khamir, *Williopsis saturnus* mampu menghasilkan hormon perangsang pertumbuhan tanaman, *indole-3-acetic acid* (IAA) dan *indole-3-pyruvic acid* (IPYA).
Bakteri endofit mampu mempertahankan dan meningkatkan kesuburan tanah melalui penyediaan P dan fiksasi N₂. Bakteri pemfiksasi N₂ seperti *Azospirillum*, *Enterobacter cloacae*, *Alcaligenes*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Ideonella dechlorantans* dan *Azoarcus* sp. Akan menyediakan N₂ bagi tanaman-tanaman non-

legume sehingga menurunkan kebutuhan pupuk Nitrogen.

Tekanan *abiotik* seperti kekeringan, suhu tinggi, atau salinitas seringkali menyebabkan tanaman tidak dapat bertahan hidup. Namun, simbiosis endofit dengan tanaman mampu memicu inangnya mengaktifkan sistem pertahanannya. Ada tiga teori yang menjelaskan hal ini. Pertama suatu endofit yang menghasilkan *senyawa oksigen reaktif* untuk mengoksidasi atau denaturasi membran sel inang memicu tanaman meningkatkan ketahanannya terhadap tekanan yang menimpanya. Kedua, endofit merupakan mikroorganisme yang paling banyak menghasilkan berbagai macam antioksidan, asam fenol dan derivatnya. Senyawa-senyawa tersebut berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan luar. Beberapa bakteri endofit menghasilkan enzim deaminase asam 1-aminosiklopropane-1-karboksilik. Enzim tersebut berperan dalam pembentukan etilen pada tanaman. Etilen pada tanaman disintesa ketika tanaman menghadapi tekanan lingkungan, baik biotik maupun abiotik. Ketiga, simbiosis endofit dengan tanaman mampu meningkatkan adaptasi tanaman terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Sebagai contoh, keberadaan jamur *Neotyphodium coenophialum* pada system perakaran tanaman memicu pertumbuhan dan perkembangan akar ke dalam untuk memperoleh hara dan air sehingga

tanaman mampu bertahan dalam kondisi kering dan cepat pulih jika mengalami stres air.

2. Sebagai agensia pengendali hama dan penyakit

Endofit biasanya hidup di dalam jaringan tanaman yang sama dengan bakteri atau jamur penyebab penyakit sehingga sangat cocok sebagai agen pengendali hayati. Jumlah terbesar bakteri endofit berada dalam perakaran, disusul dalam batang dan daun dengan populasi antara 2.0 - 6.0 log₁₀ CFU per g, sementara patogen di dalam jaringan tanaman berkisar 7.0 - 10.0 log₁₀ CFU/g (berat segar) pada tanaman yang rentan. Bakteri endofit mampu mencegah perkembangan penyakit karena memproduksi siderofor menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat racun bagi jamur pathogen atau terjadinya kompetisi ruang dan nutrisi. Bakteri endofit juga memiliki kemampuan untuk mereduksi produksi toksin yang dihasilkan oleh patogen sehingga tidak patogenik terhadap tanaman atau menginduksi ketahanan tanaman terhadap serangan pathogen. Pada kasus tertentu keberadaan bakteri endofit juga mampu berperan sebagai '*disease-suppressive soils*'. Saat ini *Bacillus mojavensis* merupakan bakteri yang dipatenkan sebagai bakteri endofit yang mempunyai peran penting dalam melindungi tanaman dari serangan patogen penyebab penyakit sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman dalam kondisi kering (*drought tolerance*). Kelebihan lainnya adalah *B.*

mojavensis mampu menginfeksi hampir semua spesies tanaman.

Kelompok bakteri endofit yang berperan sebagai agen pengendali hayati cukup banyak, antara lain dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Burkholderia*. Mereka dikenal menghasilkan antibiotik, antikanker, antijamur, anti virus, senyawa volatile, bahkan insektisida. *Bacillus lentimorbus* menghasilkan senyawa alphan dan beta-glucosidase yang bersifat anti jamur sehingga mampu menghambat pertumbuhan patogen *Botrytis cinerea*. Bakteri tersebut juga digunakan untuk melindungi tanaman kentang dari infeksi *Fusarium sambucinum* Fuckel karena adanya senyawa volatile yang bersifat racun bagi jamur tersebut *B. cereus* yang umum ditemukan sebagai bakteri endofit pada kapas (*Gossypium hirsutum*), jagung manis (*Zea mays*), dan tanaman jeruk (*Citrus* spp.) ternyata mampu menghasilkan chitinase untuk mendegradasi dinding sel jamur patogen seperti *F. sambucinum*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, dan *Pythium aphanidermatum*. Selain itu, bakteri ini juga menghasilkan antibiosis dan senyawa perangsang pertumbuhan tanaman.

3. Mekanisme Infeksi dan Perkembangan Endofit dalam Jaringan Inang

Bakteri endofit biasanya masuk pertama kali melalui perakaran sekunder dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektinase, atau bagian atas

tanaman seperti batang, bunga, radikel kecambah, stomata ataupun kotiledon dan daun yang sobek. Bakteri kemudian berkoloni di titik tempat dia masuk atau menyebar ke seluruh bagian tanaman hidup dalam sel, ruang interseluler atau dalam sistem pembuluh. Sumber inokulum jamur endofit umumnya spora yang terbang di udara, namun bisa juga ditularkan melalui biji atau vektor serangga (Ghimire dan Hyde, 2004). Bakteri endofit *Azospirillum brasiliense* maupun mikoriza *Glomus* masuk ke dalam jaringan tanaman tebu melalui akar lateral yang baru tumbuh, kemudian berkembang di dalam jaringan dan merubah dinding sel untuk memfasilitasi endofit lain mengkolonisasi.