

REGULASI ION KALSIUM (Ca⁺⁺) DALAM TANAMAN UNTUK MENGHADAPI CEKAMAN LINGKUNGAN

Djukri

Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta

Abstrak

Pemanfaatan tanaman toleran merupakan salah satu alternatif dalam mendukung upaya untuk mengatasi cekaman lingkungan. Tanaman toleran tersebut sangat erat kaitannya dengan peran kalsium (Ca) dan calmodulin (CaM). Calmodulin (*calcium modulated protein*) yaitu suatu protein fungsional di dalam sel. Peran kalsium berkaitan erat dengan kerja calmodulin yang mampu menginduksi dan sintesis enzim. Calmodulin mempunyai afinitas yang tinggi terhadap polipeptida membran plasma Ca⁺⁺ATP-ase. Kalsium diduga mempunyai peran aktif dalam meningkatkan integritas dan stabilitas membran sel melalui pengaturan metabolisme sel. Dengan meningkatnya stabilitas membran, maka tanaman mampu beradaptasi terhadap cekaman lingkungan. Rangsangan dari lingkungan akan mengaktifkan ekspresi gen dan aktivitas metabolisme, sehingga memunculkan sifat toleransi tanaman terhadap cekaman lingkungan.

Kata kunci: ion kalsium, calmodulin, kompartementasi, toleran

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha pertanian harus mulai mengarah pada penggunaan lahan bermasalah (marginal) seiring dengan berkembangnya kepentingan industri dan perumahan. Lahan marginal yang dimaksud antara lain lahan kering, lahan masam dan lahan terpengaruh garam. Lahan-lahan marginal tersebut mempunyai watak yang khusus, sehingga dapat menimbulkan efek cekaman terhadap tanaman. Dengan demikian pemanfaatannya perlu adanya langkah-langkah tertentu agar dapat memperoleh hasil yang baik dan efisien berkelanjutan. Cekaman lingkungan terhadap pertumbuhan tanaman dapat disebabkan oleh karena kekeringan, efek garam, panas, dan suhu yang menimbulkan efek beku.

Berbagai usaha pengembangan teknologi budidaya tanaman dapat dilakukan untuk mendukung upaya tersebut. Di antara usaha tersebut yang potensial untuk dikembangkan adalah ditemukannya tanaman yang mempunyai kemampuan beradaptasi terhadap cekaman lingkungan lahan marginal, sehingga pertumbuhan dan perkembangannya akan menguntungkan. Salisbury dan Ross (1991) menyatakan bahwa kemampuan tumbuh tanaman tingkat tinggi sangat ditentukan oleh interaksinya dengan lingkungan. Salah satu bentuk interaksi yang dimaksud adalah proses pengubahan energi matahari menjadi energi kimia melalui proses fotosintesis. Dikatakan pula bahwa faktor lingkungan lain seperti temperatur, ketersediaan hara, hama, kualitas bahan tanaman, dan aplikasi teknologi budidaya merupakan faktor pembatasnya.

Rekayasa teknologi budidaya pertanian yang diharapkan dapat mendukung upaya untuk mengatasi masalah cekaman lingkungan melalui pemanfaatan tanaman toleran, sangat erat kaitannya dengan peran kalsium (Ca) dan calmodulin (CaM), yaitu protein fungsional dalam sel. Kalsium diduga mempunyai peran yang penting dalam upaya tanaman untuk mampu beradaptasi terhadap cekaman lingkungan. Peran kalsium berkaitan erat dengan kerja calmodulin. Wilkins (1989) menyatakan bahwa beberapa kenampakan proses fotomorfogenesis berkaitan dengan mekanisme adaptasi tanaman terhadap cekaman lingkungan seperti perubahan potensial membran, gerakan daun, perluasan daun, dan sintesis pigmen, yang kesemuanya melibatkan proses induksi dan sintesis enzim melalui kerja fitokrom. Marschner (1995) menyatakan bahwa induksi dan sintesis enzim berkaitan erat dengan keberadaan kalsium dan calmodulin.

Berdasarkan latar belakang di atas, masalahnya adalah bagaimana regulasi kalsium dalam tanaman sehingga mempunyai afinitas yang tinggi terhadap calmodulin guna menghadapi cekaman lingkungan.

KAJIAN TEORITIK

Daerah rhizosfer

Di daerah rhizosfer Ca mencapai permukaan akar melalui aliran massa. Menurut Marschner (1995) rhizosfer diartikan sebagai daerah antara akar dan partikel tanah (*soil-root interface*). Sebagai gambaran bila akar diambil dan digoyang sedikit maka akan ada sisa tanah yang menempel pada akar, kira-kira sebetuk demikian itu disebut rhizosfer.

Dilihat dari segi mineral nutrisi dan dinamikanya di dalam tanah, rhizosfer sangat penting untuk diamati mengingat akar selalu kontak dengan daerah ini. Akar di dalam tanah tidak hanya sebagai *sink* (wadah) dari hara nutrisi yang ditransportasikan ke permukaan akar, karena adanya aliran hara melalui difusi dan aliran massa (*mass flow*). Preferensi serapan antara hara dan air mengakibatkan adanya zona-zona berbeda antara beberapa unsur hara, yaitu akan tercipta zona pengeluaran (*depletion zone*) untuk unsur P dan K yang bergerak melalui difusi, serta zona penumpukan (*accumulation zone*) untuk ion kalsium (Ca^{++}) yang bergerak dengan aliran massa. Ca^{++} yang mempunyai konsentrasi tinggi pada larutan tanah (bisa 200 kali unsur K) dan bergerak dengan aliran transpirasi akan menumpuk di sekitar permukaan akar, karena laju absorpsi yang jauh lebih rendah dibanding P dan K.

Serapan Kalsium (Ca)

Hasil analisis diketahui bahwa ternyata kebutuhan kalsium cukup rendah. Juga diketahui terjadi penumpukan Ca pada permukaan akar, pada dinding sel (apoplas) dan pada permukaan eksterior membran plasma. Ion Ca selain bermuatan, juga berukuran relatif besar $r = 0.412 \text{ nm}$ (Marschner, 1995), dengan demikian transpor Ca melalui membran (dari apoplas ke simplas) memerlukan pemompaan aktif.

Konsentrasi Ca^{++} bebas di sitosol antara $0.1-0.2 \mu\text{M}$ (Felle dan Evans *et al.*, dalam Marschner, 1995) atau $0.1-1.0 \mu\text{M}$ (Taiz dan Zeiger, 1991). Rendahnya konsentrasi Ca^{++} di dalam sitosol berkaitan erat dengan perannya sebagai aktivator dan regulator pada banyak proses biologis, yang hanya pada konsentrasi rendah. Untuk menjaga konsentrasi Ca^{++} sitosol pada tingkat rendah, dikembangkan suatu mekanisme regulasi Ca^{++} . Kelebihan Ca^{++} menyebabkan terjadinya pemompaan Ca^{++} ke vakuola. Sebagian Ca^{++} juga disimpan pada lumen retikulum endoplasma. Adanya pemompaan ke vakuola, menyebabkan tingginya konsentrasi Ca^{++} di vakuola, hingga dapat mencapai 10.000 kali lebih besar dibanding konsentrasi Ca^{++} sitosol (Schumacher & Sze dalam Marschner, 1995). Tingginya konsentrasi Ca^{++} di vakuola juga memberikan kontribusi kesetimbangan kation-anion vakuola, dimana Ca^{++} berperan sebagai counter anion anorganik (nitrat dan Cl^-) dan anion organik (malat dan oksalat) (Kinzel dalam Marschner, 1995).

Peran kalsium (Ca)

Kalsium merupakan komponen lamela tengah dari dinding sel sebagai Ca-pektat yang berfungsi memperkuat jaringan-jaringan tanaman. Kalsium juga mempertahankan keutuhan membran yang membatasi sitoplasma, vakuola, inti sel dan sebagainya dalam lingkungan pH rendah, dan juga apabila kandungan Na dalam larutan tinggi. Ca tidak mobil di dalam tanaman (floem tanaman). Ca merupakan bagian dari enzim amilase, dan terdapat dalam bentuk kristal Ca-oksalat dan Ca-karbonat. Akibat kekurangan Ca pertumbuhan akar sangat terhambat, akar rusak, berubah warna dan mati. Hal ini didahului oleh terhentinya mitosis dan terjadinya sel-sel abnormal dengan inti ganda yang poliploid.

Pengangkutan kalsium dari akar ke bagian atas tanaman (melalui xylem) mengikuti aliran transpirasi. Kalsium terutama dibutuhkan di daerah pucuk yang membelah. Selama proses pembelahan, kalsium berperan sebagai spindle mitotik (Taiz & Zeiger, 1991). Kalsium juga berperan dalam membran plasma sebagai *second messenger*. Kalsium diperlukan untuk sintesis dinding sel baru, khususnya untuk lamella tengah. Pada lamella tengah kalsium membentuk ikatan elektrostatik dengan komponen organik (menggabungkan poligalakturonat dengan gugus RCOO^-). Pada membran terjaga oleh kalsium yang berperan sebagai jembatan penghubung antara fosfat dan gugus karboksilat fosfolipid (Caldwell dan Hwang dalam Marschner, 1995), dan protein permukaan dengan membran (Legge *et al.* dalam Marschner, 1995). Kalsium melindungi membran dari efek Na^+ yang merusak dan mempertahankan keutuhan membran, serta menekan kebocoran K^+ sitosol (Salisbury dan Ross, 1992). Kekurangan kalsium akan menyebabkan disintegrasi struktur

membran (Herht-Buholz dalam Marschner, 1995) dan menyebabkan hilangnya kompartementasi. Akibatnya defisiensi kalsium pada pucuk akan menyebabkan senesen. Meskipun kalsium pada daun tua cukup banyak, tetapi karena kalsium bersifat immobil, proses redistribusi dari daun tua ke daun muda tidak dapat berlangsung. Senesen berhubungan erat dengan peroksidasi lipid membran, yang disebabkan meningkatnya kadar radikal bebas oksigen. Tingginya kadar Ca^{++} sitosol juga menyebabkan senesen.

Khusus di akar, adanya Ca di lingkungan mendukung pemanjangan sel akar. Pembentukan formasi dinding sel dipengaruhi oleh Ca^{++} bebas pada sitosol dengan konsentrasi 0.1-1.0 μM atau lebih, melalui sekresi formasi mucilage atau kalose (Marschner, 1995). Kalsium juga menstimulasi pengikatan enzim oleh membran akar tanaman (Rensing dan Comelius dalam Marschner, 1995), diantaranya ATP-ase pada membran plasma akar tanaman (Kuiper dan Kuiper dalam Marschner, 1995). Pada pH yang tinggi, Ca^{++} dicounter oleh konsentrasi H^+ dan pada pH rendah Ca^{++} dicounter oleh konsentrasi Al^{+++} . Tingkat Ca^{++} sitoplasma juga menentukan sistem transpor anion membran plasma dan membran tonoplas.

Pada buah dan tuber, kalsium disuplai lebih banyak melalui daun. Salah satu contoh peran kalsium pada buah adalah sebagai konstituen α -amilase di dalam sel aleuron (Mitsui *et al.* dan Bush *et al.* dalam Marschner, 1995). Konstituen Ca α -amilase disintesis di retikulum endoplasma (ER) kasar. Sedangkan transpor Ca^{++} melewati ER distimulasi oleh asam giberelin (GA) dan dihambat oleh asam absizat (ABA).

Mekanisme Transpor Kalsium dalam Sel

Melalui proses aliran massa ion Ca dari daerah rhizosfer akan sampai di daerah apoplas di daerah eksterior membran plasma. Sampai di daerah ini, ion Ca tidak dapat langsung masuk ke dalam sitoplasma, sehingga membentuk zona penumpukan. Penumpukan juga disebabkan oleh karena pengikatan ion Ca secara elektrostatis oleh komponen organik dinding sel (Taiz & Zeiger, 1991). Kalsium juga berikatan secara kompleks dengan asam poligalakturonat pada lamela tengah. Dalam kondisi demikian ion Ca baru dapat diserap jika ion Ca dibebaskan dari ikatan komponen organik.

Untuk dapat sampai ke sitosol, ion kalsium harus melewati membran plasma yang bersifat selektif permeabel. Karena ion kalsium berukuran besar dan bermuatan, maka pengangkutannya melewati membran harus secara aktif dan menggunakan energi fisiologis. Ada beberapa mekanisme pengangkutan ion kalsium melalui membran, antara lain ABA aktivasi melalui *channels* Ca^{++} , pengangkutan aktif melalui Ca^{++} -ATPase, dan sistem Ca^{++}/nH^+ antiport (Marschner, 1995). Tetapi penyerapan ion Ca melalui Ca^{++} -ATPase lebih utama, dibandingkan sistem Ca^{++}/nH^+ antiport. Hal ini disebabkan ion Ca mempunyai afinitas yang besar terhadap Ca^{++} -ATPase. Ca^{++} -ATPase distimulir oleh CaM. CaM mempunyai afinitas yang tinggi terhadap polipeptida plasma membran. CaM dan Ca^{++} -ATPase membentuk CaM-binding Ca^{++} -ATPase (BCA1) yang aktif, antara lain terdapat pada membran plasma. CaM mungkin secara permanen berikatan dengan pompa Ca^{++} .

Berbagai stimuli dapat memicu terbukanya *channel* Ca^{++} pada membran plasma dan membran internal, yang menyebabkan masuknya Ca^{++} dan terakumulasinya di sitosol. Misalnya sitokinin berperan meningkatkan konsentrasi Ca^{++} sitosol melalui penyerapan Ca^{++} dari medium. Konsentrasi Ca^{++} sitosol harus dipertahankan pada kondisi yang rendah, antara 0.1-1.0 μM . Konsentrasi Ca^{++} sitosol harus pada tingkat rendah agar aktivitas biologisnya dapat dipertahankan. Jika konsentrasinya meningkat dapat membahayakan fisiologis tanaman. Misalnya senesen pada daun diregulasi oleh konsentrasi Ca^{++} sitosol. Hal ini secara esensial berlaku untuk semua sel eukariotik (Hwang *et al.*, dalam Marschner, 1995).

Peningkatan konsentrasi Ca^{++} sitosol mungkin menyebabkan turunnya aktivitas Ca^{++} -ATPase membran plasma. Ca^{++} -ATPase selain dapat memasukkan Ca^{++} , ternyata dapat juga mengeluarkan Ca^{++} (Taiz & Zeiger, 1991). Terhambatnya kerja Ca^{++} -ATPase akan menghambat pengangkutan Ca^{++} keluar dari sitosol, dan hal ini dapat menyebabkan konsentrasi Ca^{++} tetap tinggi. Tingginya konsentrasi Ca^{++} sitosol juga dapat menyebabkan terbukanya *channel* Ca^{++} membran sel.

Untuk menjaga konsentrasi Ca^{++} sitosol pada tingkat aktivasi biologi, maka regulasi Ca^{++} sitosol harus dilakukan, terutama adanya peran organela sel sebagai penyerap dan tempat

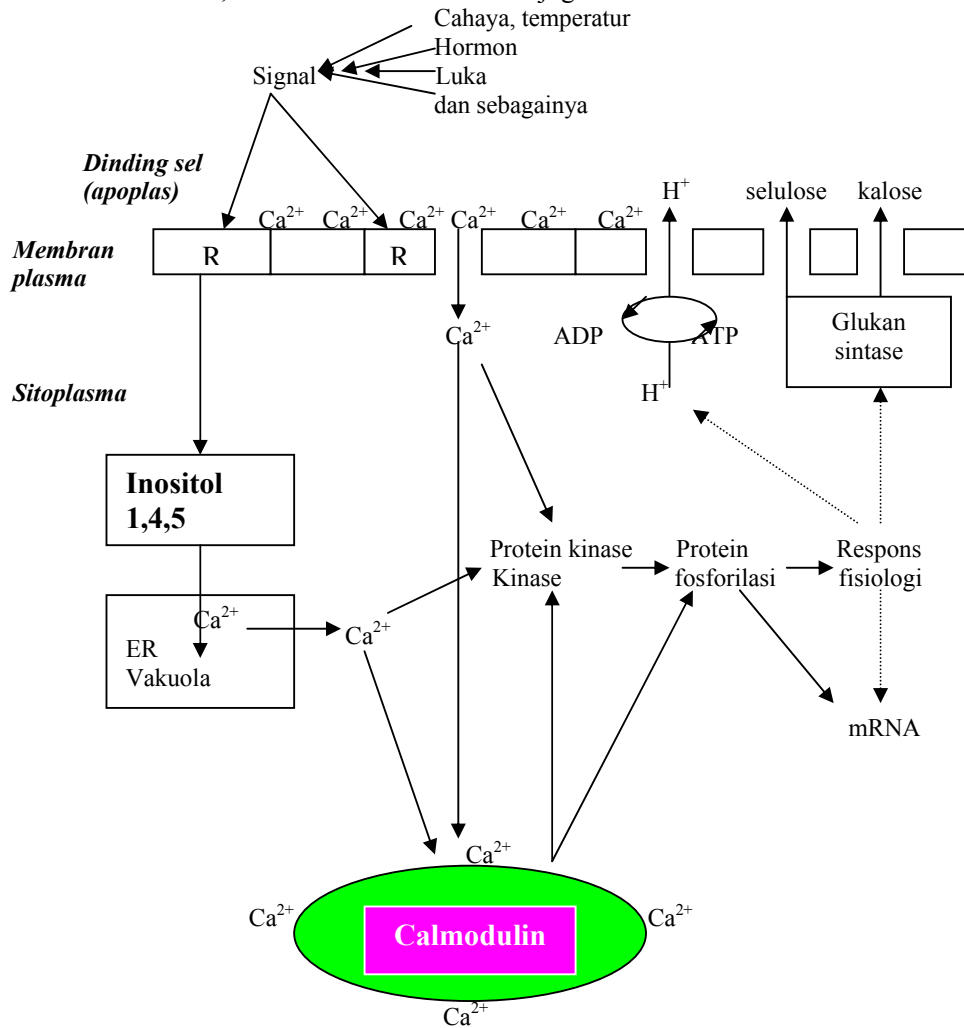
akumulasi Ca^{++} , terutama vakuola. Selain vakuola dan retikulum endoplasma, kloroplas, dan mitokondria juga berperan. Konsentrasi Ca^{++} di vakuola dapat mencapai 10.000 kali konsentrasi Ca^{++} di sitosol. Karena konsentrasi di vakuola lebih besar, maka pengangkutan Ca^{++} dari sitosol ke vakuola harus pengangkutan aktif, karena melawan gradien.

Serapan Ca^{++} dari sitosol ke vakuola selain melalui $\text{Ca}^{++}/\text{nH}^+$, juga melalui mekanisme Ca^{++} -ATPase. Hal ini didukung hasil penelitian yang menunjukkan bahwa CaM menstimulasi Ca^{++} -ATPase pada membran intraseluler, dan CaM dapat dijumpai di sitosol, plastida, mitokondria, dan nukleus. Ca^{++} -ATPase memiliki korelasi yang tinggi dengan H^+ -ATPase vakuola. Hal tersebut diperkuat dengan ditemukannya H^+ -ATPase pada membran vakuola. Akumulasi Ca^{++} di vakuola digerakkan oleh *proton motive force translocation ATPase*. Sedang untuk pengangkutan antiport menggunakan gradien pH, yang juga dibentuk oleh H^+ -ATPase.

PEMBAHASAN

Peran Calmodulin (CaM) sebagai *Second Messenger*

CaM (calcium modulated protein) akan berperan sebagai *second messenger* bila mengikat Ca^{++} (Gambar 1). CaM yang mempunyai empat sisi pengikat, setelah mengikat Ca^{++} akan menjadi aktif. Sebagai ekspresi gen dalam tanaman dikontrol oleh Ca^{++} sitosol yang berperan sebagai signal transduksi. Pasokan Ca^{++} untuk mengaktifkan calmodulin sebagian berasal dari retikulum endoplasma. Karena pengangkutan Ca^{++} dari lumen retikulum endoplasma ke sitosol dikontrol oleh Ca^{++} -ATPase, maka aktivitas calmodulin juga dikontrol oleh Ca^{++} -ATPase.



Gambar 1. Model keseluruhan tentang Ca^{++} sebagai *second messenger* pada sel tanaman (Marschner, 1995)

Calmodulin berperan sebagai *second messenger* (Marschner, 1995) dalam pengaktifan gen (mengontrol ekspresi gen) mRNA yang dihasilkan oleh 4-5 gen, salah satu gen menyandikan calmodulin, dan dua gen lainnya menyandikan dua protein yang berkerabat dekat. Calmodulin dapat mengaktifkan gen untuk duplikasi (memproduksi dirinya sendiri). Calmodulin juga merupakan activator kuat berbagai berbagai enzim penting dalam berbagai fungsi sel. Jadi protein calmodulin setelah berafinitas dengan Ca^{++} akan berubah menjadi bentuk aktif sebagai regulator berbagai enzim dalam sel. Aktivasi makin jelas, karena konsentrasi yang terbesar terdapat pada daerah meristem dan ujung akar yang aktif berkembang dari pada jaringan dewasa. Peran calmodulin sebagai regulator enzim, misalnya Ca^{++} -ATP-ase, NAD-kinase, enzim fosforilasi (kinase dan fosfatase) dan sebagai regulator enzim lainnya.

Pasokan Ca^{++} untuk mengaktifkan calmodulin berasal dari retikulum endoplasma, karena pengangkutan Ca^{++} dari lumen retikulum endoplasma ke sitosol dikendalikan oleh Ca^{++} -ATP-ase, maka aktivitas calmodulin juga dikontrol oleh Ca^{++} -ATP-ase. Di samping itu calmodulin mungkin juga mengaktifkan pompa Ca^{++} . Kurang lebih ada setengah lusin peran calmodulin sebagai regulator enzim di dalam sel tanaman, diantaranya pada plasma membran sebagai lokasi pompa Ca^{++} . Enzim-enzim tersebut memainkan peran sentral regulasi berbagai aktivitas metabolisme tanaman (Salisbury dan Ross, 1992).

Peran Kalsium dalam Pengaturan Metabolisme Sel Tanaman

Untuk menyerap ion Ca dari lingkungan eksternal, diperlukan sejumlah energi. Diketahui distribusi serapan ion Ca (pada CaM-binding Ca^{++} -ATPase) memiliki korelasi dengan pompa H^{+} . Saling ketergantungan antara H^{+} dan Ca^{++} merupakan regulasi yang penting pada sel tanaman. H^{+} -ATPase merupakan sistem transpor H^{+} yang utama. Adanya transpor H^{+} dari sitosol ke eksterior sel tentunya akan menurunkan pH eksterior sel, dan hal tersebut dapat meningkatkan pengangkutan Ca^{++} melewati membran. Disamping menyebabkan penurunan pH eksterior, ATPase juga menyebabkan potensial membran menjadi sangat negatif. Negatifnya potensial membran plasma tentunya makin memperbesar influks Ca^{++} melalui membran.

Sistem pengangkutan $\text{Ca}^{++}/\text{nH}^{+}$ antiport juga memegang peran. Pengangkutan $\text{Ca}^{++}/\text{nH}^{+}$ sangat bergantung pada gradien pH yang dibentuk H^{+} -ATPase. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Taiz & Zeiger (1991) bahwa konsentrasi ion Ca dalam sitosol dapat ditingkatkan melalui pertukaran ion Ca eksternal dengan ion hidrogen internal. Misalnya transpor ion Ca pada sel akar oat (*Avena fatua* L) melalui $\text{Ca}^{++}/\text{nH}^{+}$ antiport, bergantung pada proton (gradien pH atau bergantung pada [pH]).

Peran kalsium sebagai second messenger akan terjadi bila berikatan dengan calmodulin. Peran Ca^{++} (kalsium) selain terkait dalam regulasi calmodulin, kalsium juga berperan dalam pengaturan metabolisme sel. Kalsium memainkan peran kunci pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman, meregulasi berbagai proses seluler melalui kontrol transpor ion sampai ekspresi gen. Sebagian ekspresi gen dikontrol oleh Ca^{++} sitosol, yang bekerja sebagai “signal transduksi”, misalnya gen chitinase, gen sporamin dan β amilase, dan gen yang meregulasi ikatan klorofil a/b (Marschner, 1995).

Tanaman menyerap kalsium dalam bentuk kation bivalen Ca^{++} secara pasif mengikuti aliran transpirasi. Keberadaan kalsium di dalam jaringan tanaman terdistribusi di lamella tengah, lapisan luar membran plasma, mitokondria, vakuola dan sedikit di sitoplasma. Di antara bagian tanaman tersebut yang mengandung kalsium dengan konsentrasi tinggi adalah lamella tengah dan lapisan luar membran plasma (Marschner, 1995).

Defisiensi kalsium dapat menyebabkan rusaknya dinding sel dan tidak terbentuknya jaringan seperti petiole dan pucuk batang. Kalsium merupakan substansi perekat dinding sel dalam bentuk kalsium pektat (Gardner *et al.*, 1985). Pengaturan kalsium dalam jaringan tanaman difasilitasi oleh kerja fitokrom, dan fitokrom merah jauh berperan aktif dalam metabolisme sel. Dikatakan oleh Marschner (1995) bahwa protein calmodulin memegang peranan penting pada proses regulasi kalsium bebas di dalam sitoplasma dan aktivasi enzim.

Peran Calmodulin dalam Pengaturan Adaptasi Tanaman

Calmodulin terdapat pada organisme eukariotik sebagai mediator utama dalam kaitannya dengan peran kalsium. Banyak penelitian yang telah menangani keterkaitan calmodulin dengan efek intraseluler pada sel tanaman. Stabilisasi dinding sel juga berperan dalam upaya tanaman bertahan terhadap cekaman lingkungan. Stabilisasi dinding sel tersebut ditentukan oleh keberadaan kalsium pektat (Marschner, 1995). Dikatakan bahwa Ca^{++} -Calmodulin merespon dengan cepat terhadap rangsangan lingkungan. Di dalam sel, calmodulin sangat respon terhadap signal fisik dan hormonal. Reddy dalam Marschner (1995) menegaskan bahwa rangsangan tersebut dapat disebabkan oleh karena cekaman lingkungan yang akan mengaktifkan ekspresi gen dan aktivitas metabolisme, sehingga memunculkan sifat toleransi tanaman terhadap cekaman lingkungan.

PENUTUP

Calmodulin (CaM) merupakan protein fungsional yang terdapat dalam sel. Calmodulin mempunyai afinitas yang sangat tinggi terhadap polipeptida membran plasma Ca^{++} ATP-ase. CaM dapat mengikat Ca^{++} jika konsentrasi Ca^{++} sekitar 10^{-6} M. Calmodulin setelah mengikat Ca^{++} akan menjadi aktif, yang antara lain berperan sebagai second messenger. Calmodulin juga merupakan activator kuat berbagai enzim yang penting dalam berbagai fungsi sel termasuk ekspresi gen. Kalsium berperan aktif dalam meningkatkan integritas dan stabilitas membran sel. Peningkatan aktivitas ekspresi gen dan stabilitas membran akan meningkatkan kemampuan tanaman menghadapi cekaman lingkungan, sehingga akan meningkatkan kemampuan tanaman dalam menghadapi cekaman lingkungan, yang pada gilirannya tanaman akan lebih toleran.

DAFTAR PUSTAKA

- Gardner, F. P ; R. B. Pearce ; R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hopkins, W. G. 2004. *Introduction to Plant Physiology*. Third Edition. John Wiley & Sons. New York.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second Edition. Acad. Press. London.
- Salisbury, F. B. and C.W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4rd Edition. Wadsworth Pub. Co. Belmont.
- Taiz, L and E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cumming Pub. Co. Inc. New York.
- _____. 2002. *Plant Physiology*. Third Edition. Sinauer Associates. Massachusetts.
- Wilkins, M. B. 1989. *Fisiologi Tanaman*. PT. Melton Putra. Jakarta.