

Peningkatan pertumbuhan dan kadar flavonoid total tanaman bayam merah (*Amaranthus gangeticus L.*) dengan pemberian pupuk nitrogen

Ambar Pratiwi

Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Ahmad Dahlan

Jl. Prof. Dr. Soepomo,S.H., Janturan, Yogyakarta

Submitted: 21-06-2016

Reviewed: 03-12-2016

Accepted: 26-04-2017

ABSTRAK

Bayam merah (*Amaranthus gangeticus L.*) merupakan sayuran yang sudah sering dikonsumsi dan diketahui manfaatnya dari segi kesehatan. Senyawa flavonoid sangat berperan bagi kesehatan, diantaranya sebagai antioksidan, anticancer maupun antibakteri. Biosintesis flavonoid dalam tubuh tumbuhan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, salah satunya adalah zat hara yaitu nitrogen. Pemberian nitrogen dengan konsentrasi tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman tetapi menurunkan kandungan flavonoidnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pupuk nitrogen terhadap kandungan flavonoid pada daun bayam merah. Pada penelitian ini dilakukan penanaman benih bayam merah dengan penambahan pupuk nitrogen yang berbeda konsentrasinya (0%; 2%; 4%; 6%; 8% dan 10%) dari minggu 1 sampai minggu 5. Daun dianalisis untuk diekstrak dan dianalisis kandungan flavonoidnya dengan reagen aluminium klorida. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan tanaman bayam meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, lebar daun, dan kadar flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pupuk nitrogen secara signifikan meningkatkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid pada bayam merah. Pemberian pupuk nitrogen dengan konsentrasi 2% mengoptimalkan pertumbuhan bayam merah baik tinggi tanaman maupun banyaknya daun. Tinggi tanaman bayam setelah mendapat perlakuan pupuk nitrogen 2% meningkat sebesar 2 kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Demikian pula jumlah daun mengalami peningkatan sebesar 1,5 kali setelah diperlakukan dengan pupuk nitrogen 2%. Kandungan flavonoid daun bayam merah meningkat secara signifikan sebesar 1,5 kali dengan perlakuan pupuk nitrogen pada kisaran konsentrasi 2%-6%.

Kata kunci : bayam merah (*Amaranthus gangeticus L.*), pupuk nitrogen, flavonoid.

ABSTRACT

Red amaranth (*Amaranthus gangeticus L.*) is a vegetable that has been frequently consumed. Flavonoid compounds are very useful to the health, such as antioxidant, anticancer and antibacterial. Biosynthesis of flavonoids in the plant is influenced by environmental factors, one of which is a nutrient that is nitrogen. Enhanced shoot growth and decrease in flavonoid content under high nitrogen supply was observed. This study aimed to determine the effect of nitrogen fertilizer on the content of flavonoids in red amaranth leaves. In this research, red amaranth seed planting with the addition of nitrogen fertilizers of different concentrations (0%, 2%, 4%, 6%, 8% and 10%) from week 1 through week 5.

Penulis korespondensi:

Ambar Pratiwi

Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Ahmad Dahlan

Jl. Prof. Dr. Soepomo,S.H., Janturan, Yogyakarta

Email: ambar@bio.uad.ac.id

The leaves are harvested to extract and analyze the content of flavonoids with aluminum chloride method. The parameters measured were the growth of a red amaranth plant height, number of leaves, leaf width, and content of flavonoids. The results showed that nitrogen fertilizer application significantly increases the growth and flavonoids in red amaranth.

Keywords: *red amaranth, nitrogen fertilizer, flavonoid content.*

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif berkembang dengan pesat dan melumpuhkan manusia pada usia produktif. Hal ini tentu saja akan menganggu kinerja manusia. Penyakit degeneratif semakin meningkat karena didukung oleh gaya hidup, polusi lingkungan dan kurangnya kesadaran masyarakat untuk berolahraga. Sebenarnya penyakit degeneratif dapat dicegah dengan menjaga asupan makanan yang dikonsumsi, salah satunya dengan mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan yang mengandung senyawa antioksidan. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat menjadi donor hidrogen sehingga dapat menjadi suatu antioksidan yang bagus. Baik senyawa flavonoid maupun fenolik telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan melalui beberapa mekanisme, diantaranya menangkal radikal bebas dengan cara menghambat kerja enzim yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas ataupun mendonorkan hidrogennya pada radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid dan mampu mengkhelat logam seperti besi dan tembaga (Kalim *et al.*, 2010).

Salah satu senyawa flavonoid yang umum terdapat dalam tanaman adalah antosianin yang memberi warna merah sampai ungu pada tanaman. Dalam tubuh tanaman antosianin berfungsi sebagai penarik pollinator dan melindungi sel tumbuhan terhadap radiasi sinar ultraviolet (Deikman and Hammer, 1995; Winkel-Shirley, 2001). Flavonoid merupakan senyawa golongan fenolik yang tersebar luas pada tanaman dengan kerangka C₆-C₅-C₆ (C₁₅) yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Khanam dan Oba, 2013). Flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi sebab keberadaan gugus hidroksil pada struktur kimianya yang dapat didonorkan untuk menetralkan radikal bebas. Kandungan flavonoid, hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat dalam makanan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seluler (Khanam dan Oba, 2013).

Salah satu contoh tanaman yang mengandung antosianin adalah bayam. Bayam (*Amaranthus spp.*) termasuk dalam tanaman pangan yang serbaguna yang tahan terhadap perubahan lingkungan baik stress biotik maupun abiotik sehingga mudah dibudidaya (Khanam dan Oba, 2013). Daun bayam mengandung senyawa protein, karotenoid, vitamin C, mineral dan serat; fenolik dan flavonoid: vitamin A (Amin *et al.*, 2006; Khandaker *et al.*, 2010; Khanam dan Oba, 2013). Tanaman bayam yang umum dimanfaatkan di Negara Asia Tenggara termasuk Indonesia adalah bayam hijau (*Amaranthus spinosus*) dan bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) (Amin *et al.*, 2006). *A. gangeticus* memiliki warna daun merah karena adanya pigmen merah yang termasuk senyawa fenolik yaitu antosianin (Amin *et al.*, 2006). Menurut Khandaker *et al.* (2010), daun dewasa bayam merah mengandung betasianin yang memberi warna merah-ungu. Pembentukan betasianin dipengaruhi oleh cahaya dan hormon tanaman.

Budidaya bayam merah sudah dilakukan masyarakat di Indonesia karena sangat bermanfaat bagi kesehatan. Untuk mendukung pertumbuhan bayam merah dengan baik diperlukan unsur hara, salah satunya adalah nitrogen (N). Nitrogen merupakan makronutrien yang diperlukan dalam jumlah >0,1%. Nitrogen berperan penting bagi tumbuhan karena terlibat dalam penyusunan protein, enzim metabolisme, asam nukleat, vitamin (Sakr dan Husein, 2012). Hasil penelitian Sakr dan Husein (2012) menyatakan bahwa pupuk nitrogen dapat meningkatkan pertumbuhan vegetatif bayam merah dengan signifikan pada konsentrasi 24 g/ 5 kg media tanam. Kondisi nitrogen tinggi akan menyebabkan peningkatan pertumbuhan batang tetapi mengurangi produksi flavonoid, hal ini disebabkan oleh pengaturan metabolisme primer dan sekunder akibat perebutan nitrogen (Strisell *et al.*, 2005). Penggunaan pupuk nitrogen yang terlalu tinggi menimbulkan masalah dengan menurunkan nilai ekonomis produk pertanian karena kandungan nutrisi dan warna yang tidak menarik, dibuktikan dengan akumulasi nitrogen pada sereal dan buah, pengurangan produksi antosianin (Wan *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian Ahmed *et al.*, (2013), diketahui bahwa bayam memiliki potensi antioksidan karena kandungan senyawa flavonoidnya. Aktivitas antioksidan antara daun dan biji bayam diperoleh hasil bahwa aktivitas penghambatan DPPH tertinggi dijumpai pada ekstrak biji bayam. Penelitian menggunakan bayam merah banyak dilakukan, salah satunya oleh Ghasemzadeh *et al.*, (2012) diperoleh data bahwa kandungan flavonoid total bayam merah sebesar 0,066 mg/g. Nana *et al.*, (2012) mengkaji kandungan flavonoid total pada beberapa jenis bayam dengan hasil antara 0,09 sampai 7,09 mg QE/100 mg.

Potensi bayam merah sebagai salah satu sumber antioksidan perlu dikembangkan karena berpotensi sebagai sayuran yang sangat bermanfaat karena tingginya kandungan fenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan. Sehingga penelitian dilakukan agar mengetahui konsentrasi pupuk nitrogen yang tepat untuk mendapatkan pertumbuhan dan kadar flavonoid yang tinggi pada bayam merah.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit bayam merah, media tanam, pupuk kompleks nitrogen kemasan berupa pupuk NPK dan daun bayam merah. Untuk ekstraksi flavonoid dipilih metode maserasi dengan pelarut metanol. Untuk mengetahui flavonoid total digunakan larutan Na_2CO_3 10%, quersetin, AlCl_3 , CH_3COOK .

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah pot, paronet, alat maserasi, *waterbath*, oven, *glassware*, spektrofotometer dan kuvet.

Jalannya Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Desa Ambarketawang, Gamping Sleman (untuk menumbuhkan tanaman Bayam), dan di Laboratorium Biologi FMIPA UAD untuk analisis fitokimia (kandungan flavonoid); selama 6 bulan (April – September 2015).

Pembibitan bayam merah

Benih bayam merah disemai sampai berumur 1 minggu. Setelah itu, semaiannya bayam merah dipindah dalam pot untuk proses persiapan selama 1 minggu.

Penanaman bayam merah

Bibit bayam ditanam dalam pot kemudian diberi perlakuan pupuk nitrogen kemasan dengan konsentrasi 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Setiap perlakuan dilakukan 5 ulangan. Tanaman ini dirawat hingga 5 minggu, setiap minggu dilakukan pengamatan pertumbuhan tanaman bayam meliputi tinggi tanaman, lebar daun dan jumlah daun. Setelah tanaman berumur 5 minggu dipanen dan dilakukan analisis flavonoid.

Merasasi daun bayam merah

Daun Bayam merah yang diperoleh dikeringanginkan kemudian dibuat menjadi serbuk. Serbuk dimerasasi menggunakan pelarut metanol. Filtrat kemudian diuapkan dengan bantuan kipas angin untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak dimasukkan dalam botol flakon dan disimpan di kulkas.

Kandungan flavonoid total

Penentuan total flavonoid dilakukan menurut metode Chang *et al.* dalam Pourmorad *et al.*, (2006). Ekstrak metanol daun bayam merah sebanyak 0,5 mL (1 mg/mL, dilarutkan dalam metanol:air = 1:1 % v/v) ditambah dengan metanol sebanyak 1,5 mL; 0,1 mL AlCl_3 10%; 0,1 mL CH_3COOK 1 M dan 2,8 mL aquades. Sampel ditera dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 415 nm. Digunakan pula larutan blanko yang berisi metanol. Kandungan flavonoid total dapat ditentukan dengan kurva standard Quersetin (0-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dan flavonoid total dinyatakan sebagai mg quersetin equivalent (QE)/100 g ekstrak.

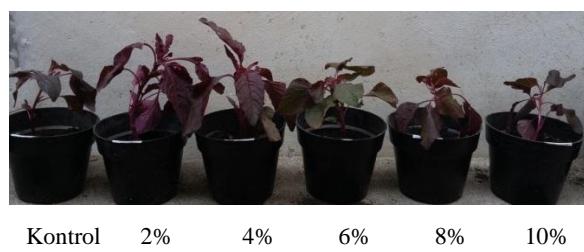
Analisis Data

Data pertumbuhan tanaman bayam merah dan kadar flavonoid terhadap kadar pupuk nitrogen dianalisis dengan ANOVA *one way* dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bayam merah merupakan salah satu anggota famili *Amaranthaceae* yang termasuk tanaman C4 dengan karakter sangat mudah menyesuaikan dengan perubahan iklim. Untuk mendukung pertumbuhan, tanaman memerlukan unsur hara. Salah satu contoh unsur hara yang diperlukan oleh tumbuhan dalam jumlah yang banyak (makronutrien) adalah nitrogen. Unsur hara nitrogen berperan penting bagi tumbuhan sebagai penyusun struktural tubuh tumbuhan ataupun berperan dalam fisiologis. Sebagai unit struktural, nitrogen akan menyumbang peranan sebagai pembentuk nukleotida, penyusun membran sel; sementara untuk mendukung fungsi fisiologi unsur nitrogen sangat berperan dalam sintesis protein dan enzim (Wan *et al.*, 2015).

Pertumbuhan merupakan proses pertambahan ukuran, massa dari tubuh tumbuhan. Salah satu parameter yang diamati untuk mengetahui pertumbuhan tanaman bayam merah adalah pertambahan tinggi tanaman bayam, lebar daun dan jumlah daun (Hendriyani dan Setiari, 2009). Hasil pengukuran pertambahan tinggi tanaman bayam merah seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan bayam merah

Keterangan: Pertumbuhan tanaman bayam merah optimal dengan penambahan pupuk nitrogen 2% ditandai dengan tinggi tanaman paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang lain dan kontrol.

Berdasarkan hasil pengamatan pertambahan tinggi tanaman bayam, pemberian pupuk nitrogen memberikan hasil bervariasi. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pupuk nitrogen terhadap pertambahan tinggi tanaman bayam dibuktikan dengan analisis anova dan uji BNT. Hasil Anova menunjukkan perbedaan konsentrasi pupuk nitrogen berbeda secara signifikan terhadap pertambahan tinggi tanaman bayam merah. Selanjutnya dilakukan uji BNT untuk mengetahui konsentrasi yang sangat berpengaruh terhadap pertambahan tinggi tanaman bayam. Konsentrasi pupuk nitrogen 2% memberi pengaruh yang paling signifikan terhadap pertambahan tinggi tanaman bayam merah dengan tinggi tanaman 18,4 cm dibandingkan dengan kontrol yang memiliki tinggi tanaman 9,1 cm. Hal ini dapat disebabkan karena nitrogen merupakan makronutrien yang mendukung pertumbuhan tanaman. Unsur nitrogen sangat berperan dalam pertumbuhan karena merupakan penyusun komponen sel, seperti dalam pembentukan membran sel diperlukan protein (Wan *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan pertambahan lebar daun dan jumlah daun bayam merah menunjukkan hasil yang sama seperti pada pertambahan tinggi tanaman. Pengukuran pertambahan lebar daun ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3.

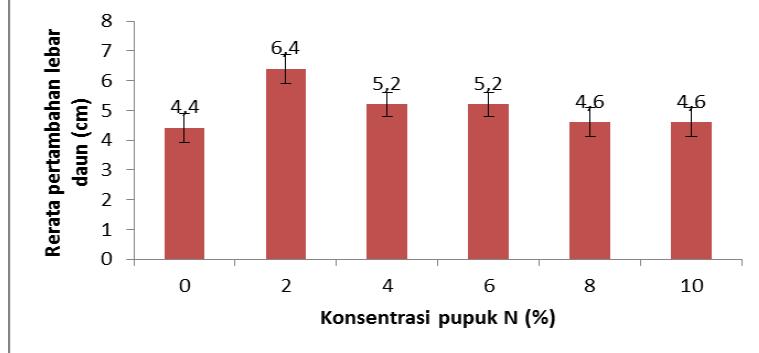
Berdasarkan Gambar 2 dan 3, tampak bahwa pertambahan lebar daun paling maksimal pada perlakuan pemberian pupuk nitrogen sebanyak 2% dengan rerata lebar 6,4 cm. Hal ini dibuktikan pula dengan uji BNt yang menunjukkan pertambahan lebar daun bayam merah pada konsentrasi 2% ada beda nyata dengan perlakuan yang lain.



Kontrol 2% 4% 6% 8% 10%

Gambar 2. Daun bayam merah

Keterangan: Daun bayam dari kiri ke kanan berurutan adalah kontrol, pupuk nitrogen 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Pemberian pupuk nitrogen dengan konsentrasi 2% menunjukkan lebar daun yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang lain dan kontrol



Gambar 3. Grafik pertambahan lebar daun bayam oleh pengaruh konsentrasi pupuk N yang ditambahkan

Demikian pula untuk rerata pertambahan jumlah daun, setelah dilakukan uji BNt dapat dipastikan jumlah daun terbanyak dijumpai pada perlakuan pupuk nitrogen 2%. Nitrogen merupakan makronutrien yang sangat penting dan merupakan faktor kunci dalam regulasi metabolisme tanaman dan beberapa aspek perkembangan, seperti perkembangan akar, formasi daun, dormansi biji dan pembungaan (Wan *et al.*, 2015).

Selain itu nitrogen juga berperan sintesis hormon sitokinin yang diketahui berperan dalam proses pembelahan sel. Konsentrasi nitrogen yang optimal dapat mendukung pertumbuhan organ vegetatif tumbuhan karena adanya peningkatan penyerapan hara akibat dari pertumbuhan akar serta peningkatan translokasi karbohidrat. Keberadaan nitrogen juga mampu meningkatkan jumlah klorofil total, karena nitrogen merupakan komponen esensial penyusun cincin porfirin yang merupakan kerangka dasar klorofil (Sakr dan Husein, 2012). Nitrogen juga ditemukan sebagai salah satu unsur yang terdapat dalam struktur sitokrom yang akan mendukung reaksi fotosintesis dan respirasi. Atas dasar hasil tersebut dengan keberadaan nitrogen dalam konsentrasi mencukupi (2%) pertumbuhan organ vegetatif tanaman bayam merah sangat optimal. Pengaruh pupuk nitrogen (0,1 dan 2 li/ha) pada morfologi dan fisiologi *Amaranthus retroflexus* dikaji oleh Rahi (2012), menunjukkan dengan penambahan pupuk nitrogen pada media tanam bayam akan meningkatkan tinggi tanaman, berat basah dan berat kering tanaman, pertumbuhan batang, akar dan daunnya.

Kandungan flavonoid tertinggi dijumpai pada ekstrak metanol daun bayam merah yang diberi pupuk nitrogen 2% sebesar 36,965 mgQE/100 g (Tabel I). Uji BNt kandungan flavonoid total dalam daun bayam merah oleh pengaruh konsentrasi 2,4 dan 6% memberikan hasil perbedaan yang bermakna. Pertumbuhan tanaman dengan konsentrasi nitrogen yang rendah menunjukkan peningkatan ekspresi dari gen biosintesis flavonoid, enzim kalkone sintase dan isoflavon reduktase (Coronado *et al.*, 1995). Penambahan konsentrasi nitrogen pada kultur jaringan dengan konsentrasi 60 mM menunjukkan terjadinya akumulasi antosianin pada daun apel (Wan *et al.*, 2015). Pada konsentrasi 60

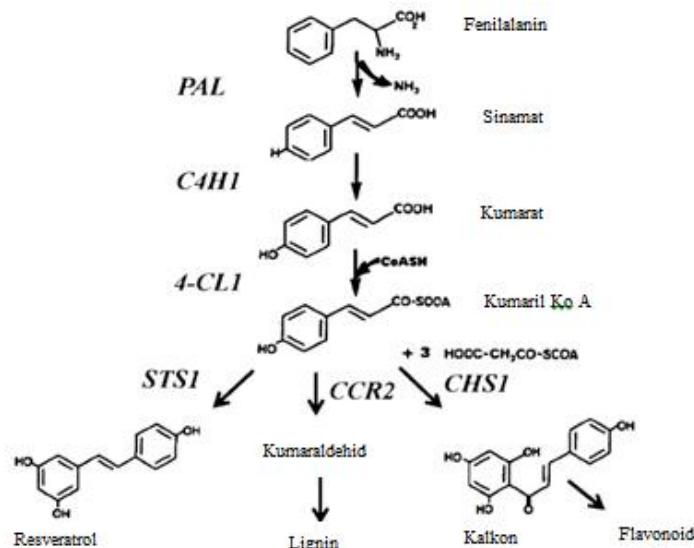
mM terjadi peningkatan regulasi gen yang mengekspresikan flavonoid dengan peningkatan aktivitas enzim *chalcone synthase* (CHS) (Gambar 4). Pada konsentrasi pupuk nitrogen 0,24% dan 0,48% secara signifikan dapat meningkatkan konsentrasi karoten dan antosianin pada daun *A. tricolor* (Sakr dan Husein, 2012). Dengan adanya peningkatan regulasi tingkat gen dan enzim terutama enzim kunci dalam jalur metabolisme fenilpropanoid maka memungkinkan terjadinya peningkatan produksi antosianin di dalam tanaman.

Tabel I. Kandungan flavonoid total ekstrak metanol daun *A. gangeticus*

Konsentrasi pupuk nitrogen	Rerata TFC (mg QE/ 100 g)
0%	(22,61± 2,16) ^a
2%	(36,97±1,65) ^b
4%	(31,76±4,14) ^b
6%	(36,26±0,36) ^b
8%	(25,62±2,99) ^a
10%	(20,35±0.85) ^a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak ada beda nyata pada Uji BNT taraf 5%

Pemberian pupuk N dengan konsentrasi 8%-10% produksi flavonoid menurun disebabkan karena tingginya kandungan pupuk nitrogen. Peningkatan konsentrasi pupuk nitrogen memacu pertumbuhan batang tanaman tetapi menurunkan produksi flavonoid. Penghambatan akumulasi flavonoid disebabkan adanya penekanan (*down regulated*) aktivitas enzim PAL yang mengakibatkan terjadinya efek leher botol pada sintesis flavonoid (Strissel *et al.*, 2005).



Gambar 4. Jalur metabolisme fenilpropanoid, PAL : enzim Fenilaalanin ammonia liase, CHS : enzim kalkon sintase (Deikman and Hammer, 1995; Boubakri, *et al.*, 2013)

Berdasarkan Gambar 4, antosianin diproduksi oleh tanaman melalui jalur phenilpropanoid dengan prekursor asam amino fenilalanin dengan enzim kunci PAL (Phenilalanin ammonia liase) yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan (Winkel-Shirley, 2001).

Flavonoid pada tanaman biasanya berfungsi sebagai pigmen, misalnya antosianin. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi klorofil dari paparan ultraviolet. Flavonoid biasanya dijumpai pada jaringan epidermis atas sehingga klorofil yang terdapat pada jaringan parenkim dibawahnya aman dari paparan ultraviolet. Radiasi ultraviolet dapat merusak struktur klorofil, bila klorofil rusak maka proses fotosintesis tanaman akan mengalami hambatan dan pada akhirnya pertumbuhan tanaman bisa terganggu.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa Pemberian pupuk nitrogen berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan tanaman bayam dan kandungan flavonoid pada daun bayam merah. Konsentrasi pupuk nitrogen sebesar 2% dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid sebesar 1,5 kali pada daun bayam merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S.A., Hanif, S., Iftikhar, T., 2013, Phytochemical Profiling With Antioxidant And Antimicrobial Screening Of *Amaranthus viridis* L. Leaf And Seed Extracts, *Open Journal of Medical Microbiology*, 3 : 164-171.
- Amin, I., Norazadiah, Y., Emmi Haida., K.I., 2006, Antioxidant Activity and Phenolic Content Raw and Blanched *Amaranthus* Spesies, *Food Chemistry*, 94(1): 47-52.
- Boubakri, H., Poutaraud, A., Wahab, M.A., Clayeux, C., Baltenweck-Guyot, R., Steyer, D., Marcic, C., Mliki, C., Soustre-Gacougnoll, I., 2013, Thiamine modulates metabolism of the phenylpropanoid pathway leading to enhanced resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine, *BMC Plant Biology*, 13:31.
- Coronado, C., Zuanazzi, J., Sallaud, C., Quirion, J.C., Esnault, R., Husson, H.P., Kondorosi, A., Ratet, P., 1995, Alfalfa Root Flavonoid Production is Nitrogen Regulated, *Plant Physiol*, 108(2):533-542.
- Damianaki, A., Bakogeorgou E., Kampa M., Notas G., Hatzoglou A., Panagiotou S., Gemetzi C., Kouroumalis E., Martin, P.M., Castanas, E., 2000, Potent Inhibitory Action of Red Wine Polyphenols on Human Breast Cancer, *J Cell Biochem*. 78(3):429.
- Deikman, J., Hammer. P.E., 1995, Induction of Anthocyanin Accumulation by Cytokinins in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiology*. 108:47-57.
- Ghasemzadeh, A., Azarifar, M., Soroodi, O., Jaafar, H.Z.E., 2012, Flavonoid Compounds and Their Antioksidant Activity in Extract of Some Tropical Plants, *Journal of Medicinal Plant Research*, 6(13) : 2639-2643.
- Hendriyani, I.S. dan Setiari, N., 2009, Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air Berbeda, *Jurnal Sains dan Matematika*, 17(3): 145-150.
- Kalim, M.D., Bhattacharyya, D., Banerjee, A. and Chattopadhyay, S., 2010, Oxidative DNA Damage Preventive Activity and Antioxidant Potential of Plant Used in Unani System of Medicine, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10: 77.
- Khanam, U.K.S., Oba, S., 2013, Bioactives Substances in Leaves of Two Amaranth Spesies, *Amaranthus tricolor* and *A. hypochondriacus*, *Can. J. Plant Sci*, 93:47-58.
- Khandaker, L., Masum Akond, A.S.M.G., Oba, S., 2010, Air Temperature and Sunlight Intensity of Different Growing Period Effect The Biomass, Leaf Color and Betacyanin Pigment Accumulation in Red Amaranth (*Amaranthus tricolor* L.), *Journal Central European Agricultura*, 10(4): 439-448.
- Nana, F.W., Hilou, A., Millogo, J.F., Nacoulma, O.G., 2012, Phytochemical Composition, Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. Extract, *Pharmaceuticals*, 5: 613-628.
- Pourmorad, F., Hosseiniherh, S.J., Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medical Plants, *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.

- Rahi, A.R., 2012, Effect of Nitroxin Biofertilizer on Morphological and Physiological Traits of *Amaranthus retroflexus*, *Iranian Journal of Plant Physiology*, 4(1): 899-900.
- Sakr, W.R., Husein, M.E., 2012, Response of *Amaranthus tricolor* L. Plants to Bio and Chemical Nitrogenous Nutrition and Their Role in Remediating Some Polluted Soils With Lead and Cobalt, *American-Eurasian J. Agric. And environ. Sci*, 12(10): 1377-1394.
- Strissel, T., Halbwirth, H., Hoyer, U., Zistler, C., Stich, K., and Treutter, D., 2005, Growth-Promoting Nitrogen Nutrition Affects Flavonoid Biosynthesis in Young Apple (*Malus domestica* Borkh.) Leaves, *Plant Biology*, 7(6): 677–685.
- Wan, Huihua, Jie Zhang, Tingting Song, Ji Tian and Yun-cong Yao, 2015, Promotion of Flavonoid Biosynthesis in Leaves and Calli of Ornamental Crabapple (*Malus* sp.) by High Carbon to Nitrogen Ratios, *Front. Plant Sci*, 6:673.
- Winkel-Shirley, B. 2001. *The Biosynthesis of Flavonoids*,(3). Department of Biological Sciences and Fralin Center for Biotechnology. Virginia Tech, Blacksburg,USA, 72-75.