

PENGARUH INTENSITAS PENGUSANGAN CEPAT PADA VIABILITAS DUA BENIH SORGHUM (SORGHUM BICOLOR L. MOENCH) VARIETIAS SUPER-1 DAN SUPER-2

Herlambang¹, Eko Pramono², dan Muhammad Kamal²

¹⁾ Mahasiswa Alumnus Jurusan Agroteknologi

²⁾ Dosen Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Indonesia
Soemantri Brodjonegoro, No.1, Bandar Lampung, Indonesia
e-mail: herlambangrossi123@gmail.com

ABSTRAK

Sorghum dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan, pakan, dan bahan baku pembuatan bioetanol. Sorghum dapat dikembangkan secara luas apabila memiliki daya simpan benih yang tinggi. Metode pengusangan cepat merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menduga daya simpan benih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh intensitas pengusangan cepat pada viabilitas dua varietas sorgum. Penelitian disusun dalam rancangan petak terbagi (*split plot design*) dengan 3 blok sebagai ulangan. Empat level intensitas pengusangan cepat, yakni 0 hari (i_1), 4 hari (i_2), 8 hari (i_3), and 12 hari (i_4) sebagai petak utama, dan dua varietas sorgum sebagai anak petak yakni Super-1 (v_1) dan Super-2 (v_2). Perlakuan pengusangan cepat diberikan dengan mendera benih di dalam inkubator bersuhu 40°C dan kelembaban relatif 100% selama 0, 4, 8, dan 12 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa intensitas pengusangan cepat selama 4 hari tidak menurunkan perkecambahan benih sorgum, namun telah meningkatkan nilai daya hantar listrik benih. Perlakuan pengusangan cepat selama 12 hari nyata menurunkan viabilitas benih sorgum. Terdapat perbedaan vigor benih antara varietas Super-1 dan Super-2. Kemunduran benih akibat pengusangan cepat terjadi lebih awal pada varietas Super-1 dibandingkan dengan Super-2.

kata kunci: *pengusangan cepat, sorgum, varietas, viabilitas*

ABSTRACT

Sorghum can be used to produce food, feed, and bioetanol. Sorghum can be develop widely if it has high storability. Accelerated ageing method is one of methods that can be used to assasse storability of seeds. The objective of this research was to understand effect of intensity of accelerated ageing on seeds viability of two sorghum varieties. This experiment was arranged in split plot design on 3 blocks as replications. Four levels of intensity of accelerated ageing, that is 0 day (i_1), 4 days (i_2), 8 days (i_3), and 12 days (i_4) as main plots, and two varieties of sorghum as subplots that is Super-1 (v_1) and Super-2 (v_2). The treatment intensity of accelerated ageing was carried out by exposure seed within an incubator being set on temperature of 40 °C and relative humidity of 100% for 0, 4, 8, and 12 days. The results showed that treatment of intensity of accelerated ageing up to 4 days did not decrease germination of sorghum seeds, but it increased value of electric conductivity. Treatment of intensity of accelerated ageing up to 12 days significantly decreased viability of sorghum seeds. There was a different seed vigor between Super-1 and Super-2. Seed deterioration caused by accelerated ageing treatment happened earlier in Super-1 than Super-2.

keywords: *accelerated ageing, sorghum, varieties, viability*

PENDAHULUAN

Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) merupakan salah satu tanaman sereal yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, pakan ternak, dan juga bahan baku bioetanol (Samanhudi, 2010). Hal tersebut menjadikan budidaya tanaman sorgum sangat menguntungkan secara ekonomi. Dalam upaya mengembangkan sorgum secara luas diperlukan benih sorgum bermutu tinggi. Mutu benih diantaranya ditentukan oleh vigor pertumbuhan dan daya simpan benih. Mutu daya simpan benih umumnya tidak dapat diketahui secara cepat, namun seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan terdapat metode yang dapat menduga daya simpan suatu benih secara cepat.

Metode pengusangan cepat merupakan metode yang dapat digunakan untuk menduga vigor dan daya simpan suatu benih. Pada metode ini, benih akan mengalami penurunan mutu yang dipercepat sehingga benih akan memiliki ciri seperti halnya benih yang mengalami kemunduran secara alami. Hal tersebut disebabkan oleh kesamaan faktor penyebab kemunduran benih yakni suhu dan kelembaban (McDonald, 1999). Kemunduran pada benih dapat dikenali dari beberapa parameter seperti terlambatnya perkecambahan, pertumbuhan yang lambat, meningkatnya kerentanan terhadap stress lingkungan (Walters, 1998), penurunan persentase perkecambahan dan meningkatnya produksi kecambah lemah (Veselova, Veselovsky, 2003).

Metode pengusangan cepat telah banyak digunakan untuk menduga vigor berbagai macam benih. Merujuk pada penelitian terdahulu, perlakuan pengusangan cepat akan menurunkan persentase kecambah normal, kecepatan perkecambahan, dan panjang kecambah (Husein *et al.*, 2011; Husein *et al.*, 2012; Rastegar *et al.*, 2011; Ghahfarokhi *et al.*, 2014; Kapilan 2015; Kapilan *et al.*, 2015), meningkatkan kerusakan memberan sel benih yang terlihat dari meningkatnya nilai konduktivitas listrik (Husein *et al.*, 2012; Ghahfarokhi *et al.*, 2014; Kaewnaree *et al.*, 2011; Rastegar *et al.*, 2011; Ouzouline *et al.*, 2009), dan meningkatnya aktivitas peroksidasi lipid yang sangat berbahaya bagi kehidupan benih (Ghahfarokhi *et al.*, 2014; Kaewnaree *et al.*, 2011; Kapilan 2015; Kapilan *et al.*, 2015).

Menurut Pandey *et al.* (1990), metode pengusangan cepat merupakan metode yang sesuai dalam menilai vigor benih dan dapat dijadikan sebagai indikator perkecambahan di lapang. Metode pengusangan cepat juga dapat digunakan untuk

mengetahui perbedaan vigor benih pada varietas yang berbeda (Ouzouline *et al.*, 2009). Kemunduran benih akan terjadi lebih awal pada benih berkualitas rendah bila dibandingkan dengan benih berkualitas tinggi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada November 2015 - Januari 2016. Benih sorgum varietas Super-1 dan Super-2 dipanen dari pertanaman di Desa Marhain, Kecamatan Anak Tuha, Kabupaten Lampung Tengah. Varietas Super-1 dan Super-2 memiliki komposisi kimia benih sebagai berikut:

Table 1. Komposisi kimia benih sorgum varietas Super-1 and Super-2.

| Kandungan | Varietas | |
|-----------------|----------|---------|
| | Super-1 | Super-2 |
| Protein (%) | 12,96 | 9,22 |
| Lemak (%) | 2,21 | 3,09 |
| Karbohidrat (%) | 71,32 | 75,62 |
| Tannin (%) | 0,11 | 0,27 |
| Phospor | 249,88 | 255,47 |

Sumber: Balai Penelitian Tanaman Serealia (2013)

Perlakuan ini disusun dalam rancangan petak terbagi (*split-plot design*) dengan 3 blok sebagai ulangan. Petak utama adalah intensitas pengusangan cepat (IPC) yang terdiri dari 4 taraf yaitu, 0 hari (i_1), 4 hari (i_2), 8 hari (i_3), dan 12 hari (i_4), dan dua varietas yakni Super-1 dan Super-2 sebagai anak petak. Homogentitas data diuji dengan Uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey. Bila kedua asumsi terpenuhi data dianalisis ragam dan dilakukan pemisahan nilai tengah dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf α 5%.

Benih hasil panen dikeringkan hingga diperkirakan memiliki kadar air 10 %, dirontokkan, dan dibersihkan dengan *seed blower* dari *Seedburo equipment*. Benih dimasukkan kedalam kantung kain strimin dan dicelupkan cepat pada larutan dithane dengan konsentrasi 2g/l selama 30 detik untuk menghindari timbulnya cendawan saat diusangkan secara cepat.

Benih diusangkan secara cepat selama 0, 4, 8, dan 12 hari dengan suhu 41°C pada box pengusangan yang tertutup rapat dan memiliki kelembaban relatif 100%.

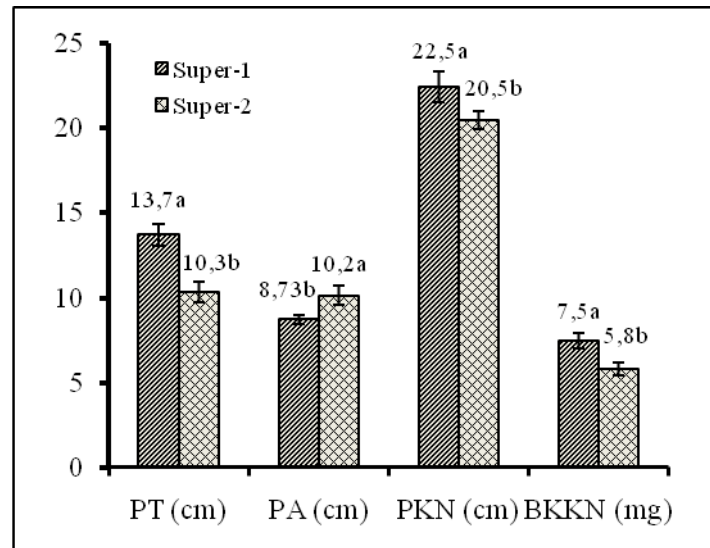
Kondisi tersebut didapatkan dengan mengisi box dengan air setinggi satu cm kemudian ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam oven bersuhu 41°C.

Setelah diusangkan, benih dikecambahkan dengan uji kertas digulung dilapisi plastik (UKDdp). Benih dikecambahkan pada germinator IPB 73 2A/2B. Pengecambahan dilakukan dengan 50 butir benih dan menggunakan dua jenis uji perkecambahan. Uji kecepatan perkecambahan (UKP) diamati pada 2, 3, 4, dan 5 hari setelah pengecambahan, dan dari uji tersebut didapatkan data persentase kecambah normal total, kecepatan perkecambahan, kecambah abnormal, dan benih mati. Benih yang berkecambah (2 mm panjang kecambah) dihitung setiap hari untuk menentukan kecepatan perkecambahan dan kecambah normal total. Pada akhir periode pengecambahan, persentase kecambah abnormal dan benih mati ditentukan. Uji keserempakan perkecambahan (UKsP) diamati pada hari ke-4 setelah pengecambahan, dan dari uji tersebut didapatkan data persentase kecambah normal kuat dan lemah, panjang tajuk dan akar kecambah, serta bobot kering kecambah normal. Benih yang berkecambah (2 mm panjang tajuk dan akar kecambah) dihitung sebagai kecambah normal kuat, dan kecambah yang lebih kecil dari ukuran tersebut dihitung sebagai kecambah normal lemah. Panjang tajuk dan akar kecambah diukur dari pangkal tajuk dan akar yang melekat pada benih hingga ke ujung tajuk dan akar. Bobot kering kecambah normal dihitung setelah benih dikeringkan dengan oven bersuhu 80 °C selama 3 hari.

Daya hantar listrik dihitung dengan metode Hampton and TeKrony (1995). Benih sampel (50 butir) dimasukan ke dalam 50 ml air destilasi. Daya hantar listrik dari bocoran benih dihitung dengan alat conductivity meter tipe *Cyber Scan con 11*. Daya hantar listrik air rendaman benih terhitung dalam satuan $\mu\text{S cm}^{-1}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

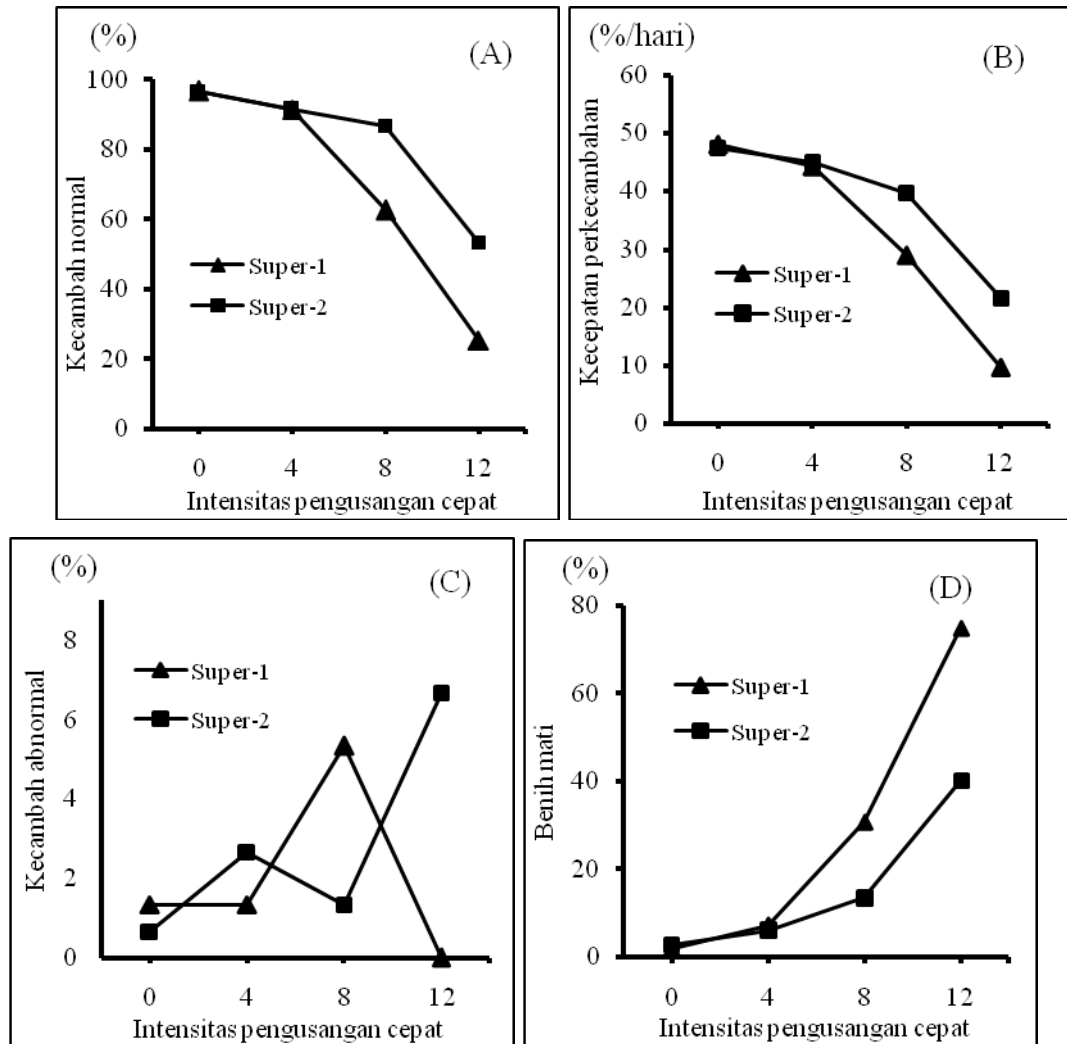
Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas Super-1 dan Super-2 memiliki vigor pertumbuhan benih yang berbeda setelah diusangkan secara cepat selama 6 hari (Gambar 1).



Gambar 1. PT = panjang tajuk; PA = panjang akar; PKN = panjang kecambah normal; BKKN = bobot kering kecambah normal. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan pada taraf α 5 %.

Varietas Super-1 memiliki vigor genetik yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan varietas Super-2 (Gambar 1), yang ditunjukkan dengan panjang tajuk kecambah, panjang kecambah, dan bobot kering kecambah normal. Varietas Super-2 memiliki panjang akar kecambah yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan varietas Super-1. Hasil ini menunjukkan bahwa pengaruh genetik turut mempengaruhi vigor pertumbuhan benih sorgum. Menurut Sutopo (2012), perbedaan viabilitas dan vigor benih dapat dipengaruhi oleh perbedaan sifat genetik benih, lingkungan, dan status benih (fisik dan fisiologi).

Perlakuan pengusangan cepat menyebabkan kemunduran benih sorgum semakin meningkat yang ditunjukkan dengan menurunnya persentase kecambah normal total dan kecepatan perkecambahan, serta meningkatnya persentase kecambah abnormal dan benih mati (Gambar 2). Hasil penelitian (Gambar 2) menunjukkan bahwa persentase tertinggi kecambah normal total dan kecepatan perkecambahan, serta persentase kecambah abnormal dan benih mati terendah ditunjukkan pada perlakuan kontrol (0 hari pengusangan). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perkecambahan benih semakin menurun seiring dengan bertambahnya intensitas pengusangan cepat.



Gambar 2. Pengaruh intensitas pengusangan cepat pada persentase kecambah normal total (A), kecepatan perkecambahan (B), kecambah abnormal (C), and benih mati (D).

Hasil ini serupa dengan hasil penelitian Husein *et al.* (2012) and Kapilan (2015) pada benih jagung, Husein *et al.* (2011) and Kapilan *et al.* (2015) pada benih bunga matahari, Panayotov (2014) pada benih lada, Kaewnaree *et al.* (2011) pada benih paprika, Maskri *et al.* (2003) pada benih wortel, Ghahfarokhi *et al.* (2014) and Ouzouline *et al.* (2009) pada benih gandum, Rastegar *et al.* (2011) pada benih kedelai, dan Iqbal *et al.* (2002) pada benih kapas.

Kegagalan benih untuk berkecambah dapat disebabkan oleh perubahan biokimia benih seperti meningkatnya aktivitas lipid peroksidasi, disfungsi mitokondria, dan rendahnya produksi ATP (McDonald, 1999). Hasil penelitian Ghassemi-Golezani *et al.* (2010) menunjukkan bahwa, selama penuaan benih, perubahan biokimia benih

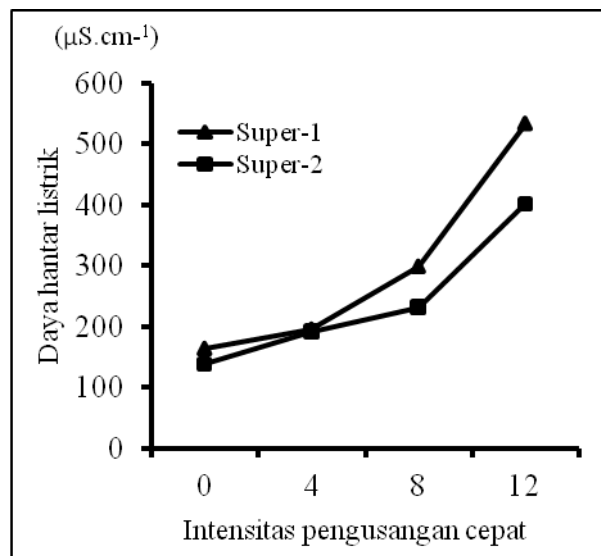
dimungkinkan berkorelasi dengan perubahan fisiologi benih seperti persentase perkecambahan ataupun indeks perkecambahan lainnya. Hasil penelitian Kapilan *et al.* (2015) menunjukkan bahwa perlakuan pengusangan cepat pada benih bunga matahari akan mempengaruhi seluruh aspek fisiologis benih seperti persentase perkecambahan dan indeks vigor benih.

Lipid peroksidasi merupakan aktivitas biokimia benih yang diduga sebagai penyebab utama hilangnya viabilitas benih (Bailly *et al.*, 1996). Lipid peroksidasi merupakan reaksi kompleks antara *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menyusun membran sel benih dengan reaktif oksigen spesies (ROS) (Winarsi, 2007). Selama perlakuan pengusangan cepat radikal bebas akan diproduksi di dalam membran sel benih yang mana akan sangat berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel benih. Pendapat tersebut didukung oleh hasil penelitian Ghahfarokhi *et al.* (2014) pada benih gandum, Kaewnaree *et al.* (2011) pada benih paprika, Kapilan (2015) pada benih jagung, dan Kapilan *et al.* (2015) pada benih bunga matahari, yang menunjukkan bahwa selama pengusangan cepat akan terjadi peningkatan aktivitas peroksidasi di dalam benih. Menurut McDonald (1999), produk sampingan dari proses peroksidasi lipid ialah malondialdehyde (MDA), yang juga dapat menyebabkan rusaknya protein dan asam nukleat di dalam benih.

Hasil penelitian (Gambar 2) juga menunjukkan bahwa varietas Super-1 lebih cepat mengalami kemunduran akibat perlakuan pengusangan cepat bila dibandingkan dengan varietas Super-2. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan komposisi kimia benih seperti protein, lemak, tannin, dan fosfor yang dimiliki oleh kedua benih tersebut (Tabel 1). Varietas Super-1 memiliki kandungan protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan Super-2. Pada kondisi suboptimum benih dengan kadar protein yang tinggi akan lebih cepat mengalami kemunduran bila dibandingkan dengan benih berkadar protein rendah (Tatipata, 2008). Disamping hal tersebut, varietas Super-2 juga memiliki kandungan antioksidan seperti tannin dan fosfor yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan Super-1. Hasil penelitian Costa *et al.* (2015), menunjukkan bahwa benih kacang lima (*Phaseolus lunatus*) dengan kandungan tannin yang tinggi akan memiliki ketahanan terhadap proses oksidasi yang lebih tinggi. Hasil penelitian Enrico *et al.* (2009) menunjukkan bahwa benih jagung mutan Ipal-241 dengan kandungan *phytic acid* yang rendah mengalami kerusakan yang lebih besar saat

diusangakan secara cepat bila dibandingkan dengan benih jagung cultivar B73 dengan kandungan *phytic acid* yang lebih tinggi. Kerusakan tersebut ditandai dengan rendahnya daya berkecambah, kerusakan pada protein dan DNA, serta meningkatnya kandungan radikal bebas. Menurut Lin *et al.* (2005) senyawa phospor pada benih sebanyak 50% - 80 % ada dalam bentuk senyawa *phytic acid*.

Perlakuan pengusangan cepat tidak hanya menurunkan perkecambahan benih, namun juga meningkatkan kerusakan memberan sel benih yang ditunjukkan dengan meningkatnya daya hantar listrik benih (Gambar 3).



Gambar 3. Pengaruh intensitas pengusangan cepat pada daya hantar listrik benih sorgum.

Intensitas pengusangan cepat yang semakin meningkat menyebabkan integritas memberan sel benih sorgum semakin menuru yang ditunjukkan dengan semakin meningkatnya nilai daya hantar listrik benih. Hasil ini serupa dengan hasil penelitian Husein *et al.* (2011) pada benih bunga matahari, Husein *et al.* (2012) pada benih jagung, Ghahfarokhi *et al.* (2014) and Ouzouline *et al.* (2009) pada benih gandum, Kaewnaree *et al.* (2011) pada benih paprika, and Rastegar *et al.* (2011) pada benih kedelai, yang menunjukkan bahwa viabilitas benih akan semakin menurun seiring dengan bertambahnya nilai daya hantar listrik benih. Menurut Copeland dan McDonald (2001), selama berimbibisi, benih dengan memberan sel yang telah rusak juga akan melepaskan elektrolit ke dalam media imbibisi yang dapat terukur sebagai nilai konduktivitas listrik.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan persentase kecambah normal total (Gambar 2A) dan kecepatan perkecambahan (Gambar 2B) menurun secara nyata, dan kecambah abnormal (Gambar 2C), benih mati (Gambar 2D), dan daya hantar listrik benih (Gambar 3) meningkat secara nyata seiring dengan meningkatnya intensitas pengusangan cepat. Kemunduran benih sorgum terjadi lebih awal pada varietas Super-1 bila dibandingkan dengan varietas Super-2, tetapi memiliki vigor genetik yang lebih tinggi (Gamb. 1)

DAFTAR PUSTAKA

- Baily, C., A. Benamar., F. Corbineau., and D. Come. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiol. Plant.* 97: 104-10.
- Balai Penelitian Tanaman Serealia. 2013. <http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/index.php/profil-126/sorgum/511-varietas-super-1-sorgum>. Diakses pada 21 Desember 2015 pukul 21.00 WIB.
- Balai Penelitian Tanaman Serealia. 2013. <http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/index.php/profil-126/sorgum/512-varietas-super-2-sorgum>. Diakses pada 21 Desember 2015 pukul 21.10 WIB.
- Copeland, L.O., and McDonald. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*, 4th Edition. Kluwer Academic Publishers. London.
- Costa, T.S.A., A.F.P. Teodoro., and R.B.N. Alves. 2015. Total phenolics, flavonoids, tannins and antioxidant activity of lima beans conserved in a Brazilian Genebank. *J. Food Technol.* 45 (2): 335-341.
- Enrico, D., L. Galleschi., L. Calucci., C. Pinzino., R. Pilu., E. Cassani., and E. Nielsen. 2009. Phytic acid prevents oxidative stress in seeds: evidence from a maize (*Zea mays* L.) low phytic acid mutant. *J. Exp. Botany* 60 (3): 967-978.
- Ghahfarokhi, M.G., E. Ghasemi., M. Saedi., and Z.H. Kazafi. 2014. The effect of accelerated ageing on germination characteristics, seed reserve utilization and malondialdehyde content of two wheat cultivars. *J. Stress Physiology and Biochemistry* 10 (2): 15-23.
- Ghassemi-Golezani, K., S. Khomari., B. Dalili., B. Hosseinzadeh-Mahootchy., and A. Chadordooz-Jedi. Effect of seed aging on field performance of winter oil seed rape. *J. Food Agric. Envir.* 2010. 8(1):175-178.
- Hampton, J.G., and D.M. TeKrony. 1995. *Handbook of Vigor Test Methods*. The international Seed Testing Association. Zurich.
- Hussein, J.H., A.I. Shaheed., and O.M. Yasser. 2011. Effect of accelerated aging conditions of sunflowers (*Helianthus annuus* L.) seeds. *J. Agriculture Science* 3 (3): 1-9.

- Hussein, J.H., A.I. Shaheed., and O.M. Yasser. 2012. Effect of accelerated aging on vigor of local maize seeds in term of electrical conductivity and relative growth rate (RGR). *Iraq Journal of Science* 53 (2): 285-291.
- Iqbal, N., M.A. Shahzad., and K.U. Rehman. 2002. Evaluation of vigor and oil quality in cottonseed during accelerated aging. *Int. J. Agri. Biol.* 4 (3): 318-322.
- Kaewnaree, P., S. Vichitphan., P. Klanrit., B. Siri., and K. Vichitphan. 2011. Effect of accelerated ageing process on seed quality and biochemical change in sweet papper (*Capsicum annum* Linn.) seeds. *J. Biotechnol.* 10 (2): 175-182.
- Kapilan, R. 2015. Accelerated aging declines the germination characteristics of the maize seeds. *Sch. Acad. J. Biosci.* 3 (8):708-711.
- Kapilan, R., and M. Thiagarajah. 2015. Effect of aging on the germination characteristics and enzyme activity of sunflower seeds. *J. Research and Innovations in Earth Science* 2 (6): 2394-1375.
- Lin, L.O., and I. Lott. 2005. The concentrations and distribution of phytic acid-phosphorus and other mineral nutrients in wild-type and low phytic acid 1-1 (*lpa1-1*) corn (*Zea mays* L.) grains and grain parts. *J. Botany* 83: 131-141.
- Maskri, A.Y., M.M. Khan., and K. Al-Habsi. 2003. Effect on accelerated ageing on viability, vigor (RGR), lipid peroxidation and leakage in carrot (*Daucus carota* L) seeds. *J. Agric. Biol.* 5 (4): 580-584.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assesment. *J. Seed Sci. Tachnol.* 27: 1777-273.
- Ozouline, M., N. Tahani., C. Demandre., and A. El Amrani. 2009. Effect of accelerated ageing upon the lipid composition of seeds from two soft wheat varieties from marocco. *Grasas Y aceites* 60 (4): 367-374.
- Pandey, P.K., R.D. Goyal, V. Parakash, R.P. Katiyar., and C.B. Singh. 1990. Association between laboratory vigor tests and field emergence in cucurbits. *Seed Res.* 18: 40-3.
- Panayotov, N. 2014. Assesement of vitality potential and storability of papper seeds by the method of accelerated ageing. *J. Agric. Sci.* 20: 133-139.
- Rastegar, Z., M. Sedghi., and S. Khomari. 2011. Effect of accelerated ageing on soybean seed germination indexes at laboratory conditions. *Not. Sci. Biol.* 3 (3): 126-129.
- Samanhudi. 2010. Ketahanan tanaman sorgum manis terhadap cekaman kekeringan. *J. Agrosains* 12 (1) : 9-13.
- Sutopo, L. 2012. *Teknologi Benih (edisi revisi)*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Tatipata, A. 2008. Pengaruh kadar air awal, kemasan dan lama simpan terhadap protein membran dalam mitokondria benih kedelai. *Bul. Agrom.* 36 (1): 7-16.
- Veselova, T.V., and V.A. Veselovsky. 2003. Investigation of a typical germination change during accelerated ageing of pea seeds. *Seed Science and Technology* 31: 517-530.
- Walters, C. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Sci. Res.* 8: 223-244.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.