

## PERTANIAN

## RESPON PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN PROTEIN ANTIOKSIDAN BIBIT MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) SETELAH PEMBERIAN POLYETHYLENE GLYCOL (PEG)

### *Growth Response and Antioxidant Protein Content of Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Seedling after Giving Polyethylene Glycol (PEG)*

Y. Nuriyah Alfiyana<sup>1</sup>, Gatot Subroto<sup>1</sup> dan Tri Agus Siswoyo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember (UNEJ)

Jln. Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121

\*E-mail : triagus.faperta@unej.ac.id

#### ABSTRACT

*Drought (water-stress) in plants is a condition which the water deficit can not fulfill the crop needs in the root area. Generally, drought stress affects physiological and morphological aspect. Crop will face disruption during the photosynthetic process because water supply during photosynthesis can not be fulfilled in physiological response. Further, drought stress will severely causes Reactive Oxygen Species (ROS) which can stimulate cell crops damage. Cell damage will encourage the plant to neutralize by producing metabolic compounds such as antioxidant protein. This research is aimed to determine the growth response and the antioxidant protein content in the melinjo seed after the giving of Polyethylene Glycol (PEG) to over come drought stress condition. The research used completely randomized design (CRD) with one factor which has different concentrations of PEG, 0% PEG; 2.5% PEG; 5% PEG and 10% PEG. The parameters observed were plant growth, content of total soluble protein, activity of antioxidant protein and pattern of protein bands. The results of this research showed that the seed growth parameters of melinjo had no significant effect after the giving of PEG except on the crown root ratio and the total chlorophyll content. While, the content of total protein and the activity of antioxidant increased in line with the increasing of PEG concentration giving at 10% PEG obtained content total protein for about 24.34 mg/g. In addition, the ABTS reduction activity was 91.16% with the values of IC<sub>50</sub> was 2.67 ± 0.05 µg/mL. Then, the protein bands pattern showed there was a different pattern on the treatment of 10% PEG.*

**Keywords:** *Melinjo, polyethylene glycol, antioxidant protein, drought stress.*

#### ABSTRAK

Cekaman kekeringan merupakan suatu kondisi di mana kebutuhan air tanaman tidak terpenuhi di daerah perakaran. Cekaman kekeringan pada umumnya dapat mempengaruhi aspek fisiologi dan morfologinya. Secara fisiologi tanaman akan mengalami perubahan dalam proses fotosintesisnya karena air yang dibutuhkan saat fotosintesis tidak terpenuhi, selain itu terjadinya cekaman kekeringan akan mengakibatkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat memacu terjadinya kerusakan sel tanaman. Untuk mencegah terjadinya kerusakan sel, tanaman melakukan netralisir dengan memproduksi senyawa metabolik antioksidan salah satunya berupa protein antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan dan kandungan protein antioksidan pada bibit melinjo umur 3 bulan setelah pemberian senyawa *Polyethylene Glycol* (PEG) untuk mengkondisikan cekaman kekeringan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi PEG berbeda, 0%, 2,5%, 5% dan 10%. Parameter yang diamati pertumbuhan tanaman, kandungan total protein terlarut, aktivitas protein antioksidan dan pola pita protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa parameter pertumbuhan bibit melinjo menunjukkan berbeda tidak nyata dengan pemberian PEG kecuali pada rasio akar tajuk dan kandungan klorofil total, sedangkan Kandungan total protein dan aktivitas antioksidan semakin meningkat sejalan dengan semakin tingginya pemberian konsentrasi PEG, yaitu pada 10% PEG didapatkan kandungan total protein 24,34 mg/g, aktivitas peredaman ABTS 91,16% dengan nilai IC<sub>50</sub> 2,67±0,05 µg/mL). Pola pita protein menunjukkan adanya pola pita berbeda pada perlakuan 10% PEG.

**Kata kunci:** *Melinjo, polyethylene glycol, protein antioksidan, cekaman kekeringan.*

**How to cite:** Alfiyana, Y. N., Siswoyo, T. A., Subroto, G. 2015. Respon Pertumbuhan dan Kandungan Protein Antioksidan Bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) setelah Pemberian Polyethylene Glycol (PEG). *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

#### PENDAHULUAN

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman asli daerah tropika yang meliputi India, Semenanjung Malaysia, Indonesia sampai dengan kepulauan Fiji di lautan Pasifik (Mulyanto, 1994). Tanaman ini dapat tumbuh diberbagai kondisi tanah seperti tanah lempung, berpasir dan kapur, sehingga cocok untuk dibudidayakan dan dikembangkan di Indonesia. Tanaman ini dapat tumbuh pada dataran rendah sampai ketinggian 1.200 m dari permukaan laut. Melinjo dapat dipanen saat berumur 5-7 tahun dan dapat hidup pada umur di atas 100 tahun serta masih tetap dapat menghasilkan buah. Budidaya melinjo belum

dilakukan secara intensif hanya sekedar dijadikan tanaman pekarang padahal hampir seluruh bagian tanaman melinjo dapat dimanfaatkan mulai dari batang, daun, bunga, dan buahnya. Masyarakat belum banyak yang menyadari banyak manfaat dari tanaman ini, hanya mengetahui tanaman ini secara tradisional sebagai bahan untuk sayur dan pembuatan emping.

Tanaman melinjo selain memiliki beberapa kandungan gizi yang tinggi juga memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa ini merupakan zat yang mampu memperlambat ataupun mencegah proses oksidasi meskipun konsentrasinya rendah. Senyawa antioksidan dilihat dari sumbernya terbagi menjadi dua yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Semakin

berkembangnya zaman antioksidan sintetik mulai ditinggalkan oleh masyarakat karena lebih memilih antioksidan alami yang dianggap lebih baik dan aman. Antioksidan alami banyak diproduksi di dalam tubuh berbagai tanaman salah satunya tanaman melinjo di mana antioksidan tersebut diantaranya berupa protein. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Menurut Siswoyo *et al.* (2011), pada melinjo ditemukan 2 fraksi protein yang memiliki aktivitas antioksidan untuk menangkal radikal bebas, di mana berat molekulnya 30 dan 12 kDa.

Pertumbuhan tanaman secara umum dapat dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu, faktor biotik dan abiotik. Salah satu faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan yaitu cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan merupakan suatu kondisi di mana kebutuhan air tanaman tidak terpenuhi. Menurut Bray (1997), cekaman kekeringan disebabkan kekurangan suplai air di daerah perakaran. Menurut Fitter dan Hay (1994) bahwa kekurangan air akan mengganggu aktivitas fisiologis maupun morfologis sehingga dapat mengakibatkan terhentinya pertumbuhan dan pada gilirannya tanaman akan mati. Secara fisiologi tanaman akan mengalami gangguan dalam proses fotosintesisnya karena air yang dibutuhkan saat fotosintesis tidak terpenuhi, selain itu terjadinya cekaman kekeringan akan mengakibatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat memacu terjadinya kerusakan sel tanaman. Terjadinya kerusakan sel akan mendorong tanaman untuk menetralsirnya dengan memproduksi senyawa metabolik salah satunya berupa protein antioksidan.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengkaji Respon pemberian *Polyethylene Glycol* (PEG) sebagai simulasi cekaman kekeringan terhadap bibit melinjo, maka akan dikaji mengenai respon pertumbuhan dan kandungan protein antioksidan bibit melinjo (*Gnetum gnemon* L.).

## BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di *Green house* Agroteknopark dan Laboratorium Analisis Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember pada bulan Agustus 2014 sampai Februari 2015.

Pelaksanaan percobaan dilakukan dengan beberapa tahap meliputi :

**Pembuatan Media Tanam dan Transplanting.** Bibit tanaman melinjo yang akan digunakan pada penelitian ini merupakan bibit koleksi laboratorium yang berumur 2 tahun. Media tanam yang akan digunakan pada bibit tanaman melinjo berupa pasir, tanah, dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1 dimasukkan pada polibag 10 x 15 cm. Bibit tanaman melinjo ditransplantasikan dari media sebelumnya ke dalam media tanam yang telah disiapkan, setelah itu bibit tanaman melinjo diadaptasikan di *Green house* dan dilakukan pemeliharaan dan perawatan sampai bibit tanaman melinjo umur 3 bulan.

Percobaan **Respon Pertumbuhan dan Kandungan Protein Antioksidan Bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) setelah Pemberian Polyethylene Glycol (PEG)** dilakukan dengan metode percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu konsentrasi PEG, 4 taraf dengan 5 ulangan yaitu PEG 0%, PEG 2,5%, PEG 5%, PEG 10%.

**Aplikasi PEG.** PEG diberikan saat bibit tanaman melinjo berumur 3 bulan dengan pemberian PEG yang berbeda konsentrasi 0% PEG, 2,5% PEG, 5% PEG dan 10% PEG. PEG dilarutkan dalam aquadest sesuai konsentrasi yang ditentukan. Aplikasi PEG pada bibit tanaman melinjo diberikan selama satu bulan dengan penyiraman tiga hari sekali penyiraman.

Variabel pengamatan yang digunakan dalam percobaan ini terdiri dari :

### a. Rasio Akar/Tajuk

Pengukuran rasio akar/tajuk dilakukan dengan menimbang biomasa akar dan juga tajuk, lalu biomasa akar dibagi dengan biomasa tajuk.

### b. Pengukuran Kandungan Klorofil Total.

Pengukuran Kandungan klorofil total secara spektrofotometrik dilakukan sesuai metode Wintermans dan De Mots (1965), menggunakan pelarut ethanol 96% dan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 649 dan 665 nm. Langkah kerja yang dilakukan adalah menimbang sampel sebanyak 0,14 gram, kemudian digerus dengan pelarut ethanol 96% sebanyak 1580  $\mu$ L sampai halus. Hasil ekstraksi disentrifuge dan diambil supernatan sebanyak 50  $\mu$ L ditambah ethanol 950  $\mu$ L kemudian diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 649 dan 665 nm.

\* Perhitungan nilai kandungan klorofil adalah dengan rumus:

$$\text{Klorofil total} : (20,0 \times \text{Abs } 649) + (6,1 \text{ Abs } 665) (\mu\text{g/mL}).$$

### c. Pengukuran Total Protein Terlarut

pengukuran total protein terlarut dilakukan dengan menimbang sampel seberat 0,1 g lalu digerus dengan pelarut buffer phosphate perbandingan 1:5. Hasil ekstrak tersebut kemudian dimasukkan kedalam mikrotube untuk disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Kandungan protein yang terdapat dalam sampel dapat ditentukan dengan metode yang dikemukakan oleh Bradford (1976). Sampel yang telah diekstrak diambil sebanyak 5  $\mu$ L ditambahkan 45  $\mu$ L aquadest dan 950  $\mu$ L larutan Bradford kemudian diinkubasi selama 15 menit. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam dan apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT)  $\alpha = 5\%$ .

## HASIL

Hasil data analisis sidik ragam pada percobaan respon pertumbuhan bibit melinjo terhadap pemberian pemberian PEG konsentrasi berbeda pada parameter yang diamati ditampilkan pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil F-Hitung dari semua parameter yang diamati

Parameter Pengamatan	Konsentrasi Pemberian PEG				Notasi
	0%	2,5%	5%	10%	
Rasio Akar/Tajuk	0,54	1.05	1.12	1.32	*
Kandungan Klorofil Total	2,41	1,79	1,60	1,36	**
Total Protein Terlarut	10.17	13.26	21.99	24,34	**

Keterangan: \* = Berbeda nyata

\*\* = Berbeda sangat nyata

ns = Berbeda tidak nyata

Berdasarkan analisis keragaman yang dilakukan (Tabel 1), menunjukkan pemberian PEG dengan konsentrasi berbeda pada bibit melinjo berbeda nyata terhadap parameter rasio akar/tajuk dan berbeda sangat nyata terhadap parameter kandungan klorofil total dan total protein terlarut.

Tabel 2. Rasio akar/tajuk bibit melinjo pada konsentrasi PEG yang berbeda.

Perlakuan	Rasio Akar/Tajuk
0% PEG	0,54b
2,5% PEG	1,05b
5% PEG	1,12b
10 % PEG	1,32a

Keterangan : Angka yang di ikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan adanya respon bibit melinjo dengan pemberian polyethyene glycol (PEG) terhadap rasio akar/tajuk, dimana semakin meningkatnya konsentrasi PEG yang diberikan rasio akar/tajuk semakin meningkat juga, yaitu pada perlakuan 0% PEG adalah 0,54, 2,5% PEG adalah 1,05, 5% PEG adalah 1,12 dan 10% PEG adalah 1,32.

Tabel 3. Kandungan klorofil total bibit melinjo pada konsentrasi PEG yang berbeda.

Perlakuan	Kandungan Klorofil Total
0% PEG	2,41a
2,5% PEG	1,79b
5% PEG	1,60c
10% PEG	1,36d

Keterangan : Angka yang di ikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan adanya respon bibit melinjo dengan pemberian polyethyene glycol (PEG) terhadap kandungan klorofil total, dimana semakin meningkatnya konsentrasi PEG yang diberikan kandungan klorofil total semakin menurun, yaitu pada perlakuan 0% PEG adalah 2,41 mg/g, 2,5% PEG adalah 1,79 mg/g, 5% PEG adalah 1,60 mg/g dan 10% PEG adalah 1,36 mg/g.

Tabel 4. Kandungan total protein terlarut bibit melinjo pada konsentrasi PEG yang berbeda.

Perlakuan	Total Protein Terlarut
0% PEG	10,17d
2,5% PEG	13,26c
5% PEG	21,99b
10% PEG	24,34a

Keterangan : Angka yang di ikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan adanya respon bibit melinjo dengan pemberian polyethyene glycol (PEG) terhadap kandungan total protein terlarut, dimana semakin meningkatnya konsentrasi PEG yang diberikan kandungan total protein terlarutnya juga semakin meningkat, yaitu pada perlakuan 0% PEG adalah 10,17 mg/g, 2,5% PEG adalah 13,26mg/g, 5% PEG adalah 21,99 mg/g dan 10% PEG adalah 24,34 mg/g.

### PEMBAHASAN

Pemberian larutan PEG dengan konsentrasi berbeda pada bibit tanaman melinjo pada beberapa parameter menunjukkan

hasil berbeda tidak nyata, kecuali pada parameter rasio akar/tajuk, kandungan klorofil total dan total protein terlarut yang menunjukkan berbeda nyata. Pada Tabel 1 hasil yang didapat dari setiap perlakuan di mana persentase pertambahan tinggi tanaman, luas daun, berat basah dan kandungan total klorofil nilainya semakin turun sejalan dengan meningkatnya pemberian konsentrasi PEG, sedangkan panjang akar tanaman, rasio akar/tajuk dan kandungan total protein terlarut semakin meningkat dengan semakin ditingkatkannya konsentrasi PEG. Pemberian PEG pada tanaman akan menyebabkan terjadinya cekaman kekeringan karena tanaman tidak dapat menyerap hara. Hal ini akan menyebabkan terjadinya perubahan morfologi, fisiologi maupun biokimia pada tanaman tersebut.

Ada beberapa faktor yang membuat tanaman mempunyai ketahanan terhadap kekeringan di antaranya: memperluas dan memperdalam perakaran, mengurangi jumlah dan luas daun, dan mempertebal daun (Salisbury dan Ross, 1995). Rasio akar/tajuk merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui bahwa tanaman tersebut toleran apa tidak terhadap cekaman kekeringan. Ratio akar/tajuk diketahui dengan cara perbandingan antara biomass akar terhadap biomass tajuk sehingga nantinya akan didapatkan rasio akar/tajuk. Rasio akar/tajuk mengindikasikan kemampuan tanaman menyerap air ketika terjadi cekaman kekeringan. Menurut Palupi dan Dedywiryanto (2008) salah satu mekanisme adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan untuk mempertahankan status air tetap tinggi adalah dengan mengembangkan perakaran, sehingga meningkatkan kemampuan tanaman dalam mengabsorpsi air. Meningkatkan perakaran umumnya diikuti dengan penurunan pertumbuhan tajuk. Tanaman yang lebih mengutamakan pertumbuhan akar daripada tajuknya mempunyai kemampuan lebih baik untuk bertahan pada kondisi kekeringan. Herawati dan Setiamihardja (2000) menyatakan bahwa di antara metabolisme tanaman di atas cekaman air ini adalah terjadinya perubahan morfologi dan fisiologi tanaman. Perubahan morfologi yaitu perakaran berkembang lebih cepat, terutama ke arah bawah. Tanaman meningkatkan kemampuan penghisapan air dari lapisan tanah yang lebih dalam sementara transpirasi dari bagian atas tanaman menurun. Nurhayati (2007) menambahkan bahwa tanaman menunjukkan toleransi dengan menciptakan potensial air yang tinggi, yaitu kemampuan tanaman tetap menjaga potensial jaringan dengan meningkatkan penyerapan air atau menekan kehilangan air. Pada mekanisme ini tanaman mempunyai kemampuan untuk meningkatkan sistem perakaran, mengatur stomata, mengurangi absorpsi radiasi surya dengan pembentukan lapisan lilin atau bulu rambut daun yang tebal, dan menurunkan permukaan evapotranspirasi melalui penyempitan daun serta pengurangan luas daun.

Cekaman kekeringan berdampak pada sintesis klorofil karena semakin rendahnya ketersediaan air pada tanaman akan menurunkan terjadinya sintesis klorofil. Klorofil merupakan komponen kloroplas yang utama yang tersusun oleh N, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, S dan O. Kandungan klorofil berkorelasi positif dengan laju fotosintesis (Li *et al.*, 2006). Menurut Prihastanti (2010) pembentukan klorofil akan optimal apabila kondisi lingkungan mampu mendukung proses fisiologi, seperti ketersediaan air. Tidak tersedianya air merupakan salah satu cekaman abiotik yang menghambat pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Air juga merupakan *reagent* yang penting dalam fotosintesis dan reaksi-reaksi hidrolisis (Nio dan Banyo, 2011). Berdasarkan gambar 1 dapat terlihat kandungan klorofil total semakin menurun dengan meningkatnya pemberian konsentrasi PEG. Peranan air yang penting ini menimbulkan konsekuensi bahwa kekurangan air akan mempengaruhi semua proses metabolisme tanaman baik secara langsung atau tidak langsung termasuk sintesis klorofil.

Protein merupakan salah satu senyawa metabolit primer yang dihasilkan oleh tanaman yang peranannya sangat banyak dalam kehidupan. Protein tersusun dari beberapa asam amino sehingga dapat membentuk satu rantai yang panjang. Metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan total protein terlarut yaitu dengan uji Bradford yang didasarkan pada pengikatan zat warna *commassie brilliant blue G-250* (CBB G-250) terhadap protein. Gambar 2 diketahui bahwa semakin tinggi pemberian konsentrasi PEG, total protein terlarut yang dihasilkan juga semakin tinggi. Hal ini terjadi karena pemberian PEG dapat mengakibatkan tanaman mengalami cekaman kekeringan dimana tanaman dalam menghadapi cekaman kekeringan dapat melakukan mekanisme osmotik yang diawali dengan perubahan gula osmotik, terutama pada gula silosa yang kemudian terinduksinya protein berbobot molekul rendah (Thoruan-Mathius dkk., 2004). Hal ini juga diungkapkan oleh Chkhubianishvili *et al.* (2011) bahwa dalam menghadapi suatu cekaman tanaman akan melakukan adaptasi dengan melakukan perubahan metabolik yang mengarah ke regulasi enzim antioksidan bersama dengan akumulasi protein pelindung. akan mencoba untuk bertahan saat mengalami cekaman kekeringan dengan melakukan perubahan fisiologi maupun biokomianya. Salah satu cara yang dapat dilakukannya yaitu dengan mengakumulasi kandungan total proteinnya. Tanaman yang mengalami cekaman pada perlakuan PEG akan melakukan mekanisme untuk mengatasi cekaman kekeringan salah satunya dengan cara detoksifikasi senyawa oksigen radikal melalui pembentukan protein stress, antara lain protein proteksi, enzim antioksidan, dan protein regulator (Mundree *et al.*, 2002). Hal ini diperkuat oleh Scandalios (1997), bahwa mekanisme yang dilakukan tanaman dalam merespon adanya cekaman kekeringan yaitu dengan cara meningkatkan sintesis antioksidan sebagai perlindungan terhadap kerusakan sel. Radikal bebas adalah senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Senyawa ini harus mencari elektron lain sebagai pasangan untuk mencapai kestabilan. Reaksi ini terjadi secara berantai dan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang lebih banyak dalam tubuh. Reaksi berantai ini dapat diredam bila tubuh memiliki senyawa penangkap radikal bebas (Lestario dkk., 2008). Protein antioksidan yang diproduksi tanaman membantu melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas, sehingga yang semula tidak stabil menjadi stabil dan melindungi terhadap terjadinya kerusakan sel.

#### KESIMPULAN

Kesimpulan dari percobaan ini adalah pemberian PEG konsentrasi berbeda pada bibit melinjo pada beberapa parameter berbeda tidak nyata kecuali pada parameter rasio akar/tajuk, kandungan klorofil total dan total protein terlarut, dimana kandungan klorofil total menurun yaitu pada 10% PEG dengan nilai 1,36 mg/g. Rasio akar/tajuk dan total protein terlarut meningkat, pada 10% PEG rasio akar/tajuk yaitu 1,32 dan total protein terlarut 24,34 mg/g.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada KEMENRISTEK 2014 yang telah mendanai penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye-binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254.
- Bray, E.A. 1997. Plant Responses to Water Deficit. *Trends Plant Science*, 2: 48-54.
- Chkhubianishvili, E., N. Kacharava, G. Badridze, S. Chanishvili, and T. Kurdadze. 2011. Activity of Peroxidase, Catalase and Content of Total Protein in Leaves of some Herbaceous Plant of High Mountains of the Caucasus. *Bulletin of The Georgian National Academy of Sciences*, 5: 96 – 100.
- Fitter, A. H. dan R. K. M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Herawati, T. dan R. Setiamihardja, 2000. *Pemuliaan Tanaman Lanjutan*. Program Pengembangan Kemampuan Peneliti Tingkat S1 Non Pemuliaan Dalam Ilmu Dan Teknologi Pemuliaan. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Lestario, L. N., S. Sugiarto dan K. H. Timotius. 2008. Aktivitas antioksidan dan kadar fenolik total dari ganggang merah (*Gracilaria verrucosa* L.). *Tekno. dan Industri Pangan*, 19: 131-138.
- Li, R., G. Pei-guo, M. Baum, and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Science in China*, 5: 751-757.
- Mulyanto, J. 1994. *Pembibitan dan Budidaya Melinjo*. Kanisius: Yogyakarta.
- Mundree, S. G., B. Baker, S. Mowla, S. Peters, S. Marais, C. V. Willigen, K. Govender, A. Maredza, S. Muyaanga, J. M. Farrant, and J. A. Thomson, 2002. Physiological and molecular insight into drought tolerance. *African J. Biotechnol.* 1:28-38.
- Nio, S.A. dan Y. Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11: 166-173.
- Nurhayati. 2007. *Seleksi Mekanisme Toleransi Tanaman Tembakau (Nicotiana tabacum L.) terhadap kekeringan*. [Disertasi]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Palupi, E. R. dan Y. Dedywiryanto. 2008. Kajian Karakter Ketahanan terhadap Cekaman Kekeringan pada beberapa Genotipe Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Bul. Agron.*, 36: 24 – 32.
- Prihastanti, Erma. 2010. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Semai Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Perlakuan Cekaman Kekeringan yang Berbeda. *BIOMA*, 12: 35 – 39.
- Salisbury, F.,B dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. ITB: Bandung.
- Scandalios, JG. 1997. *Molecular genetics of superoxide dismutase in plants*. In JG Scandalios, ed, *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp 527–568.
- Siswoyo, T. A., M. Eka, K. O. Lee and K. Hosokawa 2011. Isolation and Characterization of Antioxidant Protein Fractions from Melinjo (*Gnetum gnemon*) Seed. *Agricultural and Food Chemistry*. 59: 5648-5656.
- Toruan-Mathius, N., T. Liwang, M. I. Danuwikarsa, G. Suryatmana, H. Djajasukanta, D. Saodah dan I. G. P. W. Astika. 2004. Respon Biokimia beberapa Progeni Kelapa



Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) terhadap Cekaman Kekeringan pada Kondisi Lapang. *Menara Perkebunan*. 72: 38 – 56.

Wintermans and De Mots. 1965. Spectrophotometric Characteristics of Chlorophylls a and b and Their Pheophytins in Ethanol. *Biochim Biophys. Acta*. 109: 448-453.