



**RESPON PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIBIT
MELINJO SELAMA CEKAMAN GARAM**

SKRIPSI

Oleh
Rio Azimah Afitollah Nur
NIM 101510501077

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**RESPON PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIBIT
MELINJO SELAMA CEKAMAN GARAM**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)
Fakultas Pertanian Universitas Jember

oleh

**Rio Azimah Afitollah Nur
NIM 101510501077**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda dan Ibunda, kuhaturkan terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan serta do'a yang selalu dipanjatkan yang mungkin tidak dapat terbalas dengan apapun;
2. Kakak-kakak dan adik serta keluarga tercinta, atas motivasi dan dukungan serta do'a yang telah diberikan selama ini;
3. Semua guru-guru sejak Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi yang telah mendidik dan memberikan ilmunya;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“....., niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah mengetahui apa yang kamu kerjakan (58:11)”.

“Pandailah menemukan pertanyaan dan belajar menemukan jawaban (Cak Nun).

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan (94:6)”.



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bandung: Jumanatul 'Ali-ART.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Rio Azimah Afitollah Nur

NIM : 101510501077

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul **“Respon Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Bibit Melinjo Selama Cekaman Garam”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Februari 2017

Yang menyatakan,

Rio Azimah Afitollah Nur

NIM 101510501077

SKRIPSI

**RESPON PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
BIBIT MELINJO SELAMA CEKAMAN GARAM**

oleh

Rio Azimah Afitollah Nur
NIM 10510501077

Pembimbing:

**Dosen Pembimbing Utama : Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D.
NIP. 19700810 199803 1 001**

**Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Anang Syamsunihar. M.P., Ph.D
NIP. 19660626 199103 1 002**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Respon Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Bibit Melinjo Selama Cekaman Garam**” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Rabu, 22 Februari 2017

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D.
NIP. 19700810 199803 1 001

Ir. Anang Syamsunihar, M.P., P.hD
NIP. 19660626 199103 1 002

Penguji,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP. 19641019 199002 1 002

Mengesahkan

Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D.
NIP. 196005061987021001

RINGKASAN

Respon Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Bibit Melinjo Selama Cekaman Garam; Rio Azimah Afitollah Nur, 101510501077; 2017: 44 halaman; Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Cekaman garam meningkatkan efek reduksi potensial air, ketidakseimbangan ion dan toksisitas. Perubahan status air memicu reduksi pertumbuhan awal dan penurunan produktivitas tanaman, sebab cekaman garam mempengaruhi osmosis dan cekaman ion. Pada umumnya cekaman garam mempengaruhi proses pertumbuhan, fotosintesis, metabolisme energi dan lipid serta sintesis protein. Tanaman yang toleran akan melakukan suatu adaptasi dengan cara memproduksi senyawa-senyawa metabolik primer dan sekunder..

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan dan kandungan protein antioksidan pada bibit melinjo umur 3 bulan setelah pemberian senyawa NaCl untuk mengkondisikan cekaman garam. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi NaCl berbeda, 0 mM ; 25 mM ; 50 mM ; 75 mM dan 100 mM. 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 NaCl kecuali pada berat basah, berat kering dan kandungan klorofil total, sedangkan Kandungan total protein dan aktivitas antioksidan terjadi penurunan pada perlakuan 25 dan 50 mM konsentrasi NaCl, kemudian naik kembali pada perlakuan 75 dan 100 mM, yaitu pada 100 mM didapatkan kandungan total protein 3,33 mg/g dan aktivitas antioksidan pada peredaman ABTS mencapai 78 % dengan nilai IC_{50} 0,8 μ g/mL).

SUMMARY

Response Growth and Antioxidant Activity Melinjo During Salt Stress; Rio Azimah Afitollah Nur, 101510501077; 2017: 44 pages; Agrotechnology Study Program Faculty of Agriculture, University of Jember.

Salt increases the stress reduction effect of water potential, ion imbalances and toxicity. Changes in water status triggers early growth reduction and decrease crop productivity, salt stress because stress affects osmosis and ion. In general, the salt stress affects the growth process, photosynthesis, lipid and energy metabolism and protein synthesis. Tolerant plants will perform an adaptation by producing compounds of primary and secondary metabolic ..

This study aims to determine the growth response and the protein content of antioxidants in the seeds melinjo age of 3 months after administration of the compound NaCl to salt stress condition. Research using a completely randomized design (CRD) with one factor different concentrations of NaCl, 0 mM ; 25 mM ; 50 mM ; 75 mM and 100 mM. The parameters observed plant growth, total soluble protein content, activity of antioxidant proteins and prnrotein banding pattern. The results showed that the growth parameters of seedlings melinjo showed no significant with the provision of NaCl except in wet weight, dry weight and chlorophyll content in total, while the total content of protein and antioxidant activity decreased on treatment of 25 and 50 mM NaCl concentration, then climbed back on treatment 75 and 100 mM, namely the 100 mM obtained total protein content of 3.33 mg / g, and 78.7% ABTS reduction activity with IC50 values of 0.8 mg / mL

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul ” **Respon Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Bibit Melinjo Selama Cekaman Garam**” dengan sebaik-baiknya. Karya Tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

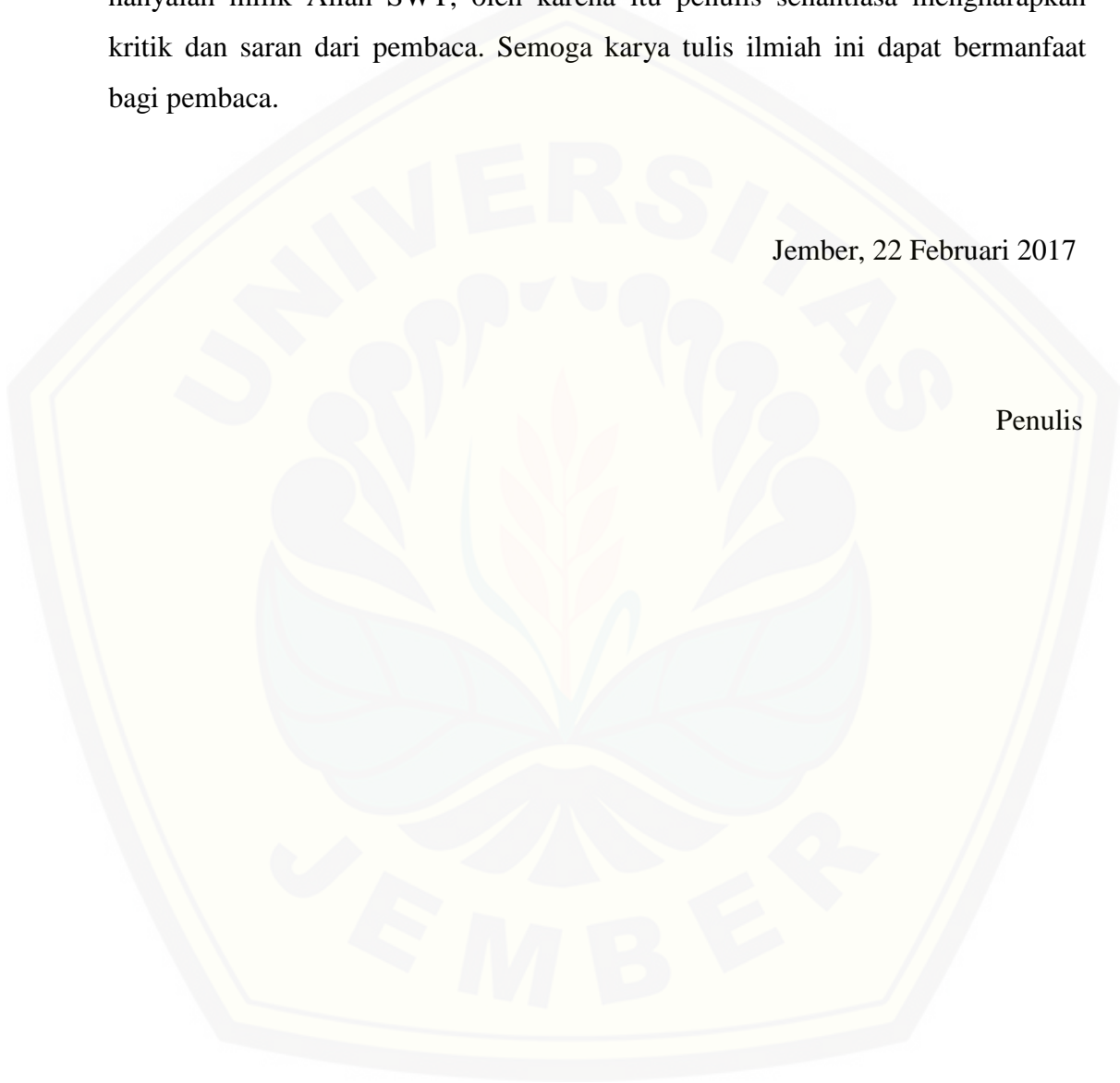
1. Dr. Ir. Sigit Soeparjono., MP. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi;
3. Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan masukan dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Ir. Anang Syamsunihar, MP., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Anggota, dan Dr. Ir. Miswar, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Ir. Bambang Hermiyanto., MP selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Orang tuaku tercinta Ibunda Mudrikah beserta saudara-saudaraku yang telah memberikan kasih sayang, dukungan serta doanya hingga sekarang;
7. Teman-teman Penelitian Laboratorium Analisis Tanaman yang telah membantu selama proses pelaksanaan dan penyelesaian skripsi.
8. Teman-teman Kontrakan Q18, sahabat-sahabat dan rekan-rekan CDAST yang telah mebantu dan berjuang bersama untuk menyelesaikan study S1.

9. Teman-teman Program Studi Agroteknologi angkatan 2010 yang bersama berjuang menyelesaikan studi di Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT, oleh karena itu penulis senantiasa mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Jember, 22 Februari 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Melinjo	4
2.2 Kandungan Pada Tanaman Melinjo	5
2.3 Cekaman Garam	6
2.4 Protein Antioksidan	7
2.5 Hipotesis.....	9
BAB 3. METODELOGI	10
3.1 Tempat dan Waktu	10
3.2 Bahan dan Alat.....	10
3.3 Metode Penelitian	10
3.4 Pelaksanaan Percobaan	11

3.4.1 Pembuatan Media Tanam dan Transplanting	11
3.4.2 Aplikasi Perlakuan	11
3.4.3 Ekstraksi Sampel	12
3.4.4 Penentuan Kandungan Total Protein Terlarut	12
3.4.5 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>2,2'azinobis-3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid</i> (ABTS)	12
3.4.6 Penentuan Pola Pita Protein dengan Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis	13
3.4.7 Pengukuran Kandungan Klorofil Total	14
3.4.8 Parameter Pengamatan	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Respon Pertumbuhan Tanaman Melinjo terhadap Pemberian NaCl	15
4.2 Kandungan Klorofil Daun	20
4.3 Konduktivitas Listrik (EC)	21
4.4 Total Protein Terlarut	23
4.5 Aktivitas Antioksidan	24
4.6 Elektroforesis SDS PAGE	27
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil parameter respon pertumbuhan tanaman melinjo terhadap pemberian NaCl.....	15
Tabel 4.1.1 Data hasil parameter respon pertumbuhan respon pertumbuhan tanaman melinjo terhadap pemberian NaCl	15
Tabel 4.5 Perbedaan nilai IC50 ($\mu\text{g/mL}$) dari sampel daun melinjo dari masing-masing perlakuan konsentrasi NaCl dengan metode ABTS	26
Tabel 4.6 Perbedaan band protein daun melinjo dari hasil SDS-PAGE Dengan konsentrasi 15% pada berbagai perlakuan NaCl	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bunga tanaman melinjo	5
Gambar 4.1.1 Grafik berat segar tanaman melinjo (g) pada setiap perlakuan NaCl	17
Gambar 4.1.2 Grafik berat kering tanaman melinjo (g) pada setiap perlakuan NaCl	18
Gambar 4.1.3 Grafik panjang akar tanaman melinjo (cm) pada setiap perlakuan NaCl	19
Gambar 4.2 Kandungan Klorofil Daun Melinjo (mg/L) pada setiap perlakuan NaCl	21
Gambar 4.3 Grafik konduktivitas listrik	22
Gambar 4.4 Grafik kandungan total protein terlarut (mg/g)	23
Gambar 4.5 Persentase aktivitas peredaman abts (%) daun melinjo pada masing-masing perlakuan dengan konsentrasi protein yang berbeda	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tinggi tanaman bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	33
2. Jumlah daun bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	34
3. Berat segar bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	35
4. Berat kering bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.....	36
5. Panjang akar bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	37
6. Aktivitas tanah bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.	38
7. Konduktifitas listrik bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	39
8. Kadungan klorofil total bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	40
9. Kandungan total protein terlarut bibit melinjo pada berbagai perlakuan NaCl	42
10. Aktivitas protein antioksidan pada berbagai konsentrasi NaCl	43
11. Dokumentasi Penelitian.....	45

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon L.*) adalah tanaman tahunan yang banyak tumbuh di Indonesia, dan telah dikenal oleh masyarakat sebagai bahan makanan yaitu emping melinjo dan bahan untuk sayur. Tanaman melinjo memiliki kemampuan adaptasi yang kuat terhadap lingkungan. Beberapa diantaranya toleran terhadap lingkungan yang ekstrim seperti kondisi kering ataupun lembab, dan juga terhadap keadaan tanah yang kurang subur. Selain itu, tanaman melinjo tidak hanya mampu tumbuh pada kondisi tanah yang gembur, tetapi juga mampu bertahan pada daerah yang tanahnya liat dan masih dapat berproduksi dengan baik. Tanaman melinjo bisa dipanen ketika sudah berumur 5-7 tahun dan mampu hidup hingga diatas seratus tahun serta masih menghasilkan buah. Tanaman melinjo masih belum dibudidayakan secara intensif oleh masyarakat karena kurangnya pengetahuan akan manfaat dari tanaman melinjo, yang dari seluruh bagian tanaman mulai dari buah, bunga, daun, dan batang dapat dimanfaatkan.

Tanaman melinjo selain memiliki manfaat sebagai makanan tradisional dan sayuran, juga memiliki kandungan gizi yang tinggi serta memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan adalah zat yang mempunyai kemampuan untuk mencegah dan atau memperlambat proses oksidasi walaupun konsentrasinya yang rendah. Adapun sumber senyawa antioksidan yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis, dengan bergesernya waktu sumber antioksidan alami mulai dipilih oleh masyarakat karena bahannya yang lebih aman dan baik dibandingkan menggunakan antioksidan sintetis. Produksi antioksidan alami banyak ditemukan pada tubuh berbagai jenis tanaman salah satunya tanaman melinjo yaitu diantaranya berupa protein. Protein sendiri sebagai penyusun lebih dari setengah 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. Sampel yang digunakan penelitian ini berupa daun, di mana daun merupakan pusat dari metabolisme tanaman yang

hasilnya ditranslokasikan pada bagian-bagian tanaman lainnya. Disamping itu untuk mengetahui kandungan protein antioksidan beserta berat molekulnya.

Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor abiotik dan faktor biotik. Salah satu faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan yaitu cekaman garam. Cekaman garam merupakan suatu kondisi dimana tanah menjadi salin karena adanya garam terlarut dalam kondisi berlebihan dalam tanah. Menurut Pranasari (2012), cekaman garam meningkatkan efek reduksi potensial air, ketidakseimbangan ion dan toksisitas. Perubahan status air memicu reduksi pertumbuhan awal dan penurunan produktivitas tanaman, sebab cekaman garam mempengaruhi osmosis dan cekaman ion. Pada umumnya cekaman garam mempengaruhi proses pertumbuhan, fotosintesis, metabolisme energi dan lipid serta sintesis protein. Tanaman yang toleran akan melakukan suatu adaptasi dengan cara memproduksi senyawa-senyawa metabolik primer dan sekunder. Metabolit primer antara lain protein, lemak, karbohidrat, dan asam nukleat. Senyawa metabolik primer yang berupa protein terdapat protein antioksidan, sedangkan tanaman melinjo mempunyai antioksidan yang berperan dalam proses pertahanan dari stress lingkungan.

Oleh karena itu untuk mengetahui proses ketahanan tanaman melinjo melalui perubahan protein maka dilakukan penelitian suatu cekaman garam pada tanaman melinjo. Diharapkan dengan adanya cekaman garam pada bibit melinjo tersebut dapat mendorong peningkatan protein antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Tanaman melinjo memiliki kandungan protein yang relatif tinggi pada biji, akan tetapi :

1. Bagaimana respon pertumbuhan tanaman melinjo akibat cekaman garam ?
2. Apakah kandungan protein pada daun tanaman melinjo mengalami perubahan akibat cekaman garam ?

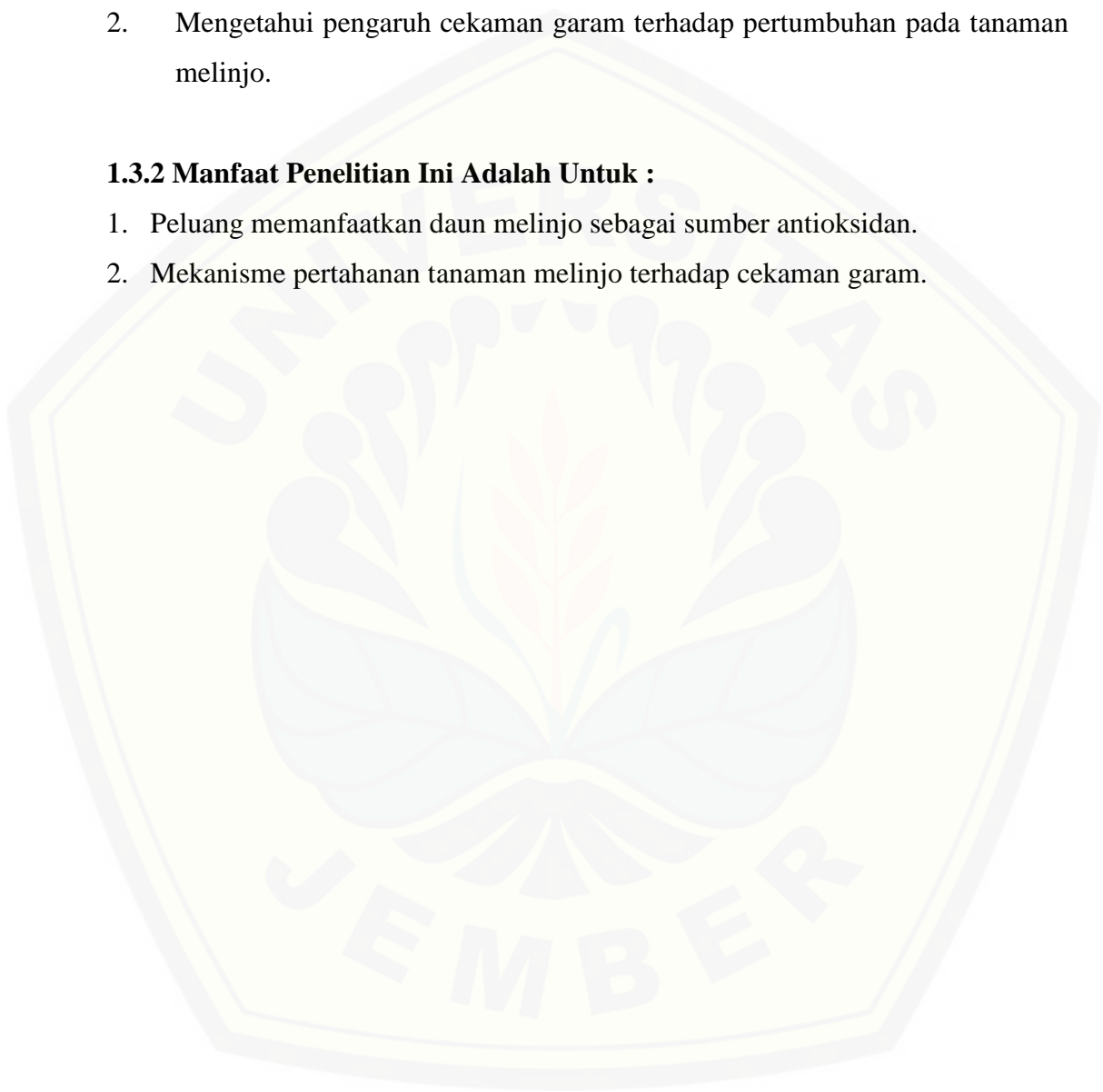
1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan Penelitian Ini Adalah Untuk :

1. Mengetahui pengaruh cekaman garam terhadap karakter protein pada daun tanaman melinjo.
2. Mengetahui pengaruh cekaman garam terhadap pertumbuhan pada tanaman melinjo.

1.3.2 Manfaat Penelitian Ini Adalah Untuk :

1. Peluang memanfaatkan daun melinjo sebagai sumber antioksidan.
2. Mekanisme pertahanan tanaman melinjo terhadap cekaman garam.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Melinjo.

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon*) termasuk tumbuhan berbiji terbuka, biji tidak terbungkus oleh daging buah tetapi terbungkus oleh kulit luar. Tanaman melinjo dapat tumbuh mencapai 100 tahun lebih dan mampu memproduksi buah sebanyak 80-100 Kg/tahun. Tanaman melinjo dapat tumbuh pada tanah-tanah liat/lempung, berpasir dan berkapur pada ketinggian 0 – 1200 mdpl, tetapi tidak tahan terhadap tanah yang tergenang air atau yang berkadar asam tinggi (Sunanto, 1991).

Nama tanaman melinjo di berbagai daerah di Indonesia bermacam-macam seperti belinjo, melinjo, bagor, so, trangkil dan trangkil sako. Hal ini menunjukkan penyebaran yang cukup luas. Meskipun tanaman melinjo sudah lama dikenal orang dan dimanfaatkan, tetapi baru akhir-akhir ini dibudidayakan secara monokultur di berbagai perkebunan (Mulyanto, 1994). Melinjo yang telah dikenal masyarakat banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan. Selain sebagai makanan alternatif, manfaat melinjo telah ditemukan oleh para ahli biologi dan kesehatan. Melinjo diketahui mengandung senyawa antioksidan yang cukup tinggi, sehingga sangat reaktif terhadap radikal bebas penyebab berbagai penyakit (Manner *et al.*, 2006).

Tanaman melinjo merupakan tanaman tahunan yang tergolong tanaman berbiji terbuka, sebagaimana klasifikasinya berikut ini:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)

Devisi : Spermatophyta (menghasilkan biji)

Kelas : Gnetophyta

Ordo : Gnetales

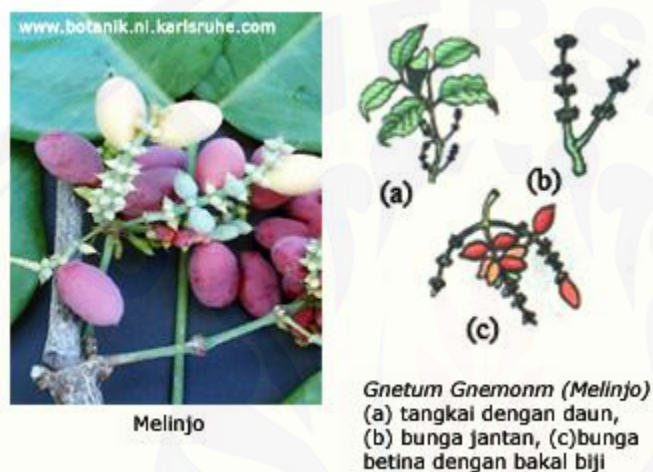
Famili : Gnetaceae

Genus : *Gnetum*

Spesies : *Gnetum gnemon* L. (Mulyanto, 1994).

Tanaman melinjo memiliki daun berhadapan, berbentuk jorong, urat daun sekunder saling bersambung. Memiliki bunga majemuk yang melingkar di tiap nodus dengan panjang bunga 3-6 cm. Tiap nodus mempunyai 5-8 bunga betina yang berbentuk bola. Melinjo memiliki buah yang berbentuk jorong seperti kacang, satu biji dalam satu buah dan kulit tengahnya keras berkayu (Suena dkk.,2010).

Gambar 2.1 Bunga tanaman melinjo



Melinjo termasuk tumbuhan purba yang secara evolusi dekat dengan tanaman *Ginkgo biloba* yang ada di Jepang. *Ginkgo* adalah spesies pohon hidup tertua, yang telah tumbuh selama 150-200 juta tahun dan dipercaya sebagai tonik otak karena memperkuat daya ingat. Daun *Ginkgo* juga punya khasiat antioksidan kuat dan berperan penting dalam oksidasi radikal bebas penyebab penuaan dini dan pikun.

2.2 Kandungan Pada Tanaman Melinjo

Menurut Siswoyo *et al.* (2007), biji melinjo mengandung 78 % air, 16 % karbohidrat, 9-10 % protein, dan 0,6 % lemak. Kandungan protein pada biji melinjo yang relatif sangat besar merupakan suatu potensi sebagai sumber protein fungsional alami. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, protein pada melinjo sangat efektif menghambat beberapa jenis jamur dan bakteri gram negatif atau

positif seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*.

Melunjo mengandung asam askorbat, tokoferol, dan polifenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan juga berpotensi sebagai inhibitor *xantin oksidase*. Proses perebusan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Beberapa senyawa antioksidan memiliki potensi sebagai inhibitor xantin oksidase karena mampu menangkap elektron. Flavonoid golongan flavon dan flavonol memiliki daya inhibisi lebih tinggi daripada golongan flavonoid yang lainnya karena posisi gugus hidroksilnya lebih mudah menangkap elektron dari sisi aktif xantin oksidase. Senyawa lainnya seperti polifenol dan saponin juga berpotensi sebagai inhibitor *xantin oksidase* karena memiliki gugus hidroksil sebagai akseptor elektron dari *xantin oksidase* (Wulandari dkk., 2013).

2.3 Cekaman Garam

Cekaman garam meningkatkan efek reduksi potensial air, ketidakseimbangan ion dan toksisitas. Perubahan status air memicu reduksi pertumbuhan awal dan penurunan produktivitas tanaman, sebab cekaman garam mempengaruhi osmosis dan cekaman ion (Pranasari *et al.* 2012).

Toleransi tanaman terhadap cekaman garam dapat dinyatakan dalam berbagai cara, yaitu: (1) Kemampuan tanaman untuk hidup pada tanah salin; (2) Produksi yang dihasilkan pada tanah salin; (3) Hasil relatif pada tanah salin dibandingkan dengan hasil pada tanah normal; (4) Salinitas maksimum yang dapat dialami tanaman tanpa terjadi penurunan hasil; dan (5) Persentase penurunan hasil setiap unit peningkatan salinitas tanah (Pranasari *et al.* 2012).

Menurut Pangaribuan (2001), tanaman yang kurang toleran terhadap salinitas (kadar garam yang tinggi) akan mengalami perubahan anatomi struktur sel yaitu pembengkakan mitokondria dan badan golgi, peningkatan jumlah retikulum endoplasmik dan kerusakan kloroplas. Disamping itu tanaman akan mengalami perubahan fisiologi, atau aktifitas metabolisme, meliputi penurunan laju fotosintesis, peningkatan laju respirasi, perubahan susunan asam amino, serta

penurunan kadar gula dan pati pada jaringan tanaman. Pengaruh garam terhadap pertumbuhan tanaman.

Menurut Berstein dan Hayward (dalam Harnowo, 2000), menyangkut dua hal, yaitu (1) adanya hambatan osmosis sehingga tanaman mengalami kekurangan air, dan (2) efek meracuni dari ion-ion garam tertentu. Jika terjadi hambatan osmosis maka akan mengalami cekaman kekeringan yang dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan reaktif oksidatif stres (ROS). Pada tanaman ROS mempunyai sifat yang reaktif dalam tanaman sehingga dapat memacu kerusakan sel. Tanaman yang tahan akan adanya ROS dalam tubuh tanaman maka akan melakukan suatu adaptasi dengan cara memproduksi senyawa-senyawa metabolik primer dan sekunder. Senyawa metabolik primer itu sendiri dapat berupa protein antioksidan.

Mekanisme toleransi tanaman terhadap cekaman garam yang paling nyata adalah adaptasi morfologi. Pada tanaman yang toleran terhadap salinitas, NaCl ditimbun dalam vakuola sel daun. Di dalam sitoplasma konsentrasi garam tetap rendah sehingga tidak mengganggu aktivitas enzim dan metabolisme. Pemberian larutan salinitas ringan pada tahap awal pertumbuhan dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap salinitas berat (Pangaribuan, 2004)

Tanaman yang mengalami cekaman garam umumnya mempunyai daun yang lebih sempit, lebih gelap, nisbah tajuk akar menurun, berkurangnya anakan, menunda dan menurunkan pembuahan serta jumlah dan ukuran buah lebih kecil (Munns, 2002).

Cekaman garam dapat menyebabkan ketidakseimbangan sistem redoks sehingga menyebabkan kerusakan akibat oksidasi terutama pada lemak, protein dan asam nukleat, sehingga tanaman akan membentuk sejumlah enzim antioksidan dan osmoprotektan untuk melindungi diri dari pengaruh cytotoksik (Hossain *et al.* 2004)

2.4 Protein Antioksidan

Protein merupakan senyawa makro molekul yang mempunyai peran sangat penting dalam mengatur proses metabolisme. Fungsi dari protein dapat dibagi

menjadi beberapa kelompok yaitu; (1) membentuk dan mempertahankan struktur, protein struktur ini bertanggung jawab terhadap stabilitas mekanik dari organ dan jaringan; (2) transpor; (3) perlindungan dan pertahanan; (4) penyimpan (Wirth, 1994).

Fungsi protein di dalam kehidupan biologi terutama tumbuhan yaitu mengkatalisis suatu proses reaksi sebagai enzim. Pada tumbuhan protein terdapat hampir dalam seluruh bagian tubuh tumbuhan. Protein ditemukan pada daun muda dan pada bagian tubuh lainnya seperti polong dan buah. Tumbuhan menyerap unsure-unsur hara yang diperlukan dari dalam tanah melalui akar dan disalurkan keseluruhan bagian tanaman sampai ke daun sehingga tumbuhan membentuk protein melalui proses perombakan anabolisme dan katabolisme (Sopandi, 2009).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Hal tersebut dapat menghambat kerusakan sel. Berkaitan dengan reaksinya di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara berlanjut dibentuk sendiri oleh tubuh. Antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Radikal bebas merupakan atom molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih electron tidak berpasangan (Waji dan Sugrani, 2009).

Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh reaktif oksigen spesies (ROS) seperti singlet oksigen, hidrogen peroksida, maupun superoksida radikal. Ketidak seimbangan antioksidan pada tanaman dengan ROS menyebabkan terjadinya stres oksidatif, sehingga memicu terjadinya kerusakan sel. Pertumbuhan yang menurun pada tanaman dalam kondisi stres terutama dikaitkan dengan peningkatan sintesis ROS. Tanaman merespon ROS dengan meningkatkan sintesis antioksidan sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerusakan sel (Scandalios, 1997). Salah satu mekanisme pertahanan stres adalah

sistem pertahanan antioksidan, yang mencakup enzim antioksidan dan protein bermolekul rendah (Wang *et al.* 2009). Antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Hamilton (1983) dalam Ningsih (2007) menyatakan bahwa penghambatan oksidasi lipida oleh antioksidan melalui lebih dari satu mekanisme tergantung pada kondisi reaksi dan sistem makanan. Ada empat kemungkinan mekanisme penghambatan tersebut yaitu (a) pemberian hidrogen, (b) pemberian elektron, (c) penambahan lipida pada cincin aromatik antioksidan, (d) pembentukan kompleks antara lipida dan cincin aromatik antioksidan. Studi lebih lanjut mengamati bahwa ketika atom hidrogen labil pada suatu antioksidan tertentu diganti dengan deuterium, antioksidan tersebut menjadi tidak efektif. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme penghambatan dengan pemberian hidrogen lebih baik dibanding pemberian elektron.

2.5 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, tujuan dan juga pustaka dapat dihipotesiskan terdapat hubungan antara cekaman salinitas dengan kadar protein dari daun bibit tanaman melinjo dan pertumbuhan bibit tanaman melinjo.

BAB 3. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Februari 2015 sampai dengan Juli 2015. Tempat pelaksanaan penelitian di Green House dan Laboratorium Analisis Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain: bibit tanaman melinjo umur 1 bulan, media tanam (tanah dan pupuk kandang) dengan perbandingan 2:1, aquades, NaCl, larutan penguji Bradford, buffer fosfat, *Sodium Dodecyl Sulfate Solution* (SDS), *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *Bovine Serum Albumin* (BSA), *2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid* (ABTS).

Alat – alat yang digunakan polybag 10 x 15 cm, timbangan, gelas ukur, sentrifuge TOMY MRX-150, spektrofotometer MAPADA V-1100D, elektroforosis, pH meter dan alat penunjang lain.

3.3 Metode Penelitian

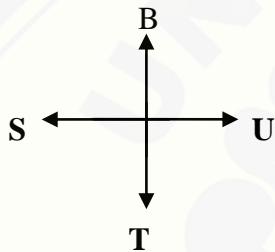
Penelitian cekaman garam pada bibit melinjo (*Gnetum gnemon*) menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan pemberian konsentrasi NaCl dengan 4 ulangan, dapat dilihat sebagai berikut :

P0 = kontrol (tanpa NaCl)	P3 = 75 mM NaCl
P1 = 25 mM NaCl	P4 = 100 mM NaCl.
P2 = 50 mM NaCl	

Media yang digunakan dengan perbandingan tanah dan pupuk kandang (2:1). Setelah didapatkan data dari hasil pengamatan, selanjutnya data dianalisis menggunakan Anova, kemudian data yang berbeda nyata diuji Duncan 5%.

Berdasarkan metode percobaan yang dilakukan didapatkan 20 satuan percobaan dengan tata letak di bawah ini :

N0R1	N1R2	N2R1	N3R3	N4R2
N3R1	N0R2	N4R4	N1R3	N2R2
N4R1	N2R4	N0R3	N3R1	N1R1
N2R3	N3R4	N4R3	N0R4	N1R4



3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Pembuatan Media Tanam dan Transplanting

Media tanam yang akan digunakan pada tanaman melinjo berupa tanah, dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1 dimasukkan pada polibag 10 x 25 cm. Bibit tanaman melinjo yang digunakan berasal dari koleksi laboratorium. Bibit tanaman yang digunakan berumur 1 bulan yakni memiliki 2 lembar (satu pasang) daun, lalu di transplanting ke media tanam tersebut dan dilakukan pemeliharaan dan perawatan sampai bibit tanaman melinjo memiliki 6 lembar (3 pasang) daun (umur 3 bulan).

3.4.2 Aplikasi Perlakuan

Perlakuan dilakukan saat bibit tanaman melinjo berumur 3 bulan dengan pemberian NaCl yang berbeda konsentrasi. NaCl dilarutkan dalam aquadest sesuai konsentrasi yang ditentukan. Aplikasi NaCl pada bibit tanaman melinjo diberikan selama satu bulan.

3.4.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi bahan dilakukan dengan menimbang sampel seberat 0,1 g lalu digerus menggunakan mortal stumpler yang ditambahkan pasir kuarsa agar mudah halus. Tambahkan buffer phosphate konsentrasi 0,1 M pH 7 sebanyak 1 mL setelah sampel halus. Hasil ekstrak tersebut kemudian dimasukkan kedalam mikrotube untuk disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan kemudian disimpan untuk analisis kandungan protein, pola protein dan aktivitas protein antioksidannya.

3.4.4 Penentuan Total Protein Terlarut

Kandungan protein yang terdapat dalam sampel dapat ditentukan dengan metode yang dikemukakan oleh Bradford (1976). Sampel yang telah diekstrak diambil sebanyak 5 μ L ditambahkan 45 μ L aquadest dan 950 μ L larutan Bradford kemudian diinkubasi selama 15 menit. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Hasil yang didapat dibandingkan dengan standar Bovine Serum Albumin (BSA) sebagai standar untuk penentuan konsentrasi total protein terlarut dengan satuan mg BSA/g berat basah sampel.

3.4.5 Penentuan Aktivitas Protein Antioksidan dengan metode ABTS

Uji peredaman radikal ABTS sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh You *et al.* (2002). Reagen ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) dipersiapkan dengan mencampurkan 7 mM ABTS dan 2,45 mM *potassium per sulfate* dengan jumlah sebanding yang kemudian diinkubasikan selama 12-16 jam di tempat gelap pada suhu ruang. Sebelum memulai pengujian, reagen ABTS dilarutkan dengan 0,2 M PBS (*phosphate buffer saline*) pH 7,4 hingga besar absorbansi $0,70 \pm 0,02$ pada panjang gelombang 734 nm. Sampel untuk uji peredaman ABTS radikal dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 2 μ g/mL, 4 μ g/mL, 6 μ g/mL, 8 μ g/mL, dan 10 μ g/mL. Untuk kontrol blanko dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan sampel. Campuran sampel dan reagen ABTS dihomogenisasi dengan vortex selama 30 detik dan diinkubasi pada ruang gelap

selama 6 menit. Uji peredaman ABTS radikal dinyatakan sebagai persen (%) penghambatan terhadap radikal ABTS. Persen penghitungan dihitung sesuai rumus :

$$\text{Peredaman ABTS (\%)} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100\%$$

Dimana $A_{control}$ merupakan nilai absorbansi tanpa penambahan sampel (standar) dan A_{sampel} adalah nilai absorbansi dengan penambahan sampel. Pengukuran IC_{50} dilakukan dengan algoritma regresi nonlinear dari besar persen *scavenging*.

3.4.6 Penentuan Profil Protein Tanaman dengan *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE)

Analisa pola protein dilakukan dengan metode *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) yang merupakan metode pemisahan protein berdasarkan perbedaan berat molekulnya (Bintang, 2010) dilakukan sesuai dengan metode Laemmli (1970). Langkah Pertama dilakukan pembuatan gel dengan konsentrasi 15% akrilamide, elektroforesis protein membutuhkan 2 jenis gel elektroforesis, yaitu *upper gel* dan *lower gel*. Selanjutnya menyiapkan alat elektroforesis yang akan digunakan. Sebanyak 20 μ L sampel protein ditambah dengan 20 μ L buffer loading (95% buffer loading ditambah 5% β -2-mercaptoethanol) kemudian didenaturasi pada suhu 100 °C selama 5 menit. Untuk marker, diambil 5 μ L dimasukkan kedalam sumuran pada gel. Marker protein berfungsi untuk mempermudah penandaan berat molekul protein sampel. Untuk sampel kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel masing-masing sebanyak 40 μ L dan di running pada 30 mA kurang lebih selama 1 jam atau hingga sample mencapai batas atas lower gel dan kemudian menaikkan hingga 60 mA dan sample yang dimasukkan tertarik kebawah hingga sample berada pada gel bagian bawah akan tetapi tidak sampai lepas dari gel. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan melepas gel dari rangkaian plat dan melakukan pewarnaan dengan melakukan perendaman gel hasil elektroforesis dalam larutan 0,10% *coosamassie brilliant blue*. Setelah diwarnai, dilakukan destaining untuk menghilangkan kelebihan warna yaitu dengan merendam gel dalam larutan *destaining* (50 ml aquadest, 40 ml methanol, 10 ml asam asetat glisial) hingga gel

menjadi jernih dengan pita terpisah jelas satu sama lainnya. Gel kemudian disimpan dalam 10 % asam asetat glacial selanjutnya dikeringkan. Pita pada gel hasil elektroforesis tersebut didokumentasikan. Pita protein yang terbentuk dalam gel setelah elektroforesis ditentukan berat molekulnya dengan menggunakan *marker*.

3.4.7 Pengukuran Kadar Klorofil

Pengukuran Kadar klorofil 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 μL sampai halus. Hasil ekstraksi di *sentrifuge* dan diambil supernatan sebanyak 50 μL ditambah ethanol 950 μL kemudian diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 649 dan 665 nm.

* Perhitungan nilai kandungan klorofil adalah dengan rumus:

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

3.4.8 Parameter Pengamatan

1. Tinggi tanaman.
2. Jumlah daun.
3. Panjang akar.
4. Kandungan total klorofil.
5. Jumlah protein terlarut diukur dengan menggunakan metode Bradford.
6. Aktifitas Protein Antioksidan diukur dengan menggunakan metode ABTS.
7. Pola pita protein dianalisa dengan menggunakan metode SDS-PAGE.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada kalus biji melinjo dengan perlakuan konsentrasi garam yang berbeda dapat disimpulkan bahwa :

1. Semakin tinggi konsentrasi garam sampai konsentrasi 100 mM NaCl dapat menghambat pertumbuhan tanaman sehingga persentase peningkatan berat basah dan berat kering semakin rendah.
2. Perlakuan garam dapat menginduksi terjadinya perubahan protein pada daun melinjo, mengakumulasi protein berbobot molekul rendah. Aktivitas protein antioksidan yang tertinggi terdapat pada konsentrasi garam 100 mM NaCl dengan nilai IC_{50} 0,8 $\mu\text{g/mL}$ sudah mampu meredam radikal bebas.

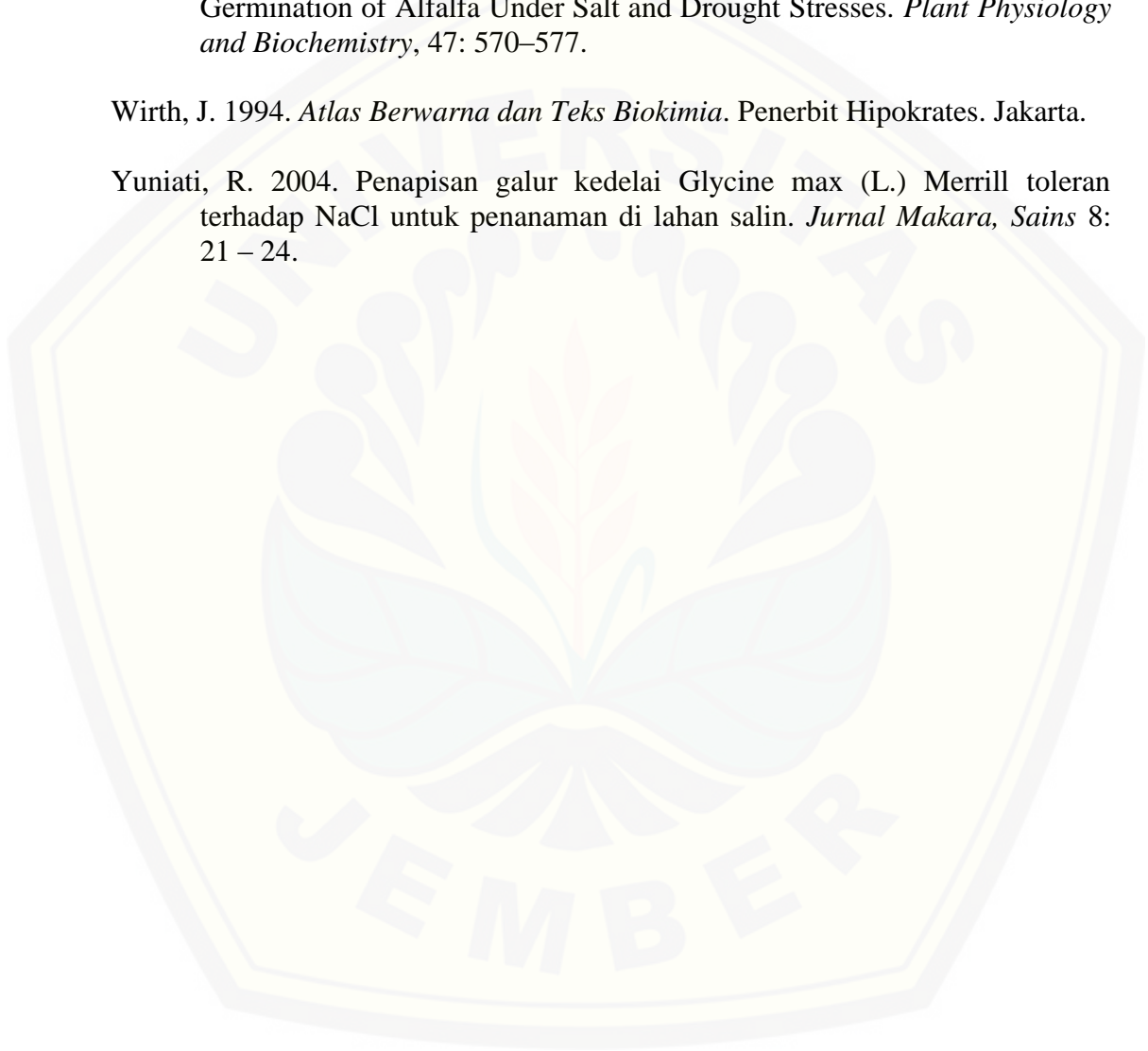
5.2 Saran

Perlu adanya identifikasi lebih lanjut pada total protein yang dihasilkan oleh daun melinjo, sehingga jenis protein yang bersifat antioksidan dapat diketahui secara spesifik untuk mempermudah memproduksi protein antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bollag, D.M. and Edelstein, S.J. 1991. *Protein Methods*. Departement of Biochemistry. University of Geneva; Geneva,Switzerland.
- Canalejo, Antonio. Et.,al. 2014. Salt Tolerance is Related to a Spesific Antioxidant Response in the Halophyte Cordgrass, *Spartina densiflora*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. : 1 – 8.
- Deutscher, M.P. 1990. *Methods In Enzimology, Guide to Protein Purification*. Toronto. Academic Press, Inc.
- Hu, Longxing. Et.,al. 2012. Responses Of Antioxidant Gene, Protein And Enzymes To Salinity Stress In Two Genotypes Of Perennial Ryegrass (*Lolium Perenne*) Differing In Salt Tolerance. *Journal of Plant Physiology* 169 : 146 – 156.
- Imelda, E., 2007. Karakterisasi Fisik dan Uji pH Larutan Rendaman Kulit Melinjo dan Kekerasan Kulit Melinjo. *Skripsi Program Studi Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor*.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227 : 680-685.
- Mannner, H.I and Elevitch, C.R. 2006. *Gnetum gnemon (gnemon)*. Hawaii: Permanent Agriculture Resources (PAR).
- Mulyanto, J. 1994. *Pembibitan dan Budidaya Melinjo*. Kanisius: Yogyakarta.
- Pranasari, R.A., Tutik, N., Kristanti, I.P. 2012. Persaingan Tanaman Jagung (*Zea mays*) dan Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) Pada Pengaruh Cekaman Garam (NaCl). *Jurnal Sains dan Seni* 1: 54 – 57.
- Rahmawati, H., Endang, S., Eka, T.S.W. 2010. Pengaruh Kadar Nacl Terhadap Hasil Dan Mutu Buah Tomat. *J. Skripsi Fakultas Pertanian UGM*.
- Siswoyo, T.A., Oktavidanari, P. dan Sugiharto, B. 2007. Isolation dan Characterization of Free Radical Scavenging Activities Polypeptides from the Melinjo Seed (*Gnetum gnemon*). *International Conference of FAOMBM. Seoul, Republic of Korea*
- Siswoyo, T.A., Eka, M., Kyun, O.L., Keizo, H. 2011. Isolation and Characterization of Antioxidant Protein Fractions from Melinjo (*Gnetum gnemon*) Seeds. *J. Agric. Food Chem.* 59: 5648-5656.

- Sunanto, H., 1991. *Budidaya Melinjo dan Usaha Produksi Emping*. Yogyakarta: kanisius.
- Waji, R.A dan Sugrani, A. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Flafonoid (Quercetin)*. FMIPA., Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Wang Wen-Bin, Yun-Hee Kim, Haeng-Soon Lee, Ki-Yong Kim, Xi-Ping Deng, Sang-Soo Kwak. 2009. Analysis of Antioxidant Enzyme Activity During Germination of Alfalfa Under Salt and Drought Stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 570–577.
- Wirth, J. 1994. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Penerbit Hipokrates. Jakarta.
- Yuniati, R. 2004. Penapisan galur kedelai *Glycine max* (L.) Merrill toleran terhadap NaCl untuk penanaman di lahan salin. *Jurnal Makara, Sains* 8: 21 – 24.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tinggi tanaman bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan	Ulangan (Cm)				Total	Rata - Rata
	U1	U2	U3	U4		
Kontrol	87,50	63,70	57,80	66,70	275,70	68,93
25 mM NaCl	70,00	51,00	67,50	82,30	270,80	67,70
50 mM NaCl	67,60	65,00	37,60	62,50	232,70	58,18
75 mM NaCl	65,00	69,50	56,00	53,00	243,50	60,88
100 mM NaCl	43,50	57,00	47,00	50,00	197,50	49,38
Total	333,60	306,20	265,90	314,50	1220,20	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	1003,33	250,832	2,03	3,06	4,89	ns
Error (galat)	15	1851,75	123,45				
Total	19	2855,08					

Lampiran 2. Jumlah daun bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan /Ulangan	U1	U2	U3	U4	Total	Rata-Rata
Kontrol	52	39	29	48	168	42,00
25 mM NaCl	43	25	31	38	137	34,25
50 mM NaCl	37	36	59	46	178	44,50
75 mM NaCl	6	26	36	24	92	23,00
100 mM NaCl	28	25	46	42	141	35,25
total	166	151	201	198	716	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	1122,70	280,68	2,59	3,06	4,89	ns
Error (galat)	15	1628,50	108,57				
Total	19	2751,20					

Lampiran 3. Berat segar bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan/Ulangan	Berat Total Tanaman				Total	Rata Rata
	U1	U2	U3	U4		
Kontrol	48,35	29,19	37,20	38,25	152,99	38,25
25 Mm NaCl	36,95	33,86	43,27	33,72	147,80	36,95
50 Mm NaCl	25,20	40,88	21,08	29,05	116,21	29,05
75 Mm NaCl	32,57	24,09	24,36	16,41	97,43	24,36
100 Mm NaCl	18,30	22,47	15,32	33,78	89,87	22,47
Total	161,37	150,49	141,23	151,21	604,29	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	822,30	205,57	3,90	3,06	4,89	*
Error (galat)	15	790,52	52,70				
Total	19	1612,82					

Lampiran 4. Berat kering bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Berat Total Tanaman						
Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	U4	Total	Rata Rata
kontrol	19,54	14,47	12,99	15,67	62,67	15,67
25 mM NaCl	13,33	13,70	15,80	10,50	53,33	13,33
50 mM NaCl	11,60	13,19	6,62	10,47	41,88	10,47
75 mM NaCl	11,31	8,98	8,86	6,28	35,43	8,86
100 mM NaCl	8,06	7,73	5,74	9,38	30,91	7,73
total	63,84	58,07	50,01	52,30	224,21	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	170,36	42,59	10,01	3,06	4,89	**
Error (galat)	15	80,81	4,25				
Total	19	251,17					

Lampiran 5. Panjang akar bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	U4	Total	Rata-Rata
Kontrol	35,00	26,00	34,00	31,67	126,67	31,67
25 Mm NaCl	41,10	57,00	25,00	41,30	164,40	41,10
50 Mm NaCl	27,50	28,00	20,00	25,17	100,67	25,17
75 Mm NaCl	28,00	35,00	31,83	32,50	127,33	31,83
100 Mm NaCl	18,00	18,67	15,00	23,00	74,67	18,67
Total	149,60	164,67	125,83	153,63	593,73	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	1122,65	280,66	6,39	3,055568	4,89321	**
Error (galat)	15	658,73	43,92				
Total	19	1781,38					

Lampiran 6. Aktivitas tanah bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	U4	Total	Rata - Rata
Kontrol	0,05	0,06	0,03	0,02	0,17	0,04
25 mM NaCl	0,06	0,19	0,08	0,12	0,46	0,12
50 mM NaCl	0,11	0,15	0,07	0,09	0,41	0,10
75 mM NaCl	0,10	0,12	0,13	0,10	0,44	0,11
100 mM NaCl	0,07	0,11	0,07	0,06	0,31	0,08
Total	0,39	0,63	0,38	0,39	1,79	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	0,02	0,004	3,53	3,06	4,89	*
Error (galat)	15	0,02	0,001				
Total	19	0,03					

Lampiran 7. Konduktifitas listrik bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	U4	Total	Rata Rata
Kontrol	0,05	0,09	0,03	0,08	0,25	0,06
25 Mm NaCl	0,23	0,31	0,25	0,26	1,05	0,26
50 Mm NaCl	0,94	0,98	1,06	0,92	3,9	0,975
75 Mm NaCl	2,67	2,70	2,53	2,60	10,5	2,63
100 Mm NaCl	3,04	3,07	3,14	3,14	12,39	3,0975
Total	6,93	7,15	7,01	7	28,09	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	30,58	7,65	2715,97	3,06	4,89	**
Error (galat)	15	0,04	0,00282				
Total	19	30,62					

Lampran 8. Kadungan klorofil total bibit tanaman melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	Total	Rata - Rata
Kontrol	50,09	51,59	51,02	152,70	50,90
25 mM NaCl	41,01	41,73	42,25	125,00	41,67
50 mM NaCl	12,22	11,71	11,83	35,75	11,92
75 mM NaCl	25,49	23,59	22,58	71,66	23,89
100 mM NaCl	22,83	22,53	24,16	69,53	23,18
Total	151,65	151,15	151,84	454,64	

Anova.

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	4	2950,10	737,53	931,23	3,48	5,99	**
Error (galat)	10	7,92	0,79				
Total	14	2958,02					

Contoh perhitungan kandungan klorofil

- Jumlah larutan klorofil hasil ekstraksi 1580 μ L
- Jumlah larutan klorofil yang diukur 50 μ L
- Jumlah sampel yang diekstraksi 0,14 g
- Hasil Abs ulangan 25 mM NaCl (649nm= 0,318 dan 665nm= 0m728)

Kandungan klorofil 25 mM NaCl ulangan 1, adalah:

$$: (20,0 \times 0,318) + (6,1 \times 0,728) = 10,80 \text{ (}\mu\text{g/mL)}$$

Total klorofil dalam 1580 μL

$$: \frac{1580}{50} \times 10,80 = 341,31$$

50

$$= \frac{341,31}{0,14} = 2437 \text{ }\mu\text{g/g} = 2,43 \text{ mg/g}$$

0,14

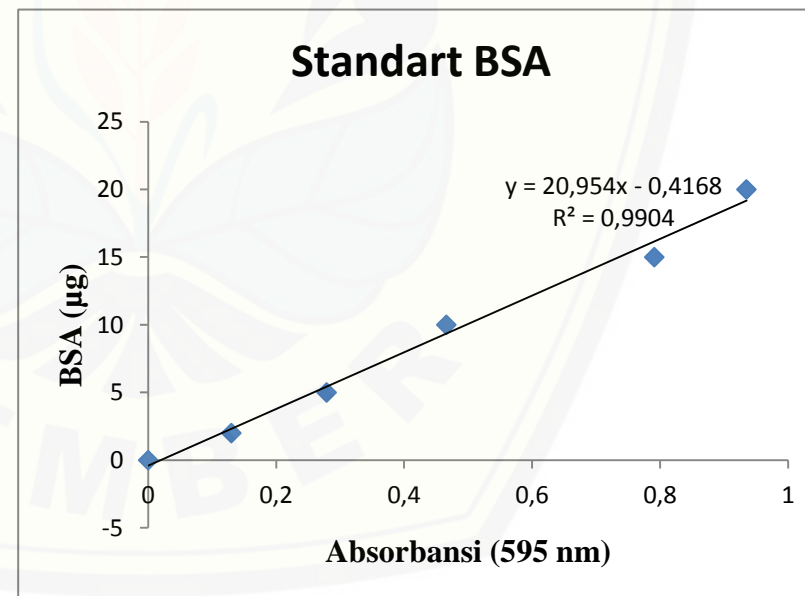


Lampiran 9 Kandungan total protein terlarut bibit melinjo pada berbagai perlakuan NaCl.

Perlakuan	Absorbansi			µg/µl			mg/g			Rata-rata
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3	
Kontrol	0,607	0,629	0,609	2,82	2,93	2,83	5,63	5,87	5,65	5,72
25 mM NaCl	0,455	0,430	0,439	2,01	1,88	1,93	4,03	3,77	3,86	3,88
50 mM NaCl	0,209	0,196	0,194	0,72	0,65	0,64	1,43	1,30	1,28	1,33
75 mM NaCl	0,284	0,331	0,313	1,11	1,36	1,27	2,22	2,72	2,53	2,49
100 mM NaCl	0,398	0,371	0,398	1,71	1,57	1,71	3,43	3,14	3,43	3,33

Standart Bovine Serum Albumin (BSA)

BSA (µg)	Absorbansi (595 nm)
0	0
2	0,13
5	0,279
10	0,466
15	0,791
20	0,935



lampiran 10. Aktivitas protein antioksidan pada berbagai konsentrasi NaCl.

sampel	konsentrasi	absorbansi			peredaman (%)			average
KONTROL	0	0,557	0,535	0,546				
	2	0,47	0,399	0,435	15,62	25,42	20,42	20,49
	4	0,274	0,24	0,257	50,81	55,14	52,93	52,96
	6	0,182	0,164	0,173	67,32	69,35	68,32	68,33
	8	0,134	0,134	0,134	75,94	74,95	75,46	75,45
	10	0,089	0,093	0,091	84,02	82,62	83,33	83,32
25 MM NACL	0	0,586	0,623	0,605				
	2	0,359	0,342	0,351	38,74	45,10	42,07	41,97
	4	0,244	0,221	0,233	58,36	64,53	61,57	61,49
	6	0,159	0,133	0,146	72,87	78,65	75,87	75,80
	8	0,118	0,119	0,119	79,86	80,90	80,41	80,39
	10	0,086	0,08	0,083	85,32	87,16	86,28	86,25
50 MM NACL	0	0,746	0,521	0,634				
	2	0,325	0,287	0,306	56,43	44,91	51,74	51,03
	4	0,154	0,12	0,137	79,36	76,97	78,39	78,24
	6	0,087	0,099	0,093	88,34	81,00	85,33	84,89
	8	0,094	0,098	0,096	87,40	81,19	84,86	84,48
	10	0,107	0,094	0,101	85,66	81,96	84,15	83,92
75 MM NACL	0	0,576	0,516	0,546				
	2	0,242	0,271	0,257	57,99	47,48	53,02	52,83
	4	0,121	0,143	0,132	78,99	72,29	75,82	75,70
	6	0,093	0,088	0,091	83,85	82,95	83,42	83,41
	8	0,1	0,088	0,094	82,64	82,95	82,78	82,79
	10	0,094	0,105	0,100	83,68	79,65	81,78	81,70
100 MM NACL	0	0,504	0,526	0,515				
	2	0,176	0,282	0,229	65,08	46,39	55,53	55,67
	4	0,09	0,094	0,092	82,14	82,13	82,14	82,14
	6	0,095	0,091	0,093	81,15	82,70	81,94	81,93
	8	0,101	0,093	0,097	79,96	82,32	81,17	81,15
	10	0,113	0,106	0,110	77,58	79,85	78,74	78,72

Nilai IC₅₀ (µg/mL)

Perlakuan	Nilai IC50 (µg/mL)			Rata - Rata
	U1	U2	U3	
kontrol	4,23	3,75	4,01	4,00
25 mM	2,92	2,31	2,60	2,61
50 mM	1,11	1,85	1,39	1,45
75 mM	0,91	1,77	1,32	1,33
100 mM	0,15	1,55	0,83	0,84

Contoh perhitungan

- Aktivitas protein antioksidan**

Peredaman ABTS pada 2 µg protein ulangan 1 perlakuan 0 M NaCl

$$= [(A_c - A_s) / A_c] \times 100\%$$

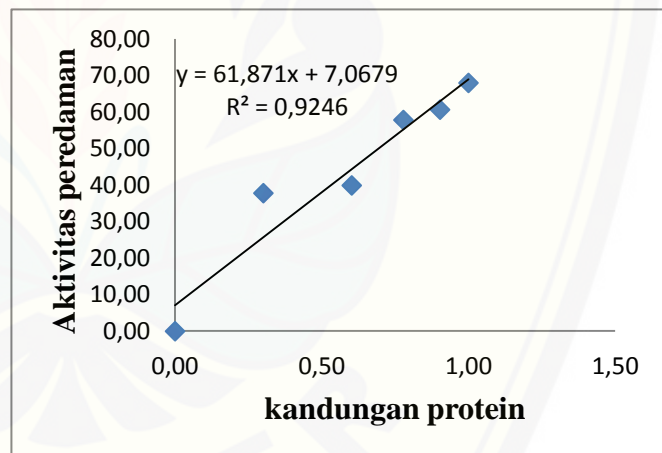
$$= \frac{[(0,709 - 0,441) \times 100\%]}{0,709} = 37,80\%$$

- Contoh perhitungan nilai IC₅₀**

Pada perlakuan 0 mM NaCl U1

Grafik persamaan nilai IC₅₀

protein (µg)	log 10 (protein)	Aktivitas peredaman
0	0,00	0,00
2	0,30	37,80
4	0,60	39,92
6	0,78	57,83
8	0,90	60,65
10	1,00	67,98



Nilai IC₅₀

$$Y = 61,87x + 7,067$$

$$x = \frac{(y - 7,067)}{61,87} = \frac{(50 - 7,067)}{61,87}$$

$$= 0,69$$

Nilai IC₅₀ = power10(x)

$$= \text{power } 10 (0,69) = 4,94 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.



Populasi tanaman melinjo



Perlakuan Larutan NaCl



Analisis Total Protein