

KANDUNGAN ASAM AMINO PROLIN DUA VARIETAS PADI HITAM PADA KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN

Amino Acid Proline Content of Two Black Rice Varieties under Drought Condition

Intan Rohma Nurmalasari¹⁾*

¹⁾ Fakultas Pertanian Program Studi Agroteknologi, Universitas Merdeka
Surabaya

DOI: <http://dx.doi.org/10.21111/agrotech.v3i1.1898>

Terima 30 April 2018

Revisi 29 Mei 2018

Terbit 04 Juni 2018

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ketahanan dua varietas padi hitam terhadap kondisi kekeringan (cekaman) dengan pemberian *Polyethylene Glycol* (PEG), mengetahui pengaruh prolin terhadap varietas padi hitam. PEG dengan perlakuan konsentrasi pada benih padi hitam dapat dimanfaatkan sebagai indikator tingkat ketahanan varietas padi hitam stres yang tinggi meningkatkan kandungan asam amino prolin di kedua varietas padi hitam Data dari hasil observasi dianalisis menggunakan metode analisis varians didasarkan pada F-test tingkat 5%. Nilai rata-rata dibandingkan dengan menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat 5%. Konsentrasi 0%, 15%, 30%, dan 45% melakukan uji korelasi.

* Korespondensi email: mbakyuintan@gmail.com

Alamat : Jl. Ketintang Madya No VII/2 Surabaya

Hasil penelitian menunjukkan bahwa PEG 30% mampu meningkatkan prolin, sehingga dapat dimanfaatkan untuk screening benih awal yang bertujuan mengetahui tahan dari berbagai stres, PEG konsentrasi yang lebih tinggi, juga meningkatkan kandungan asam amino prolin sebagai toleransi bentuk kedua varietas padi hitam terhadap stress air.

Kata Kunci: padi hitam, asam amino prolin, Polyethylene Glycol (PEG)

Abstract: The research was aimed to compare the resistance of two varieties of black rice to the condition of drought (stress) by giving Polyethylene Glycol (PEG), to know the effect of proline on black rice varieties. PEG with concentration treatments on black rice seeds can be utilized as an indicator of high resistance resistance of black rice varieties increase the content of proline amino acids in both black rice varieties. Data from observation results are analyzed using variance analysis method based on F-test level of 5%. The average value compared to using DMRT (Duncan Multiple Range Test) tests at the 5% level. Concentrations of 0%, 15%, 30%, and 45% performed a correlation test. The results showed that PEG 30% was able to increase proline, so it could be used for early seed screening aimed to know resistant from various stress, higher concentration of PEG, also increase the proline amino acid content as tolerance of the second form of black rice varieties to water stress.

Keywords: black paddy, amino acid proline Polyethylene Glycol (PEG), water stress intensity.

1. Pendahuluan

Sedikitnya jumlah dan popularitas padi hitam membuat masyarakat jarang mengenal apalagi mengkonsumsi beras hitam. Padahal beras hitam mampu mensubstitusi peran beras putih. Selain

dapat dimanfaatkan sebagai makanan pokok, juga berperan sebagai bahan pangan fungsional yang memiliki khasiat dalam dunia kesehatan.

Cekaman merupakan ancaman produksi tanaman padi. Sebagai solusi lahan dengan ketersediaan air rendah, maka diperlukan varietas padi tahan terhadap cekaman kekeringan (Hariyadi, Ali, and Nurlina 2017). Penelitian mengenai tingkat toleransi varietas padi hitam Bantul dan Boyolali harus diketahui sebelum melakukan seleksi. Cekaman air yang terjadi dapat mengakibatkan penurunan produksi bahkan hasil padi, hal ini disebabkan karena benih yang digunakan bersifat toleran terhadap cekaman kekeringan.

Polyethylene Glycol (PEG) memiliki kemampuan mengontrol imbibisi dan hidrasi benih, sehingga digunakan dalam pengujian ketahanan benih terhadap kekeringan dengan memperhitungkan indeks kekeringan. Selain itu karakter cepat larut dalam air menyebabkan terjadinya penurunan potensial air dan dapat dimanfaatkan sebagai media simulasi penurunan potensial air, hal ini bergantung pada konsentrasi dan berat molekul *Polyethylene Glycol* (PEG). Banyaknya akar padi yang mampu menembus (daya tembus akar) larutan *Polyethylene Glycol* (PEG) setelah mengeras membentuk lapisan dalam, menjadi indikasi uji ketahanan tanaman padi hitam terhadap cekaman.

Kandungan prolin yang melimpah menjadi indikator toleransi cekaman kekeringan, karena prolin berfungsi sebagai penyimpan senyawa Nitrogen, osmoregulator, dan protektor enzim tertentu. Sel, jaringan atau tanaman yang tinggi kandungan prolin dianggap mempunyai sifat toleransi terhadap kekeringan yang lebih baik. Selain sebagai osmoregulator, prolin berperan penting dalam menjaga turgor sel dan pertumbuhan akar pada kondisi potensial osmotik rendah (Ali, 2015). Pada tanaman padi hitam toleran,

terjadi mekanisme pertahanan turgor agar tetap di atas nol, untuk menjaga potensial air jaringan tetap rendah dibandingkan potensial air eksternalnya, sehingga tidak terjadi plasmolisis

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh cekaman terhadap kandungan prolin beberapa varietas padi hitam, untuk mengetahui konsentrasi *Polyethylene Glycol* (PEG) yang tepat pada penapisan benih secara dini (screening) tanaman padi hitam, dan untuk membandingkan hubungan kandungan prolin dengan perbedaan konsentrasi *Polyethylene Glycol* (PEG) terhadap pertumbuhan beberapa varietas padi hitam.

2. Bahan dan Metode

Penelitian pengaruh cekaman terhadap padi hitam varietas Bantul dan Boyolali dilaksanakan di dua tempat, dengan tahapan sebagai berikut:

1) Uji Laboratorium: menguji ketahanan dua varietas padi hitam pada media PEG dilaksanakan di Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, (2) Uji Lapang, menguji perlakuan pemberian PEG saat pertumbuhan awal tanaman pada kondisi sebenarnya, uji lapang dilaksanakan di lahan Universitas Merdeka Surabaya, dan (3) Uji kandungan asam amino prolin pada dua varietas Padi Hitam. Penelitian dilaksanakan di Universitas Merdeka Suarabaya pada bulan Mei 2016.

2.1. Uji Laboratorium: Menguji ketahanan dua varietas padi hitam pada media PEG di Laboratorium

Penelitian laboratorium untuk menguji ketahanan padi hitam pada media *Polyethylene Glycol* (PEG) menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dan terdiri dari

2 faktor. Faktor pertama yaitu varietas padi (V) yang terdiri dari padi hitam Bantul (V1), padi hitam Boyolali (V2). Faktor kedua yaitu pemberian *Polyethylene Glycol* (PEG) yang masing-masing dilarutkan ke dalam 100 mL air dengan kadar larutan (L) yang terdiri: tanpa pemberian larutan PEG (L0) sebagai kontrol, kadar larutan PEG 15% (L1), kadar larutan PEG 30% (L2), kadar larutan PEG 45% (L3), Dengan demikian terdapat 8 kombinasi perlakuan:

V1L0: padi hitam Bantul tanpa pemberian PEG

V1L1: padi hitam Bantul dengan kadar larutan 15%

V1L2: padi hitam Bantul dengan kadar larutan 30%

V1L3: padi hitam Bantul dengan kadar larutan 45%

V2L0: padi hitam Boyolali tanpa pemberian PEG

V2L1: padi hitam Boyolali dengan kadar larutan 15%

V2L2: padi hitam Boyolali dengan kadar larutan 30%

V2L3: padi hitam Boyolali dengan kadar larutan 45%

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga didapat 32 tanaman percobaan.

2.2. Uji Lapang, menguji perlakuan pemberian PEG saat pertumbuhan awal tanaman pada kondisi sebenarnya

a. Persiapan Bahan Tanam

Mekanisme persiapan bahan tanaman dilakukan seperti pelaksanaan lapang yakni benih padi direndam air selama satu malam kemudian dipilih benih yang baik. Benih yang baik yaitu benih yang tenggelam, utuh dan tidak rusak. Benih langsung disemaikan pada tempat persemaian yang telah disediakan.

b. Pengecambahan

Pengamatan perkecambahan terhadap dua varietas padi hitam yang memiliki ketahanan terhadap kekeringan dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: (1) Gabah dari masing-masing

varietas dipilih yang mempunyai ukuran seragam, (2) Untuk mengecambahkan benih digunakan media tanah yang telah ditata ke dalam baki berlabel masing- masing varietas. Ditanam seperti biasa sampai berumur 3 Minggu Setelah Perkecambahan (MSP), (3) larutan PEG diberikan pada umur tanaman 2 MSP dengan metode gulung lipat. Benih yang telah berkecambah pertama digulung pada *blotting paper*, kemudian tutup lipatan dilanjutkan tanaman kedua (varietas yang sama) tutup kembali lipatan dan seterusnya, sampai dihasilkan lipatan sebanyak 12 benih. (4) Selanjutnya tahap pemberian PEG, dengan metode penyelupan ke dalam gelas yang telah diisi larutan PEG dengan konsentrasi PEG 15%, 25%, 40%. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap.

2.3. Uji Kandungan Asam Amino Prolin Pada Dua Varietas Padi Hitam

Pengukuran akumulasi prolin dilakukan dengan metode Ninhidrin. Bahan berupa daun segar (daun ke-3 dari ujung tanaman) sebanyak 0,5 g ditumbuk dalam mortar yang diberi larutan sulfo-salisilat 3% sebanyak 10 ml. Hasil tumbukan daun kemudian disaring dengan kertas filter Whatman no.1. Sebanyak 2 ml filtrat direaksikan dengan 2 ml asam ninhidrin dan 2 ml asam asetat glasial dalam tabung reaksi pada suhu 100° C selama 1 jam. Reaksi diakhiri dengan memasukkan tabung reaksi ke dalam gelas piala yang berisi es. Larutan asam ninhidrin dibuat dengan memanaskan 1,25 g ninhidrin dalam 30 ml asam asetat glasial dan 20 ml asam fosfat hingga larut. Campuran diekstraksi dengan 4 ml toluen, kemudian digojog dengan vortex selama 15-20 detik sehingga terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Toluena yang berwarna merah yang

Kandungan Asam Amino Prolin Dua Varietas Padi Hitam
pada Kondisi Cekaman Kekeringan

mengandung prolin terletak di bagian atas. Larutan bagian atas disedot menggunakan pipet, untuk diukur kadar prolinnya dengan spektrofotometer, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 520 nm. Kadar prolin ditentukan berdasarkan bacaan larutan standar prolin murni.

Rumus untuk mencari massa prolin:

$$\begin{aligned} M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\ 3\mu \times 2 \text{ ml} &= M2 \times 10 \text{ ml} \\ M2 &= \frac{3 \times 2}{10} \\ M2 &= 0,6 \mu\text{M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa prolin / ml larutan prolin} \times \text{BMP} \\ &= 0,6 \times 115,13 \text{ gram/mol} \\ &= 69,078 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Dilakukan pengenceran untuk menentukan variasi konsentrasi yang dibutuhkan untuk pembuatan kurva standar sebanyak 2 ml larutan tersebut direaksikan dengan asam ninhidrin dan asam asetat glasial untuk kemudian dibaca absorbansinya.

Dari data yang diperoleh tersebut dibuat persamaan regresi dengan kadar prolin (x) dan absorbansinya (y). Persamaan yang diperoleh adalah $y = 6,903x + 0,0558$. Kadar prolin yang diperoleh masih dalam bentuk μM , untuk menjadikannya dalam $\mu\text{ gram/ml}$, harus dikalikan BMP (Berat Molekul Prolin) 115,13 gram/mol.

Kadar prolin/berat segar daun dihitung sebagai

$$= \frac{\frac{\text{prolin}}{\text{ml}} \times \text{ml toluen (gram sampel)}}{\left(115,13 \mu \frac{\text{gram}}{\text{mol}}\right)} \quad (5)$$

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan metode analisis ragam berdasarkan uji F taraf 5%. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan akan diuji lanjut menggunakan DMRT pada taraf 5%. Untuk melihat hubungan antara uji analisis dengan perlakuan larutan PEG konsentrasi (0%, 15%, 30%, dan 45%) dan kandungan asam amino prolin yang dihasilkan maka dilakukan uji korelasi.

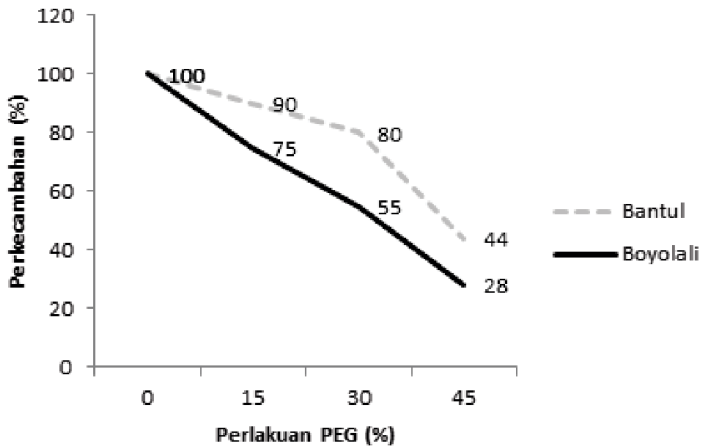
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Perkecambahan

Perbedaan perkecambahan benih padi hitam varietas Bantul pada konsentrasi PEG 15% terdapat sebesar 75%, dan untuk varitas padi hitam Boyolali berkecambah 90%. Penurunan persentase perkecambahan pada varietas Bantul menjadi 55% seiring bertambahnya konsentrasi PEG menjadi 30%. Penurunan juga ditunjukkan persentase perkecambahan varietas padi hitam Boyolali, pada konsentrasi tersebut benih berkecambah sebesar 85% (Gambar 1).

Perlakuan pemberian larutan *Polyethylene glycol* konsentrasi 45% juga tampak berpengaruh terhadap penurunan persentase perkecambahan benih baik varietas Bantul maupun Boyolali. Persentase benih berkecambah varietas padi hitam Boyolali sebesar 28%, padi hitam Bantul sebesar 44%.

Kandungan Asam Amino Prolin Dua Varietas Padi Hitam pada Kondisi Cekaman Kekeringan



Gambar 1. Persentase gabah berkecambah dalam larutan PEG pada varietas padi hitam Bantul, Boyolali

3.2. Kandungan Prolin

Peran asam amino prolin sangat besar dalam melindungi tanaman padi hitam dalam kondisi cekaman, selain itu prolin sebagai penyedia nitrogen organik yang berguna pada proses pemulihan sel. Prolin menyimpan karbon dan nitrogen selama cekaman air, karena pada saat itu sintesis karbohidrat terhambat. Proporsi prolin bertambah lebih cepat daripada asam amino lainnya saat cekaman. Tinggi rendahnya kadar prolin dalam jaringan tanaman digunakan untuk mengevaluasi tingkat toleransi varietas terhadap cekaman (Bates *et al*, 1973). Semakin tinggi peningkatan kandungan prolin yang terdapat pada tanaman maka semakin toleran tanaman terhadap cekaman kekeringan.

Varietas padi hitam Bantul dan Boyolali, memiliki respon yang sama terhadap kondisi ketersediaan air rendah. Kondisi ter-

sebut dapat memacu tanaman padi, untuk meningkatkan laju respirasi. Respirasi tersebut berperan dalam memproduksi ATP untuk melakukan aktivasi sel-sel yang mengalami cekaman. Hare (1999) menyatakan saat tanaman mengalami cekaman, respirasi tanaman lebih cepat, substansi osmotik terlarut dapat mengurangi potensial osmotik sel, sehingga meningkatkan pengambilan air sel yang secara bersamaan akan meningkatkan turgiditas dan aktivitasnya.

Dilakukan pengenceran untuk memperoleh variasi konsentrasi yang dibutuhkan untuk pembuatan kurva standar. Langkah selanjutnya 2 ml larutan tersebut direaksikan dengan asam ninhidrin dan asam asetat glasial kemudian dibaca absorbansinya. Disebabkan menggunakan 2 varietas (Padi hitam Bantul dan padi hitam Boyolali). Pada perlakuan yaitu konsentrasi PEG di laboratorium, diperoleh tabel hasil pengenceran pada perlakuan PEG. Dari pengenceran yang dilakukan, diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 1. Data pengenceran I prolin pada perlakuan pemberian *Polyethylene Glycol* PEG

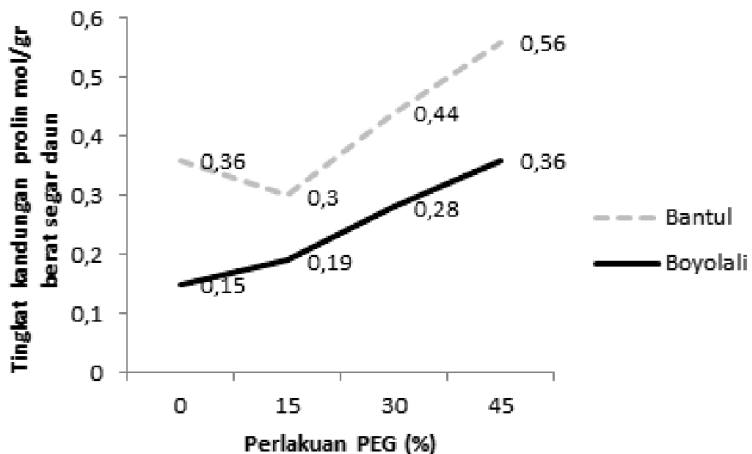
Volume prolin (ml)	Volume asam sulfosalisilat 3%(ml)	Kadar prolin ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Konsentrasi prolin μM	Absorbansi
0,0	2	0,0	0,0	0,0
0,4	1,6	12,513	0,1	0,802
0,8	1,2	24,026	0,2	2,464
1,2	0,8	35,539	0,3	3,127
1,6	0,4	47,052	0,6	3,789

Peningkatan tertinggi akumulasi prolin, pada pemberian larutan PEG 40%. Varietas padi hitam Bantul dan Boyolali sama-

Kandungan Asam Amino Prolin Dua Varietas Padi Hitam
pada Kondisi Cekaman Kekeringan

sama mengalami peningkatan kadar prolin pada konsentrasi PEG 40%. Hasil analisis menunjukkan prolin yang paling rendah peningkatannya ditunjukkan padi hitam varietas Bantul 0,15 mol/gram berat segar daun.

Prolin dengan kandungan PEG 30% menunjukkan terdapat tingkatan kandungan prolin dan didapatkan hasil bahwa kandungan prolin varietas padi hitam Bantul, dan Boyolali berturut-turut sebesar 0,28 mol /gram berat segar daun untuk varietas Bantul dan 0,44 mol/gram berat segar daun untuk varietas Boyolali.



Gambar 2. Pengaruh perlakuan konsentrasi pemberian PEG terhadap kadar prolin (mol/gram berat segar daun) tanaman padi varietas Bantul, dan Boyolali.

Prolin tertinggi ditunjukkan varietas padi hitam Boyolali. Kandungan prolin pada tiap tanaman mengalami tingkat toleransi yang beragam, disebabkan perbedaan sifat dan genetika masing-masing varietas tanaman berbeda baik dalam masa produktivitas, pertumbuhan hingga panen. Terjadi peningkatan kandungan prolin

bebas pada tingkat cekaman tinggi disebabkan peningkatan akumulasi prolin bebas pada daun sebagai sumber energi saat proses oksidasi tanaman dengan kandungan karbohidra cukup rendah.

Peranan prolin sangat penting dalam toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan, dalam hal ini analisis prolin diambil dari jaringan daun. Penggunaan larutan PEG 30-40% terbukti meningkatkan akumulasi prolin, atau dapat diartikan cara tanaman untuk meningkatkan toleransi terhadap cekaman. Kandungan prolin meningkat akibat cekaman, sehingga laju sintesis prolin pada lintasan glutamat juga meningkat, sebagai wujud kemampuan adaptif tanaman terhadap cekaman kekeringan. Berkaitan dengan kemampuan prolin bertindak sebagai osmoregulator, atau agen pelindung bagi enzim-enzim membran.

Varietas Bantul mengakumulasi prolin lebih rendah dibandingkan varietas padi hitam Boyolali. Perlakuan larutan PEG 45% mengakumulasi prolin paling tinggi 0,36 mol/gram berat segar daun daripada tanpa PEG sebesar 0,15 mol/gram berat segar daun.

Penggunaan larutan PEG digunakan sebagai penapisan ketahanan kekeringan secara dini dengan memanfaatkan benih utuh. Varietas padi hitam Boyolali sebagai genotipe yang lebih toleran. Tanaman yang toleran mampu melakukan fotosintesis dan fotosintat yang dihasilkan akan lebih banyak, dan selanjutnya fotosintat tersebut segera didistribusikan ke seluruh bagian tanaman. Akumulasi dari fotosintat akan menghasilkan pertumbuhan generatif yang lebih baik. Keragaman pertumbuhan vegetatif masing-masing varietas berbeda, disebabkan karena perbedaan gen untuk dapat mengikat air. Tanaman yang lebih toleran terhadap cekaman PEG menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibanding dengan tanaman yang peka. Varietas padi hitam Boyolali mampu mengakumulasi asimilat lebih baik dibandingkan varietas

padi hitam Bantul.

Konsentrasi PEG yang tinggi (PEG 45%) pada tanaman tercekam kekeringann menghasilkan peningkatan prolin. Dari kedua varietas pada perlakuan 40% varietas Boyolali menghasilkan prolin paling tinggi sebesar 0.56 mol/gram berat segar daun. Konsentrasi PEG secara nyata mempengaruhi hampir seluruh peubah pada perlakuan konsentrasi PEG 40%. Oleh karena konsentrasi PEG 40% merupakan kondisi cekaman kekeringan bagi varietas padi hitam Bantul, Boyolali, sehingga dapat digunakan untuk seleksi ketahanan kekeringan pada tanaman padi.

Peningkatan kandungan prolin terlihat pada perlakuan pemberian larutan PEG mulai 20% sudah menunjukkan peningkatan kandungan prolin hingga perlakuan PEG 40% (Gambar.2). Namun, perlu diingat bahwa besarnya peningkatan akumulasi prolin beragam berdasarkan karakter masing-masing varietas. Varietas padi hitam Boyolali mulai mengalami peningkatan kadar prolin pada konsentrasi PEG 15%. Sedangkan prolin yang paling rendah peningkatannya ditunjukkan padi hitam varietas Bantul 0,19 mol/gram berat segar daun.

Prolin terakumulasi lebih banyak pada tanaman yang lebih toleran terhadap cekaman kekeringan dibandingkan dengan tanaman yang peka (Kirkham 1990). Menurut Pangaribuan (2001) bahwa peningkatan kandungan prolin bebas pada tanaman padi hitam cukup tinggi, hal tersebut ada kesesuaian dengan hasil penelitian yang menunjukkan adanya keterkaitan dengan ketahanan terhadap cekaman kekeringan. Varietas Boyolali mengandung prolin paling tinggi (Gambar 2), sehingga varietas ini lebih toleran terhadap cekaman kekeringan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan, Cekaman yang tinggi berpengaruh terhadap peningkatan kandungan asam amino prolin pada kedua varietas padi hitam, Konsentrasi PEG 25% tepat digunakan untuk penapisan benih (*screening*), secara dini mengetahui ketahanan suatu varietas terhadap cekaman, sebab pada perlakuan PEG 25% menunjukkan peningkatan awal kandungan prolin dan Semakin tinggi konsentrasi *Polyethylene Glycol* (PEG), semakin meningkat pula kandungan asam amino prolin sebagai bentuk toleransi kedua varietas padi hitam terhadap cekaman.

5. Referensi

- Ali, Mahrus. 2015. Pengaruh Dosis Pemupukan Npk Terhadap Produksi Dan Kandungan Capsaicin Pada Buah Tanaman Cabe Rawit (*Capsicum Frutescens L.*). *Jurnal Agrosains: Karya Kreatif Dan Inovatif* 2 (2):171-78.
- Bargmann, B.O.R., A.M. Laxalt, B. ter Riet, B. van Schooten, E. Merquiol, C. Testerink, M.A. Haring, D. Bartels, and T. Munnik. 2009. Multiple PLDs Required for High Salinity and Water Deficit Tolerance in Plants. *Plant and Cell Physiology* 50 (1) : 78 - 89.
- Dhanda, S.S., G.S. Sethi, R.K. Behl. 2004. Indices of Drought Tolerance in Wheat Genotypes as Early Stages of Plant Growth. *J. Agronomy & Crop Science* 190:6- 12.
- Hariyadi, Bambang Wicaksono, Mahrus Ali, and Nurlina Nurlina. 2017. "Damage Status Assessment Of Agricultural Land As A Result Of Biomass Production In Probolinggo Regency East Java." *ADRI International Journal Of Agriculture* 1 (1): 1-12.
- Jumin.H.B. 2002. *Agroekologi Suatu Pendekatan Fisiologi*. Raja Grafindo

Kandungan Asam Amino Prolin Dua Varietas Padi Hitam
pada Kondisi Cekaman Kekeringan

Persada. Jakarta.

- Kirkham, M. B. 1990. *Plant Responses to Water Deficit*. P 323-342. In B. A. Stewart and D. R. Nielsen (Ed.) *Irrigation of agricultural crops*. Madison, Winsconsin USA
- Lagerwerff, J.V., G. Ogata, H.E. Eagle. 1961. Control of Osmotic Pressure of Culture Solutions with Polyethylene Glycol. *Science* 133:1486.
- Pangaribuan, Y. 2001. *Studi karakter morfologi tanaman kelapa sawit (Elaeis guineensis Jacq.) di pembibitan terhadap cekaman kekeringan*. (Thesis) Program Pascasarjana, Intitut Pertanian Bogor. Bogor. 74 hal.

