

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN, DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan pustaka

2.1.1 Klasifikasi dan morfologi kedelai hitam

Di Indonesia, sejarah perkembangan kedelai pertama kali ditemukan pada publikasi oleh Rumphius dalam Herbarium Amboinense yang diselesaikan pada tahun 1673 (namun tidak dipublikasikan sampai tahun 1747) yang menyebutkan bahwa kedelai ditanam di Amboina (sekarang bernama Ambon). Berdasarkan penemuan Junghun, pada tahun 1853 budi daya kedelai dilakukan di Gunung Gamping (pegunungan kapur selatan Jawa Tengah) dan tahun 1855 ditemukan di dekat Bandung. Penyebutan makanan berbahan kedelai pertama kali di Jawa dilakukan oleh Prinsen Geerligs pada tahun 1895 yang mendiskusikan tentang tempe, tahu, tauco, dan kecap kedelai. Pada tahun 1935 kedelai telah ditanam di seluruh wilayah Jawa. Diduga kedelai di Jawa berasal dari India, berdasarkan kesamaan nama sebagaimana banyak dikenal di Tamil dan juga berdasarkan bentuk bijinya yang lonjong seperti yang ada di India Utara, yang berbeda bila dibandingkan dengan kedelai di Manchuria yang berbentuk bulat (Shurtleff dan Aoyagi, 2007).

Tanaman kedelai hitam memiliki nama latin *Glycine soja* (L.) Merr. Berikut akan dijabarkan lebih detail mengenai klasifikasi dari tanaman kedelai hitam :

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Glycine* willd
Spesies : *Glycine soja* (L) Merr.

Sistem perakaran dari tanaman kedelai terdiri dari akar tunggang yang terbentuk dari calon akar. Sejumlah akar sekunder tersusun dalam empat barisan sepanjang akar tunggang, cabang akar sekunder, dan cabang akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Panjang akar tunggang ditentukan oleh beberapa faktor seperti kekerasan tanah, populasi tanaman, varietas, dan sebagainya. Akar tunggang dapat mencapai kedalaman 200 cm, namun pada pertanaman tunggal dapat mencapai 250 cm. Umumnya sistem perakaran terdiri dari akar lateral yang berkembang 10 cm sampai 15 cm di atas akar tunggang. Kedelai yang tergolong tanaman leguminosa dicirikan oleh kemampuannya untuk membentuk bintil akar. Akar mengeluarkan beberapa substansi khususnya triptofan yang menyebabkan perkembangan bakteri dan mikroba lain di sekitar daerah perakaran (Adie dan Krisnawati, 2016).

Batang tanaman kedelai tidak berkayu, berbatang jenis perdu (semak), berambut atau berbulu dengan struktur bulu yang beragam, berbentuk bulat, bewarna hijau, dan panjangnya bervariasi antara 30 cm sampai 100 cm. Batang tanaman kedelai dapat membentuk cabang 3 sampai 6 cabang. Percabangan mulai terbentuk atau tumbuh ketika tinggi tanaman sudah mencapai 20 cm. Banyaknya jumlah cabang setiap tanaman bergantung pada varietas dan kepadatan populasi tanaman. Jika kepadatan tanaman rapat, maka cabang yang tumbuh berkurang atau bahkan tidak tumbuh cabang sama sekali (Cahyono, 2007).

Daun kedelai terbagi menjadi empat tipe, yaitu: (1) kotiledon atau daun biji, (2) dua helai daun primer sederhana, (3) daun bertiga, dan 4) profila. Daun primer berbentuk oval dengan tangkai daun sepanjang 1 cm sampai 2 cm, terletak berseberangan pada buku pertama di atas kotiledon. Setiap daun memiliki sepasang stipula yang terletak pada dasar daun yang menempel pada batang. Tipe daun yang lain terbentuk pada batang utama, dan pada cabang lateral terdapat daun trifoliat yang secara bergantian dalam susunan yang berbeda. Anak daun bertiga mempunyai bentuk yang bermacam-macam, mulai bulat hingga lancip. Ada kalanya terbentuk 4 sampai 7 daun dan dalam beberapa kasus terjadi penggabungan daun lateral dengan daun terminal. Daun tunggal

mempunyai panjang 4 cm sampai 20 cm dan lebar 3 cm sampai 10 cm. Tangkai daun lateral umumnya pendek sepanjang 1 cm atau kurang. Dasar daun terminal mempunyai dua stipula kecil dan tiap daun lateral mempunyai sebuah stipula (Adie dan Krisnawati, 2016).

Bunga kedelai merupakan bunga sempurna yang memiliki warna ungu atau putih, serta alat reproduksi bunga jantan dan betina pada satu tempat yang sama (Fachrudin, 2000). Bunga kedelai memiliki 5 helai daun mahkota, 1 helai bendera, 2 helai sayap, dan 2 helai tunas. Benang sarinya ada 10 buah, 9 buah bersatu pada bagian pangkal membentuk seludang yang mengelilingi putik. Benang sari kesepuluh terpisah pada bagian pangkalnya, seolah-olah penutup seludang. Bunga tumbuh diketiak daun membentuk rangkaian bunga terdiri atas 3 sampai 15 buah bunga pada tiap tangkainya (Suhaeni, 2008).

Buah kedelai berbentuk polong, banyaknya polong tergantung pada jenis atau varietasnya. Dalam satu polong biasanya berisi 1 sampai 4 biji. Bentuk biji kedelai tidak sama tergantung varietas, ada yang berbentuk bulat, agak gepeng atau bulat telur. Namun, sebagian besar biji kedelai berbentuk bulat telur. Kedelai kuning memiliki ukuran biji kedelai yang dapat digolongkan dalam tiga kelompok, yaitu berbiji kecil (<10 g per 100 biji), berbiji sedang (10 sampai 12 g per 100 biji), dan berbiji besar (13 sampai 18 g per 100 biji). Kedelai hitam memiliki ukuran biji kecil (9,50 g per 100 biji) seperti pada varietas Malika (Ginting, Antarlina, dan Widowati, 2009) dan biji besar (14,84 g per 100 biji) seperti pada varietas Detam 1 (Adie dan Krisnawati, 2012). Polong kedelai pertama kali muncul sekitar 10 sampai 14 hari setelah bunga pertama muncul. Warna polong yang baru tumbuh berwarna hijau dan selanjutnya akan berubah menjadi kuning atau coklat pada saat dipanen (Fachrudin, 2000).

Kedelai dapat tumbuh pada kondisi suhu yang beragam. Suhu tanah yang optimal dalam proses perkecambahan yaitu 30°C, bila tumbuh pada suhu yang lebih rendah (<15°C) maka proses perkecambahan menjadi sangat lambat dan bisa mencapai 2 minggu. Suhu rendah mengakibatkan perkecambahan biji tertekan pada kondisi kelembapan tanah yang tinggi (Adisarwanto, 2005). Suhu yang dikehendaki tanaman kedelai antara 21°C sampai 34°C, akan tetapi suhu

optimum bagi pertumbuhan tanaman kedelai adalah 23°C sampai 27°C (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).

2.1.2 Faktor yang mempengaruhi perkecambahan

Perkecambahan merupakan proses metabolisme biji hingga dapat menghasilkan pertumbuhan dari komponen kecambah (plumula dan radikula). Menurut Purnobasuki (2011), definisi perkecambahan adalah jika sudah terlihat atribut kecambahnya, yaitu plumula dan radikula keduanya tumbuh normal dalam jangka waktu tertentu sesuai dengan ketentuan *International Seed Testing Association* (ISTA). Pada proses perkecambahan terjadi perubahan senyawa kompleks dirubah menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga lebih mudah dimanfaatkan oleh embrio untuk pertumbuhan. Perubahan biologis yang terjadi yaitu kandungan karbohidrat dirubah menjadi gula maltose, protein dipecah menjadi asam amino, dan lemak dihidrolisis menjadi asam lemak. Pada proses ini terjadi pula peningkatan jumlah vitamin dan penurunan kadar lemak. Proses perkecambahan memiliki waktu titik optimum. Perkecambahan melebihi waktu optimum justru akan menyebabkan turunnya aktivitas antioksidan.

Menurut Sutopo (2004), tahap perkecambahan adalah sebagai berikut : (1) Perkecambahan biji dimulai dari penyerapan air pada biji, (2) Kegiatan sel dan enzim-enzim serta naiknya tingkat respirasi biji, (3) Penguraian bahan-bahan seperti karbohidrat, lemak, dan protein menjadi bentuk-bentuk yang melarut dan ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh, (4) Kegiatan pembentukan dan pertumbuhan sel-sel baru untuk menghasilkan energi, (5) Pertumbuhan dari kecambah melalui proses pembesaran dan pembagian sel-sel pada titik-titik tumbuh.

Menurut Sutopo (2004), terdapat 2 faktor yang mempengaruhi perkecambahan benih yaitu faktor dalam dan faktor luar. Faktor dalam terdiri dari tingkat kemasakan, benih yang dipanen sebelum tingkat kemasakan fisiologis tercapai tidak mempunyai viabilitas tinggi dan mengakibatkan benih tidak dapat berkecambah. Ukuran benih menentukan banyaknya cadangan makanan. Benih berukuran besar dan berat mengandung cadangan makanan

lebih banyak dibandingkan benih yang kecil. Benih yang mengalami dormansi, merupakan benih yang sebenarnya *viabile* (hidup) tetapi tidak mau berkecambah walaupun diletakan pada keadaan lingkungan yang memenuhi syarat bagi perkecambahan.

Faktor luar antara lain yaitu air. Air merupakan faktor lingkungan yang sangat dibutuhkan dalam proses perkecambahan. Ketersediaan air sangat penting untuk aktivitas enzim dan penguraiannya, translokasi dan kebutuhan fisiologis lainnya. Imbibisi air merupakan awal dari proses perkecambahan. Ketersediaan air yang kurang dari batas optimum akan mengakibatkan imbibisi sebagian dan menghambat proses perkecambahan. Suhu berpengaruh terhadap perkecambahan dalam meningkatkan aktivitas metabolisme. Berbagai benih tanaman memiliki suhu yang dikehendakinya masing-masing. Pengaruh suhu terhadap perkecambahan bergantung pada jenis tanaman, varietas, daerah tumbuh, dan lama penyinaran benih (Permanasari dan Aryanti, 2014). Suhu optimal merupakan suhu yang paling menguntungkan bagi perkecambahan benih, yaitu pada suhu antara 26,5°C sampai 35°C (Sutopo, 2002).

Proses perkecambahan membutuhkan oksigen yang tinggi. Kebanyakan spesies memberikan respon baik terhadap komposisi udara normal yaitu O₂ 20%, CO₂ 0,03%, dan N 80%. Penurunan kandungan udara dibawah 20% biasanya menurunkan perkecambahan. Perkecambahan pada kebanyakan spesies berlangsung baik pada kandungan O₂ udara normal atau lebih tinggi. Cahaya dibutuhkan dalam proses perkecambahan. Pengaruh cahaya matahari dalam proses perkecambahan bergantung pada intensitas dan kualitas cahaya. Respon benih terhadap cahaya dikelompokkan dalam 3 kelompok, yaitu *photoblastic positive* (membutuhkan cahaya), *photoblastic negatif* (tidak membutuhkan cahaya), dan perkecambahan yang tidak bergantung pada ada atau tidaknya cahaya (Permanasari dan Aryanti, 2014).

Pada kondisi kelembapan dan suhu yang sesuai, maka calon akar akan muncul dari kulit biji yang retak di daerah mikrofil dalam 1 sampai 2 hari. Pertumbuhan calon akar ke dalam tanah terjadi sangat cepat dan ketika mencapai panjang 2 sampai 3 cm, cabang akar pertama akan muncul. Kotiledon terangkat

ke atas tanah akibat pertumbuhan hipokotil, selanjutnya bagian atas hipokotil mencapai permukaan tanah terlebih dahulu dan mendorong kotiledon dari dalam tanah, sekaligus kulit bijinya. Pertumbuhan hipokotil mengangkat kotiledon yang kemudian menjadi hijau. Selama tahapan awal pertumbuhan kecambah, kotiledon membawa hasil fotosintesis sebagai tambahan untuk memasok mineral tersimpan dan cadangan makanan pada proses perkecambahan hingga daun dan akar terbentuk sempurna. Akhirnya, kotiledon menguning dan rontok dari tanaman (Adie dan Krisnawati, 2016).

2.1.3 Viabilitas benih

Viabilitas benih adalah daya hidup benih yang ditunjukkan oleh gejala pertumbuhan benih atau gejala metabolismenya. Viabilitas benih merupakan salah satu komponen mutu fisiologi yang terdiri dari viabilitas potensial dan vigor. Viabilitas potensial ditentukan oleh daya kecambah yang mencerminkan kemampuan benih untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman normal pada kondisi optimum. Untuk menjabarkan viabilitas dalam keadaan pertanaman di lapang atau penyimpanan yang suboptimum disebut vigor benih. Benih yang vigor akan memiliki daya simpan yang tinggi dan mampu tumbuh menjadi tanaman yang kuat pada kondisi lingkungan yang suboptimum (Sadjad, 1994).

Dalam analisis benih, viabilitas benih dapat dideteksi melalui beberapa pendekatan. Paling lazim melalui pendekatan fisiologis yang metodenya dibagi atas langsung dan tidak langsung. Metode langsung apabila setiap individu benih diamati sedangkan metode tidak langsung apabila deteksi viabilitas dilakukan terhadap sejumlah benih sekaligus. Metode tidak langsung dilakukan dalam pengujian viabilitas benih apabila viabilitas benih itu didasarkan pada aktivitas pernapasan sejumlah benih atau didasarkan pada aktivitas enzim yang ada kaitannya dengan pertumbuhan (Sadjad, 1993).

Deteksi viabilitas yang didasarkan kebocoran elektrolit dari sejumlah benih termasuk metode tidak langsung. Menurut Copeland dan Mc Donald (2001), semakin besar nilai konduktivitas maka viabilitas benih akan semakin rendah. Indikasi viabilitas langsung yang diamati berdasarkan kinerja

pertumbuhan masing-masing struktur tumbuh kecambah, memungkinkan viabilitas benih yang diuji dapat dikualifikasi. Umumnya viabilitas benih menggambarkan kinerja rata-rata dari sejumlah benih yang diuji. Indikasi viabilitas benih dengan pendekatan enzimatik memberikan indikasi yang tidak langsung. Fenomena pertumbuhan tidak dapat terlihat, tetapi gejala metabolisme dapat terlihat kaitannya dengan enzim maka gejala itu dapat dijadikan indikasi viabilitas.

Daya kecambah merupakan tolak ukur absolut yang menstimulasi viabilitas potensial ialah kemampuan benih tumbuh menjadi tanaman normal yang bereproduksi normal dalam keadaan optimum. Kapasitas berkecambah merupakan kemampuan potensial benih untuk tumbuh. Kecambah normal merupakan kecambah yang mampu menumbuhkan tanaman normal dan bereproduksi normal pada kondisi optimum. Umumnya pengamatan dalam uji daya berkecambah dilakukan dua kali masing-masing pada hari ketiga dan kelima sesudah penanaman. Benih yang sudah tumbuh secara normal sesuai ukuran yang sudah dibakukan diambil dan dihitung. Kenormalannya ditentukan berdasarkan ketegaran struktur tumbuh yang terdiri dari akar primer, akar seminal sekunder, hipokotil, kotiledon atau koleoptil, dan daun pertama yang tumbuh di dalamnya (Sadja, 1993).

Menurut Sutopo (2004), ciri kecambah normal adalah sebagai berikut :

- 1) Kecambah memiliki perkembangan sistem perakaran yang baik terutama pada akar primer dan pada tanaman yang secara normal membentuk akar sekunder, 2) Hipokotil berkembang baik dan sempurna tanpa adanya kerusakan pada jaringan, 3) Epikotil tumbuh sempurna dengan kuncup normal, plumula tumbuh sempurna, daun berwarna hijau dan tumbuh baik. Ciri kecambah abnormal adalah sebagai berikut : 1) Kecambah rusak, tidak memiliki kotiledon, embrio pecah dan akar primer pendek, 2) Pertumbuhan kecambah tidak normal dan perkembangan bagian penting kecambah kurang seimbang, 3) Plumula berputar, kotiledon bengkok, koleoptil pecah atau tidak punya daun, dan kecambah tumbuh kerdil.

2.1.4 Garam (NaCl) dan cekaman salinitas

Natrium chlorida (NaCl) yang dikenal sebagai garam adalah zat yang memiliki tingkat osmotik yang tinggi. Garam (NaCl) merupakan salah satu garam terlarut dalam tanah yang merupakan unsur penting untuk pertumbuhan tanaman, namun kelebihan larutan garam dalam tanah dapat mempengaruhi pola pertumbuhan (Jasmi, 2016). NaCl merupakan garam utama yang terkandung dalam tanah-tanah salin. Jika NaCl dilarutkan dalam air akan berdisosiasi menjadi ion-ion penyusunnya yaitu Na^+ dan Cl^- . Peran utama natrium dalam tanaman adalah untuk menggantikan sebagian kalium yang dibutuhkan untuk pertumbuhan maksimum. Klor diserap oleh tanaman dalam bentuk ion Cl^- dan merupakan unsur hara mikro yang dibutuhkan dalam proses fotosintesis.

Salinitas merupakan proses alami yang berkaitan erat dengan bentang alam dan proses pembentukan tanah. Garam dalam tanah dapat berasal dari pelapukan bahan induk yang mengandung garam, intrusi air laut, pupuk anorganik, dan pupuk organik. Salinitas juga dapat berasal dari kondisi iklim dengan curah hujan rendah dengan tingkat evaporasi tinggi dan pengelolaan pengairan yang buruk. Penggunaan air irigasi secara terus menerus juga dapat mengakibatkan cekaman salinitas karena penggunaan irigasi menyebabkan akumulasi garam pada lahan. Unsur hara Ca, Mg, dan Na dalam air irigasi mengendap dalam bentuk karbonat seiring dengan terjadinya penguapan (Kristono, Purwaningrahayu dan Taufik, 2013).

Salinitas dapat diukur dengan menggunakan metode *Total Dissolved Solid* (TDS). *Total Dissolved Solid* (TDS) merupakan suatu cara mengukur jumlah senyawa organik dan anorganik dalam suatu larutan baik dalam bentuk ion maupun molekul. Metode ini ditentukan dengan menguapkan sampel air sampai kering dan menimbang garam yang tersisa. Nilai pengukuran biasanya dalam satuan ppm meskipun sekarang lebih sering menggunakan satuan mg l^{-1} (Kristono, Purwaningrahayu dan Taufik, 2013).

Garam dalam larutan tanah dapat mempengaruhi *Electrical Conductivity* (EC) atau daya hantar listrik. Pengukuran *Electrical Conductivity* (EC) atau daya hantar listrik adalah ukuran dari jumlah garam yang terlarut

dalam larutan (Karsono, 2002). *Electrical Conductivity* (EC) merupakan pengukuran tidak langsung terhadap konsentrasi garam yang dapat digunakan untuk menentukan secara umum kesesuaian tanah untuk budidaya tanaman. Semakin banyak garam yang terlarut, maka semakin tinggi nilai *Electrical Conductivity* (EC) yang diperoleh.

Pengukuran Daya Hantar Listrik tidak dapat menentukan jenis garam, tetapi hanya mengetahui daya hantar listrik yang menunjukkan tingkat salinitas larutan. Perbandingan natrium dengan ion garam lain sering digunakan dalam tes salinitas melalui pengukuran *Sodium Adsorption Ratio* (SAR) dan *Exchangeable Sodium Percentage* (ESP). *Sodium Adsorption Ratio* (SAR) menggambarkan proporsi natrium (Na) terhadap kalsium (Ca) dan magnesium (Mg) dalam larutan tanah dan dinyatakan dalam satuan mili ekuivalen per liter (meq l^{-1}). *Exchangeable Sodium Percentage* (ESP) hanya digunakan untuk mengukur sodisitas pada tanah, sedangkan *Sodium Adsorption Ratio* (SAR) dapat digunakan pada tanah dan larutan tanah atau air irigasi (Kristono, Purwaningrahyu dan Taufik, 2013). Klasifikasi salinitas tanah menurut parameter *Electrical Conductivity* (EC), *Sodium Adsorption Ratio* (SAR), pH tanah, dan *Exchangeable Sodium Percentage* (ESP) disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi salinitas tanah

Klasifikasi Tanah	EC (dS m^{-1})	SAR (meq l^{-1})	pH Tanah	ESP
Normal	<4,0	<13		<15
Salin	>4,0	<13	<8,5	<15
Sodik	<4,0	>13	>8,5	>15
Salin – Sodik	>4,0	>13	<8,5	>15

Sumber : Kristono, Purwaningrahyu, dan Taufik, 2013

Keterangan : EC = *Electrical Conductivity*, SAR = *Sodium Adsorption Ratio*,
ESP = *exchangeable sodium percentage*

Salinitas merupakan salah satu bentuk cekaman abiotik yang berkelanjutan hampir semua negara di dunia, termasuk Indonesia. Luas lahan yang terpengaruh garam di Indonesia diperkirakan sekitar 440.300 ha dengan kriteria agak salin 304.000 ha dan salin 140.300 ha (Rachman, Subiksa, dan Wahyunto, 2007). Adanya garam terlarut dalam tanah seperti NaCl, Na₂SO₄, MgSO₄, CaSO₄, KCl, MgCl₂, Na₂CO₃ dapat menyebabkan terjadinya cekaman

salinitas (Tavakkoli, Rengasamy, dan Mc Donald, 2010). Cekaman salinitas dapat mempengaruhi berbagai proses fisiologis dan biokimia yang dapat menyebabkan toksisitas ion dan cekaman air.

Cekaman salinitas berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman terutama terhadap tanaman yang termasuk kelompok glikofita yaitu tidak tahan garam. Pengaruh negatif dari salinitas karena rendahnya potensial osmotik larutan tanah, ketidakseimbangan unsur hara, pengaruh ion spesifik, dan kombinasi dari berbagai faktor tersebut (Munns dan Tester, 2008; Arzani, 2008; Attia *et al.*, 2011). Kadar garam dalam tanah yang tinggi akan berpengaruh terhadap fisiologi, morfologi, biokimia tanaman dan bahkan ke tingkat molekuler tanaman (Purwaningrahayu dan Taufiq, 2017). Cekaman salinitas dapat mengakibatkan terjadinya cekaman oksidatif yang disebabkan oleh adanya aktivitas *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan radikal bebas yang sangat berbahaya. Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipid, protein dan DNA (Carvalho, 2008; Sharma *et al.*, 2012). Cekaman salinitas menyebabkan akumulasi ROS yang berlebihan di dalam sel (Meloni *et al.*, 2003). Pada tanaman, ROS terbentuk dalam sel melalui beberapa cara yaitu : 1) Produksi fotokimia di atmosfer akibat pencemaran udara, 2) Penyumbangan elektron langsung ke oksigen ketika terjadi fotosintesis terutama pada kondisi cahaya yang tinggi dan konsentrasi CO₂ pada kloroplas yang rendah, 3) Respon terhadap kondisi cekaman seperti kekeringan, suhu tinggi, salinitas, ozon dan serangan mikroba (Pritchard, Van Santen, dan Qiu, 2000).

Peningkatan konsentrasi NaCl dapat menghambat proses imbibisi benih karena kelarutan garam dapat menurunkan tekanan osmotik sehingga benih tidak dapat menyerap air dari lingkungan tumbuhnya yang dibutuhkan untuk pengaktifan enzim guna proses perkecambahan. Salinitas pada media tanam benih dapat mempengaruhi proses perkecambahan benih karena dapat menurunkan potensial air pada media tanam sehingga menghambat penyerapan air oleh benih yang berkecambah (Rini, Mustikowe, dan Surtiningsih, 2005). Penghambatan pertumbuhan tanaman oleh salinitas dapat terjadi melalui dua

cara, yaitu dengan merusak sel-sel yang sedang tumbuh dan pembatasan suplai hasil-hasil metabolisme esensial (Dianawati *et al.*, 2013).

Apabila peningkatan konsentrasi salinitas secara terus menerus maka terjadi kerusakan jaringan benih, bahkan kematian benih ataupun benih dapat berkecambah tetapi tumbuh abnormal (Duan *et al.*, 2004). Salinitas menyebabkan beberapa kelainan pada perkecambahan benih. Pengaruh NaCl pada proses perkecambahan antara lain mengurangi hidrasi dari embrio dan kotiledon, menghambat dan mengurangi pemunculan radikula dan plumula, dan mengurangi pertumbuhan kecambah (Erinnovita, Sari, dan Guntoro, 2008).

Kedelai tergolong tanaman yang peka salinitas dengan ambang batas normal toleransi 2 sampai 5 dS m⁻¹ (Katerji *et al.*, 2000). Kedelai dapat dikelompokkan sebagai glikofita yang peka terhadap salinitas, tetapi di antara genotip terdapat perbedaan tingkat toleransi terhadap kadar salinitas tertentu. Keragaman toleransi genotip kedelai terhadap salinitas menunjukkan tanaman ini mempunyai potensi untuk diseleksi guna memperoleh genotip toleran salinitas hingga kadar tertentu. Toleransi tanaman terhadap cekaman salinitas adalah kemampuan tanaman tersebut mencegah agar konsentrasi garam dalam protoplasma tidak berlebihan sehingga mampu bertahan pada konsentrasi garam yang tinggi.

2.1.5 Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul, atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat reaktif dan radikal seperti misalnya radikal bebas turunan oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*). Radikal bebas cukup banyak jenisnya, namun keberadaan radikal bebas paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas ini merupakan hasil pemecahan homolitik dari ikatan kovalen suatu molekul atau pasangan elektron bebas suatu atom (Parwata, 2016).

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan radikal bebas yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup. *Reactive Oxygen Species* (ROS) sebagian besar merupakan hasil metabolisme sel normal di dalam tubuh (ROS endogen) dan sebagian kecil merupakan paparan dari zat lain atau radikal-radikal dari luar tubuh (ROS eksogen). ROS endogen merupakan respon fisiologis dari hasil metabolisme sel-sel normal tubuh seperti misalnya metabolisme karbohidrat dan protein. Paparan dari luar tubuh merupakan oksigen reaktif yang berasal dari lingkungan, virus, dan lainnya (Parwata, 2016). Pada kondisi normal, *Reactive Oxygen Species* (ROS) mempunyai fungsi yang positif, misalnya O_2^- (radikal superoksida) dan H_2O_2 (hidrogen peroksida) dibutuhkan dalam proses lignifikasi, dan berfungsi sebagai sinyal respons pertahanan terhadap infeksi patogen (Gratao *et al.*, 2005).

Pembentukan ion-ion radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) akan mengalami peningkatan apabila tanaman mengalami cekaman baik abiotik maupun biotik. Akumulasi ion radikal bebas dalam bentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada konsentrasi tinggi akan merusak komponen-komponen seluler dan makromolekul termasuk membran plasma, asam nukleat dan protein. Pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah sangat besar pada sel/jaringan tumbuhan juga dapat dijadikan sebagai indikator adanya cekaman oksidatif yang dapat mengancam kelangsungan kehidupan tumbuhan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) umumnya dihasilkan oleh sel melalui lintasan metabolisme aerobik. Berbagai spesies oksigen reaktif yang terbentuk sebagai salah satu respon terhadap adanya cekaman abiotik. Pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sel tumbuhan mempunyai dua fungsi utama yaitu (1) sebagai *signal* intrinsik untuk proses-proses pertumbuhan dan perkembangan, dan (2) sebagai molekul *signal* untuk merespon adanya kondisi cekaman (Kasmiyati dan Sucahyo, 2014).

Kerusakan jaringan akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS) dikenal dengan stres oksidatif, sedangkan faktor yang dapat melindungi jaringan terhadap *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu antioksidan. Berbagai jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS) antara

lain adalah *Deoxyribo Nucleid Acid* (DNA), lipid, dan protein (Bender, 2009). Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal yang ada di dalam tubuh dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri. Ketidakseimbangan inilah yang menyebabkan tubuh tidak dapat menangkap atau menetralkan keseluruhan radikal bebas tersebut. Kelebihan radikal bebas ini mengakibatkan intensitas reaksi oksidasi sel-sel normal semakin tinggi dan mengakibatkan kerusakan jaringan sel akan semakin parah (Parwata, 2016).

2.1.6 Antioksidan

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan dapat dibagi menjadi tiga golongan yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru dengan mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal sehingga produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), katalase, dan protein pengikat logam (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidropersida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi *singlet* oksigen. Lipida pangan umumnya mengandung ion-ion logam dalam jumlah sangat kecil yang mungkin berasal dari enzim-enzim yang diaktifkan oleh logam, berasal dari peralatan pemurnian minyak atau berasal dari proses hidrogenasi. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -karoten, isoflavon, bilirubin, dan albumin (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan Tersier atau *repair enzyme* yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah metionin sulfosida reduktase, DNA *repair enzymes*, protease, transferase, dan lipase (Parwata, 2016).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh 4 macam reaksi adalah : (1) pelepasan hidrogen dari antioksidan, (2) pelepasan elektron dari antioksidan, (3) penambahan lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, (4) pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid, dan polisakarida (Winarsi, 2007). Senyawa antioksidan bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas oksigen, peroksidasi lipid, dan oksigen *singlet*. Mekanisme kerja antioksidan dengan molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu, sehingga dapat memutus reaksi berantai radikal bebas. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai setiap spesies yang mampu berada secara independen dan memiliki satu atau lebih muatan elektron yang sendiri dalam orbital (Ardiansyah, 2007).

Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, peredam terbentuknya *singlet* oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005). Flavonoid dapat memberi efek antioksidan dengan mencegah generasi *Reactive Oxygen Species* (ROS), langsung menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau secara tidak langsung terjadi peningkatan enzim (Akhlaghi dan Bandy, 2009). Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dalam buah dan sayur (Farkas, Jakus, dan Heberger, 2004). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino. Flavonoid memiliki potensi yang besar melawan penyakit yang disebabkan oleh penangkap radikal (Amic *et al.*, 2003). Flavonoid terdiri dari 10 jenis yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon.

2.1.7 Uji aktivitas antioksidan (DPPH)

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara spektrofotometri, salah satunya yaitu pengujian penangkapan radikal bebas. Uji ini dilakukan dengan mengukur penangkapan radikal sintetik dalam pelarut organik polar seperti metanol atau etanol. Radikal sintetik yang sering digunakan yaitu DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Kurniawan, 2011). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil (dengan atom N di tengah) serta dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak (Dinis, Maderia, dan Almeida, 1994).

Pengujian antioksidan dengan menggunakan DPPH merupakan metode yang sederhana, menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat, dan sensitif bagi pengujian antioksidan senyawa tertentu termasuk ekstrak tanaman (Hanani, Abdul, dan Ryany, 2005; Koleva *et al.*, 2002). DPPH memberikan warna violet pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel

mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam pelarut organik polar yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003). Penurunan intensitas warna ungu DPPH ini disebabkan oleh berkurangnya kromofor atau ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa DPPH, hal ini disebabkan oleh adanya ekstrak sebagai penangkap radikal yang mendonorkan atom H pada DPPH menjadi DPPH-H tereduksi yang menjadi warna kuning (Huang, Ou, dan Prior, 2005).

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal atau DPPH adalah nilai IC_{50} (Inhibition concentration 50%). Nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi sampel uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan simbol x dan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol y dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik (Cholisoh dan Utami, 2008). Klasifikasi nilai IC_{50} disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi antioksidan

No	IC_{50} (ppm)	Antioksidan
1	<50	Sangat kuat
2	50-100	Kuat
3	101-150	Sedang
4	151-200	Lemah

Sumber : Molyneux, 2004

2.1.8 Biji alpukat sebagai antioksidan

Antioksidan alami dapat diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, dan biji. Antioksidan yang ada pada bagian tanaman antara lain adalah vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik (flavonoid). Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis (Gill *et al.*, 2002).

Salah satu buah yang kaya akan antioksidan adalah buah alpukat (*Persea americana*). Alpukat merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia. Alpukat merupakan jenis tumbuhan dengan biji berkeping dua yang tergolong besar. Berat buah alpukat berkisar 0,3 kg sampai 0,4 kg dengan panjang 5 cm sampai 20 cm (Dalimartha, 2008). Daging buah alpukat berwarna hijau dekat kulit dan kuning dekat biji yang memiliki tekstur lunak dan lembut. Buah alpukat memiliki kulit lembut yang tidak rata berwarna hijau tua hingga ungu kecoklatan. Biji dari buah alpukat berbentuk seperti bola dengan diameter 2,5 cm sampai 5 cm (Prawita, 2012). Biji alpukat tersusun dari dua keping (*cotyledon*) yang dilapisi kulit biji. Biji alpukat tersusun atas jaringan parenkim yang mengandung lemak dan tepung sebagai cadangan makanan (Lubis, 2008).

Biji alpukat adalah limbah dari buah alpukat yang sangat jarang dimanfaatkan. Marlinda, Sangi, dan Wuntu (2012) melaporkan bahwa biji alpukat mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Vinha, Moreira, dan Barreira (2013) melaporkan bahwa dalam 100 g biji alpukat mengandung komponen-komponen fitokimia seperti fenolik 704,0 mg, flavonoid 47,9 mg, karoten 0,988 mg, vitamin C 2,6 mg, dan vitamin E 4,82 mg. Menurut Malanggi, Sangi, dan Paedong (2012) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi biji alpukat ditunjukkan oleh ekstrak biji alpukat biasa kering (AK) yaitu sebesar 93,045%, kemudian biji alpukat mentega kering (BK) 92,970%, biji alpukat biasa segar (AS) 85,870%, dan biji alpukat mentega segar (BS) 67,645%.

2.2 Kerangka pemikiran

Salinitas adalah kadar garam yang terlarut dalam air. Salinitas merupakan salah satu cekaman abiotik yang dapat berpengaruh buruk pada pertumbuhan tanaman. Cekaman salinitas menyebabkan perubahan proses fisiologis dan metabolisme, bergantung pada tingkat keparahan cekaman, yang kemudian menghambat produksi tanaman (James *et al.*, 2011; Rahnama *et al.*, 2010). Pengaruh negatif dari salinitas karena rendahnya potensial osmotik larutan tanah,

ketidakseimbangan unsur hara, pengaruh ion spesifik, dan kombinasi dari berbagai faktor tersebut (Munns dan Tester, 2008; Arzani, 2008; Attia *et al.*, 2011).

Fase perkecambahan merupakan fase kritis terhadap cekaman salinitas. Cekaman salinitas mengakibatkan sebagian biji gagal berkecambah (Kondetti *et al.*, 2012; Agarwal *et al.*, 2015; Kandil, Sharief, dan Ahmed, 2015). Salinitas meningkatkan potensial osmotik sehingga menghambat penyerapan air pada fase imbibisi biji, mengganggu perkecambahan, dan atau mengakibatkan biji gagal berkecambah (Cokkizgin, 2012; Kondetti *et al.*, 2012). Apabila peningkatan konsentrasi salinitas secara terus-menerus maka terjadi kerusakan jaringan benih, bahkan kematian benih ataupun benih dapat berkecambah tetapi tumbuh abnormal (Duan *et al.*, 2004). Pengaruh NaCl pada proses perkecambahan antara lain mengurangi hidrasi dari embrio dan kotiledon, menghambat dan mengurangi pemunculan radikula dan plumula, dan mengurangi pertumbuhan kecambah (Erinovita *et al.*, 2008). Semakin tinggi konsentrasi NaCl dapat menurunkan daya berkecambah dan kecepatan tumbuh benih kedelai (Dianawati *et al.*, 2013).

Kerusakan jaringan akibat cekaman salinitas disebabkan oleh adanya radikal bebas dalam jumlah yang tinggi. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan radikal bebas yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup. *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada tanaman terbentuk akibat dari adanya cekaman biotik maupun abiotik. Akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada konsentrasi yang tinggi dapat merusak komponen seluler dan makromolekul termasuk membran plasma, asam nukleat dan protein (Kasmiyati dan Sucahyo, 2014). Stres oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal yang ada di dalam tubuh dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri. Ketidakseimbangan inilah yang menyebabkan tubuh tidak bisa menangkap atau menetralkan keseluruhan radikal bebas tersebut. Kelebihan radikal bebas ini mengakibatkan intensitas reaksi oksidasi sel-sel normal semakin tinggi dan mengakibatkan kerusakan jaringan sel akan semakin parah (Parwata, 2016). Kelebihan radikal bebas dapat dicegah dengan pemberian antioksidan eksogen.

Pemberian antioksidan pada perlakuan benih telah membuktikan bahwa antioksidan eksogen mampu meningkatkan kemampuan benih untuk menghambat proses kemunduran dan meningkatkan viabilitas serta vigor benih. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lee, Kim, dan Park (2010), bahwa pemberian asam salisilat sebanyak 1 mM sampai 10 mM dapat mengurangi pengaruh hambatan perkecambahan tanaman *Arabidopsis* pada cekaman salinitas tinggi. Menurut Suryaman *et al.* (2019), diketahui bahwa penggunaan antioksidan ekstrak kulit manggis 1% menyebabkan peningkatan pertumbuhan terhadap tanaman kedelai pada cekaman salinitas 0,5% dan 1%. Menurut Suryaman, Hadiyah, dan Inten (2020), diketahui bahwa ekstrak kulit buah naga meningkatkan laju perkecambahan, panjang akar, dan mengurangi daya hantar listrik secara signifikan, serta dapat meningkatkan daya kecambah, panjang epikotil, dan bobot kering pada cekaman salinitas dimana kulit buah naga digunakan sebagai sumber antioksidan.

Sumber antioksidan yang diberikan dapat berasal dari pemanfaatan limbah buah salah satunya yaitu limbah buah alpukat. Buah alpukat merupakan buah yang disukai banyak orang. Selain rasanya yang enak, buah alpukat juga kaya antioksidan dan zat gizi. Kandungan flavonoid dalam buah alpukat diketahui dapat membantu melindungi organ dari agen toksik atau stres oksidatif (Lukacinova *et al.*, 2008). Bagian pada buah alpukat yang dimanfaatkan oleh masyarakat yaitu daging buahnya saja, sedangkan bijinya kurang dimanfaatkan. Pada 100 g biji alpukat mengandung komponen-komponen fitokimia seperti fenolik 704,0 mg, flavonoid 47,9 mg, karoten 0,988 mg, vitamin C 2,6 mg, dan vitamin E 4,82 mg (Vinha *et al.*, 2013). Aktivitas antioksidan tertinggi biji alpukat ditunjukkan oleh ekstrak biji alpukat biasa kering (AK) yaitu sebesar 93,045%, kemudian biji alpukat mentega kering (BK) 92,970%, biji alpukat biasa segar (AS) 85,870%, dan biji alpukat mentega segar (BS) 67,645% (Malangni *et al.*, 2012).

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas, maka dalam upaya meningkatkan pemanfaatan lahan salin khususnya untuk tanaman kedelai hitam, ekstrak biji alpukat ini menjadi alternatif untuk digunakan dan diteliti sebagai antioksidan dan mencegah pembentukan radikal bebas, sehingga viabilitas benih kedelai hitam dapat dipertahankan.

2.3 Hipotesis

- 1) Terjadi interaksi antara pemberian antioksidan ekstrak biji alpukat dengan cekaman salinitas terhadap viabilitas benih kedelai hitam.
- 2) Diketahui konsentrasi antioksidan ekstrak biji alpukat yang berpengaruh dalam mempertahankan viabilitas benih kedelai hitam yang ditanam pada tanah yang memiliki cekaman salinitas.