

Pengaruh Aplikasi Formula *Pantoea agglomerans* Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Klorofil Daun Tanaman Strawberi

TRISNA AGUNG PHABIOLA¹ DAN KHAMDAN KHALIMI¹

¹Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali 80232. Telp. +62-361-26532. HP: +62-81246750432
Email: agung_trisna@yahoo.co.id

ABSTRACTS

The Application Effect of *Pantoea agglomerans* Formulation on Antioxidant Activities and Chlorophyll Content of Strawberry Leaves

The objectives of this experiment were conducted to evaluate the effectiveness of *Pantoea agglomerans* formulations to increase antioxidant activities and chlorophyll content of strawberry plants. *P. agglomerans* was formulated in the forms of gel and powder. Measurement of peroxidase activity carried out 7 days after application of *P. agglomerans* formulations on strawberry plants. The manner in which the Cohen procedure suggested by Simon and Rose (1970) and has been modified. Total chlorophyll content (SPAD unit) was determined with a chlorophyll-meter SPAD-502. Some growth parameters were observed such as plant height, number of leaves, and leaf area. Results of this study showed that application of *P. agglomerans* formulations could increase the peroxidase activity. Peroxidase activity on treated plants increased by 47.17% to 50.16% in comparison with un-treated plants. Total chlorophyll content on treated plants increased by 23.81% to 28.22% in comparison with un-treated plants. These results suggested that application of *P. agglomerans* formulations could increase the total chlorophyll content and antioxidant activity of strawberry plants.

Key words: *P. agglomerans* formulations, chlorophyll content, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas (Anonimus, 2013; Droge, 2002; Proctor dan Reynolds, 1984). Telah diketahui bahwa radikal bebas dapat memicu terjadinya reaksi berantai, dan apabila di dalam sel terjadi reaksi berantai maka sel akan mengalami kerusakan. Antioksidan dapat mengakhiri reaksi berantai dengan cara menghapus intermediet radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi lainnya. Reaksi oksidasi sangat penting bagi kehidupan tanaman maupun hewan, akan tetapi reaksi oksidasi tersebut dapat merusak sel (Araujo *et al.*, 1998). Tanaman mempunyai mekanisme untuk memelihara system yang kompleks dari

beberapa jenis antioksidan, seperti glutathione, vitamin C, vitamin E, enzim katalase, superoksida dismutase, enzim peroksidase, dan ascorbat peroksidase. Penggunaan oksigen sebagai bagian dari proses untuk menghasilkan energi metabolik yang dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif (SOR). Dalam proses ini, anion superoksida diproduksi sebagai produk sampingan dari beberapa langkah dalam rantai transport electron. Pada tanaman, alga, dan cyanobacteria, SOR juga diproduksi selama fotosintesis khususnya dalam kondisi intensitas cahaya yang tinggi. Pada kondisi tersebut karotenoid dalam photoinhibition melibatkan antioksidan untuk mengurangi atau mencegah produksi SOR (Inoue, 2001).

SOR berasosiasi dengan proses penuaan, kemunduran sel pada sel tanaman dan hewan. SOR juga berperan dalam menginduksi ketahanan terhadap penyakit serta ketahanan terhadap bermacam stres pada tanaman. SOR merupakan produk yang muncul sebagai akibat dari reaksi metabolit normal, berpotensi menguntungkan dan membahayakan bagi tanaman. Efek ganda SOR terhadap tanaman sangat tergantung pada konsentrasinya. Meskipun menjadi bagian dari proses normal metabolisme aerob, akumulasi SOR merupakan sumber kerusakan oksidatif pada sel organisme. SOR diproduksi selama fase aerobik pada fotosintesis dan fotorespirasi. Produksi ROS terjadi di kloroplas berasosiasi dengan rantai transport elektron dan mitokondria rantai transport elektron mitokondria (Allen dan Tressini, 2000).

Produksi SOR mendasari terjadinya perubahan biokimia dan fisiologis yang terjadi pada kondisi stres, yang berikutnya memediasi ketahanan tanaman terhadap stres tersebut. Organel sel mempunyai sistem enzim yang spesifik yang menghasilkan enzim superoksida dismutase, askorbat peroksidase, dan glutathion reduktase di dalam kloroplas. Enzim tersebut berfungsi dalam proses detoksifikasi. Selama proses fotorespirasi, glycolate diproduksi di kloroplas kemudian ditranspor ke peroksisom untuk metabolisme selanjutnya.

Tanaman apabila mengalami stres baik karena faktor biotik maupun abiotik, maka SOR akan terakumulasi didalam sel. Akumulasi SOR akan mengaktivasi sistem pertahanan tanaman. SOR selama infeksi patogen ditekan oleh enzim pendetoksifikasi SOR seperti askorbat peroksidase (APX) dan katalase (CAT). Penekanan ini melibatkan *signalling* oleh asam salisilat (SA) dan nitric oxide (Abate *et al.*, 1990; Albina dan Reichner, 1998). Role of nitric oxide Pada saat yang bersamaan, sel tanaman menghasilkan lebih banyak lagi SOR sampai menyebabkan terjadinya kematian sel, kejadian ini disebut *programmed cell death* (PCD). Induksi PCD akan menghambat penyebaran patogen.

Van Loon *et al.*, (1998) melaporkan bahwa penggunaan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dapat menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik, mekanisme ketahanan alami akan bekerja untuk periode yang lama meskipun populasi rizobakteri penginduksi makin lama semakin menurun. Sedangkan Kishore *et al.*, (2005) melaporkan bahwa peningkatan aktivitas peroksidase 1,5 – 2 kali pada 7 hari setelah induksi oleh PGPR. Oleh karena itu, salah satu aspek yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah mengkaji penggunaan *Pantoea agglomerans* (berperan sebagai PGPR) yang diformulasikan dalam bentuk gel dan powder untuk meningkatkan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil daun pada tanaman stroberi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi formula *P. agglomerans* terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan klorofil daun tanaman stroberi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biopestisida dan di desa Pancasari Kabupaten Buleleng pada bulan Agustus 2012 sampai Januari 2013. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Polimer Penyimpan Air (PPA), media Broth, Spektrofotometer, dan Chlorophyll meter SPAD 502.

Pembuatan *P. agglomerans* Formula Gel

Pembuatan PGPR formula gel dapat dilakukan dengan stater dan PPA yang digunakan sebagai bahan pembawa. Bahan dan Langkah kerja pembuatannya adalah sebagai berikut: bahan yang disediakan adalah 1 liter suspensi *P. agglomerans* yang ditumbuhkan dalam media Broth dan 10 g PPA. Sebanyak 1 liter suspensi *P. agglomerans* dituangkan kedalam 10 g PPA. Setelah kurang lebih 2 jam, larutan stater terserap oleh PPA menjadi gel dan gel sudah siap untuk digunakan.

Pembuatan *P. agglomerans* Formula Powder

Pembuatan formulasi *P. agglomerans* powder dapat dilakukan dengan suspensi *P. agglomerans* dan tepung tapioka yang digunakan sebagai bahan pembawa. Bahan dan Langkah kerja pembuatannya adalah sebagai berikut: bahan yang disediakan adalah 500 ml suspensi *P. agglomerans* dan 1 kg tepung tapioka. Sebanyak 500 ml suspensi *P. agglomerans* dituangkan secara berlahan-lahan kedalam 1 kg tepung tapioka. Setelah bahan tercampur merata, selanjutnya dikemas per 1 kg dalam amplop dan dioven pada suhu 60 °C selama 5 hari. Setelah tepung sudah kering, tepung sudah siap digunakan.

Aplikasi PGPR Formula Gel dan Powder Untuk Penanaman Tanaman Strowberi

Bibit tanaman strowberi yang sudah berumur 2 minggu dipindahkan ke pot, sebelum tanam bibit terlebih dahulu diberi perlakuan PGPR formula gel dan powder dengan dosis 5 dan 10 g/pot. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 ulangan. Setiap perlakuan terdiri dari 10 tanaman, sehingga keseluruhan percobaan berjumlah $5 \times 5 \times 10 = 250$ pot percobaan. Lima jenis perlakuan yang diuji yaitu: 1. *P. agglomerans* formula powder dengan dosis 5 g/pot (5Pw); 2. *P. agglomerans* formula powder dengan dosis 10 g/pot (10Pw) ; 3. *P. agglomerans* formula gel dengan dosis 5 g/pot (5GI); 4. PGPR formula powder dengan dosis 10 g/pot (10GI); 5. Kontrol (tanpa perlakuan *P. agglomerans* formula gel dan powder). Pot yang digunakan berkapasitas 4 kg media tanam.

Pengukuran Aktivitas enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil Daun

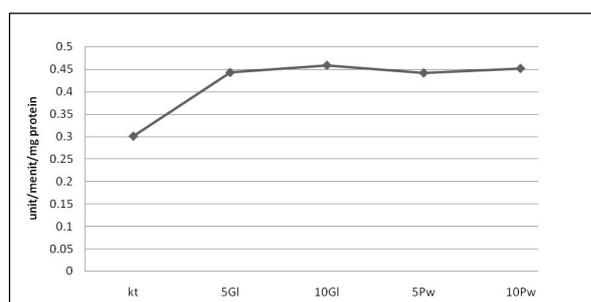
Pengukuran aktivitas peroksidase dilakukan 7 hari dan 15 hari setelah penanaman di pot. Cara yang digunakan adalah prosedur Cohen Cit yang dikemukakan oleh Simons & Ross (1970) dan telah dimodifikasi: Daun strowberi dihancurkan dengan mortar dan ditambah 0,01 M buffer fosfat

pH 6,0 dengan perbandingan 1 : 4. Hasil hancuran disaring dan disentrifugasi selama 30 menit 5000 rpm pada 4°C. Supernatan digunakan sebagai sediaan enzim. Sebelum pengamatan aktivitas enzim, dibuat dahulu larutan pirogalol, (10 ml pirogalol 0,5 M ditambah dengan 12,5 ml buffer fosfat 0,066 M pH 6,0 selanjutnya diencerkan dengan air sampai volume menjadi 100 ml). Sebanyak 0,2 ml sediaan enzim yang telah diencerkan ditambahkan pada pereaksi yang terdiri dari 5 ml larutan pirogalol 0,5 M dan 0,5 ml H₂O₂ 1% di dalam kuvet. Campuran tersebut dihomogenkan selama 5 hingga 10 detik dan diamati dengan spektrofotometer panjang gelombang (λ) 420 nm. Nilai absorbansi diamati setiap 30 detik selama 180 detik. Kadar Protein total dihitung dengan reagen Bradford menggunakan *bovine serum albumin* (BSA; Sigma Aldrich USA) sebagai standar, melalui persamaan regresi. Sebagian lain sediaan enzim diukur nilai absorbansinya menggunakan larutan cooper alkaline dan pereaksi Folin Ciocalteu fenol, dengan spektrofotometer λ 500 nm. Penghitungan unit aktivitas enzim (UAE) yang dinyatakan dengan perubahan nilai absorbansi (Unit menit⁻¹ mg⁻¹ protein), dilakukan sebagai berikut : Nilai absorbansi yang diperoleh dikurangi dengan blanko. Rata-rata atau *slope* nilai absorbansi (b) dari satu pengamatan dicari dengan menggunakan persamaan regresi ($Y = a + bx$). Kandungan klorofil daun ditentukan dengan Chlorophyll-meter SPAD-502 (Konica Minolta, Japan) pada 15 hari setelah tanam. Dalam penelitian ini juga diamati empat parameter pertumbuhan tanaman yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, dan luas daun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula *P. agglomerans* mampu meningkatkan aktivitas enzim peroksidase. Hasil analisis aktivitas peroksidase 7 hari setelah pemberian *P. agglomerans* formula Gel dan Powder menunjukkan bahwa pada perlakuan formula *P. agglomerans* dapat meningkatkan aktivitas

peroksidase dari 0,301 sampai 0,459 unit per menit per mg protein pada 7 hari setelah pemberian formula *P. agglomerans* (Gambar 1). Perlakuan 5 g *P. agglomerans* formula gel dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 47,17% sedangkan perlakuan 10 g *P. agglomerans* formula gel dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 52,49% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Perlakuan 5 g *P. agglomerans* formula powder dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 46,84% sedangkan perlakuan 10 g *P. agglomerans* formula powder dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 50,16% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Khalimi dan Suprpta (2011) melaporkan bahwa tanaman kedelai yang diberi perlakuan 50 g *P. agglomerans* formula gel dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 649,57% sedangkan perlakuan 50 g *P. agglomerans* formula kompos dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase sebesar 489,11% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Sedangkan Umamaheswari *et al.*, (2009) melaporkan bahwa tanaman semangka yang diberi perlakuan *Bacillus subtilis* menunjukkan peningkatan aktivitas enzim peroksidase sebesar 280% dibandingkan dengan tanaman pada perlakuan kontrol.



Gambar 1. Aktivitas enzim peroksidase

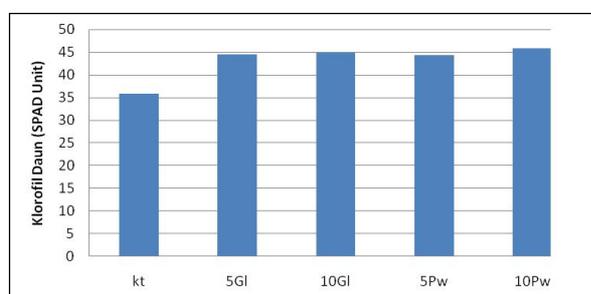
Peroksidase merupakan enzim yang berfungsi mereduksi senyawa peroksida (H_2O_2) sehingga dihasilkan air dan produk yang teroksidasi. Peroksida merupakan produk akhir yang umumnya terbentuk dari metabolisme oksidatif

pada tanaman dan merupakan oksidan yang kuat serta bersifat toksik terhadap sel tanaman jika terakumulasi dalam jumlah besar. Untuk mencegah hal tersebut, sel-sel eukariotik mengisolir enzim penghasil senyawa peroksida dalam organel bermembran yang disebut peroksisom. Dalam peroksisom tersebut juga terdapat enzim peroksidase yang berfungsi untuk mereduksi H_2O_2 menjadi air, sehingga menjadi tidak berbahaya. Dalam proses reduksi tersebut digunakan donor elektron dari amina aromatik, fenol, enediol (seperti ascorbic acid). Enzim peroksidase berperan dalam lignifikasi dinding sel, *cross linking* komponen dinding sel, penyembuhan luka dan oksidasi auksin. Lignifikasi sel merupakan proses terbentuknya lignin pada dinding sel dan proses tersebut melibatkan enzim peroksidase. Keterlibatan enzim peroksidase dalam tahapan polimerisasi lignin diduga secara langsung berkaitan dengan meningkatnya ketahanan fisik tanaman terhadap infeksi patogen maupun kerusakan fisik. Peroksidase penting dalam pembentukan papila terutama dalam proses lignifikasi papila. Papila adalah lapisan pada jaringan sel yang terdiri dari berbagai macam bahan yang terkumpul di antara membran plasma dan dinding sel. Organ ini terbentuk sebagai respon ketahanan tanaman terhadap gangguan pada permukaan sel seperti misalnya penetrasi oleh patogen dan kerusakan mekanis (Huang, 2001). Peroksidase berfungsi dalam ketahanan melalui produksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida secara langsung dapat bersifat toksik terhadap mikroorganisme dan dapat juga berperan dalam memperkuat dinding sel dengan pembentukan prekursor lignin melalui aktivitas enzim peroksidase. Galston dan Davies (1969) melaporkan bahwa selain enzim peroksidase ada beberapa enzim yang terlibat dalam ketahanan terhadap factor biotik dan abiotik seperti, fenilalanin amonialiase, tirosin amonialiase, monofenolase, difenolase, difenol oksidase, dan polifenol oksidase.

Studi ini membuktikan bahwa formula PGPR dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase

sehingga tanaman strowberi lebih tahan terhadap kondisi stress setelah tanaman dipindahkan kedalam pot. Tanaman yang diberi perlakuan PGPR memiliki keadaan metabolisme yang lebih baik sehingga adanya pelukaan akar pada saat pemindahan bibit strowberi kedalam pot tidak menyebabkan tanaman berada dalam keadaan stres. Sebaliknya tanaman yang tidak diberi perlakuan PGPR menjadi stres pada saat pemindahan bibit strowberi kedalam pot.

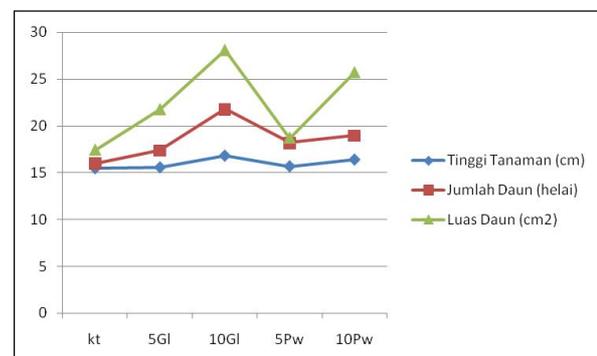
Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa tanaman strowberi yang diberi perlakuan *P.agglomerans* formula gel dan powder memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman control (Gambar 2). Perlakuan 5 g *P. agglomerans* formula gel dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 24.31% sedangkan perlakuan 10 g *P. agglomerans* formula gel dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 25,54% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Perlakuan 5 g *P. agglomerans* formula powder dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 23,81% sedangkan perlakuan 10 g *P. agglomerans* formula powder dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 28,22% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Meningkatnya kandungan klorofil disebabkan karena aktivitas ACC- deaminase pada PGPR memperlambat proses degradasi klorofil atau mungkin juga karena meningkatnya fotosintesis per luas daun dibandingkan dengan tanaman pada kontrol.



Gambar 2. Kandungan klorofil daun strowberi

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Khalimi *et al.*, (2012) bahwa tanaman

padi varietas cicih medan selem yang diberi perlakuan 50 g *P.agglomerans* formula kompos dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 26.76% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Han dan Lee (2005) melaporkan bahwa tanaman *lettuce* yang diinokulasi dengan *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 128C56G dapat meningkatkan total kandungan klorofil daun sebesar 13.91% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Sedangkan Nadeem *et al.*, (2006) melaporkan bahwa perendaman benih jagung dalam suspensi rizobakteri strain S20 dengan kepadatan populasi sebesar 10^8 cfu ml⁻¹ dapat meningkatkan kandungan klorofil daun sebesar 102.22% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman strowberi yang diberi perlakuan PGPR formula gel dan powder lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hal ini tercermin pada variable tinggi tanaman, jumlah daun, dan luas daun yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3).



Gambar 3. Tinggi tanaman, jumlah daun, dan luas daun pada tiap perlakuan

Pertumbuhan tanaman strowberi yang diberi perlakuan *P. agglomerans* lebih baik dari perlakuan kontrol, hal ini karena *P. agglomerans* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dan kandungan klorofil daun pada tanaman strowberi tersebut. Meningkatnya aktivitas antioksidan dan kandungan klorofil daun memberikan efek positif terhadap metabolisme tanaman. Meningkatnya aktivitas antioksidan pada tanaman dapat

meningkatkan toleransi tanaman terhadap kondisi stres akibat faktor biotik maupun abiotik. Sedangkan meningkatnya kandungan klorofil daun memberikan efek positif terhadap meningkatnya fotosintesis per luas daun.

SIMPULAN

1. Perlakuan *P. agglomerans* formula gel dan powder dapat meningkatkan aktivitas peroksidase dari 46,84% sampai 52,49% pada 7 hari setelah pemberian formula gel dan powder.
2. Perlakuan *P. agglomerans* formula gel dan powder dapat meningkatkan kandungan klorofil daun dari 23,81% sampai 28,22% pada 15 hari setelah pemberian formula gel dan powder.
3. Pertumbuhan tanaman stroberi yang diberi perlakuan *P. agglomerans* formula gel dan powder lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hal ini tercermin pada variable tinggi tanaman, jumlah daun, dan luas daun yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2013. Vitamin dan zat mineral. Yayasan Spiritia, Jakarta. <http://spiritia.or.id/>.
- Abate C, Patel L, Raucher FJ III. 1990. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity in vitro. *Science*. 249:1157-61.
- Albina JE, Reichner JS. 1998. Role of nitric oxide in mediation of macrophage cytotoxicity and apoptosis. *Cancer Metastasis Rev*. 17:38-53.
- Araujo V, Arnal C, Boronat M, *et al.* 1998. Oxidant-anti oxidant imbalance in blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Bio Factor*. 8:155-59.
- Allen RG, Tressini M. 2000. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biol Med*. 28:463-99.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82:47-95.
- Galston AW., Davies PJ. 1969. Hormonal regulation in higher plants. *Science* 163(3873):1288–1297.
- Han. H.S., Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, Mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1(3): 210-215
- Huang JS. 2001. Plant pathogenesis and resistance: Biochemistry and physiology of plant-microbe interactions. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Inoue M. 2001. Protective mechanisms against reactive oxygen species. In: Arias IM The liver biology and pathobiology Lippincott Williams and Wilkins 4th-ed. Philadelphia. 281-90.
- Kishore GK, Pande S, Podile AR. 2005. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Letter in Applied Microbiology* 40: 260-268.
- Khalimi K., Suprpta DN. 2011. Induction of plant resistance against Soybean stunt virus using some formulations of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of ISSAAS* 17(1): 98-105.
- Khalimi K., Suprpta DN., Nitta Y. 2012. Effect of *Pantoea agglomerans* on growth promotion and yield of rice. *Agricultural Science Research Journals* 2(5): 240-249.
- Nadeem SM., Zahir ZA., Naveed M., Arshad M., Shahzad SM. 2006. Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. *Soil and Environ*. 25(2): 78-84.

- Proctor PH and Reynolds ES. 1984. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med.* 16:175-95.
- Simons TJ., Ross AF. 1970. Enhanced peroxidase activity associated with induction of resistance to Tobacco mosaic virus in hypersensitive tobacco. *Phytopathological Notes* 60: 383-384.
- Umamaheswari C., Sankaralingam A., Nallathambi P. 2009. Induced systemic resistance in watermelon by biocontrol agents against *Alternaria alternata*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 42(12): 1187–1195.
- Van Loon LC, Bakker PA, Pieterse CMJ. 1998. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. *Biological control of fungal and bacterial plant pathogens* 21: 103-110.