

ANALISIS KANDUNGAN PROLIN TANAMAN KANGKUNG (*Ipomoea reptana* Poir), BAYAM (*Amaranthus spinosus*), Dan Ketimun (*Cucumis sativus* L.)

Ika Lia Novenda³⁰, Setyo Andi Nugroho³¹

Abstract. Suatu respons fisiologi yang cukup penting ialah kemampuan tanaman mempertahankan tekanan turgor dengan menurunkan potensial osmotik sebagai mekanisme toleransi terhadap cekaman kekeringan. Dalam proses penyesuaian osmosis, senyawa-senyawa terlarut yang biasa diakumulasi ialah gula dan asam amino terutama prolina (Girousse et al. 1996). Secara umum kadar prolina daun mengalami peningkatan akibat cekaman kekeringan. Kekurangan air pada tanaman dapat menghambat laju fotosintesis, karena turgiditas sel penjaga stomata akan menurun. Perlakuan analisis kandungan prolin pada jaringan tanaman ini yang memiliki kandungan prolin terbesar pada tanaman bayam (*Amaranthus spinosus*) sebesar 30,28; kemudian disusul dengan tanaman ketimun (*Cucumis sativus*, L) sebesar 27,01 dan yang terkecil kandungannya pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir). Dalam analisis kandungan prolin bahwa tanaman yang tergolong C3 yaitu pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir) dan ketimun (*Cucumis sativus*, L); sedangkan untuk tanaman C4 pada tanaman bayam (*Amaranthus spinosus*).

Key Words : Kandungan Prolin tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir), bayam (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun (*Cucumis sativus* L.)

PENDAHULUAN

Suatu respons fisiologi yang cukup penting ialah kemampuan tanaman mempertahankan tekanan turgor dengan menurunkan potensial osmotik sebagai mekanisme toleransi terhadap cekaman kekeringan (Hamim et al. 1996). Banyak proses fisiologi dan biokimia dalam tumbuhan yang sangat dipengaruhi oleh perubahan tekanan turgor. Menurut Hale dan Orcutt (1987) faktor yang dapat membantu mempertahankan turgor ialah penurunan potensial osmotik dan kemampuan mengakumulasi senyawa-senyawa terlarut.

Dalam proses penyesuaian osmosis, senyawa-senyawa terlarut yang biasa diakumulasi ialah gula dan asam amino terutama prolina (Girousse et al. 1996). Secara umum kadar prolina daun mengalami peningkatan akibat cekaman kekeringan (Hamim et al. 1996; Sopandie et al. 1996). Hal ini berkaitan dengan peran yang besar dari prolina sebagai osmoregulator, sehingga produksi senyawa tersebut secara berlebihan dapat menghasilkan peningkatan toleransi terhadap cekaman kekeringan pada tanaman (Kishor et al. 1995; Marjorie et al. 2002).

³⁰ Dosen Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember

³¹ Asisten Dosen Pendidikan Biologi Universitas Islam Jember

Salah satu aspek yang sangat penting dalam budidaya tanaman baik itu tanaman mentimun, kangkung, ataupun bayam adalah air karena berfungsi sebagai pelarut hara tumbuhan di dalam tanah dan berperan dalam translokasi hara dan fotosintat di dalam tubuh tumbuhan. Air yang tersedia dalam tanah berkisar mulai dari kurang sekali (drought) sampai kondisi jenuh (waterlogged) (Gardner et al., 1991). Kebutuhan air bagi tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis tanaman dalam hubungannya dengan tipe dan perkembangannya, kadar air tanah dan kondisi cuaca (Fitter dan Hay, 1998). Kekurangan air pada tanaman terjadi karena ketersediaan air dalam media tidak cukup dan transpirasi yang berlebihan atau kombinasi kedua faktor tersebut. Di lapangan walaupun di dalam tanah air cukup tersedia, tanaman dapat mengalami cekaman (kekurangan air). Hal ini terjadi jika kecepatan absorpsi tidak dapat mengimbangi kehilangan air melalui proses transpirasi (Sasli, 2004).

Kekurangan air pada tanaman dapat menghambat laju fotosintesis, karena turgiditas sel penjaga stomata akan menurun. Hal ini menyebabkan stomata menutup (Lakitan, 1995). Penutupan stomata sebagai respon cekaman kekeringan diawali dengan sintesis asam absisik (ABA) (Mohammadkhani dan Heidari, 2008). Penutupan stomata pada daun akan mengurangi laju penyerapan CO₂ sehingga akan mengurangi laju fotosintesis (Goldsworthy dan Fisher, 1992). Perubahan ini juga akan mempengaruhi absorpsi dan translokasi hara mineral, transpirasi serta translokasi fotosintat (Mathius dkk., 2001).

Prolin merupakan senyawa penciri biokimia atau metabolit osmotik yang banyak disintesis dan diakumulasi pada berbagai jaringan tanaman terutama pada daun apabila tanaman menghadapi cekaman kekeringan. Tanaman yang mengakumulasi prolin pada kondisi tercekam pada umumnya memiliki kenampakan morfologi yang lebih baik serta memiliki ketahanan hidup yang lebih tinggi daripada tanaman yang tidak mengakumulasi prolin (Hamim dkk., 2008).

Mathius dkk. (2004) menyatakan prolin merupakan senyawa osmotikum yang berperan dalam peningkatan daya tahan terhadap cekaman air dari lingkungannya sehingga banyak diakumulasi pada kondisi ketersediaan air rendah. Fenomena tersebut dideskripsikan sebagai osmoregulasi dan penyesuaian osmosis. Osmoregulasi didefinisikan sebagai pengaturan potensial osmosis dalam sel dengan penambahan/pemindahan senyawa terlarut sehingga potensial osmosis intrasel

sebanding dengan potensial osmosis medium sekeliling sel, sedangkan penyesuaian osmosis lebih mengarah pada penurunan potensial osmosis yang disebabkan akumulasi senyawa terlarut sehingga memungkinkan untuk mengambil air dari lingkungan. Tanaman yang mempunyai tingkat peningkatan osmotikum yang lebih tinggi diduga lebih toleran dibandingkan dengan tanaman yang tingkat peningkatan osmotikunya lebih rendah.

METODE PENELITIAN

Metode kerja yang dilakukan dalam Analisis kandungan prolin pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir), bayam (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun (*Cucumis sativus*, L) adalah sebagai berikut.

- a. Sampel daun yang dipakai adalah daun yang berkembang sempurna.
- b. Sebanyak 0,5 g daun diekstraksi dalam 10 ml asam sulfosalisilik 3% (b/v) kemudian disaring dengan kertas saring.
- c. Larutan asam ninhidrin 24 jam sebelum digunakan. Sebanyak 1,25 g ninhidrin dilarutkan dalam campuran 30 ml asam setat glacial dan 20 ml 6 M H_3PO_4 hangat hingga larut. Kemudian didinginkan dan disimpan pada suhu 4 0C.
- d. Sebanyak 2 ml filtrat direaksikan dengan 2 ml larutan asam ninhidrin dan 2 ml asam asetat glacial pada tabung reaksi selama 1 jam pada suhu 1000C, kemudian proses reaksi diakhiri dalam “ice bath”.
- e. Campuran ini selanjutnya diekstraksi dengan 4 ml toluene, dikocok dengan kuat menggunakan “test tube stirrer” selama 15-20 detik. Kemudian diukur absorbansinya pada 520 nm dengan spektrofotometer. Untuk larutan blanko digunakan larutan toluene.
- f. Konsentrasi prolin ditentukan dengan kurva standar prolin murni dan dihitung berdasarkan berat segar.

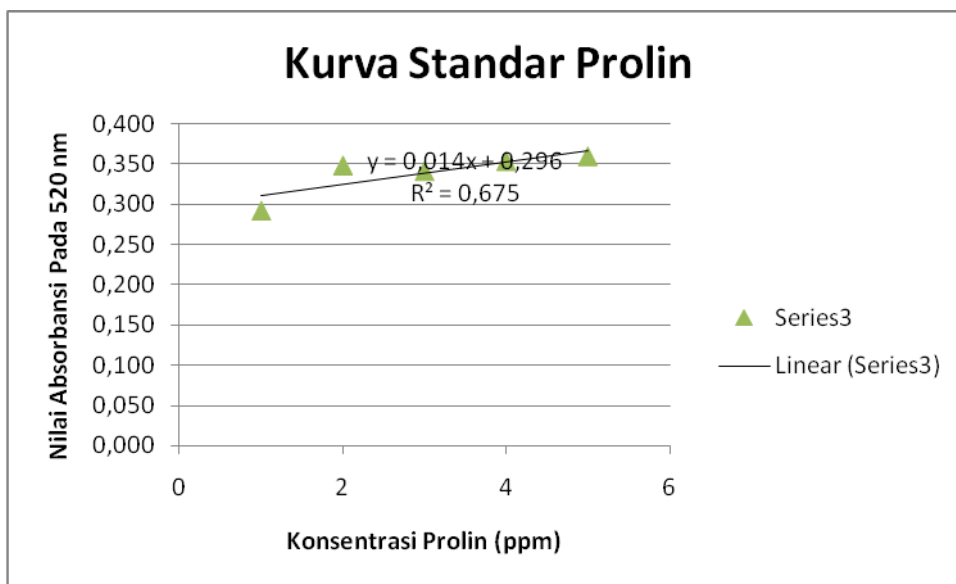
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam Analisis kandungan prolin pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir), bayam (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun (*Cucumis sativus*, L) akan disajikan kurva standar (prolin murni) pada tabel 1. di bawah ini :

Tabel 1. Prolin murni

| No | Konsetrasi | Absorbansi 520 nm | | |
|----|------------|-------------------|-------------|-----------|
| | | Perlakuan 1 | Perlakuan 2 | Rata-rata |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1 ppm | 0,295 | 0,289 | 0,292 |
| 3 | 2 ppm | 0,353 | 0,343 | 0,348 |
| 4 | 3 ppm | 0,332 | 0,341 | 0,3365 |
| 5 | 4 ppm | 0,347 | 0,36 | 0,3535 |
| 6 | 5 ppm | 0,366 | 0,353 | 0,3595 |

Dari data prolin murni diatas maka akan dibuat kurva standar (prolin murni) yang ditarik garis yaitu kolom konsentrasi dengan rata-rata absorbansi 520 nm sehingga di dapat garis $y = a + bx$. Sehingga dari persamaan garis tersebut dapat ditentukan konsentrasi prolin dan dihitung berdasarkan berat segar daun. Berikut ini akan disajikan kurva standar (prolin murni) dibawah ini sebagai berikut:



Gambar 1. Kurva standar prolin

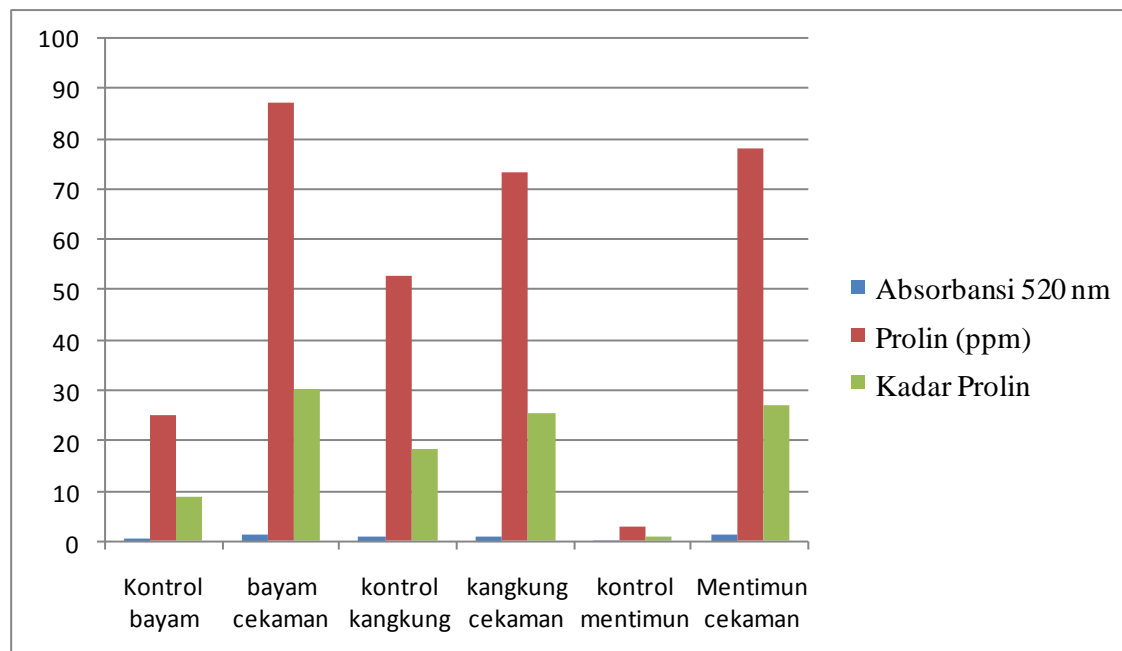
Dari persamaan kurva prolin didapat $y = 0,014 x + 0,296$ ini akan dihitung konsentrasi prolin (ppm) pada tanaman kangkung beserta kontrol (*Ipomoea reptana* Poir), bayam beserta kontrol (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun beserta kontrol (*Cucumis sativus*, L) berikut yang akan disajikan pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Nilai kadar prolin pada daun segar ($\mu\text{mol prolin/g}$)

| No | Perlakuan sampel | Absorbansi 520 nm | Prolin (ppm) | Kadar prolin pada daun segar ($\mu\text{mol prolin/g}$) |
|----|------------------|-------------------|--------------|---|
| 1 | Kontrol Bayam | 0,647 | 25,071 | 8,68 |

| No | Perlakuan sampel | Absorbansi 520 nm | Prolin (ppm) | Kadar prolin pada daun segar ($\mu\text{mol prolin/g}$) |
|----|------------------|-------------------|--------------|---|
| 2 | Bayam Cekaman | 1,520 | 87,429 | 30,28 |
| 3 | Kontrol Kangkung | 1,035 | 52,786 | 18,28 |
| 4 | Kangkung Cekaman | 1,322 | 73,286 | 25,38 |
| 5 | Kontrol Mentimun | 0,334 | 2,714 | 0,94 |
| 6 | Mentimun Cekaman | 1,388 | 78 | 27,01 |

Untuk memudahkan dalam melihat perbandingan antara kontrol pada masing-masing tanaman dengan tanaman kangkung (*Ipomoea reptana Poir*), bayam (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun (*Cucumis sativus, L*) akan disajikan dalam bentuk histogram dibawah ini.



Gambar 2. Histogram nilai absorbansi 520 nm, prolin (ppm), dan kadar prolin pada daun segar ($\mu\text{mol prolin/g}$)

Dalam pengamatan kali ini mengamati kandungan prolin pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana Poir*), bayam (*Amaranthus spinosus*), dan ketimun (*Cucumis sativus, L*). Selain itu juga dibuat kontrol pada masing-masing tanaman tersebut. Sebelum perlakuan ini masing-masing tanaman dilakukan cekaman air atau stres air, disini untuk meningkatkan akumulasi prolin, dan prolin akan melindungi membrane dan protein terhadap tingginya konsentrasi ion-ion anorganik dan suhu ekstrim. Tanaman yang menderita cekaman air secara umum mempunyai ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh normal. Cekaman air

mempengaruhi semua aspek pertumbuhan tanaman. Dalam hal ini cekaman air mempengaruhi proses fisiologi dan biokimia tanaman serta menyebabkan terjadinya modifikasi anatomi dan morfologi tanaman (Islami dan Utomo, 1995).

Pertumbuhan sel sangat sensitif terhadap stres air. Penghambatan pembesaran sel terjadi karena penurunan turgor sel yang berakibat bagian tanaman yang dibentuk berukuran kecil. Pengaruh kekurangan air selama tingkat perkembangan vegetatif ialah berkembangnya daun-daun yang lebih kecil. Selama perkembangan vegetatif kekurangan air sekecil apapun dapat mengurangi laju pelebaran daun dan luas daun pada tingkat perkembangan berikutnya (Islami dan Utomo, 1995).

Pada pengamatan pertama kita akan melihat kandungan prolin pada daun segar bayam (*Amaranthus spinosus*) yaitu sebesar 30,28 lebih besar dari nilai kontrol yaitu 8,68. Ini menunjukkan bahwa kandungan prolin pada tanaman bayam besar. Prolin ini meningkat ketika tanaman bayam diberikan perlakuan stres air sehingga mampu memproduksi prolin. Kita lihat bahwa tanaman bayam itu sendiri termasuk tanaman C₄ adaptasi pada kawasan panas, keadaan kering dan lembab. Kranz anatomi pada tanaman C₄ seludang berkas ber dinding tebal dan memiliki banyak kloroplast, mitokondria serta organel yang lain. Vacuola pusat berukuran lebih kecil (Laetsch, 1974 dalam Salisbury and Ross, 1992). Pada tumbuhan C₄ ada 2 macam kloroplast. Kloroplast pada sel mesofil, grananya melimpah dan pati tidak ada. Kloroplast pada seludang berkas tanpa grana dan ada beberapa butiran kecil pati (Black et al., dalam Salisbury and Ross, 1992). Dari data diatas kita lihat produksi atau kandungan prolin pada tanaman bayam ini memiliki produksi paling tinggi jika dibandingkan dengan tanaman lain seperti tanaman kangkung dan tanaman ketimun. Seharusnya secara teori tanaman yang tergolong tanaman C₄ ini tidak banyak mengeluarkan prolin, mengingat tanaman ini kuat dan tahan pada kondisi yang panas. Ada persepsi salah satunya yaitu dalam penelitian ini mungkin tanaman bayam memang kondisi terlampu mencekam tanaman itu sendiri menyebabkan produksi atau kandungan prolin ini banyak, sebagai bentuk pertahanan diri atau adaptasi tanaman itu sendiri atau persepsi yang lain yaitu kesalahan dalam absorbansi 520 nm ini. Dalam mendapatkan data. Kita tahu sekecil kesalahan dalam spektrofotometer ini mengakibatkan nilai berubah dalam pengukurannya. Tingginya akumulasi prolin diduga karena prolin pada tanaman dengan ketersediaan air rendah disintesis sebagai konsekuensi pengaturan osmotik sel dengan meningkatkan

kadar senyawa terlarut dalam sel sehingga potensial osmosis intrasel lebih rendah atau paling tidak sebanding dengan potensial osmotik medium sekeliling sel. (Umebese et al., 2009)

Adaptasi tanaman C4 terutama pada bayam ini ada mekanisme dimana tumbuhan C4 memiliki dua jenis sel fotosintetik yang jelas berbeda, yaitu sel seludang berkas pembuluh dan sel mesofil. Sel seludang berkas pembuluh disusun menjadi kemasan yang sangat padat di sekitar berkas pembuluh. Di antara seludang berkas pembuluh dan permukaan daun terdapat sel mesofil yang disusun lebih longgar. Siklus Calvin terbatas pada kloroplas seludang berkas pembuluh. Akan tetapi, siklus ini didahului oleh masuknya CO₂ ke dalam senyawa organik dalam mesofil. Langkah pertama ialah penambahan CO₂ pada fosfoenolpiruvat (PEP) untuk membentuk produk berkarbon empat, yaitu oksaloasetat. Enzim PEP karboksilase menambahkan CO₂ pada PEP. Dibandingkan dengan rubisko, PEP karboksilase memiliki afinitas yang jauh lebih tinggi terhadap CO₂. Oleh sebab itu, PEP karboksilase dapat memfiksasi CO₂ secara efisien ketika rubisko tidak dapat melakukannya, yakni ketika hari panas dan kering dan stomata tertutup sebagian, menyebabkan konsentrasi CO₂ dalam daun berkurang dan konsentrasi O₂ meningkat. Setelah CO₂ difiksasi, sel mesofil mengirim keluar produk berkarbon empatnya ke sel seludang berkas pembuluh melalui plasmodesmata. Dalam sel seludang berkas pembuluh, senyawa berkarbon empat melepaskan CO₂ yang diasimilasi ulang ke dalam materi organik oleh rubisko dan siklus Calvin. Akibatnya, sel mesofil akan memompa CO₂ ke dalam seludang berkas pembuluh, mempertahankan konsentrasi CO₂ dalam sel seludang berkas pembuluh cukup tinggi agar rubisko dapat menerima karbon dioksida, bukan oksigen. Dengan cara ini, fotosintesis akan meminimumkan fotorespirasi dan meningkatkan produksi gula. Adaptasi ini sangat bermanfaat dalam daerah panas dengan cahaya matahari yang banyak, dan di lingkungan seperti inilah sekarang tanaman ini tumbuh subur. Tanaman C4 saat siang hari mereka tidak membuka stomatanya secara penuh untuk mengurangi kehilangan air melalui evaporasi/transpirasi. Ini berakibat terjadinya penurunan jumlah CO₂ yang masuk ke stomata. Logikanya hal ini menghambat laju fotosintesis. Ternyata para tumbuhan ini telah mengembangkan cara yang cerdas untuk menjaga agar laju fotosintesis tetap normal meskipun stomata tidak membuka penuh.

Pada pengamatan berikutnya mengenai tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir), pada tanaman ini kandungan prolin sebesar 25,38 lebih besar dari kontrol kangkung sebesar 18,28. Ini mengindikasikan tanaman ini dalam kondisi tidak mencekam. Tanaman kontrol cenderung lebih baik pertumbuhannya dibandingkan tanaman yang mendapatkan cekaman kekeringan. Hal ini disebabkan oleh peranan air yang penting bagi pertumbuhan tanaman. Menurut Gardner et al. (1991), fungsi air bagi tanaman yaitu sebagai pelarut dan medium untuk reaksi kimia, sebagai medium untuk transpor, medium untuk memberikan turgor pada sel tanaman, hidrasi dan netralisasi muatan pada molekul-molekul koloid, bahan baku untuk fotosintesis, dan transpirasi untuk mendinginkan permukaan tanaman. Menurut Harjadi dan Yahya (1988), cekaman kekeringan yang sedikit saja sudah cukup menyebabkan lambat atau berhentinya pembelahan dan pembesaran sel (antara lain perluasan daun). Jika suatu tanaman mengalami cekaman air yang semakin besar, diferensiasi organ-organ baru dan perluasan maupun pembesaran organ yang telah ada merupakan bagian yang pertama kali menunjukkan respon. Stres yang lebih lanjut akan menyebabkan berkurangnya laju fotosintesis.

Tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir) tergolong tanaman C3 sehingga dia membutuhkan prolin yang besar dalam rangka adaptasi terhadap cekaman air. Tanaman C3 ini dapat mengasimilasi CO₂ secara langsung melalui jalur fotosintesis (Miyao: 2002) jalur ini dikenal dengan siklus C3 karena senyawa stabil yang terbentuk pertama kali dalam pengikatan CO₂ merupakan senyawa berkarbon 3 yaitu senyawa 3-fosfoglisarat (PGA) atau dikenal dengan siklus kelvin (Taiz & Zeiger: 1991) tumbuhan dapat hidup dengan baik pada suhu rendah, yaitu pada suhu kurang dari 220C (Winslow, 2002)

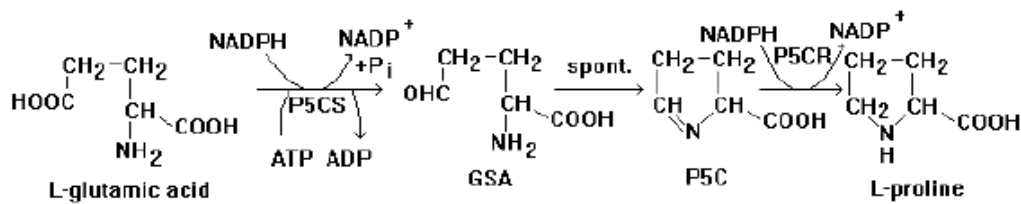
Sebagai akibat cekaman kekeringan pada tumbuhan C3, stomata akan menutup sehingga fotosintesis neto akan menurun dengan cepat dan fotorespirasi akan meningkat (Morison & Lawlor 1999, Hamim 2003, Hamim 2004) akan tetapi tumbuhan C4 relatif lebih tahan dengan kondisi cekaman kekeringan dari pada C3. Dalam keadaan cekaman kekeringan tumbuhan C3 umumnya memiliki kadar air relatif daun yang lebih rendah dari pada tumbuhan C4. Hal ini mungkin teknik dengan karakteristik tumbuhan C4 yang cukup efisien dalam pemanfaatan air (Hamim, 2005)

Pada pengamatan yang terakhir yaitu mengamati ketimun (*Cucumis sativus*, L) dimana kadar prolin pada daun segar pada tanaman perlakuan cekaman sebesar 27,01, lebih besar dibandingkan dengan tanaman kontrol sebesar 0,94. Dari data ini dapat kita lihat bahwa jarak antara tanaman kontrol dengan perlakuan cekaman ini cukup besar nilainya. Artinya kondisi dari tanaman ketimun ini melakukan adaptasi yang luar biasa. Tanaman ketimun ini tergolong tanaman C3 dia tidak toleran dengan kondisi panas. Panas yang berlebihan dapat mengganggu dan akhirnya membunuh suatu tumbuhan dengan cara mendenaturasi enzim-enzimnya. Panas ini melakukan mekanisme kekurangan air.

Kekurangan air pada tanaman dapat menghambat laju fotosintesis, karena turgiditas sel penjaga stomata akan menurun. Hal ini menyebabkan stomata menutup (Lakitan, 1995). Penutupan stomata sebagai respon cekaman kekeringan diawali dengan sintesis asam absisik (ABA) (Mohammadkhani dan Heidari, 2008). Penutupan stomata pada daun akan mengurangi laju penyerapan CO₂ sehingga akan mengurangi laju fotosintesis (Goldsworthy dan Fisher, 1992). Perubahan ini juga akan mempengaruhi absorpsi dan translokasi hara mineral, transpirasi serta translokasi fotosintat (Mathius dkk., 2001).

Cekaman kekeringan dapat menurunkan tingkat produktivitas (biomassa) tanaman karena menurunkan aktivitas metabolisme primer, penyusutan luas daun dan aktivitas fotosintesis sehingga akumulasi biomassa semakin rendah. Penurunan akumulasi biomassa setiap jenis tanaman yang diakibatkan cekaman air tidak sama, hal ini dipengaruhi oleh tanggapan masing-masing jenis tanaman (Hamim dkk., 1996 ; Hanum dkk., 2007).

Asam glutamat adalah prekursor pembentukan prolin melalui jalur asam glutamat. Enzim glutamat kinase fosforilase dan P5CS mengkatalisis perubahan asam glutamat menjadi glutamil fosfatase kemudian direduksi lebih lanjut menjadi glutamat semialdehid (GSA) oleh kerja enzim glutamil fosfat reduktase dan P5CS. Melalui proses siklasi yang terjadi secara spontan, terjadi perubahan glutamat semialdehid menjadi P5C. Enzim P5CR mengubah P5C menjadi prolin (Szekely, 2004 ; Delauney dan Verma dalam Rhodes 2004). Penelitian Fitranty dkk. (2003). Dengan adanya gen P5CS diharapkan dapat disintesis prolin sebagai senyawa osmoregulator.



Gambar 3. Jalur sintesis Prolin melalui Jalur Asam Glutamat (Delauney dan Verma dalam Rhodes, 2009) (GSA): glutamat semialdehid; (P5C): pyrroline-5 carboxilate

Jalur alternatif sintesis prolin yaitu melalui jalur ornitin melibatkan perubahan ornitin menjadi P5C oleh ornitin - δ - amino - transferase (OAT). OAT merupakan salah satu enzim yang berperan dalam pembentukan prolin melalui jalur ornitin. Berdasarkan kandungan enzim δ - OAT dan P5CS pada benih *Vigna aconitifolia*, kedua jalur tersebut berperan dalam sintesis prolin di bawah kondisi normal (Delauney dan Verma dalam Rhodes, 2009).

Cekaman kekeringan dapat mengakibatkan peningkatan sintesis prolin yang berperan sebagai senyawa osmoprotektan dalam penyesuaian osmotik sel (Hamim dkk., 2008 ; Mathius dkk., 2001) dan penetralisir senyawa toksik amina (Mathius dkk., 2001). Cekaman kekeringan dapat mengakibatkan terhambatnya sintesis protein dan menyebabkan hidrolisis atau degradasi. Degradasi protein menghasilkan asam amino, senyawa volatil, amida, peptida dan amina.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

- a. Perlakuan analisis kandungan prolin pada jaringan tanaman ini yang memiliki kandungan prolin terbesar pada tanaman bayam (*Amaranthus spinosus*) sebesar 30,28; kemudian disusul dengan tanaman ketimun (*Cucumis sativus*, L) sebesar 27,01 dan yang terkecil kandungannya pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir).
- b. Dalam analisis kandungan prolin bahwa tanaman yang tergolong C3 yaitu pada tanaman kangkung (*Ipomoea reptana* Poir) dan ketimun (*Cucumis sativus*, L); sedangkan untuk tanaman C4 pada tanaman bayam (*Amaranthus spinosus*)

DAFTAR PUSTAKA

- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1998. *Fisiologi Lingkungan Tanaman (diterjemahkan oleh Sri Andani dan E. D. Purbayanti)*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Fitranty, N., F. Nurilmala, D. Santoso, dan H. Minarsih. 2003. *Efektivitas Agrobacterium Mentransfer Gen P5CS Ke Dalam Kalus Tebu Klon PS 851*. *Menara Perkebunan* 71 (1) : 16 - 27.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitcheli. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya (diterjemahkan oleh Herawati Susilo)*. UI Press, Jakarta.
- Girousse C, Bournoville R, Bonnemain JL. 1996. *Water defisit-induced changes in concentrations in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa*. *Plant Physiol* 111:109-113.
- Goldsworthy, P.R. dan N.M. Fisher. 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik (diterjemahkan oleh Tohari)*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hale MG, Orcutt DM. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*. New York: J Willey Sons.
- Hamim, Sopandie D, Jusuf M. 1996. *Beberapa karakteristik morfologi dan fisiologi kedelai toleran dan peka terhadap cekaman kekeringan*. *Hayati* 1:30-34.
- Hamim. 2003. *Will the increasing atmospheric CO₂ concentration change the effect of drought on C3 and C4 Species? [disertasi]*. Colchester: university of Essex
- Hamim. 2004. *Underlying drought stress effects on plant : inhibition of photosynthesis*. *Hayati* 11: 164-169
- Hamim. 2005. *Respon pertumbuhan spesies pertumbuhan spesies C3 dan C4 terhadap cekaman kekeringan dan konsentrasi CO₂ tinggi*. *Biosfera* 22:105-113
- Hanum, C., W.Q. Mugnisjah, S. Yahya, D. Sopandy, K. Idris, dan A. Sahar. 2007. *Pertumbuhan Akar Kedelai pada Cekaman Aluminium, Kekeringan dan Cekaman Ganda Aluminium dan Kekeringan*. *Agritrop* 26 (1) : 13 - 18.
- Harjadi, S.S., S. Yahya. 1988. *Fisiologi Stres Lingkungan*. Bogor. PAU Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Hal.136-176.
- Islami, T. dan W.H. Utomo. 1995. *Hubungan Tanah, Air dan Tanaman*. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Kishor PBK, Hong Z, Miao GH, Hu CAA, Verma PS. 1995. *Overexpression of pyroline-5-carboxylate synthetase increase proline production and confers osmotolerance in transgenic plants*. *Plant Physiol* 108:1387-1394.

- Lakitan, B. 1995. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Marjorie J, Raymond, Smirnop N. 2002. *Proline metabolism and transport in maize seedlings at low water potential*. *Ann Bot* 89:813-823.
- Mathius, N.T., G. Wijana, E. Guharja, H. Aswindinnoor, Y. Sudirman, dan Subronto. 2001. Respon Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) terhadap Cekaman Kekeringan. *Menara Perkebunan* 69 : 29 - 45.
- Miyao M. 2002. *Molecular evolution and genetic engineering of C4 photosynthetic enzymes*. *J Exp Bot*. 54: 179-189
- Mohammadkhani, N. and R. Heidari. 2008. *Water Stress Induced Stomatal Closure in Two Maize Cultivars*. *R. J. Bio. Sci.* 3 (7) : 750 - 754.
- Rhodes, D. 2009. *Proline, Ornithin and Arginine Metabolism Main Pathway of Proline Synthesis In Higher Plants*. Department of Horticulture and Landscape Architecture. Purdue University, West Lafayette.
- Salisbury & Ross, 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Terjemahan Diah R Lukman & Sumaryono Jilid 2. ITB Bandung.
- Sasli, I. 2004. *Peranan Mikoriza Vesikula Arbuskula (MVA) dalam Peningkatan Resistensi Tanaman terhadap Cekaman Kekeringan*.
- Sopandie D, Hamim, Jusuf M, Heryani N. 1996. *Toleransi tanaman kedelai terhadap cekaman air: akumulasi prolina dan asam absisik dan hubungannya dengan potensial osmotik daun dan penyesuaian osmotik*. *Bul Agron* 24:9-14.
- Szekely, G. 2004. *The Role of Prolin Arabidopsis thaliana Osmotic Strees Response*. *Acta Biologica Szegediensis* 48 : 81.
- Umebese, C.U., T.O. Olatimilehin, and T.A. Ogunsusi. 2009. *Salicylic Acid Protects Nitrate Reductase Activity, Growth and Proline in Amaranth and Tomato Plants during Water Deficit*. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 4 (3) : 224 - 229.