

## Pengaruh Cekaman Salinitas Terhadap Aktivitas Katalase dan Pertumbuhan Bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

*The Effect of Salinity Stress on Catalase Activity and Growth of Melinjo*

Reza Septyan Pratama<sup>1</sup> dan Tri Agus Siswoyo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember  
Jl. Kalimantan No.37, Kampus Tegalboto Jember 68121

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

### ABSTRACT

Melinjo plant (*Gnetum gnemon* L.) is one of the plants that has the potential to be developed, especially in the tropics. Melinjo plants have a protein content of 9-10%. Reactive Oxygen Species (ROS) have increased accumulation in plant cells offset by increased antioxidants, which serve to protect against cell damage caused by osmotic pressure in plant tissue. Salinity stress can be induced through the application of Sodium Chloride (NaCl). This research was conducted to determine the response of growth and activity of the enzyme catalase (CAT) of melinjo seeds to the duration of NaCl application. The study was conducted from January to completion in the Green House and plant analysis laboratory at the Faculty of Agriculture, University of Jember. The experimental method used was the Completely Randomized Design (CRD) of NaCl application treatment of 0, 5, 10, 15, and 20%. with a treatment duration of application of 45 days and repeated as many as 5 replications. NaCl application of 0 - 20% significantly affects plant growth, especially on plant height, root length, and wet weight parameters. When the condition of the plant experiences salinity stress, it affects the percentage of acid reduction 2,2'- Azinobis (3-ethylbenzotiazolin) - 6-sulfonate (ABTS) has the highest value in the P3 treatment of 26.08%. The highest CAT antioxidant activity in P4 treatment was 1.02 units / mg protein.

**Keywords:** NaCl, protein, antioxidant, *Gnetum gnemon* L.

### ABSTRAK

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan khususnya di daerah tropis. Tanaman melinjo mempunyai kandungan protein sebesar 9-10%. *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) mengalami peningkatan akumulasi didalam sel tanaman diimbangi dengan meningkatnya antioksidan, yang berfungsi melindungi dari kerusakan sel akibat dari tekanan osmotik didalam jaringan tanaman. Cekaman salinitas dapat diinduksikan melalui aplikasi *Natrium Chlorida* (NaCl). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui respon pertumbuhan dan aktivitas enzim katalase (CAT) bibit melinjo terhadap lama aplikasi NaCl. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai selesai di *Green House* dan laboratorium analisis tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember. Metode percobaan yang digunakan adalah RAL perlakuan aplikasi NaCl 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20% dengan perlakuan lama aplikasi 45 hari dan diulang sebanyak 5 ulangan. Lama aplikasi NaCl 0% - 20% berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman khususnya pada parameter tinggi tanaman, panjang akar, berat basah tanaman. Pada saat kondisi tanaman mengalami stress salinitas mempengaruhi persentase peredaman Asam 2,2'- Azinobis (3-etilbenzotiazolin)- 6-sulfonat (ABTS) memiliki nilai tertinggi pada perlakuan P3 sebesar 26,08%. Aktivitas antioksidan CAT tertinggi pada perlakuan P4 sebesar 1,02 unit/mg protein.

**Kata Kunci:** NaCl, protein, antioksidan, melinjo

**How to cite:** Reza SP dan Tri AS. 2022. Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Aktivitas Katalase (CAT) dan Pertumbuhan Bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Berkala Ilmiah Pertanian 5 (3) 170-177

### PENDAHULUAN

Tanaman melinjo merupakan tanaman berbiji terbuka (*Gymnospermae*) yang berasal dari Semenanjung-malaysia (Winarto 2004). Menurut Mulyanto (1995) melinjo tidak mempunyai syarat tumbuh yang spesifik sehingga mampu tumbuh

mulai dari daerah pantai sampai dengan dataran tinggi dengan ketinggian 1200 mdpl (Sunanto, 1991). Lahan pertanian di dataran rendah mempunyai potensi yang tinggi. Menurut Arief et al. (2011), Indonesia memiliki panjang garis pantai mencapai 106.000 km dengan potensi luas lahan 1.060.000. Pada proses pemanfaatan lahan pantai

mempunyai kendala diantaranya yaitu lahan pantai yang berupa pasir dengan kadar salinitas yang relatif tinggi.

Salinitas juga dapat mengacu pada kandungan garam dalam tanah. Menurut Syawaluddin et al. (2013), cekaman salinitas terhadap tanaman dapat melalui dua cara yaitu peningkatan ion di sekitar akar dan akumulasi  $\text{Na}^+$  di dalam sel dan jaringan. Menurut Batool et al. (2014), peningkatan konsentrasi ion disekitar akar akan meningkatkan tekanan osmotik sehingga dapat menghambat penyerapan air oleh akar. Akumulasi  $\text{Na}^+$  di dalam sel dapat mengakibatkan kematian sel dan jaringan. Peningkatan tekanan osmotik berpengaruh terhadap pertumbuhan dan proses fisiologis tanaman. Menurut Elfarisna et al. (2016), peningkatan tekanan osmotik akan terlihat saat perubahan perkembangan pada daun, hal ini dikarenakan terhambatnya pemanjangan dan pembelahan sel.

Pada kondisi stress salinitas dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Secara fisiologis cekaman salinitas dapat mengganggu proses metabolisme pada tanaman (Ardiansyah., 2016). Pada saat tanaman mengalami stress salinitas akan berpengaruh terhadap pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS). ROS merupakan radikal bebas yang berupa oksigen dan turunannya yang sangat reaktif. Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap molekul protein, DNA, lemak membran sel, dan komponen sel atau jaringan yang lain (Verlues., et al. 1998).

Tanaman melinjo mengandung senyawa kompleks diantaranya karbohidrat, vitamin dan protein. Menurut Siswoyo et al. (2016), protein pada tanaman melinjo mencapai 9-10% yang berpotensi sebagai antioksidan alami pada tanaman. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meredam dampak negatif dari oksidan (Sayuti dan Yenria ., 2015). Tanaman melinjo mempunyai potensi sebagai antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel dari senyawa radikal bebas. Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder (Sayuti et al. 2010).

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang dapat berinteraksi dengan radikal bebas, contoh: Enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion dimustase (Siswoyo.A., et al.2009) .Antioksidan sekunder berfungsi sebagai pelindung dan memiliki peran untuk memecah hidrogen peroksida menjadi senyawa yang bersifat non radikal, Contoh : Vitamin E, Vitamin C, dan  $\beta$ -karoten. Enzim katalase berperan dalam mengkatalis hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Berdasarkan fungsi dari enzim katalase maka kandungan protein dan senyawa antioksidan pada melinjo berpengaruh terhadap aktivitas enzim katalase (Biworo. A et al. 2013). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan guna untuk mengetahui

pengaruh aplikasi NaCl dan aktivitas enzim katalase pada bibit melinjo.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Green House dan Laboratorium Analisis Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember pada bulan Mei 2018 sampai Agustus 2018.

### Persiapan Penelitian

Bibit melinjo yang digunakan berumur 3 bulan yang berasal dari perkembangbiakan generatif melalui biji. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : kompos, pasir dan tanah dengan perbandingan 1:1:1, NaCl, aquadest, buffer serta bahan penunjang lainnya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, timbangan, timba 10 cm, polybag 10 x 15 cm, pH meter, spektrofotometer dan berbagai alat penunjang lainnya.

### Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Adapun perlakuan NaCl sebagai berikut :

P0 = 0 % NaCl

P1 = 5 % NaCl

P2 = 10 % NaCl

P3 = 15 % NaCl

P4 = 20 % NaCl

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan analisis of variance (ANOVA). Apabila setiap perlakuan berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

Berikut denah percobaan perlakuan NaCl terhadap bibit melinjo :

P3U1	P1U4	P3U2	P4U1	P4U4
P0U3	P2U2	P2U1	P1U3	P0U5
P2U4	P1U5	P4U3	P3U3	P2U5
P4U2	P3U4	P2U3	P3U5	P1U2
P0U2	P0U1	P1U1	P4U5	P0U4

P= Perlakuan

U= Ulangan

### Prosedur Penelitian

#### 1. Persiapan Bibit

Bibit tanaman melinjo diperoleh dari perbanyakan secara generatif. Benih yang diperoleh dari biji yang masak secara fisiologis dicuci dengan menggunakan etanol 10% kemudian dicuci dengan aquadest. Pada

tahap pertama dilakukan pematahan dormansi benih melinjo dengan perlakuan dioven selama 30 hari.

## 2. Persiapan Media Tanam

Percobaan ini dilaksanakan secara bertahap, antara lain pembuatan media, adaptasi tanaman dan aplikasi NaCl, aktivitas enzim katalase. Media tanam yang digunakan berupa kompos, pasir dan tanah dengan perbandingan 1:1:1. Seluruh komponen media tanam dicampur merata sesuai dengan perbandingan masing-masing kemudian dimasukkan ke dalam polybag berukuran 10x15 cm. Bibit melinjo diambil, kemudian ditanam ke dalam polybag berukuran 10 x 15 cm yang telah berisi media. Setelah itu, bibit diadaptasikan selama 30 hari di dalam green house dan diberi perlakuan NaCl.

## 3. Induksi NaCl

Induksi NaCl dilakukan pada saat bibit Melinjo (*Gnetum gnemon*L.) berusia 3 bulan. Induksi NaCl berlangsung selama 45 hari. Aplikasi NaCl dilakukan dengan menghitung kapasitas lapang terlebih dahulu yang selanjutnya diaplikasikan NaCl setiap 2 kali sehari.

## 4. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman melinjo dilakukan setiap dua hari sekali di green house salah satunya gangguan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Untuk pengendalian dengan cara mekanis, apabila serangan OPT tinggi maka akan dilakukan pengendalian lebih intensif.

## 5. Ekstraksi Sample Tanaman

Proses ekstraksi sampel dilakukan untuk menentukan kandungan Total Protein Terlarut pada tanaman. Penentuan Total protein terlarut menggunakan metode Bradford (1976) dengan menggunakan standar protein Bovine Serum Albumin (BSA). Mengambil 5 µL sampel kemudian ditambahkan 45 µL aquadest dan 950 µL larutan Bradford selanjutnya semua bahan tersebut divortex. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer.

## 6. Analisis Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode ABTS (Shalabay and Shanab, 2013). Metode ABTS merupakan metode untuk menguji kapasitas antioksidan meredam radikal bebas secara langsung. Pada tahap pertama membuat stok larutan ABTS dan stok Phosphate Buffer Saline (PBS) 0.2 M. Stok ABTS dibuat dengan melarutkan 0,38 gram ABTS ke dalam 50 mL aquadest. Stok Phosphate Buffer Saline (PBS) 0.2M dibuat dengan melarutkan 3,556 gram  $\text{NaH}_2\text{PO}_2$  dengan 26,08 gram  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4(2\text{H}_2\text{O})$  yang kemudian dilarutkan

dalam 500 mL aquadest dan ditambahkan dengan 5,4 gram NaCl. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi  $\pm 0,7$  dengan gelombang 734 nm. Peredaman ABTS dapat diketahui dengan rumus :

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

Ac = Absorbansi Kontrol

As = Absorbansi Sampel Analisis aktivitas CAT

## 7. Analisis Aktivitas Katalase (CAT)

Katalase sebagai antioksidan endogen mempunyai peran yang sangat penting dalam mengontrol radikal bebas berupa konsentrasi  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dengan mengkatalisis  $\text{H}_2\text{O}_2$  menjadi oksigen ( $\text{O}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) Katalase (CAT) Pengujian aktivitas katalase dilakukan dengan mencampurkan 712,5 µl phenol buffer (1.36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang dicampur dengan 3 ml larutan phenol dan 3 ml larutan Triton X-100), 31,25 µl (4 mg/ml) larutan aminoantipyrine, 156,25 µl 30% substrat  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ketiga larutan tersebut dihomogenkan dan dijaga pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 100 µl ekstrak sampel dan dicampur rata. Pada menit ke 2 dan ke 5 setelah penambahan ekstrak sampel lalu dimeasure.

## Variabel Pengamatan

### 1. Pertumbuhan bibit melinjo

Pertumbuhan bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dapat diketahui dari parameter yang diantaranya yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang dan panjang akar. Panjang akar diukur dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang pada masing-masing tanaman. Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang hingga titik tumbuh tanaman. Jumlah daun dihitung sejak awal perlakuan NaCl di aplikasikan. Parameter tinggi tanaman (cm), jumlah daun dan diameter batang (mm) dilakukan pada interval 1 minggu sekali. Pengamatan panjang akar (cm) tanaman dilakukan pada akhir penelitian.

### 2. Berat basah total

Penentuan berat basah total tanaman dilakukan pada akhir penelitian yang dinyatakan dalam gram (g).

### 3. Berat kering total

Penentuan berat kering total tanaman dilakukan pada akhir penelitian yang dinyatakan dalam gram (g).

### 4. Total kandungan klorofil

Total kandungan klorofil sampel dinyatakan dalam mg/L.

### 5. Total Protein Terlarut (TPT)

Penentuan total protein terlarut (TPT) dilakukan dengan metode Bradford yang dinyatakan dalam satuan mg/g.

### 6. Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS yang dinyatakan dalam satuan persen (%).

## 7. Aktivitas Enzim Katalase

Penentuan aktivitas CAT terhadap pertumbuhan bibit melinjo dengan menggunakan phenol buffer, (1.36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang dicampur dengan 3 ml larutan phenol dan 3 ml larutan Triton X-100), 31,25  $\mu\text{l}$  (4 mg/ml) larutan aminoantipyrined yang dinyatakan dalam satuan (%).

### HASIL

Hasil ANOVA beberapa parameter pertumbuhan bibit melinjo terhadap aplikasi NaCl diketahui di tabel 4.1.

Tabel 4.1 Respon pertumbuhan bibit melinjo terhadap aplikasi NaCl 0% - 20%

Parameter Pengamatan	Perlakuan NaCl				
	P0	P1	P2	P3	P4
Tinggi Tanaman (Cm)	74,4±13,2 <sup>a</sup>	65,2±3,83 <sup>a</sup>	53,8±2,86 <sup>b</sup>	44,2±1,92 <sup>c</sup>	33,4±4,83 <sup>d</sup>
Jumlah Daun (Satuan)	19,8±4,71 <sup>a</sup>	24,6±11,37 <sup>a</sup>	14,2±2,17 <sup>a</sup>	18,2±8,87 <sup>a</sup>	16,6±7,09 <sup>a</sup>
Diameter Batang (mm)	0,6±0,14 <sup>a</sup>	0,5±0,10 <sup>a</sup>	0,42±0,16 <sup>a</sup>	0,5±0,14 <sup>a</sup>	0,36±0,18 <sup>a</sup>
Kandungan Total Klorofil (mg/l)	16,76±0,89 <sup>a</sup>	16,37±0,81 <sup>a</sup>	15,61±0,52 <sup>a</sup>	15,19±0,64 <sup>b</sup>	14,45±0,71 <sup>b</sup>
Berat Basah (gr)	23,19±2,5 <sup>a</sup>	22,67±3,0 <sup>ab</sup>	18,83±4,75 <sup>ab</sup>	17,81±1,43 <sup>bc</sup>	13,37±4,2 <sup>c</sup>
Berat Kering (gr)	9,04±0,99 <sup>a</sup>	8,84±1,19 <sup>a</sup>	7,34±1,85 <sup>a</sup>	6,95±0,56 <sup>a</sup>	5,21±1,64 <sup>a</sup>
Panjang Akar (cm)	53,2±14,31 <sup>a</sup>	49,6±14,36 <sup>ab</sup>	38,8±5,84 <sup>bc</sup>	26,48±6,94 <sup>cd</sup>	24,32±6,53 <sup>d</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf ketidak percayaan 5%.

Cekaman salinitas merupakan cekaman abiotik yang dapat mengakibatkan kondisi tanah menjadi salin, salinitas yang tinggi pada setiap media akan membuat tanaman mengalami stress lingkungan, salah satu stress lingkungan yang terjadi yaitu cekaman osmotik dan cekaman ionic. Cekaman tersebut akan mengakibatkan gangguan terhadap penyerapan hara di dalam tanah, serta proses metabolisme dan morfologi anatomi tanaman.

Akibat dari gangguan serapan hara, dikarenakan jumlah garam yang di aplikasikan dalam konsentrasi yang tinggi pada media, sehingga dapat menurunkan potensial osmotik dan tanaman kesulitan untuk menyerap air hingga tanaman mengalami cekaman fisiologis. Kesulitan tanaman dalam mengambil air dari media, juga menyebabkan pengambilan beberapa unsur hara yang berada dalam bentuk ion terlarut dalam air menjadi terhambat. Keberadaan salah satu unsur mineral dalam jumlah berlebih pada tanah akan menyebabkan gangguan ketersediaan serta penyerapan unsur mineral yang lain.

Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa pada saat aplikasi NaCl dengan konsentrasi 0% NaCl sampai 20% NaCl berpengaruh nyata terhadap

pertumbuhan bibit melinjo. Aplikasi NaCl tersebut berpengaruh nyata terhadap parameter tinggi tanaman, panjang akar, berat basah tanaman serta rasio akar: tajuk. Aplikasi NaCl 0% sampai 20% mampu menghambat peningkatan tinggi tanaman dibandingkan tanaman yang tidak diaplikasikan NaCl berikut pengamatan untuk parameter tinggi tanaman (P0): 74,4cm; (P1): 65,2cm; (P2): 53,8cm; (P3): 44,2cm; (P4): 33,4cm. Dengan waktu 45 hari selama pengaplikasian NaCl dengan konsentrasi yang berbeda tersebut mampu menurunkan penambahan tinggi tanaman pada bibit melinjo dengan data sebagai berikut, P0 Tanaman yang tidak diaplikasikan NaCl mempunyai tinggi tanaman 74,4 cm lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang mengalami cekaman salin / garam..

Proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman dipengaruhi oleh suplai nutrisi, terutama air yang cukup pada tanah. Pertumbuhan tanaman dapat diketahui melalui peningkatan tinggi tanaman. Tinggi tanaman terjadi akibat proses pembelahan sel dan pembesaran sel yang dipengaruhi oleh ketersediaan air dalam jaringan (Samanhudi, 2010). Menurut Salisbury dan Ros (1995), air berfungsi untuk pembentangan sel. Ketersediaan air didalam sel tanaman berpengaruh terhadap turgor sel dan metabolisme hormon pertumbuhan seperti auksin dan sitokinin. Auksin mampu meningkatkan tekanan osmotik, sintesa protein serta permeabilitas dinding sel sehingga air masuk kedalam sel disertai dengan peningkatan volume sel. Hormon sitokinin bersinergi dengan auksin dalam proses pembelahan sel (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Pada kondisi cekaman salin / garam akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Aplikasi NaCl sebagai cekaman salin / garam pada bibit melinjo memiliki parameter jumlah daun berbeda tidak nyata. Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa aplikasi NaCl 0% sampai 20% pada setiap perlakuan adalah sebagai berikut (P0): 19,8 ; (P1): 24,6 ; (P2): 14,2 ; (P3): 18,2 ; (P4): 16,6. Pada kondisi cekaman salinitas tanaman akan mengalami stress oksidatif dimana kebutuhan air pada tanaman akan terhambat. Kemampuan tanaman untuk mengontrol laju transpirasi merupakan salah satu mekanisme ketahanan tanaman dalam kondisi stress oksidatif. Tanaman yang mengalami cekaman salin / garam, juga akan mengalami cekaman osmotik dan cekaman ionic (Jaleel et al, 2009). Menurut Gembong (1999), pertumbuhan jumlah daun dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu faktor lingkungan dan faktor genetik. Faktor lingkungan adalah ketersediaan air dan unsurhara pada media.

Berdasarkan analisis ragam diketahui bahwa parameter pertumbuhan tanaman untuk diameter batang berbeda tidak nyata terhadap aplikasi NaCl 0% sampai 20% dengan data sebagai berikut (P0): 0,6cm; (P1): 0,5cm; (P2): 0,42cm; (P3): 0,5cm; (P4): 0,36cm. Menurut Nahum et al, (2006), menyatakan

bahwa ketersediaan air didalam media akan merangsang pembelahan sel yang lebih cepat untuk menyerap air dan unsurhara. Kondisi cekaman salinitas berhubungan dengan pertumbuhan akar tanaman, adanya pembentukan auksin pada tanaman yang mengalami cekaman salinitas akan menurunkan transport auksin ke kambium.

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa aplikasi NaCl 0% sampai 20% berpengaruh nyata terhadap panjang akar tanaman, hal ini akan menghambat pertumbuhan akar tanaman tersebut. Rata-rata panjang akar tanaman setelah aplikasi NaCl selama 45 hari dengan konsentrasi yang berbeda menghasilkan data sebagai berikut (P0): 53,2cm; (P1): 49,6cm; (P2): 38,8cm; (P3): 26,48cm, (P4): 24,32cm. Penelitian oleh Faradisa et al, (2010) pada tanaman jagung menyatakan bahwa induksi cekaman salinitas pada tanaman akan menghambat pertumbuhan sehingga menurunkan panjang akar tanaman tersebut. Ketersediaan air disekitar perakaran tanaman akan merangsang sel-sel maristem akar membelah diri untuk menyerap unsurhara yang ada didalam media tanam.

Pada kondisi cekaman salinitas akan menurunkan perpanjangan akar, kedalaman penetrasi serta diameter akar, hal ini dikarenakan kadar garam yang tinggi (Nahum et al, 2006). Hal ini sejalan dengan temuan Hosseini dan Thengane (2007) yang mengutarakan bahwa cekaman salinitas tidak mempengaruhi pertumbuhan dan pemanjangan akar, namun lebih menuju kearah beberapa varietas kapas dengan cekaman salinitas dapat meningkatkan panjang akar. Pada sisi lain juga bertentangan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Akhtar dan Azhar (2001) bahwa cekaman salinitas mampu menurunkan panjang beberapa akar varietas kapas dalam keadaan salin.

Cekaman salin / garam akan menekan pertumbuhan tajuk untuk mengurangi laju kehilangan air (transpirasi) melalui daun dan juga mengalami perubahan warna. Berdasarkan tabel 4.1 diketahui berat basah masing-masing perlakuan sebagai berikut (P0): 23,19g; (P1): 22,67g; (P2): 18,83g; (P3) : 17,8g; (P4) : 13,37g. Aplikasi NaCl selama 45 hari dengan konsentrasi 0% sampai 20% pada bibit melinjo berpengaruh nyata terhadap parameter berat basah tanaman. Tanaman akan menurunkan berat basah tanaman. Pada kondisi cekaman salinitas, tanaman akan menurunkan perkembangan vegetatif melalui penurunan luas daun dan jumlah daun sehingga membatasi tanaman dalam penangkapan cahaya. Penurunan pengembangan berdampak terhadap penurunan fotosintetik tajuk tanaman (Anjum et al, 2011).

Menurut Solichatun et al, (2005), cekaman salinitas pada tanaman akan menurunkan produktivitas tanaman. Hal tersebut terjadi karena menurunnya proses metabolisme primer, menyusutnya luas daun serta aktivitas fotosintesis. Penurunan produktivitas tanaman dapat diketahui

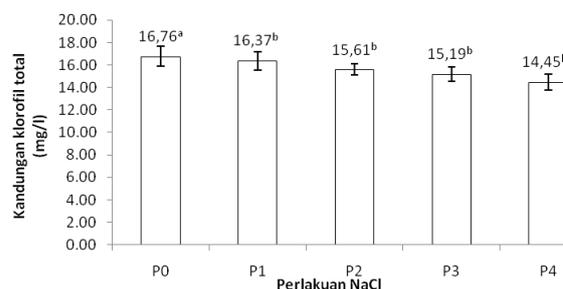
melalui parameter berat kering tanaman pada tabel 4.1, masing-masing berat kering tanaman sebagai berikut (P0): 9,04g; (P1): 8,84g; (P2): 7,34g; (P3): 6,95g; (P4): 5,21g. Berdasarkan data berat kering tanaman diketahui bahwa semakin besar konsentrasi NaCl yang diberikan dapat menurunkan berat kering dari tanaman tersebut, akan tetapi perlakuan tersebut berbeda tidak nyata pada parameter berat kering tanaman.

## PEMBAHASAN

### Kandungan Klorofil Daun.

Peran dari klorofil yaitu untuk absorpsi cahaya matahari (Salisbury dan Ross, 1992). Semakin tinggi konsentrasi cekaman garam yang diberikan terhadap tanaman, maka akan berdampak pada penurunan kandungan klorofil daun. Warna daun yang mengalami cekaman salin / garam akan berbeda dengan warna daun dengan perlakuan kontrol, yaitu warna daun mengalami perubahan warna, pada awal sebelum diberikan perlakuan warna daun hijau pada perlakuan kontrol (setelah perlakuan minggu ke-3 setelah perlakuan) daun tampak menguning pada bagian pinggir daun dan sampai mengering berwarna kecoklatan pada perlakuan dengan konsentrasi tinggi yaitu 20% NaCl (minggu ke-3 setelah perlakuan).

Cekaman salin / garam selama 45 hari dengan aplikasi NaCl setiap 2 hari sekali, menyebabkan terjadinya penurunan kandungan klorofil pada daun. Hal ini dikarenakan cekaman garam yang terjadi pada daun dari tingkat cekaman yang paling rendah (5% NaCl) hingga yang paling tinggi (20% NaCl) akan mempengaruhi proses-proses biokimia yang berlangsung di dalam sel. Cekaman salin / garam juga mempengaruhi reaksi-reaksi biokimia, fotosintesis, sehingga laju fotosintesis akan mengalami penurunan (Fitter dan hay, 1994).



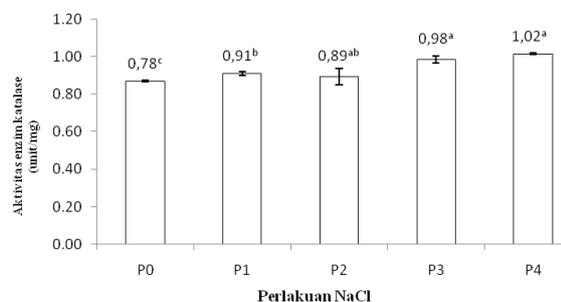
**Gambar 4.2** Kandungan Klorofil Daun Melinjo (mg/L) pada setiap perlakuan NaCl.

Berdasarkan Gambar 4.2 Hasil analisis kandungan total klorofil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi garam yang diberikan, maka kandungan klorofil daun akan semakin menurun. Pada perlakuan kontrol yakni tanpa konsentrasi (0% NaCl) kandungan klorofil daun menunjukkan hasil

yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni sebesar 16,76 mg/L berbeda nyata dengan perlakuan (5% NaCl) dengan kandungan klorofil 16,37 mg/L. (10% NaCl) menghasilkan nilai 15,61 mg/L, selanjutnya konsentrasi (15% NaCl) dan (20% NaCl) nilai kandungan total klorofil berbeda tidak nyata yakni berturut – turut sebesar 15,19 dan 14,45 mg/L. Jika dilihat dari segi grafik hasil analisis klorofil tersebut sangatlah berbeda nyata pada setiap perlakuan dan konsentrasi NaCl yang diberikan pada tanaman melinjo yakni dengan P4 konsentrasi 20% NaCl memiliki nilai paling rendah.

### Aktivitas Enzim Katalase (CAT)

Katalase adalah enzim yang mengandung heme yang mengkatalis dismutasi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Aktivitas enzim katalase dapat dipengaruhi oleh beberapa factor, yaitu konsentrasi substrat, pH, dan suhu. Sehubungan dengan potensi toksisitas senyawa radikal bebas, di dalam tanaman memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan endogen yaitu superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GPx), dan katalase yang berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel (Valiko et al., 2007; Anatriera, 2009). Enzim-enzim antioksidan intrasel dapat mengalami penurunan aktivitas akibat kondisi stres oksidatif (Suarsana et al., 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Zainuri 2012, menyatakan bahwa stres oksidatif.



**Gambar 4.3** Grafik Aktivitas Enzim Katalase (CAT) pada setiap perlakuan NaCl.

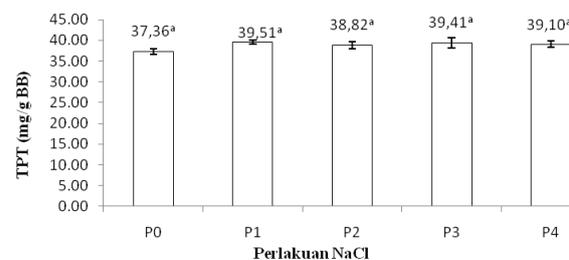
Berdasarkan Gambar 4.3 Grafik diatas menunjukkan dengan perlakuan kontrol (0% NaCl) memiliki nilai 0,87 unit/mg protein dapat diketahui bahwa aplikasi NaCl 0% hingga 20 % NaCl berbeda nyata terhadap aktivitas katalase. Aplikasi NaCl dengan konsentrasi yang berbeda pada setiap perlakuan selama 45 hari (P4) menunjukkan aktivitas antioksidan enzim katalase yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Pada kondisi normal tanaman tetap memproduksi antioksidan dari enzim katalase sebagai salah satu mekanisme menyeimbangkan ROS yang terbentuk selama proses metabolisme pada tanaman

berlangsung, hal tersebut dapat diketahui pada tanaman P0. Aktivitas superoksida dismutase pada bibit melinjo pada kondisi yang normal (P0) mencapai 0,87 unit/mg protein. Aplikasi NaCl dengan konsentrasi yang berbeda selama 45 hari pada perlakuan P4 memberikan nilai aktivitas enzim CAT 1,01 unit/ mg protein, dengan demikian semakin lama aplikasi NaCl 0% hingga 20% NaCl selama 45 hari, maka akan meningkatkan aktivitas enzim CAT.

### Total Protein Terlarut

Protein merupakan salah satu senyawa metabolit primer yang dimiliki semua makhluk hidup. Protein adalah sumber-sumber asam amino yang mengandung unsure C, H, O, dan N. Protein dalam bentuk makanan mudah diserap oleh tubuh dalam bentuk asam amino. Sebuah asam amino terdiri dari sebuah gugus amino, sebuah gugus karboksil, sebuah atom hidrogen dan gugus R yang terikat pada sebuah atom C yang merupakan rantai cabang, sehingga protein memiliki sifat secara fungsional (Winarno, 2002).

Tanaman yang mengalami cekaman salin / garam akan meningkatkan produksi metabolit yang berfungsi untuk melindungi tanaman pada saat stress oksidatif terjadi. Menurut Zhao et al, (2013), cekaman salin / garam pada tanaman mengakibatkan kandungan karbohidrat daun dan akar meningkat, asam amino, prolin serta protein pada daun dan akar tanaman meningkat. Dari hasil penelitian ekstrak daun melinjo yang berasal dari perlakuan yang berbeda diperoleh kandungan protein terlarut sebagai berikut.



**Gambar 4.4** Grafik kandungan total protein terlarut (mg/g).

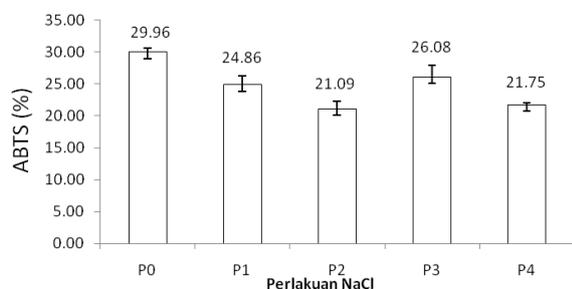
Berdasarkan Gambar 4.4 Berdasarkan grafik tersebut dapat diketahui kandungan total protein terlarut pada masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut P0: 40,32 mg/g; P1: 39,51 mg/g; P2: 38,82 mg/g; P3: 39,41 mg/g; P4: 39,10 mg/g. Kandungan total protein terlarut tertinggi yaitu pada perlakuan P1 dengan aplikasi 5% NaCl selama 45 hari yaitu 39,51 mg/g berat basah tanaman, sedangkan untuk kandngan total protein terendah yaitu pada perlakuan P4 dengan aplikasi 20% NaCl selama 45 hari yaitu 3,01 mg/g berat basah. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Nathania et al, (2010), menerangkan bahwa aplikasi NaCl

dengan konsentrasi yang berbeda selama 45 hari meningkatkan kandungan total protein terlarut.

Hal ini bisa terjadi karena pada umumnya tanaman yang mengalami cekaman garam akan mendapat sinyal untuk merespon terjadinya gangguan yang kemudian mensintesis protein sebagai bentuk pertahanan yang nantinya tanaman dapat bertahan atau tidak, jika tanaman tidak bertahan maka akan mengalami degradasi protein, seperti yang terjadi pada tanaman melinjo yang tercekam salin / garam.

### Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode ABTS (Shalabay and Shanab, 2013). Metode ABTS merupakan metode untuk menguji kapasitas antioksidan meredam radikal bebas secara langsung. Pada tahap pertama membuat stok larutan ABTS dan stok Phosphate Buffer Saline (PBS) 0.2 M. Stok ABTS dibuat dengan melarutkan 0,38 gram ABTS kebiduan ditambahkan dengan 0,066 gram potassium persulfat ke dalam 50 mL  $H_2O$ . Stok Phosphate Buffer Saline (PBS) 0.2M dibuat dengan melarutkan 3,556 gram  $NaH_2PO_2$  dengan 26,08 gram  $Na_2H_2PO_4$  ( $2H_2O$ ) yang kemudian dilarutkan dalam 500 mL aquadest dan ditambahkan dengan 5,4 gram NaCl. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi  $\pm 0,7$  dengan gelombang 734 nm. Hasil analisa aktivitas antioksidan pada daun tanaman melinjo pada masing-masing perlakuan konsentrasi NaCl sebagai berikut.



**Gambar 4.5** Persentase aktivitas peredaman abts (%) daun melinjo pada masing-masing perlakuan dengan konsentrasi protein yang berbeda.

Berdasarkan Gambar 4.5 menunjukkan persentase aktivitas antioksidan pada sampel daun melinjo dengan konsentrasi 0-20% NaCl dengan satuan  $\mu g/ml$  protein seperti grafik diatas menunjukkan bahwa pada perlakuan (P0) 29,26%, (P1) 24,86%, (P2) 21,09%, (P3) 26,08%, (P4) 21,75%. Pada perlakuan (P3) 15% NaCl mempunyai nilai aktivitas antioksidan tertinggi yaitu mencapai 26,08%, perlakuan (P2) 10% NaCl mempunyai nilai aktivitas antioksidan terendah yaitu mencapai 21,09 % dan untuk perlakuan (P4) 20% NaCl aktivitas antioksidannya mencapai 21,75 %. Perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing perlakuan

terjadi karena terinduksi oleh perlakuan NaCl yang diberikan sehingga tanaman akan mengalami cekaman salinitas yang dapat mengakibatkan stres pada tanaman tersebut, oleh karena itu tanaman melakukan mekanisme perlindungan untuk tetap bertahan hidup. Mekanisme yang dilakukan yaitu dengan cara memproduksi senyawa-senyawa metabolik berupa protein dan meningkatkan antioksidannya sebagai perlindungan terhadap kerusakan sel. Seperti penelitian yang dilakukan oleh (Vaseva et al. 2012).

### KESIMPULAN

Cekaman salinitas dengan konsentrasi (NaCl 20%) pada P4, dimana aktivitas enzim katalase (CAT) diperoleh 1,01 unit/mg lebih tinggi dibanding perlakuan kontrol P0 (NaCl 0%) yang menghasilkan 0,78 unit/mg. Kemudian Cekaman salinitas dengan konsentrasi (NaCl 10%) pada P2 mengalami penurunan pada parameter tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang dan berat kering dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada bibit melinjo.

### SARAN

Pada saat penelitian perlu dilaksanakan analisis pendahuluan sebagai data pembanding untuk analisis pada setiap perlakuan. Proses analisis disarankan menggunakan sampel yang segar untuk memperoleh data yang spesifik untuk masing-masing parameter. Perlu berhati-hati dalam penggunaan alat seperti mikropipet, spektrofometer dan perhitungan pada setiap pengukuran kandungan protein terlarut dan aktivitas antioksidan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Maikami. M., Nanakorn. M dan Kaveeta. L. 2012. Tolerance Evaluation Of Selected-Vetiver Under Saline Oil.
- Manner, H. I. and C. R. Elevitch. 2006. Spesifik Profil for Pasific Island Agroforestry-Gnetum gnemon (gnetum).
- Muharam dan Saefudin. A. 2016. Pengaruh Berbagai Pembenh Tanah Terhadap Pertumbuhan dan Populasi Tanaman Padi Sawah (*Oryza sativa*, L) Varietas Dendang Di tanah Salin Sawah Bukaan Baru. 1 : (2) : (141-150).
- Mulyanto, J. 1995. Pembibitan dan Budidaya Melinjo. Yogyakarta : Kanisius.
- Nugraheni, M., Santoso. U., Suparmo. dan Wuryastuti. H. 2013. Potensi Kentang Hitam Dalam Mereduksi Stress Oksidatif Dan Menghambat Proliferasi Sel Kanker

- Payudara MCF-7. J. Teknol dan Industri Pangan. 24 : (2) : (1979-7788).
- Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses.
- Purnomosidhi. P., Suparman dan Mulawarman. 2007. Perbanyak dan Budidaya Tanaman Dan Buah- Buah. Wordl Agroforetry Center (ICRAF).
- Ratna. Y. 2014. Penapisan Galur Kedelai Glycine Max (L.) Merrill Toleran Terhadap NaCl Untuk Penanaman Padi Di Lahan Salin. 8 : (1) : (21-24).
- Silva, E. N. D., R. V. Ribeiro, S. L. F. Silva, R. A. Viegas dan J. A. G. Silveira. 2011. Salt Stress Induced Damages on the Photosynthesis of Physic Nut Young Plants. Science Agriculture, 68(1): 62-68.
- Siswoyo, T. A. 2009. Aktivitas Dan Stabilitas Radical Scavenging L-Askorbil Palmitat Hasil Sintesis Secara Enzimatis. Teknol dan Industri Pangan, 20 (2): 124-128.
- Siswoyo, T. A. dan B. Sugiarto. 2012. Produksi Pengembangan Protein Antihypertensi Generasi Baru dari Gnetum gnemon Protein sebagai Bahan Nutraceutical Komersial. ProsidinginSINas. 217-223.
- Siswoyo, T. A., Dewi. A. A. I. P. S. dan Susilawati. I. D. A. 2016. Antioxidant Activity Of Hydrolyzed Melinjo (Gnetum gnemon) Seeds Protein Against Neutrophil Superoxide Radical In Vitro. Advances in Science Engineering and Technology. 4(4): 150-155.
- Siswoyo, T. A., Matra, N. F., Safiera, A. A. and Supriyadi, A. 2017. Synthesis of Antioxidant Peptides from Melinjo (Gnetum gnemon) Seed Protein Isolated Using Sol-Gel Immobilized Alcalase. Advanced Science Engineering Information Technology, 2(4): 1135-1321.
- Siswoyo, T. A., R. M. Nathania dan D. P. Restanto. 2010. Induksi Polyethylene Glicol (PEG) terhadap Karakter Superoxide Dismutase (SOD) pada Melinjo (Gnetum gnemon L. ). Berkala Ilmiah Pertanian, 10 : 1-5.
- Siswoyo, T.A and Aldino, M (2007) Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content of Mlinjo Tree (Gnetum gnemon L.). International Conference of Chemistry Science, UGM, Yogyakarta.
- Sofa. A., Scopa. A and Nuzzaci. M. 2015. Peroxidase and Catalase Activities and Their