

Optimizing Soybean Chlorophyll Content Under Drought Stress: Unveiling the Potential of Biostimulants from *Padina minor* Yamada with Different Solvent Extraction

Parissa Anandita De Yudanur¹, Zozy Aneloi Noli^{*}, Mansyurdin¹

¹Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences; Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Article History

Received : December 13th, 2023

Revised : January 26th, 2024

Accepted : February 15th, 2024

*Corresponding Author:

Zozy Aneloi Noli,

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences; Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Email: zozynoli@sci.unand.ac.id

Abstract: Biostimulants are natural compounds that can stimulate plant growth. Biostimulants from *Padina minor* contain secondary metabolites and growth-regulating substances needed in various plant growth metabolisms, including soybeans (*Glycine max* L.). Biostimulants also play a role in enhancing drought stress tolerance in plants. Several solvents are used to extract natural compounds found in *P. minor*. This study aims to investigate the effect of *P. minor* biostimulant extracted using various solvents on soybeans' chlorophyll content under different drought stress levels. The study used a completely randomized design (CRD) with two factors: a. Solvent (control, aquadest, methanol, and ethanol) and b. Soil field capacity (100%, 75%, 50%, and 25%). Applying *P. minor* as biostimulant extracted with methanol solvent showed higher average chlorophyll a, b, and total chlorophyll than other solvent types. Imposing stress up to 25% did not significantly affect soybean chlorophyll levels. However, the interaction between soil field capacity and *P. minor* extract from methanol solvent can trigger resilience response to drought conditions up to 25% soil field capacity and provide the highest average chlorophyll content compared to other treatments during the soybean vegetative period. Methanol is the best solvent for extracting *P. minor* as biostimulant and can provide the highest average chlorophyll content at 25% soil field capacity.

Keywords: Biostimulant, chlorophyll, *Glycine max* L., growth stimulation, water insufficiency.

Pendahuluan

Biostimulan adalah sekelompok molekul, ekstrak, atau biomassa dengan kandungan heterogen seperti beberapa senyawa; misalnya fenol, asam salisilat, asam humat dan fulvat, dan protein hidrolase (Chiaiese *et al.*, 2018). Biostimulan adalah bahan organik, baik sintetik maupun alami, yang tidak termasuk dalam kategori pupuk dan diaplikasikan dengan disemprotkan pada tanaman (Noli & Azwar, 2021). Biostimulan semakin banyak digunakan dalam budidaya tanaman karena efek positifnya terhadap hasil tanaman, efisiensi penggunaan unsur hara, toleransi terhadap stres dan ketahanan terhadap penyakit (Calvo *et al.*, 2014).

Ekstrak yang berasal dari alga

mengandung komponen seperti polisakarida (misalnya galaktan, fukoidan, alginat, dan laminarin), protein (misalnya lektin), pigmen (misalnya klorofil, karotenoid, asam lemak tak jenuh ganda/polyunsaturated fatty acids (PUFA), dan phycobiliprotein), polifenol (misalnya asam sinamat, flavonoid, isoflavon, asam benzoat, asam fenolik, dan lignan, kuersetin), mineral (misalnya Ca, Mg, K, dan Na), dan zat pengatur tumbuh/ZPT (misalnya auksin, sitokinin, giberelin, dan asam absisat) (Chojnacka, 2012). Karena aktivitasnya yang merangsang pertumbuhan, formulasi alga digunakan sebagai biostimulan dalam produksi tanaman (Siwik-Ziomek & Szczepanek, 2019; Noli & Azwar, 2021; Rimayani *et al.*, 2022; Krawczuk *et al.*, 2023). Tahar *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa salah

satu rumput laut coklat dari Indonesia yaitu *Padina minor* mengandung fitokimia dalam jumlah yang cukup dan menunjukkan potensi antioksidan alami yang mungkin bermanfaat bagi pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Ekstrak cair rumput laut menjadi penting di bidang pertanian dengan aplikasi melalui semprotan daun karena mengandung unsur mobile (Fe, Cu, Zn, dan Mn) yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman (Sivasankari *et al.*, 2006).

Spesies rumput laut yang telah dimanfaatkan untuk sumber biostimulan pada beberapa penelitian sebelumnya adalah *Padina minor*. Penggunaan ekstrak *P. minor* efektif meningkatkan pertumbuhan vegetatif padi gogo, memperbaiki bobot segar dan kering, jumlah anakan, kandungan klorofil, dan tinggi tanaman (Noli *et al.*, 2021). Penggunaan biostimulan *P. minor* mampu meningkatkan tinggi tanaman kedelai (Suwirman *et al.*, 2022). Ekstrak rumput laut *P. minor* dengan konsentrasi 40% mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai (Noli *et al.*, 2022).

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan biostimulan adalah proses ekstraksi. pelarut yang digunakan saat ekstraksi memiliki kandungan fisik dan kimia yang dapat mempengaruhi kandungan yang keluar dr tanaman sumber biostimulan (Dulanlebit & Hernani, 2023). Beberapa jenis pelarut yang biasa digunakan untuk melarutkan ekstrak biostimulan adalah air aquades, metanol, dan etanol. Penggunaan ketiga jenis pelarut tersebut juga bergantung pada jenis biostimulan yang digunakan dan kandungan yang terkandung di dalamnya. Pelarut memiliki sifat yang sangat berdampak pada hasil ekstraksi, khususnya semakin polar pelarut, maka semakin baik daya ekstraksinya dan semakin banyak metabolit sekunder yang larut (Cleopatra *et al.*, 2023).

Air dapat melarutkan metabolit sekunder (flavonoid, saponin dan terpenoid), berbagai zat gizi makro (Ca, K, Mg, Na, P), dan zat gizi mikro (S, B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Si, dan Zn) (Godlewska *et al.*, 2016). Selain itu, beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan metanol merupakan pelarut yang efektif mempengaruhi senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan biostimulan.

Penggunaan metanol sebagai pelarut menunjukkan kandungan fenolik dan sifat antioksidan tinggi pada biostimulan rumput laut *Padina tetrastratica* (Sobuj *et al.*, 2021). Sementara itu, penggunaan pelarut metanol pada ekstrak biostimulan alga *Padina pavonica* dapat memberikan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang lebih tinggi.

Keterbatasan informasi mengenai jenis pelarut terbaik untuk ekstraksi biostimulan dari *P. minor* serta pengaruhnya terhadap kadar klorofil tanaman kedelai belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh biostimulan *P. minor* yang diekstraksi menggunakan beberapa jenis pelarut terhadap kadar klorofil kedelai pada beberapa tingkat cekaman kekeringan.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian bertempat pada Labooratorium Fisiologi Tumbuhan dan Rumah Kaca, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia. Waktu dilakukan penelitian dari bulan Mei – Agustus 2023.

Metode penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen tersusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) terbagi menjadi 2 faktor dan 8 perlakuan. Sebagai perlakuan adalah jenis pelarut dan kapasitas lapang yang digunakan dalam pertumbuhan *G. max* L. yaitu:

- a. Pelarut
 - a0. Kontrol (Tanpa pemberian ekstrak)
 - a1. Akuades
 - a2. Metanol
 - a3. Etanol
- b. Kapasitas lapang
 - b0. 100%
 - b1. 75%
 - b2. 50%
 - b3. 25%

Prosedur Penelitian

Koleksi sampel

Membersihkan rumput laut (*P. Minor*) yang telah dikoleksi dari lumpur dan pasir yang melekat. Selanjutnya, masukkan dalam plastik koleksi dan memberi label. Mencuci kembali rumput laut menggunakan air mengalir dan

mengeringkan dengan angin selama 4 hari. Rumput laut kering dilumatkan menjadi bubuk kasar.

Pembuatan biostimulan

Proses pembuatan ekstrak rumput laut (*P. minor*) menggunakan metode maserasi. Rumput laut yang telah kering dihaluskan menggunakan grinder, ditimbang sebanyak 10 g, dilarutkan dengan masing-masing pelarut sebanyak 100 mL (aquades, etanol, dan metanol). Perbandingan serbuk rumput laut dengan pelarut yaitu 1 : 10. Menyaring larutan menggunakan kertas Whatman No 1. Selanjutnya, mengencerkan kembali, ekstrak menggunakan air dengan konsentrasi 1 : 32 (v/v) atau setara dengan 3% masing-masing perlakuan.

Penyediaan benih kedelai dan persiapan media tanam

Benih kedelai (*G. max* L.) yang digunakan adalah benih kedelai varietas Anjasmoro. Pengambilan benih di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI), Malang. Media tanam yang digunakan merupakan campuran tanah ultisol dan pupuk kandang dengan perbandingan 5:1.

Perlakuan cekaman kekeringan

Kapasitas lapang (KL) media tanam ditentukan dengan melakukan penyiraman dengan air sebanyak 1 L sebagai kapasitas lapang. Selanjutnya, mendinginkan selama 48 jam untuk menampung sisa air yang menetes dari media tanam. Jumlah air yang terikat dalam media tanam/kapasitas lapang didapatkan dari jumlah air yang diberikan dikurangi jumlah air dalam penampung. Jumlah air yang terikat dalam tanah ditetapkan sebagai 100% KL. Selanjutnya untuk mendapatkan cekaman kekeringan yang sesuai perlakuan lainnya didapatkan dengan melakukan penyiraman sebanyak 75%, 50%, dan 25% dari KL.

Aplikasi biostimulan

Ekstrak biostimulan disemprotkan sebanyak ± 25 mL pada daun secara merata untuk setiap perlakuan mulai umur 2 minggu setelah tanam (MST) hingga akhir masa vegetatif tanaman kedelai. Melakukan penyemprotan di pagi hari saat kelembapan

relatif udara masih mendekati jenuh (Kalaivanan dan Venkatesalu, 2012).

Pengujian kadar klorofil

1-2 minggu setelah pemberian biostimulan pertama dilakukan pengukuran kadar klorofil. Menggerus daun muda sebanyak 0,2 g dalam mortar dan dihomogenisasikan menggunakan aseton 80% sebanyak 20 ml. Melakukan sentrifugasi pada ekstrak untuk memisahkan supernatan dan natan pada kecepatan 3.500 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, melakukan analisis pigmen fotosintetik (klorofil a, b, dan klorofil total) menggunakan spektrofotometer. Mengukur panjang gelombang 663 dan 645 nm pada Optical Density (OD) dari ekstrak. Menghitung kandungan klorofil (mg/g) menggunakan rumus pada persamaan 1, 2, dan 3.

$$\text{Klorofil a} = [12.7 (\text{OD } 663) - 2.69 (\text{OD } 645)] \times V / (1000) (w) \quad (1)$$

$$\text{Klorofil b} = [22.9 (\text{OD } 645) - 4.68 (\text{OD } 663)] \times V / (1000) (w) \quad (2)$$

$$\text{Klorofil Total} = [20.2 (\text{OD } 645) + 8.02 (\text{OD } 663)] \times V / (1000) (w) \quad (3)$$

Keterangan :

OD : Optical density dari spektrofotometer;

V : Volume aseton yang dipakai; dan

W : Berat segar sampel daun yang dipakai

Analisis data

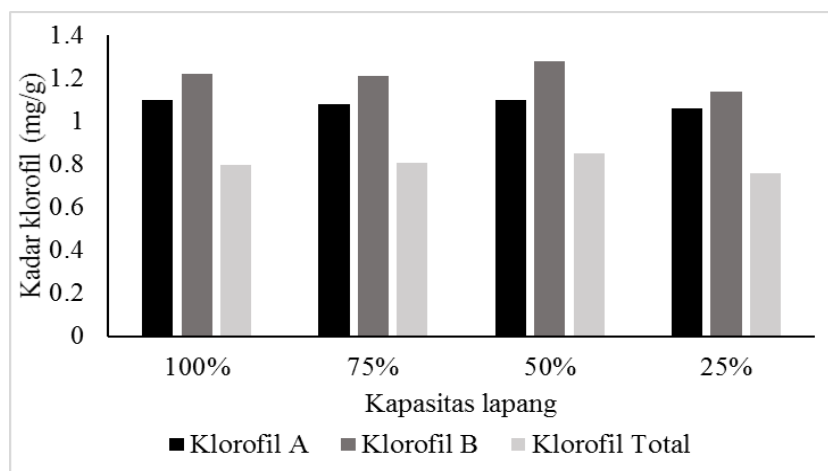
Menganalisis data kandungan klorofil A, klorofil B, dan klorofil total secara statistik menggunakan program SPSS melalui analisis varian ANOVA dan dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range New Test* (DNMRT) taraf 5%.

Hasil dan Pembahasan

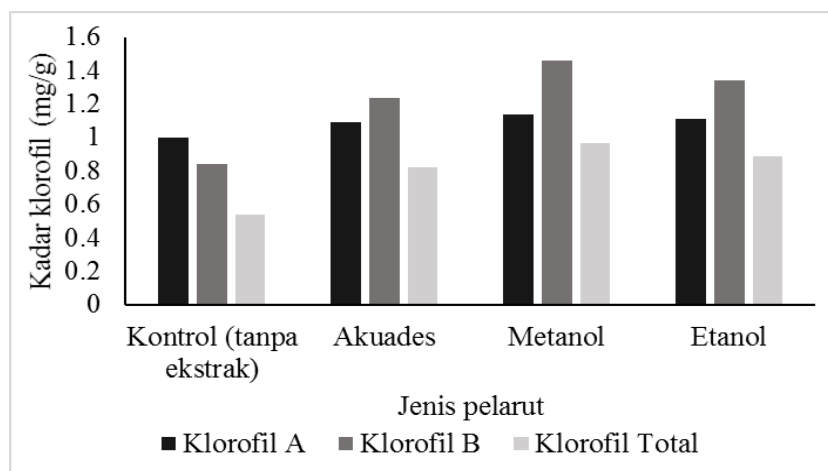
Kandungan Klorofil a, Klorofil b, dan Klorofil Total

Hasil analisis statistik dengan uji DNMRT taraf 5% menunjukkan beberapa jenis pelarut ekstrak biostimulan *Padina minor*, ada pengaruh pada beberapa tingkat kapasitas lapang media tanam yang berbeda nyata pada kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total tanaman *G. max*. Hasil perhitungan rata-rata klorofil a, klorofil b, dan klorofil total akhir masa vegetatif setelah pemberian biostimulan *P. minor* dengan

beberapa jenis pelarut dan kapasitas lapang disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total tanaman *Glycine max* yang diberi ekstrak biostimulan *Padina minor* pada beberapa kapasitas lapang



Gambar 2. Kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total tanaman *Glycine max* yang diberi ekstrak biostimulan *Padina minor* yang diekstraksi dengan beberapa jenis pelarut

Hasil uji DNMRT taraf 5% memperlihatkan beberapa interaksi antara beberapa jenis pelarut ekstrak biostimulan *Padina minor* dengan beberapa tingkat kapasitas lapang media tanam menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total tanaman *G. max*. Rata-rata klorofil a, klorofil b, dan klorofil total pada akhir masa vegetatif setelah pemberian biostimulan *P. minor* diekstraksi beberapa jenis pelarut pada beberapa kapasitas lapang disajikan di Tabel 1.

Klorofil merupakan komponen penentu kapasitas tanaman untuk menyelesaikan fotosintesis. Semakin tinggi klorofil daun maka

semakin tinggi pula kemampuan tumbuhan untuk berfotosintesis (Aziez *et al.*, 2014). Secara umum, ada dua jenis utama klorofil yang ditemukan dalam tumbuhan, yaitu klorofil a dan klorofil b, yang keduanya memiliki peran penting dalam menangkap energi cahaya untuk fotosintesis. Selain menyerap dan mengangkut energi ke pusat reaksi molekul, klorofil a terlibat pada reaksi yang mengubah energi radiasi menjadi energi kimia. Sementara itu, klorofil b bermanfaat untuk penyimpanan energi radiasi kemudian diberikan kepada klorofil a (Atteya & Amer, 2018).

Tabel 1. Interaksi antara beberapa jenis pelarut dalam ekstraksi *Padina minor* dengan kapasitas lapang media tanam terhadap rata-rata kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total tanaman kedelai (*Glycine max*) pada akhir masa vegetatif (mg/g)

Perlakuan	Kadar klorofil		
	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil Total
Kontrol x 100% KL	0,99 a	0,63 a	0,38 a
Kontrol x 75% KL	0,99 a	0,86 ab	0,57 ab
Kontrol x 50% KL	1,03 ab	0,98 abc	0,64 bc
Kontrol x 25% KL	0,99 a	0,88 ab	0,58 ab
Akuades x 100% KL	1,14 d	1,45 efg	0,96 ef
Akuades x 75 KL	1,03 ab	1,03 bcd	0,69 bcd
Akuades x 50% KL	1,12 cd	1,36 defg	0,90 def
Akuades x 25% KL	1,06 abc	1,10 bcde	0,73 bcde
Metanol x 100% KL	1,12 cd	1,37 defg	0,91 def
Metanol x 75% KL	1,15 d	1,49 g	0,99 f
Metanol x 50% KL	1,15 d	1,49 g	0,99 f
Metanol x 25% KL	1,14 d	1,47 fg	0,98 ef
Etanol x 100% KL	1,14 d	1,44 efg	0,95 ef
Etanol x 75% KL	1,15 d	1,48 fg	0,98 ef
Etanol x 50% KL	1,10 bcd	1,31 cdefg	0,87 cdef
Etanol x 25% KL	1,05 abc	1,12 bcdef	0,75 bcdef

Keterangan: Angka-angka pada setiap kolom yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji DNMRT taraf 5%.

Hasil analisis statistik memperlihatkan pemberian ekstrak *P. minor* yang diekstraksi beberapa jenis pelarut dan interaksi keduanya memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada rata-rata klorofil a, b dan total, namun tidak berbeda nyata terhadap cekaman kekeringan pada rata-rata klorofil a,b dan total tanaman kedelai (Tabel 3). Ekstrak *P. minor* dengan jenis pelarut berbeda yang digunakan memiliki dampak yang berbeda pada kandungan klorofil dalam tanaman kedelai. Hal ini disebabkan oleh terdapat perbedaan dalam komposisi senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak yang diekstraksi dengan pelarut yang berbeda, sehingga memberikan respon yang berbeda pada kandungan klorofil tanaman.

Hasil ekstraksi *P. minor* menggunakan pelarut metanol memperlihatkan hasil berbeda nyata dalam meningkatkan rata-rata kadar klorofil *Glycine max* pada seluruh tingkatan kapasitas lapang yang diberikan. Biostimulan yang diekstraksi dengan pelarut metanol memberikan rata-rata kadar klorofil tertinggi hingga pada tingkatan kapasitas lapang 25%. Pelarut metanol digunakan untuk ekstraksi biostimulan didasarkan pada sifat kimia yang unik dan efektivitasnya dalam mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari tanaman. Metanol, sebagai pelarut polar, menunjukkan

kelarutan yang tinggi untuk berbagai senyawa organik termasuk senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, yang terlibat dalam berbagai fungsi fisiologis (Hapsari *et al.*, 2022).

Metanol dapat menembus dinding sel dan membran tanaman secara efisien karena ukuran molekulnya yang relatif kecil dan polaritasnya. Hal ini memudahkan ekstraksi senyawa target dari berbagai kompartemen seluler, memastikan ekstraksi yang komprehensif dari molekul bioaktif dari bahan tanaman. Metanol juga terbukti efektif digunakan sebagai pelarut beberapa jenis biostimulan dan berhasil meningkatkan pertumbuhan tanaman (Adisti *et al.*, 2023).

Kandungan klorofil dipengaruhi oleh kemampuan tanaman dalam melakukan fotosintesis. Rumput laut memiliki kandungan betaine dan asam amino yang dapat meningkatkan kadar klorofil dengan memperluas biogenesis dan mengurangi penurunan nilai klorofil (Chen *et al.*, 2021). Hal ini karena ketersediaan suplemen yang memadai. Komponen Mg merupakan komponen yang dibutuhkan dalam jumlah besar untuk penyusunan klorofil (Ishfaq *et al.*, 2022). Kandungan klorofil berkaitan dengan proses fisiologis tanaman. Klorofil merupakan komponen penentu kapasitas tanaman untuk

menyelesaikan fotosintesis. Semakin tinggi kandungan klorofil pada tumbuhan berarti semakin tinggi pula kemampuan tanaman untuk berfotosintesis (Aziez *et al.*, 2014).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa beberapa tingkatan cekaman kekeringan yang diberikan tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada kandungan klorofil tanaman kedelai. Cekaman kekeringan pada tanaman menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel tanaman, sehingga ABA memicu produksi dan akumulasi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada tanaman disebabkan oleh kehancuran klorofil dan percepatan dekomposisi klorofil. Cekaman kekeringan pada tanaman juga menyebabkan tanaman sulit menyerap unsur hara dan menimbulkan gejala kekurangan unsur hara yang berpengaruh terhadap sebagai penurunan kandungan klorofil (Li *et al.*, 2018).

Kesimpulan

Aplikasi *Padina minor* sebagai biostimulan yang diekstraksi dengan pelarut metanol memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan pelarut jenis lain terhadap kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total kedelai. Cekaman kekeringan hingga 25% kapasitas lapang tidak memberikan pengaruh nyata pada kadar klorofil kedelai. Namun, interaksi antara cekaman kekeringan dengan biostimulan *P. minor* yang diekstraksi dengan pelarut metanol dapat memicu respon ketahanan terhadap kondisi kekeringan hingga pemberian 25 % kapasitas lapang media tanam dan memberikan rata-rata kadar klorofil tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya pada masa vegetatif tanaman kedelai (*Glycine max* L.).

Ucapan Terima Kasih

Penulis sampaikan ucapan terima kasih pada Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas yang telah memfasilitasi kegiatan penelitian ini, sehingga berlangsung dengan lancar.

Referensi

Adisti, J. Putri, Suwirnen, & Idris, M. (2023). *The Effect of Asiatic pennyworth*

(*Centella asiatica* (L.) Urb.) Extract with Several Types of Solvents as a Biostimulant on the Growth of Pagoda Mustard (*Brassica rapa* var. *narinosa* L.). *11*(1), 54–61.
<https://doi.org/10.25077/jbioua.11.1.54-61.2023>

Atteya, A. K. G., & Amer, H. M. (2018). Influence of seaweed extract and amino acids on growth, productivity and chemical constituents of hibiscus sabdariffa L. plants. *Bioscience Research*, *15*(2).
[https://www.isisn.org/BR15\(2\)2018/772-791-15\(2\)2018BR18-133.pdf](https://www.isisn.org/BR15(2)2018/772-791-15(2)2018BR18-133.pdf)

Aziez, A. F., Indradewa, D., Yudhono, P., & Hanudin, E. (2014). Kehijauan daun, kadar klorofil, dan laju fotosintesis varietas lokal dan varietas unggul padi sawah yang dibudidayakan secara organik kaitannya terhadap hasil dan komponen hasil. *Agrineca*, *14*(2).
<https://doi.org/10.36728/afp.v14i2.283>

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. In *Plant and Soil* (Vol. 383, Issues 1–2).
<https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>

Chen, D., Zhou, W., Yang, J., Ao, J., Huang, Y., Shen, D., Jiang, Y., Huang, Z., & Shen, H. (2021). Effects of Seaweed Extracts on the Growth, Physiological Activity, Cane Yield and Sucrose Content of Sugarcane in China. *Frontiers in Plant Science*, *12*.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.659130>

Chiaiese, P., Corrado, G., Colla, G., Kyriacou, M. C., & Rouphael, Y. (2018). Renewable sources of plant biostimulation: Microalgae as a sustainable means to improve crop performance. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 871).
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01782>

Chojnacka, K. (2012). Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application. *The Open Conference Proceedings Journal*, *3*(1).
<https://doi.org/10.2174/1876326x01203020020>

Cleopatra, Noli, Z. A., Idris, M., Chairul, Suwirnen, & Solfiyeni. (2023). Application of *Portulaca oleracea* L. Extract as a Biostimulant with Several

- Types of Solvents on The Growth of Kale (*Brassica oleracea* var. *achepala*). *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4), 715–721. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5711>
- Dulanlebit, Y. H., & Hernani, H. (2023). Overview of Extraction Methods for Extracting Seaweed and its Applications. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(2). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i2.3053>
- Godlewska, K., Michalak, I., Tuhy, L., & Chojnacka, K. (2016). Plant Growth Biostimulants Based on Different Methods of Seaweed Extraction with Water. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5973760>
- Hapsari, S., Yohed, I., Kristianita, R. A., Jadid, N., Aparamarta, H. W., & Gunawan, S. (2022). Phenolic and flavonoid compounds extraction from *Calophyllum inophyllum* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(3). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103666>
- Ishfaq, M., Wang, Y., Yan, M., Wang, Z., Wu, L., Li, C., & Li, X. (2022). Physiological Essence of Magnesium in Plants and Its Widespread Deficiency in the Farming System of China. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.802274>
- Krawczuk, A., Huyghebaert, B., Rabier, F., Parafiniuk, S., Przywara, A., Koszel, M., Lorencowicz, E., & Kocira, S. (2023). The Technical Parameters of Seaweed Biostimulant Spray Application as a Factor in the Economic Viability of Soybean Production. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/app13021051>
- Li, Y., He, N., Hou, J., Xu, L., Liu, C., Zhang, J., Wang, Q., Zhang, X., & Wu, X. (2018). Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6(JUN). <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00064>
- Noli, Z. A., Aliyyanti, P., & Mansyurdin. (2022). Study the Effect of *P. minor* Seaweed Crude Extract as a Biostimulant on Soybean. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 25(1). <https://doi.org/10.3923/PJBS.2022.23.28>
- Noli, Z. A., & Azwar, M. (2021). Effects of Sargassum crassifolium Extract Formula as Biostimulant on Growth and Yield of Glycine max L. Merrill. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(3). <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i3.2842>
- Noli, Z. A., Suwirman, S., Izmiarti, I., Oktavia, R., & Aliyyanti, P. (2021). Respon Padi Gogo (*Oryza sativa* L.) terhadap Pemberian Biostimulan dari Ekstrak Rumput Laut *Padina minor*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2). <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v9i2.4249>
- Rimayani, S., Noli, Z. A., Zulfikar, & Bakhtiar, A. (2022). Effect of Seaweed Extract from Water, Methanol, and Ethanol Extraction as Biostimulant on Growth and Yield of Upland Rice (*Oryza sativa* L.) in Ultisol. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*, 30(2). <https://ijpsat.org/index.php/ijpsat/article/view/4031>
- Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M., & Chandrasekaran, M. (2006). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresource Technology*, 97(14). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.06.016>
- Siwik-Ziomek, A., & Szczepanek, M. (2019). Soil extracellular enzyme activities and uptake of N by oilseed rape depending on fertilization and seaweed biostimulant application. *Agronomy*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/agronomy9090480>
- Sobuj, M. K. A., Islam, M. A., Islam, M. S., Islam, M. M., Mahmud, Y., & Rafiquzzaman, S. M. (2021). Effect of solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of *Padina tetrastromatica* and *Gracilaria tenuistipitata* seaweeds collected from Bangladesh. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98461-3>
- Suwirman, S., Noli, Z. A., & Rukmini, T. (2022). Aplikasi Ekstrak *Padina minor* dan *Centella asiatica* sebagai Biostimulan terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai

- (*Glycine max* (L.) Merr.). *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1).
<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4654>
- Tahar, S. Z. A., Marbah, M. M. H., Surugau, N., Eng, H. S., & Sam, L. M. (2022). Phytochemical Contents and Antioxidant Activity of Selected Brown Seaweeds (*Sargassum polycystum* and *Padina minor*) of Sabah, Malaysia. *Malaysian Journal of Chemistry*, 24(4).
<https://doi.org/10.55373/mjchem.v24i4.135>