



TUGAS AKHIR - SB141510

**RESPON CEKAMAN GENANGAN PERIODIK
PADA BEBERAPA VARIETAS *Nicotiana
tabacum***

**R. YUVITA RAKHMAN
1512100018**

**Dosen Pembimbing
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAMSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2016**



TUGAS AKHIR - SB141510

**RESPON CEKAMAN GENANGAN PERIODIK
PADA BEBERAPA VARIETAS *Nicotiana
tabacum***

**R. YUVITA RAKHMAN
1512100018**

**Dosen Pembimbing:
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2016**



FINAL PROJECT - SB141510

***PERIODIC FLOODING STRESS RESPONSES IN
SOME VARIETIES OF Nicotiana tabacum***

**R. YUVITA RAKHMAN
1512100018**

**Advisor Lecturer:
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCE FACULTY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2016**

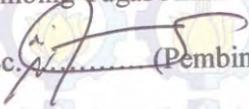
LEMBAR PENGESAHAN
PROPOSAL TUGAS AKHIR

**RESPON CEKAMAN GENANGAN PERIODIK PADA
BEBERAPA VARIETAS *Nicotiana tabacum***

Oleh :

R. YUVITA RAKHMAN
NRP. 1512 100 018

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir

Dr. Nurul Jadid, M.Sc.  (Pembimbing 1)

Surabaya, 25 Januari 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dewi Hidayati, M.Si.
NIP. 19691121 199802 2 001

RESPON CEKAMAN GENANGAN PERIODIK PADA
BEBERAPA VARIETAS *Nicotiana tabacum*

Nama Mahasiswa : R. Yuvita Rakhman
NRP : 1512 100 018
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Nurul Jadid, M.sc.

Abstrak,

Genangan dapat menyebabkan hasil produksi suatu tanaman menurun, utamanya pada tanaman terestrial seperti tembakau. Sehingga, dapat meningkatkan kerugian petani tembakau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon Nicotiana tabacum yang dicekam genangan periodik ditinjau dari aspek anatomi, fisiologi, morfologi dan biokimia. Empat varietas tanaman tembakau (Jepun Pelakean, Jinten, Manilo dan Marakot) dicekam genangan periodik pada fase vegetatif dengan tahapan waterlogging selama lima hari dan dilanjutkan dengan partial submergence selama lima hari berikutnya. Data pengamatan dianalisis menggunakan ANNOVA One-Way dengan taraf kepercayaan 95% untuk menguji parameter morfologi dan fisiologi. Pada aspek morfologi, Jepun Pelakean memiliki respon lebih baik pada parameter tinggi tanaman, panjang akar, diameter batang, lebar daun dan jumlah akar adventif dibanding ketiga varietas uji lain. Rerata penutupan stomata tertinggi pada Manilo (95,2%), penurunan klorofil tertinggi terjadi pada Manilo sebesar (41,5%), dan berat kering tertinggi oleh Jepun Pelakean sebesar (1,17 mg). Hasil analisis SDS-PAGE pada Jepun Pelakean, Manilo dan Marakot menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi protein dengan berat molekul 134,98 kDa secara konsisten di kondisi waterlogging. Sedangkan, Jinten menunjukkan ekspresi tersebut saat partial submergence.

Kata kunci : partial submergence, profil protein, tembakau, waterlogging

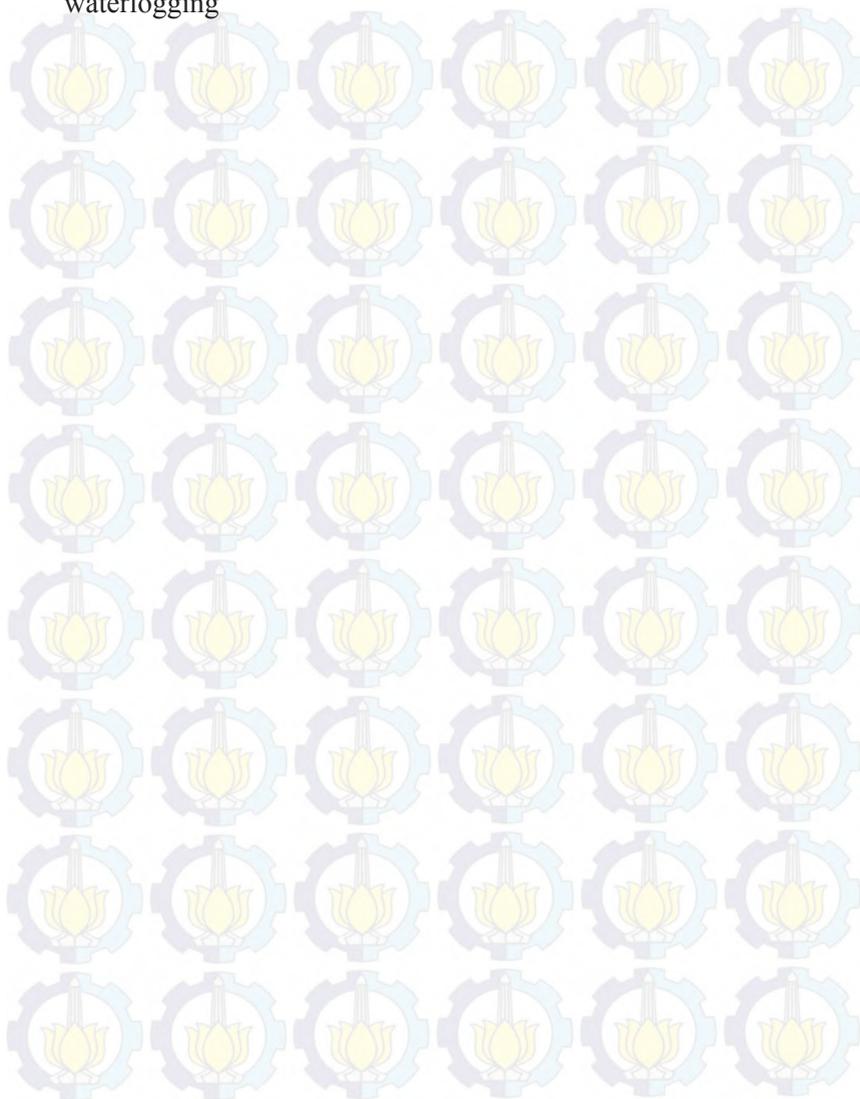
PERIODIC FLOODING STRESS RESPONSES IN SOME
VARIETIES OF *Nicotiana tabacum*

Student Name : R. Yuvita Rakhman
NRP : 1512 100 018
Departement : Biologi
Supervisor : Dr. Nurul Jadid, M.sc.

Abstract,

Flooding could decrease the yield of any terrestrial plant, including tobacco. Thus condition may lead to economic losses for the farmers. The aims of the research are to evaluate the responses of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plant to periodic flooding stress based on anatomy, physiology, morphology and biochemistry aspects. Four varieties of tobacco (Jepon Pelakean, Jinten, Manilo and Marakot) were treated by flooding stress during vegetative phase; by means of waterlogging stress for five days continued by partial submergence for the next five days. Data were analyzed using One-Way ANNOVA at 95% confidence level to test the morphological and physiological aspects. In the morphology aspect, Jepon Pelakean have better responses on parameters of plant height, root length, stem diameter, leaf width and number of adventitious roots than the other three varieties. Furthermore, highest mean of stomatal closure occurred on Manilo (95.2%), highest chlorophyll decrement occurred in Manilo (41.5%), and highest dry weight occurred in Jepon Pelakean (1.17 mg). The results of SDS-PAGE analysis of Jepon Pelakean, Manilo and Marakot show increased expression of a protein with molecular weight of 134.98 kDa consistently in waterlogging treatment. Meanwhile, Jinten showed that expression in partial submergence.

Keywords: partial submergence, protein profile, tobacco, waterlogging



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **Respon Cekaman Genangan Periodik Pada Beberapa Varietas *Nicotiana tabacum***. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 03 Agustus 2015 sampai bulan Desember 2015. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

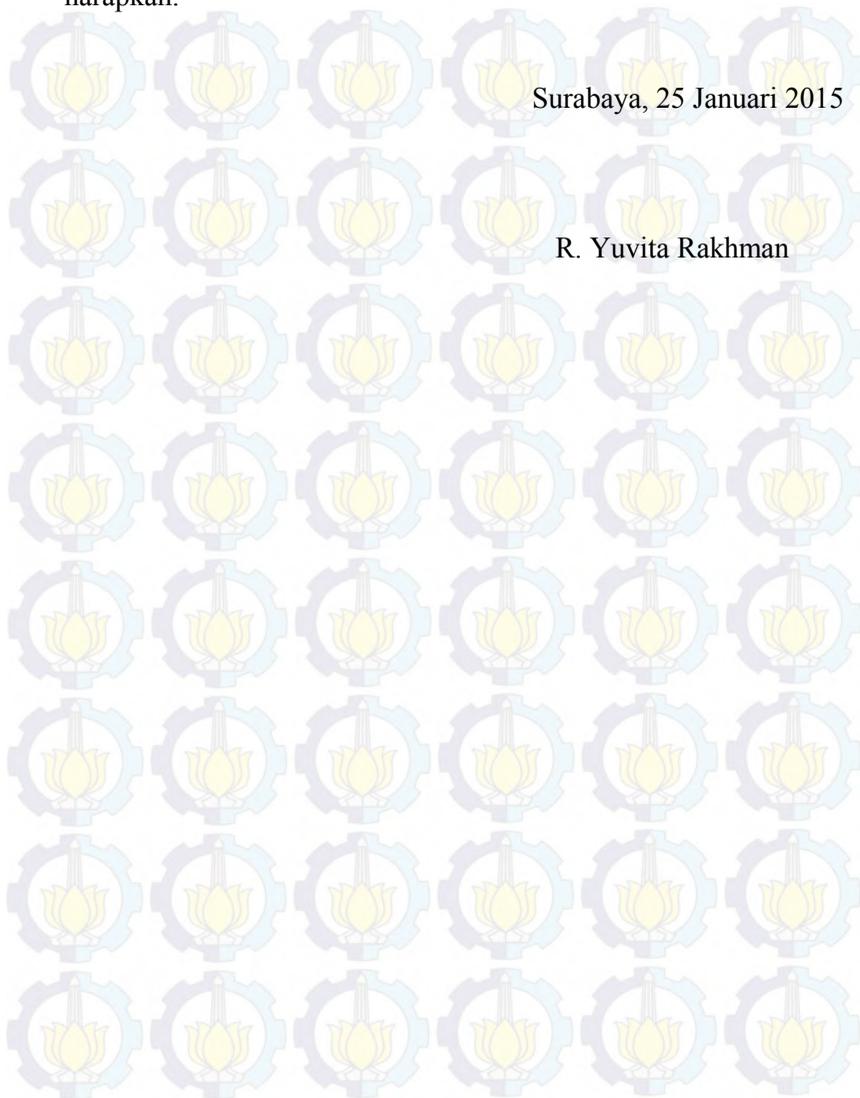
Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan Proposal Tugas Akhir tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan tinggi kepada :

1. Ayahanda Arif Rakhman Hakim, Bapak Sudirman, Ibunda R.A. Nurul Kamariyah, Superdaddy R.P. Abd. Suud, Eyang R.A Rawiyah, kakak Erisa Ilan Dea, dedek Maulyna Nurbany serta keluarga besar Zaini & R.P. Abd Rachem atas doa, semangat dan kasih sayangnya
 2. Bapak Dr. Nurul Jadid, M.Sc., atas bimbingannya yang luar biasa
 3. Bapak Farid Kamal M., S.Si, M.Si. dan Bapak Triono Bagus Saputro, S.Si., M. Biotech. selaku penguji
 4. Ibu Tutik Nurhidayati, S.Si, M.Si atas bimbingan, semangat dan kasih sayangnya
 5. Teman-teman Novita Sari, Siti Dianawati, Erma Estiasih, Tridika S, Risyatun N, teman-teman Pinguin Raja (*Aptenodytes patagonicus*), teman-teman Kebijakan Publik BEM Muda Bersahabat/Kolaborasi, Batch 7 BU Scholars dan seluruh pihak yang telah membantu
- Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dari laporan ini, baik dari materi maupun teknik penyajiannya, mengingat kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Oleh

karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surabaya, 25 Januari 2015

R. Yuvita Rakhman



DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Permasalahan.....	3
1.3. Batasan Masalah.....	3
1.4. Tujuan.....	4
1.5. Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i>).....	5
2.1.1. Klasifikasi.....	5
2.1.2. Pengertian.....	6
2.1.3. Deskripsi Morfologi.....	6
2.2. Cekaman Abiotik.....	7
2.3. Cekaman Genangan (<i>Flooding Stress</i>).....	7
2.4. Respon Umum Tanaman Terhadap Cekaman Genangan.....	9
2.5. Profil Protein.....	10
2.5.1. Elektroforesis SDS-PAGE.....	10
BAB III METODOLOGI	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2. Metode yang Digunakan.....	13

3.2.1	Persiapan Benih.....	13
3.2.2	Penyebaran Benih.....	13
3.2.3	<i>Pricking</i>	16
3.2.4	Pemindahan pada Polybag.....	16
3.2.5	Pemberian Cekaman Genangan.....	21
3.2.6	Preparasi Sampel dan Pengambilan Data Penelitian.....	22
3.3	Rancangan Penelitian dan Analisa Data.....	33
3.3.1	Rancangan Penelitian.....	33
3.3.2	Analisa Data	37
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		
4.1	Respon Morfologi Terhadap Cekaman Periodik.....	40
4.1.1	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Tinggi Tanaman	40
4.1.2	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Panjang Akar	42
4.1.3	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Kemunculan Akar Adventif.....	44
4.1.4	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Diameter Batang.....	47
4.1.5	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Jumlah Daun	49
4.1.6	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Lebar Daun	52
4.2	Respon Fisiologi Terhadap Cekaman Periodik	55
4.2.1	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Stomata.....	55
4.2.2	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Total Klorofil Tanaman.....	60
4.2.3	Dampak Cekaman Periodik Terhadap Biomassa Tanaman.....	63

4.3.	Pembentukan Jaringan Aerenkim pada Batang dan Akar <i>N. tabacum</i> Akibat Cekaman Genangan Periodik.....	65
4.4.	Profil Protein <i>N. tabacum</i> yang Diberi Cekaman Genangan Periodik	69
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1.	Kesimpulan.....	75
5.2.	Saran	76
DAFTAR PUSTAKA.....		77
LAMPIRAN		85
BIODATA PENULIS.....		99

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	<i>Nicotiana tabacum</i> L	5
Gambar 2.2.	Skema Skenario Peningkatan Tingkat Air Berlebih Mulai Dari Genangan (<i>waterlogging</i>) hingga Perendaman Penuh (<i>complete submergence</i>).....	8
Gambar 2.3.	Rangkaian Dasar Elektroforesis.....	11
Gambar 3.1.	Empat Macam Varietas Yang Digunakan dan Perendaman GA3	13
Gambar 3.2.	Campuran Vermicompos, Coco Peat dan Pupuk NPK	14
Gambar 3.3.	Cara Penyebaran Benih Pada Nampan.....	15
Gambar 3.4.	Pemeliharaan Benih Selama Kecambah Di Nampan	16
Gambar 3.5.	Alat dan Bahan Pembuatan Media <i>Tray</i>	17
Gambar 3.6.	Proses <i>Pricking</i>	18
Gambar 3.7.	Proses dan Hasil <i>Clipping</i>	18
Gambar 3.8.	Cara Penanaman Bibit Pada <i>Polybag</i>	19
Gambar 3.9.	Cara pemberian pupuk NPK pada tiap <i>polybag</i> dan Pengukuran pH awal	20
Gambar 3.10.	Perlakuan Cekaman Genangan Tahap Pertama.....	21

Gambar 3.11.	Perlakuan Cekaman Genangan Tahap Pertama.....	22
Gambar 3.12.	Standar Pengukuran Morfologi	27
Gambar 3.13.	Alat dan Bahan untuk Analisis Klorofil.....	29
Gambar 4.1.	Grafik Rerata Tinggi Tanaman Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik	40
Gambar 4.2.	Grafik Rerata Panjang Akar Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik	43
Gambar 4.3.	Perbandingan Panjang Akar Varietas Jinten	44
Gambar 4.4.	Grafik Rerata Jumlah Kemunculan Akar Adventif Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.....	45
Gambar 4.5.	Kemunculan Akar Adventif Pada Varietas Marakot yang Diberi Perlakuan.....	47
Gambar 4.6.	Grafik Perubahan Diameter Batang Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik.....	48
Gambar 4.7.	Grafik Perubahan Jumlah Daun Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik	50

Gambar 4.8.	Kerusakan Daun Akibat Kondisi <i>Partial Submergence</i>	52
Gambar 4.9.	Grafik Perubahan Lebar Daun Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik.....	53
Gambar 4.10.	Morfologi Daun Keempat Varietas Uji pada Kontrol.....	54
Gambar 4.11.	Grafik Rerata Jumlah Stomata Tertutup dan Terbuka Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik.....	56
Gambar 4.12.	Perbedaan Stomata Tertutup dan Terbuka pada Varietas Manilo	57
Gambar 4.13.	Pengamatan Stomata Daun Abaksial Varietas Marakot Antara Kontrol dan Perlakuan.....	59
Gambar 4.14.	Grafik Rerata Total Klorofil Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol.....	60
Gambar 4.15.	Klorosis Pada Daun Varietas Marakot dan Jinten Setelah Dicekam Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol	61
Gambar 4.16.	Grafik Berat Kering Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol.....	63

Gambar 4.17.	Pembentukan Jaringan Aerenkim pada Batang Beberapa Varietas <i>N. tabacum</i> Setelah Dicekam Genangan Periodik	65
Gambar 4.18.	Tipe <i>Honeycomb Aerenchyma</i> pada Batang <i>Brasenia schreberi</i> dan Tipe <i>Honeycomb</i> Varietas Marakot.....	67
Gambar 4.19.	Tipe Radial Lysigeny Aerenchyma pada Akar <i>Typha latifolia</i>	68
Gambar 4.20.	Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Jepon Pelakean	69
Gambar 4.21.	Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Jinten	70
Gambar 4.22.	Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Manilo	72
Gambar 4.23.	Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Marakot	73

DAFTAR TABEL

Tabel 3.2. Macam Dehidran.....	23
Tabel 3.2. Rangkaian Proses Anatomi.....	25
Tabel 3.3. Rancangan Percobaan	33
Tabel 3.4. Randomisasi Percobaan	34
Tabel 3.4. Hasil Pengamatan Pada Varietas Jepon Pelakean.....	34
Tabel 3.5. Hasil Pengamatan Pada Varietas Jinten.....	35
Tabel 3.6. Hasil Pengamatan Pada Varietas Manilo.....	36
Tabel 3.7. Hasil Pengamatan Pada Varietas Marakot.....	36
Tabel 4.1. Pengelompokan Respon Varietas Hasil Uji Tukey.....	51
Tabel 3.7. Hasil Pengamatan Pada Varietas Marakot.....	36

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman tembakau merupakan salah satu komoditas perdagangan penting di dunia termasuk Indonesia dan peranannya sangat penting dalam perekonomian nasional (PERMENTAN No. 56, 2012). Perubahan iklim global khususnya terhadap sektor pertanian di Indonesia berpengaruh nyata pada tembakau di Temanggung yang rusak akibat tergenang air hujan selama beberapa waktu (Putri, 2012). Hal ini didasari adanya peningkatan yang stabil dan signifikan dalam peristiwa banjir selama enam dekade terakhir (UNEP/GRID-Arendal, 2005).

Terminologi genangan atau *flooding* sering digunakan untuk menggambarkan situasi yang berbeda dimana kelebihan air dapat berkisar dari kondisi air tanah jenuh (*soil waterlogging*) hingga terbentuknya kolom air yang menyebabkan perendaman menyeluruh pada tanaman (*complete submergence*) (Striker, 2012). Saat tergenang, tanah tersaturasi tinggi oleh air dan mengakibatkan penurunan drastis pada laju pertukaran gas oksigen ke dalam air 10^4 lebih rendah terhadap udara (Ponnamperuma 1972; 1984 dalam Striker, 2012). Oksigen diperlukan untuk mempertahankan respirasi aerob pada jaringan yang terendam (Voesenek *et al.* 2004 dalam Striker, 2012). Kelangsungan hidup tanaman di bawah kondisi ini tergantung pada adaptasi fisiologis, morfologis dan metabolik (Serres *et al.*, 2012).

Cekaman genangan memiliki dampak terhadap organ-organ vegetatif tanaman, seperti terjadinya penurunan luas daun dan hipertrofi batang serta meningkatnya pertumbuhan diameter batang (McKevlin *et al.*, 1995). Cekaman genangan dapat meningkatkan proporsi jaringan parenkim dalam xilem dan floem dari angiospermae maupun gymnospermae (Kozlowski, 1997). Hal ini dapat berdampak pada pembusukan akar, menghambat

pertumbuhan cabang akar dan pertumbuhan akar yang sudah ada (Lieffers dan Rothwell, 1986b dalam Atanackovic, 2012). Spesies tanaman terestrial tertentu menanggapi minimnya aerasi di daerah yang tergenang dengan membentuk jaringan aerenkim terutama dalam daerah korteks dari batang dan akar (Jung *et al.* 2008 dalam Atanackovic, 2012). Tanaman juga merespon kondisi anoksia dengan meregulasi sintesis protein khusus untuk kondisi anaerob (Polipeptida Anaerobik/ANPS) (Sachs *et al.*, 1980).

Cekaman genangan yang merendam hingga bagian tunas, mengakibatkan menurunnya kadar karbondioksida eksternal yang diikuti dengan menurunnya laju fotosintesis (M.B Jackson dan T.D Colmer, 2005). Kondisi ini diperparah dengan terjadinya perubahan konduktansi stomata (Regehr *et al.* 1975; Phung dan Knipling, 1976) dan penurunan kandungan klorofil (B. Haung *et al.*, 1997) akibat suplai nitrogen yang rendah (L.A. Sparrow dan N.C. Uren, 1987). Penelitian sebelumnya oleh Davies dan Flore, (1986a; 1986b) juga melaporkan bahwa penurunan konduktansi stomata terjadi bersamaan dengan menurunnya laju pertukaran CO₂. Sehingga, konsentrasi CO₂ internal (C_i) menjadi lebih rendah pada *rabbiteye-blueberry* (*Vaccinium ashei* Reade) dalam kondisi tergenang.

Kompleksitas respon yang ditunjukkan tanaman yang tercekam genangan menyebabkan banyak penelitian telah dikembangkan dengan berbagai aspek kajian. Namun, untuk spesies tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang bernilai ekonomi tinggi di Indonesia dengan pemberian cekaman genangan secara periodik masih belum dilakukan. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa beberapa spesies tergolong sensitif terhadap genangan atau *flooding* seperti *Solanum lycopersicum*, *Pisum sativum*, *Helianthus annuus* dan *N. tabacum*, dikarenakan beberapa jam setelah tanah tergenang, penyerapan air oleh akar menjadi berkurang (Jackson & Drew 1984 dalam Striker, 2012). Berdasarkan uraian di atas, maka penting dilakukan cekaman genangan pada beberapa varietas komersial yang sering dibudidayakan, diantaranya varietas Jepon Pelakean, Jinten,

Manilo dan Marakot. Hal tersebut dimaksudkan untuk mengetahui responnya dari aspek anatomi, morfologi, fisiologi dan biokimia.

1.2 Rumusan Masalah

Tanaman *N. tabacum* tergolong spesies sensitif terhadap cekaman genangan, maka pada penelitian ini dirumuskan masalah mengenai bagaimana respon tanaman *N. tabacum* pada varietas Jepon Pelakean, Jinten, Manilo dan Marakot yang diberi cekaman genangan periodik ditinjau dari aspek morfologi, anatomi, fisiologi dan biokimia.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada :

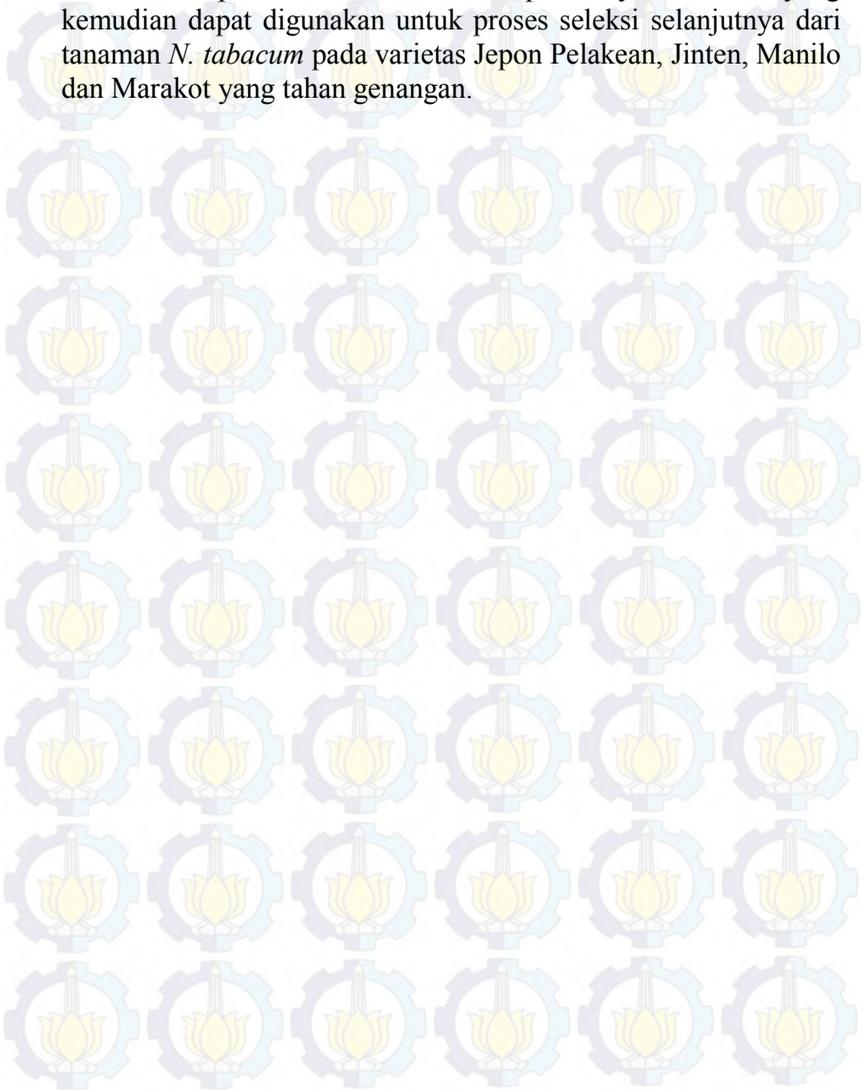
1. Varietas yang digunakan meliputi Jinten, Jepon Pelakean, Manilo dan Marakot yang diambil dari koleksi benih PT. SADHANA.
2. Cekaman genangan dilakukan secara periodik selama 10 hari (lima hari dalam kondisi *waterlogged* dan lima hari berikutnya dalam kondisi *partial submergence*).
3. Parameter yang diambil meliputi aspek anatomi (sayatan melintang akar dan batang), morfologi (panjang akar, jumlah akar adventif, tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun dan lebar daun) fisiologi (biomassa tanaman, klorofil total daun, serta jumlah stomata terbuka dan tertutup di bagian abaksial daun) serta biokimia (analisis profil protein di organ daun).

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui respon tanaman *N. tabacum* pada varietas Jepon Pelakean, Jinten, Manilo dan Marakot yang diberi cekaman genangan periodik dari aspek anatomi, fisiologi, morfologi dan biokimia.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah didapatkannya data awal yang kemudian dapat digunakan untuk proses seleksi selanjutnya dari tanaman *N. tabacum* pada varietas Jepon Pelakean, Jinten, Manilo dan Marakot yang tahan genangan.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tembakau (*Nicotiana tabacum*)

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman tembakau merupakan tanaman semusim dari Divisio Spermatophyta dengan klasifikasi menurut Steenis (2005) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Solanales
Famili : Solanaceae
Genus : *Nicotiana*
Spesies : *Nicotiana tabacum* L.



Gambar 2.1 *Nicotiana tabacum* L. (Kurt Stueber, 2003)

2.1.2 Pengertian

Tanaman tembakau merupakan salah satu tanaman tropis asli Amerika. Asal mula tembakau liar tidak diketahui dengan pasti karena tanaman ini sangat tua dan telah dibudidayakan berabad-abad lamanya. Penggunaan tembakau berasal dari bangsa Indian, berkaitan dengan upacara-upacara keagamaan mereka. Tanaman tembakau telah menyebar ke seluruh Amerika Utara sebelum masa kedatangan orang kulit putih. Columbus pertama kali mengetahui penggunaan tembakau ini dari orang-orang India (Matnawi, 1997).

Tembakau mempunyai prospek pasar yang baik karena merupakan bahan baku utama industri rokok dan mempunyai peranan ekonomi yang cukup luas, diantaranya sebagai penyumbang pendapatan negara melalui cukai dan pajak, sebagai sumber pendapatan utama petani tembakau dan sebagai penyedia lapangan kerja padat karya di pedesaan dan perkotaan. Produksi rokok di Indonesia yaitu sebanyak 84% pada rokok kretek dan sekitar 80-85% bahan baku rokok kretek tersebut berasal dari jenis tembakau yang ada dalam negeri. Pengembangan tembakau bersifat lokasi spesifik karena sangat ditentukan oleh kesesuaian mutu yang dapat digunakan sebagai bahan baku industri rokok (Balittas 1997; 1998).

2.1.3 Deskripsi Morfologi

Menurut Tjitrosoepomo (2000), tanaman tembakau berupa semak, tegak, sedikit bercabang dan mempunyai tinggi 0,5-2,5 meter. Daun tunggal, bertangkai pendek, memanjang, atau berbentuk lanset, dengan pangkal yang menyempit, sebagian memeluk batang dan ujung runcing. Kelopak bunga berbentuk tabung, yang memanjang tidak sama. Tabung bunga jantan 4 cm panjangnya dan berbentuk bintang. Benang sari bebas, yang satu lebih pendek dari yang lainnya. Buah bentuk telur memanjang, akhirnya coklat, dimahkotai oleh pangkal tangkai putih yang

pendek, beruang-ruang. Biji berukuran kecil dan jumlahnya banyak sekali.

2.2 Cekaman Abiotik

Cekaman abiotik merupakan kendala utama untuk semua organisme hidup, utamanya menjadi tantangan bagi tanaman yang tidak dapat bergerak aktif (Gupta *et al*, 2013). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa struktur makromolekul hidup seperti lipid, protein, dan asam nukleat cenderung rusak dan atau terdegradasi dalam kondisi stres abiotik yang parah (Miranda, 2011). Dalam konteks pertanian, cekaman abiotik pada akhirnya didefinisikan dalam hal pengaruhnya terhadap hasil panen sebagai output ekonomi akhir (Pinheiro and Chaves, 2011).

Banyak tekanan lingkungan seperti kekeringan, salinitas, genangan, cahaya, suhu yang tidak menguntungkan dan fluktuasinya yang cepat dapat mempengaruhi proses fotosintesis pada metabolisme karbon tumbuhan. Hal ini dapat mengubah ultrastruktur dari organel, mengubah konsentrasi berbagai pigmen dan metabolit maupun regulasi stomata (Pinheiro and Chaves, 2011; Ambavaram *et al*, 2014). Oleh karena itu, gambaran dari dampak tekanan lingkungan tersebut disajikan pada profil ekspresi gen/kelimpahan protein dari jalur fotosintesis terkait dan regulasi jaringan pada tumbuhan (Striker, 2012).

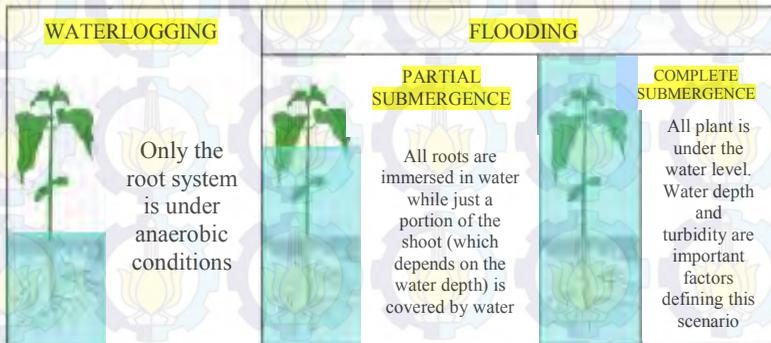
2.3 Cekaman Genangan (*Flooding Stress*)

Cekaman genangan dapat terjadi sebagai akibat dari perubahan musim alami dalam iklim, namun lebih sering merupakan konsekuensi dari tidak ratanya redistribusi sumber air akibat aktivitas antropogenik (Directive 2007/60/EC 2007). Secara global, cekaman genangan menyebabkan penurunan signifikan dari kualitas tanah, yang berpengaruh negatif terhadap kualitas produksi pertanian.

Cekaman genangan adalah stres abiotik kompleks yang mempengaruhi pertumbuhan maupun perkembangan tanaman dan secara signifikan mengurangi produktivitas tanaman. Tanaman tingkat tinggi merupakan organisme aerobik yang tidak

akan bertahan (mati) ketika ketersediaan oksigen terbatas akibat cekaman genangan (Voeselek *et al*, 2006). Tanaman mengalami kekurangan suplai oksigen sebagai sinyal awal stres, ketika kadar air dalam tanah naik 20% di atas kapasitas lapang (Arbona *et al*, 2013; Aggarwal *et al*, 2006).

Cekaman genangan (*waterlogging*) didasarkan pada tingkat kejenuhan pori-pori tanah terhadap air dengan atau bahkan tanpa adanya kolom air di atas permukaan tanah. Pada kondisi tersebut, hanya sistem perakaran tanaman yang berada dalam kondisi anaerobik dan mengalami kekurangan oksigen, sementara bagian batang dalam kondisi normal atmosfer. Cekaman genangan (*flooding stress*) adalah situasi dimana terdapat kolom air di atas permukaan tanah. Kolom air tersebut dapat dangkal atau dalam, sehingga bisa menyebabkan perendaman tanaman secara parsial atau lengkap. Pada kedalaman air yang sama, tingkat penggenangan tanaman tergantung pada tahap perkembangan (misalnya. bibit dan tanaman dewasa) serta kebiasaan pertumbuhan tanaman yang mempengaruhi tinggi tanaman (Vashist *et al.*, 2011 dalam Striker, 2012).



Gambar 2.2 Skema Skenario Peningkatan Tingkat Air Berlebih Mulai Dari Genangan (*waterlogging*) hingga Perendaman Penuh (*complete submergence*) (Striker, 2012)

Perendaman parsial (*partial submergence*) adalah ketika sebagian tunas tanaman terendam air disamping sistem perakarannya yang juga jenuh oleh air. Perendaman penuh (*complete submergence*) menyebabkan tanaman menghadapi kondisi paling stres karena kedua kompartemen tanaman yaitu akar dan batang terendam air secara menyeluruh, sehingga kemungkinan untuk mengikat oksigen di atmosfer dan dilanjutkan dengan fiksasi karbon menjadi terbatas. Situasi ini memburuk dengan air yang menjadi keruh dan atau dengan adanya kolom air di atas tanaman, karena ketersediaan penyinaran dalam mempertahankan fotosintesis di bawah air untuk kelangsungan hidup berkurang secara drastis (Vashist *et al.*, 2011 dalam Striker, 2012).

2.4 Respon Umum Tanaman Terhadap Cekaman Genangan

Tanaman mengembangkan serangkaian respon anatomi, morfologi dan fisiologi untuk menghadapi perendaman parsial yang disebabkan oleh genangan (*flooding*) (Colmer & Voesenek, 2009 dalam Striker, 2012). Respon anatomi yang paling umum adalah pembentukan aerenkim dalam jaringan (Justin & Armstrong, 1987; Seago *et al.*, 2005.), yang berperan memfasilitasi transpor oksigen dari tunas ke akar (Colmer, 2003a).

Respon pada tingkat morfologi yang umum terjadi pada cekaman genangan meliputi pembentukan akar adventif dan peningkatan tinggi tanaman yang berdampak pada proporsi biomassa di atas permukaan air (Naidoo & Mundree, 1993; Grimoldi *et al.*, 1999). Hal ini juga membantu dalam memfasilitasi oksigenasi pada jaringan yang terendam, yaitu melalui jaringan aerenkim (Laan *et al.*, 1990; Colmer, 2003a). Pada tingkat fisiologis, cekaman genangan memodifikasi “pautan” air dan fiksasi karbon tanaman. Penutupan stomata, pengurangan transpirasi dan penghambatan fotosintesis merupakan respon yang dapat terjadi dalam hitungan jam atau hari, tergantung pada toleransi setiap spesies tanaman terhadap cekaman genangan (Mollard *et al.*, 2008; 2010 dalam Carolina, 2015).

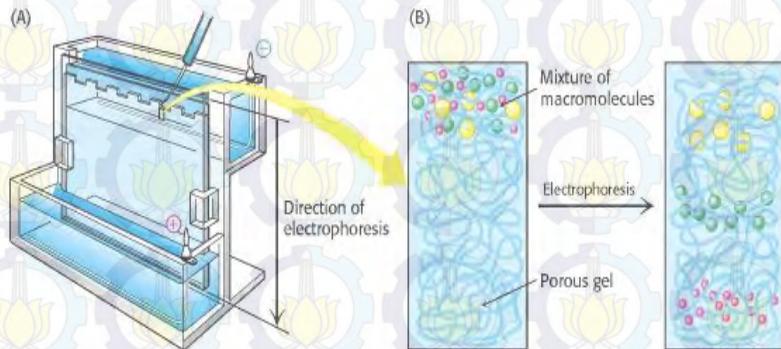
2.5 Profil Protein

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa makromolekul seperti lipid, protein, dan asam nukleat cenderung mengalami kerusakan dan atau didegradasi pada kondisi stres abiotik yang parah (Miranda *et al.*, 2011). Sintesis protein juga telah dilaporkan mengalami perubahan drastis pada akar tanaman selama kondisi anaerob. Sebagian besar protein anaerobik (ANPS) telah diidentifikasi sebagai enzim yang berperan dalam metabolisme glikolisis (Sachs *et al.*, 1996; Ahsan *et al.*, 2007a). ANPS yang merupakan bagian dari proses metabolisme juga telah dilaporkan oleh Chang *et al.* (2000) dan Shi *et al.* (2008). Penelitian-penelitian tersebut melaporkan bahwa regulasi pada kadar oksigen rendah, tumbuhan memberikan respon cekaman genangan yang melibatkan lebih dari sebuah adaptasi metabolisme energi yang sederhana, melainkan lebih kompleks untukantisipasi dalam beberapa tahun. Iftekhar *et al.* (2010) melaporkan beberapa protein seperti enolase, alkohol dehidrogenase dan coproporphyrinogen oxidase memainkan peranan penting selama cekaman genangan. Feritin dengan berat molekul 32 kDa (Briat *et al.*, 2009) juga dilaporkan memiliki peran penting dalam melindungi sel tumbuhan terhadap kerusakan oksidatif di bawah cekaman genangan (Kamal *et al.*, 2015).

2.5.1. Elektrofesis SDS-PAGE

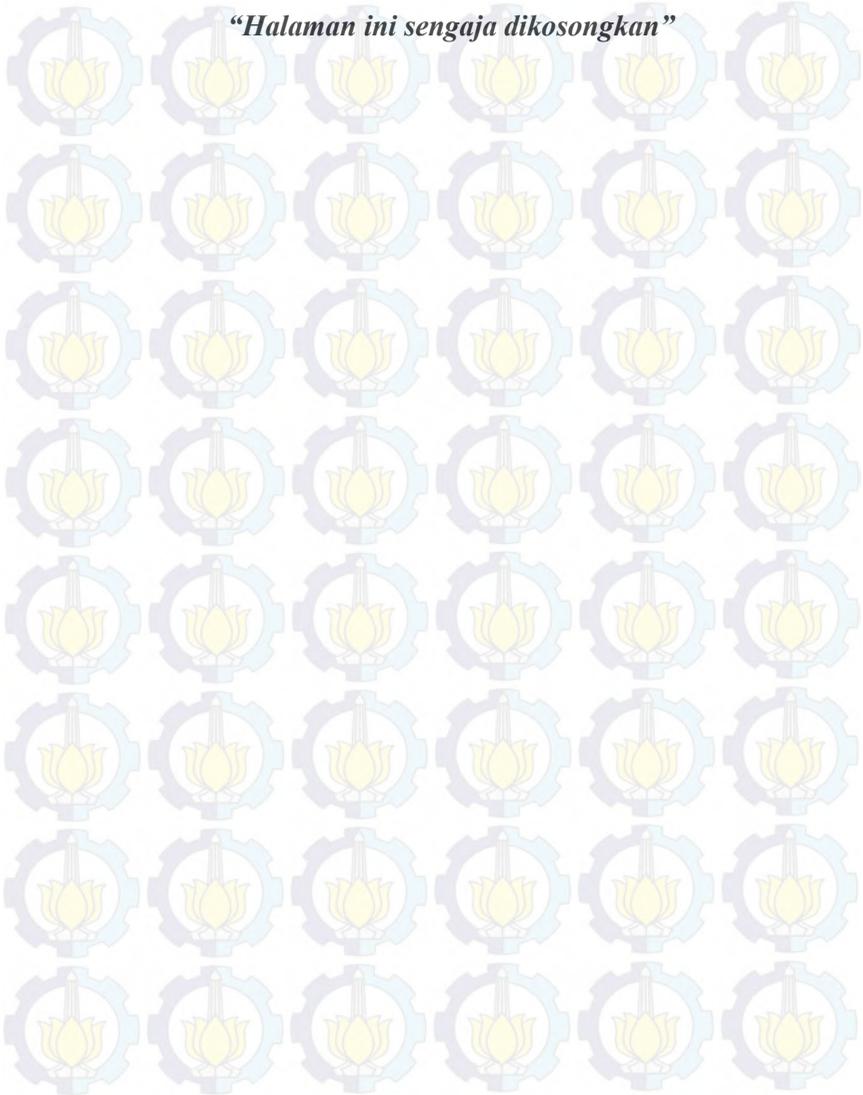
Pemisahan makromolekul dalam medan listrik disebut elektrofesis. Sebuah metode yang sangat umum digunakan untuk memisahkan protein adalah dengan elektrofesis gel poliakrilamid diskontinyu sebagai media pendukung dan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) untuk mendenaturasi protein. Metode ini disebut *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel electrophoresis* (SDS-PAGE). SDS (disebut juga *lauryl sulfate*) merupakan deterjen anionik, yang berarti bahwa ketika dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam kisaran pH yang luas.

Pemisahan protein dengan SDS-PAGE dapat digunakan untuk memperkirakan massa molekul relatif, untuk menentukan kelimpahan relatif dari protein utama dalam sampel, dan untuk menentukan distribusi protein antar fraksi (David, 2012). Elektroforesis sebagai alat analisis cenderung sederhana dan relatif cepat (Amersham, 1999).



Gambar 2.3 Rangkaian Dasar Elektroforesis (Freeman, 2002).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanggal 03 Agustus 2015 sampai bulan Desember 2015 di PT. SADHANA Purwosari dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Persiapan Benih

Benih yang digunakan terdiri dari 4 varietas berbeda yaitu Marakot, Jinten, Japon Pelakean, dan Manilo. Dilakukan penimbangan benih seberat 0,05 gram/nampan untuk masing-masing varietas. Benih direndam dalam larutan GA₃ 100 ppm secukupnya selama ± 24 jam untuk mempercepat perkecambahan, lalu ditiriskan selama ±2 hari.

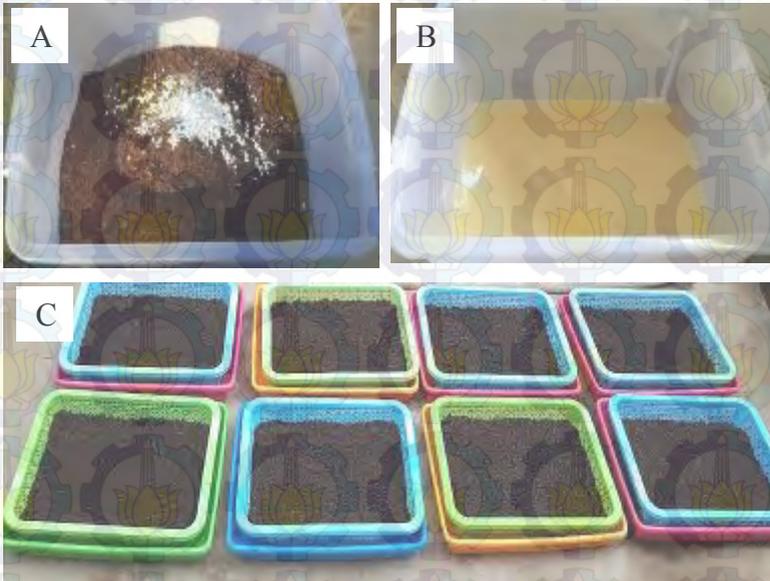


Gambar 3.1 Empat Macam Varietas Yang Digunakan (Kiri), Perendaman Dalam Larutan GA₃ (Kanan) (Dokumentasi pribadi, 2015).

3.2.2 Penyebaran Benih

Penyebaran benih dilakukan dalam nampan dengan campuran media *vermicompos* dan *coco peat* (1:1). Setiap nampan membutuhkan campuran kedua media tersebut sebanyak 1 liter media. Kemudian ditambahkan pupuk NPK

(5 gr/lt media) dan disiapkan larutan ridomil (0,5 gram/liter air). Semua bahan dicampur rata, dan larutan ridomil (antifungal) ditambahkan perlahan hingga media cukup lembap.

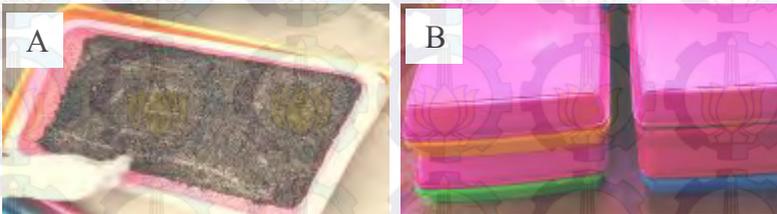


Gambar 3.2 Campuran *Vermicompos*, *Coco Peat* dan Pupuk NPK (A), Larutan Ridomil (B), dan Hasil Pembuatan Media Sebar Nampan (C) (Dokumentasi pribadi, 2015).

Setelah media tercampur rata, kemudian diisikan pada nampan hingga tinggi media ± 2 cm. Sebelumnya, masing-masing nampan diberi label nama varietas dan tanggal penyebaran benih. Pengisian media pada nampan cukup disebar rata saja, tanpa dipadatkan. Sebelum penyebaran benih dilakukan, media diletakkan pada nampan

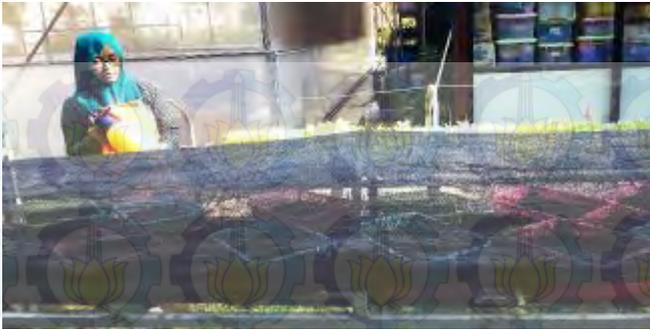
yang telah berisi air setinggi ± 1 cm selama beberapa saat hingga media lembap, lalu nampan diangkat dan ditiriskan.

Diambil segenggam tanah kompos yang telah diayak halus, kemudian dicampur dengan benih yang telah ditiriskan dari larutan GA₃. Penyebaran benih dilakukan dengan pola seperti gambar 3.3 (A). Setelah benih tersebar merata, kemudian nampan ditutup dan disimpan di dalam ruangan.



Gambar 3.3 Cara Penyebaran Benih pada Nampan (A), Penyimpanan Nampan Selama Proses Perkecambahan (B) (Dokumentasi pribadi, 2015).

Pengecekan rutin per hari dilakukan terhadap jumlah air pada nampan dan kondisi perkembangan benih hingga terjadi pecah benih (berkecambah) yang ditandai berubahnya warna benih menjadi putih di permukaan media. Lalu, penutup nampan dibuka, ditiriskan, dan dikeluarkan ke para-para. Setiap pukul 10.00 WIB, para-para ditutup dengan para *net* dan dilakukan pengembunan dengan *sprayer* setiap 1 jam sekali (menyesuaikan kondisi cuaca).

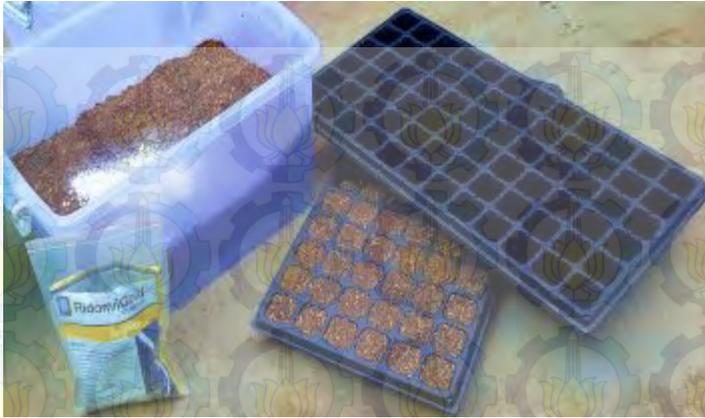


Gambar 3.4 Pemeliharaan Benih Selama Perkecambahan di Nampan (Dokumentasi pribadi, 2015).

Setiap hari dicek kondisi media, jika media kering maka nampan diletakkan kembali pada nampan bagian bawahnya yang telah berisi air (tidak sampai menggenangi permukaan media) selama beberapa saat. Setelah tanah kembali lembap, nampan ditiriskan kembali. Proses perkecambahan benih pada nampan dilakukan selama 15-20 HSS (Hari Setelah Sebar) hingga memenuhi kriteria *pricking*, yaitu munculnya 3-4 daun.

3.2.3 *Pricking*

Pricking dilakukan dalam tray dengan 72 lubang (6x12). Komposisi media tray sama dengan media dengan media untuk sebar benih pada nampan, yaitu campuran media *vermicompos* dan *coco peat* (1:1). Media yang dibutuhkan untuk tiap tray sebanyak ± 2 liter media. Kemudian ditambahkan pupuk NPK (5 gr/lt media) dan disiapkan larutan ridomil (0,5 gram/liter air). Semua bahan dicampur rata, dan larutan ridomil ditambahkan perlahan hingga media cukup lembap.



Gambar 3.5 Alat dan Bahan Pembuatan Media *Tray* (Dokumentasi pribadi, 2015).

Pricking dilakukan pada bibit yang telah memenuhi kriteria, yaitu munculnya 3-4 daun. *Tray* yang akan digunakan untuk pricking, disemprot air hingga ada air menetes dari lubang bagian bawah *tray*. Proses pricking dilakukan dengan alat pinset steril (dicelupkan dalam larutan sabun) untuk mengambil benih dari nampan dan kayu untuk membuat lubang tanam pada media *tray*. Bibit dicabut perlahan (dijepit dengan pinset di bagian daun), sehingga tidak merusak akar. Lalu, bibit dimasukkan ke dalam lubang tanam yang telah dibuat dan lubang ditutup kembali dengan media.

Setelah proses pricking selesai, *tray* diletakkan dalam ruangan selama ± 3 hari. Setelah masa adaptasi selesai, *tray* dapat dikeluarkan ke para-para yang ditutup dengan para-net. Sama seperti pemeliharaan benih pada nampan, yaitu dilakukan pengembunan setiap satu jam sekali (menyesuaikan kondisi cuaca).



Gambar 3.6 Proses *Pricking* (Dokumentasi pribadi, 2015).

Daun tembakau yang telah mencapai ukuran sebesar uang koin 500 rupiah, maka dilakukan *clipping* menggunakan silet steril. Hal tersebut untuk memperkokoh batang maupun akar dan memeratakan pertumbuhan. Setelah *clipping*, tidak boleh dilakukan penyiraman hingga hari berikutnya. Pertumbuhan bibit pada tray dilakukan selama 20-25 hari untuk kemudian penanaman pada polybag.



Gambar 3.7 Proses *Clipping* (A), Hasil *clipping* (B) (Dokumentasi pribadi, 2015).

3.2.4 Pemindahan pada *Polybag*

Pembuatan media *polybag* (dalam hal ini *polybag* yang dimaksudkan adalah plastik berukuran 3 kg dan ketebalan 0,5 mm yang diberi lubang sendiri) menggunakan campuran antara media kompos dan arang sekam (2:1). Keduanya dicampur hingga rata. Total *polybag* yang digunakan adalah 40 buah, dimana tiap varietas 10 *polybag* (@5 *polybag* untuk perlakuan dan kontrol) . Setiap *polybag* berisi satu tanaman dengan tinggi media \pm 16 cm. Pada *polybag* yang telah diberi label varietas, disiram hingga membasahi seluruh media, kemudian dibuat lubang tanam pada bagian tengah media *polybag* menggunakan kayu/bambu.

Pemindahan bibit dari tray ke *polybag* dengan mencabut bibit yang ukurannya seragam menggunakan tangan pada bagian daun (bukan batang), sambil menekan bagian bawah media *tray*. Bibit dimasukkan pada lubang tanam, kira-kira bibit tidak goyah dan lubang tanam ditutup kembali dengan media.



Gambar 3.8 Cara Penanaman Bibit pada *Polybag* (Dokumentasi pribadi, 2015).

Bibit yang baru saja ditanam kemudian diberi air secukupnya (dituang). Setelah semua bibit selesai ditanam, dibuat kembali lubang agak jauh dari bibit untuk tempat masuknya pupuk awal NPK sebanyak 3 gram/*polybag*. Kemudian dilakukan pengecekan pH tanah menggunakan *soil tester* agar sesuai dengan pH optimal bagi pertumbuhan tembakau yaitu 5,5 – 6,8 (Matnawi,1998).



Gambar 3.9 Cara Pemberian Pupuk NPK pada Tiap *Polybag* (A), Pengukuran pH Tanah Awal Menggunakan *Soil Tester* (B) (Dokumentasi pribadi, 2015).

Selama pertumbuhan pada *polybag*, dilakukan dua macam aklimatisasi, yaitu ± 7 hari tanpa penyiraman dan selanjutnya dengan penyiraman hingga bibit berumur 60-70 HSS (dosis penyiraman 50 ml air/*polybag* setiap hari). Selama aklimatisasi dilakukan sekali penyemprotan insektisida organtrin dengan dosis 1,5 ml/l air. Penyemprotan dilakukan dengan *sprayer*.

3.2.5. Pemberian Cekaman Genangan

Bibit yang telah mencapai umur 60-70 HSS dengan moroflogi 4-5 daun, kemudian dilakukan cekaman genangan dalam *container plastik* berukuran 40 cm x 30 cm x 20 cm. Setiap *container* diisi 3 polybag untuk varietas yang sama. Setiap *container* diberi label untuk pengukuran tinggi air dan label nama varietas. Perlakuan genangan tahap pertama dengan mengisi air pada *container* setinggi 13 cm hingga tercapainya kondisi bagian akar terendam dan tanah tersaturasi oleh air (*soil waterlogging*) selama 5 hari. Ketinggian air harus terus dijaga tetap 13 cm.



Gambar 3.10 Perlakuan Cekaman Genangan Tahap Pertama (Dokumentasi pribadi, 2015).

Perlakuan genangan tahap kedua dilakukan penambahan air pada *container* hingga merendam sebagian batang dan 1-2 daun pertama (*partial submergence*). Tahap kedua ini juga dilakukan selama 5 hari, sehingga total pemberian cekaman genangan selama 10 hari.



Gambar 3.11 Perlakuan Cekaman Genangan Tahap Kedua (Dokumentasi pribadi, 2015).

3.2.6. Preparasi Sampel dan Pengambilan Data Penelitian

Di akhir perlakuan, dilakukan preparasi pengamatan stomata saat tanaman masih di dalam *container* dan dilakukan sekitar pukul 09.00-10.00 WIB. Hal yang sama juga dilakukan pada tanaman kontrol. Tanaman dipisahkan dari tanah, kemudian dicuci. Pengambilan data morfologi dilakukan pada 3 tanaman dengan parameter panjang akar, jumlah akar adventif, tinggi tanaman, diameter batang, dan lebar daun. Penimbangan berat segar dilakukan segera setelah pengukuran morfologi selesai.

Preparasi sampel untuk data fisiologi lainnya (jumlah klorofil), anatomi dan biokimia dilakukan pada individu keempat dan kelima. Semua sampel disimpan dalam suhu rendah ± -20 hingga -30°C .

a. Pengamatan Anatomi

Sampel akar dan batang yang akan digunakan dicuci bersih, kemudian dianalisis susunan anatominya dengan teknik parafin yang sedikit dimodifikasi (Sass, 1951) :

Potongan sampel akar dan batang ± 2 cm, kemudian difiksasi dengan larutan FAA dalam alat desikator yang dilapisi telah vaselin agar kedap udara (formalin : asam asetat : alkohol 95% = 50 ml : 50 ml : 900 ml untuk setiap 1 liter larutan). Proses hidrasi (pengeluaran air dari jaringan) dalam desikator tersebut dilakukan selama 3x30 menit dengan jeda 15 menit/30 menit, kemudian arus listrik diputus dan didiamkan selama 24 jam (tetap dalam desikator). Larutan FAA dibuang, dan sampel disimpan dalam larutan alkohol 70% hingga tahap pemotongan.

- a. Dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi 80%, 95%, dan 100% masing-masing berturut-turut selama 2x30 menit.
- b. Sampel kembali di dehidrasi dalam 4 macam dehidran masing-masing 50 ml selama 2 jam, dan untuk dehidran keempat dilakukan selama 2x2 jam. Berikut macam komposisi dehidran yang digunakan :

Tabel 3.1 Tabel Macam Dehidran

Dehidran	Butanol (ml)	Alkohol Absolut (ml)	Aquades (ml)
I	5	10	35
II	12,5	15	22,5
III	35	10	5
IV	50	0	0

- c. Sampel kemudian direndam dalam parafin : dehidran IV 1:1 selama 8 jam dalam suhu kamar.
- d. Setelah didiamkan dalam suhu kamar, dehidran diganti dengan parafin murni yang baru dan dioven semalaman pada suhu 55°C.
- e. *Embedding* dilakukan dengan mengolesi permukaan cawan petri dengan gliserol 10%, kemudian parafin cair yang baru dituangkan secukupnya membentuk lapisan dasar cetakan. Saat parafin masih cair, sampel diletakkan di atasnya dan dituangkan parafin baru lagi hingga melapisi keseluruhan sampel (organ).
- f. Setelah hasil cetakan *embedding* mengeras, kemudian dipotong cetakan parafin pada tiap potongan sampel dan direkatkan pada cetakan (ara) alat mikrotom.
- g. Pemotongan cetakan dilakukan dengan ketebalan 8 mikron. Hasil potongan kemudian direkatkan pada gelas objek yang telah dilapisi larutan Mayer. Bahan pembuatan Mayer adalah campuran putih telur, gliserol (1:1), xylol, aquades dan formalin 40% (1 tetes saja agar sampel tidak berjamur).
- h. Pewarnaan dilakukan melalui beberapa tahap; deparafinisasi dengan xylol (3x@2 menit), hidrasi dengan alkohol 99 % (2x @2 menit) – 80% (2 menit) – 70% (2 menit) – air mengalir (10 menit). Dilakukan inkubasi dalam larutan haematoxylin Mayer selama 10 menit. Dicuci pada air mengalir selama 10 menit. Counterstaining dengan *safranin working solution* selama 2 menit; lama inkubasi bergantung pada umur safranin dan kedalaman warna yang diinginkan. Pelarut bahan pewarna adalah air.
- i. Tutup (*mounting*) dengan entelan (lem preparat) dan *cover glass*. Diberi label pada preparat tersebut dan dibiarkan hingga entelan mengering. Secara sederhana proses tersebut dapat digambarkan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 3.2 Tabel Rangkaian Proses Pengamatan Anatomi

Deparafinisasi	
Xylol I	5 menit
Xylol II	5 menit
Xylol III	5 menit
Hidrasi	
Alkohol I 99 %	2 menit
Alkohol II 99%	2 menit
Alkohol I 80%	2 menit
Alkohol II 80%	2 menit
Alkohol 70%	2 menit
Air mengalir	10 menit
Haematoxylin Meyer (primary stain)	10 menit
Air mengalir	10 menit
Eosin (counter stain)	2 menit
Dehidrasi	
Alkohol 70%	2 menit
Alkohol 80%	2 menit
Alkohol 99%	2 menit
Alkkohol 99%	2 menit
Clearing	
Xylol I	5 menit
Xylol II	5 menit
Mounting dengan entelan	

- j. Pengamatan anatomi struktur jaringan aerenkim pada akar dan batang dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 41 dengan perbesaran 400 kali. Hasil pengamatan dideskripsikan dalam bentuk foto menggunakan kamera digital.

b. Pengukuran Parameter Morfologi

Pengukuran parameter morfologi dilakukan pada tiga tanaman terpilih dan dilakukan pada akhir penelitian saja.

1. Panjang Akar

Panjang akar diukur mulai pangkal tumbuhnya akar hingga ujung akar dengan menggunakan penggaris.

2. Jumlah Akar Adventif

Akar adventif muncul di kedua node dan ruas, biasanya bercabang serta memiliki warna putih terang yang berbeda dengan akar serabutnya. Jumlah akar adventif dihitung tanpa mengikutsertakan cabang.

3. Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah sampai dengan ujung titik tumbuh tertinggi menggunakan penggaris. Tinggi tanaman merupakan ukuran tanaman yang paling mudah dilihat sebagai indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter untuk mengukur pengaruh lingkungan (Sitompul dan Guritno, 1995).

4. Diameter Batang

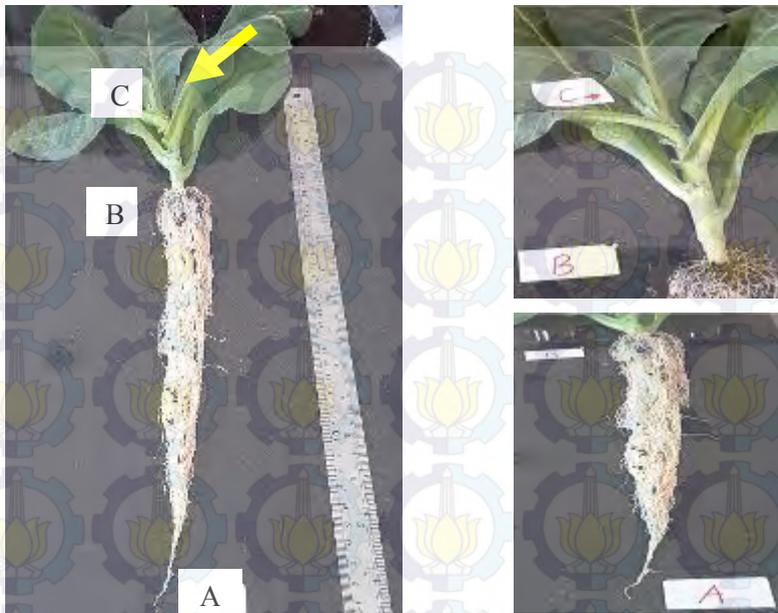
Parameter untuk diameter batang ini dilakukan mengukur besar diameter batang dari pangkal batang dengan menggunakan kaliper digital.

5. Lebar Daun

Lebar daun diukur sebagai diameter maksimum lingkaran imajiner yang dapat dipasang di mana saja dalam daun. Pengukuran lebar daun menggunakan penggaris pada sebuah permukaan daun yang terlebar.

6. Jumlah Daun

Jumlah daun dihitung pada daun yang telah mempunyai lembaran terbuka.



Gambar 3.12 Standar Pengukuran Morfologi (Dokumentasi pribadi, 2015).

Keterangan (A-B = Panjang Akar ; B-C = Tinggi Tanaman ; A Ujung Akar; B Pangkal Batang ; C Ujung Tunas/Titik Tumbuh Tertinggi)

c. Pengukuran Parameter Fisiologi

1. Biomassa Tanaman

Pengukuran berat basah dilakukan segera setelah tanaman dipisahkan dari media tanah, dicuci lalu ditimbang dengan neraca digital. Biomassa tanaman merupakan ukuran yang paling sering digunakan untuk mendiskripsikan dan mengetahui pertumbuhan suatu tanaman. Biomassa tanaman relatif mudah diukur dan merupakan gabungan dari hampir semua peristiwa yang dialami oleh suatu tanaman selama siklus hidupnya (Sitompul dan Guritno, 1995).

Pada akhir percobaan tanaman dipanen, dibungkus dalam koran dan dilapisi kembali dengan *aluminium foil* lengkap dengan pelabelannya. Kemudian, dikeringkan dalam oven pada temperatur 60°C selama 3 hari hingga berat konstan (Sitompul dan Guritno, 1995). Berat kering tanaman kemudian dapat ditentukan menggunakan neraca digital sebagai nilai *net photosynthesis*.

2. Jumlah Stomata Terbuka dan Tertutup

Pengamatan stomata dilakukan sebelum jam 10.00 WIB yang merupakan waktu pembukaan optimum stomata dan diaplikasikan pada luasan 10 cm² permukaan abaksial daun. Daun yang sudah dipilih, dibersihkan dengan tisu yang telah dibasahi dengan air. Setelah itu, diolesi dengan cat kuku bening untuk mendapatkan kesan dari permukaan daun. Ketika cat kuku dirasa sudah mengering, segera diberi isolasi, ditarik pelan-pelan dan isolasi ditempelkan pada permukaan kaca objek yang telah dilabeli. Kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 41 dengan perbesaran 400 kali pada dua bidang pandang yang berbeda untuk menentukan perbandingan jumlah stomata yang terbuka atau tertutup (Weyers dan Johanson, 1985). Proporsi relatif dari stomata terbuka dan tertutup terkait dengan pertukaran gas. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada individu yang berbeda per varietas, kemudian dirata-rata. Perhitungan prosentase stomata terbuka dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Rata-rata jumlah stomata terbuka}}{\text{Jumlah stomata dalam satu bidang pandang}} \times 100\%$$

kemudian dibandingkan dengan prosentase stomata tertutup yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Rata-rata jumlah stomata tertutup}}{\text{Jumlah stomata dalam satu bidang pandang}} \times 100\%$$

3. Klorofil Total Daun

Metode ekstraksi aseton dari Kirk (1968) dengan sedikit modifikasi, klorofil diekstraksi menggunakan larutan aseton 80%. Sekitar 0,2 g daun dihaluskan dalam mortar dengan larutan aseton 80%. Kemudian ditambah volumenya hingga 50 ml dan didiamkan selama 12 jam. Dilakukan ekstraksi menggunakan kertas saring dan corong kaca berukuran 40 mm. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam kuvet sebanyak 3 ml dan dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 663 dan 645 nm. Semua proses tersebut dilakukan dalam kondisi gelap. Kadar klorofil total dihitung dengan rumus (Harborne, 1987) :

$$\text{Klorofil Total} = 8,02 (A.663) + 20,2 (A.645) \text{ mg/L}$$



Gambar 3.13 Alat dan Bahan untuk Analisis Klorofil (Dokumentasi pribadi, 2015).

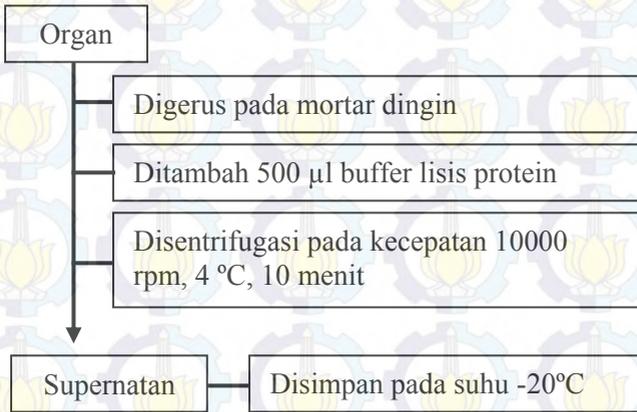
Keterangan (1=Filtrat Sisa Ekstraksi Pada Kertas Saring ; 2=Corong Kaca 40 Mm)

d. Pengamatan Profil Protein

Parameter biokimia dalam penelitian ini adalah analisis profil protein yang dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler

Universitas Brawijaya, Malang. Sampel yang digunakan adalah organ daun *N. tabacum* yang diambil saat akhir perlakuan cekaman genangan tahap 1/*waterlogging* dan akhir perlakuan cekaman genangan tahap 2/*partial submergence* (sampel dijaga dalam keadaan segar dengan menyimpannya pada suhu -30° sampai -40° C.)

1. Ekstraksi Protein



Gambar 3.14 Skema Kerja Ekstraksi Protein Organ Tanaman

Sebanyak 0,250 gram organ daun dan akar dicuci dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pH 7.4. Organ dihomogenasi dengan mortar dingin dan ditambah 500 µl buffer ekstrak protein. Homogenat dimasukkan dalam tabung 1.5 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm suhu 4° C selama 10 menit. Pellet dibuang dan supernatan dimasukkan tabung 1.5 ml yang baru kemudian disimpan pada suhu -20° C. Komposisi PBS meliputi campuran bahan : 10 mM Tris (pH 8); 100 mM NaCl; 1 mM EDTA; 1% Triton X-100 dan 0.1% SDS

2. Elektroforesis SDS-PAGE

a. Preparasi Sampel

Sampel protein yang telah didapat dari organ daun, ditambah dengan *Reducing Sample Buffer* (RSB) dengan perbandingan 1:1. Dipanaskan pada suhu 100⁰ C selama 5 menit.

b. Pembuatan *Separating Gel* 12,5% dan *Stacking Gel* 5%

Plate pembentuk *gel* disusun sesuai dengan prosedur penyusunan *plate* elektroforesis. *Separating gel* 12,5% dibuat dengan komposisi 3,125 ml stok poliakrilamid 30% ; 1,505 ml Tris pH 8,8 (1 M); 2,75 ml aquades, 75 µl SDS 10%; 75 µl APS 10% ; dan 5 µl TEMED. Larutan segera dituang ke dalam *plate* pembentuk *gel* menggunakan mikropipet 1 ml hingga batas yang terdapat pada *plate*. Aquades ditambahkan perlahan di atas larutan *gel* dalam *plate* agar permukaan *gel* tidak bergelombang. *Gel* dibiarkan memadat selama ± 30 menit (ditandai dengan terbentuknya garis transparan diantara batas air dan *gel* yang terbentuk). Setelah itu, air yang menutup *separating gel* dibuang. *Stacking gel* 5% dibuat dengan komposisi 0,45 stok poliakrilamid 30%; 0,38 ml Tris pH 6,8 (1 M); 2,11 ml aquabidest; 30 µl SDS 10%; 30 µl APS 10% dan 5 µl TEMED. *Stacking gel* dituang ke dalam *plate* dan dipasang sisiran *gel*.

c. Pemasangan *Plate* dan *Running*

Plate berisi *gel* dimasukkan dalam *chamber elektroforesis*. *Running buffer* pH 8,3 dituang hingga batas atas dan bawah *gel* terendam. Sisiran diangkat pada *plate* sehingga terbentuk sumuran *gel*. Sampel sebanyak 10-30 µl dimasukkan ke dalam sumuran *gel*. *Running* dimulai dengan menghubungkan perangkat elektroforesis ke *power supply*. *Running*

dilakukan pada *constant current* 20 mA selama \pm 3 jam atau hingga *tracking dye* mencapai jarak 0,5 cm dari dasar *gel*. Setelah selesai, *running buffer* dituang dan *gel* diambil dari *plate*.

d. Pewarnaan Gel

Gel direndam dalam 20 ml *staining solution* (dengan komposisi 10% asam asetat glasial; 50% metanol; 0,05% CBB R250 dan 40% aquades) sambil digoyang selama \pm 15 menit. *Staining solution* kemudian dituang kembali pada wadahnya. Setelah dicuci dengan air beberapa kali, *gel* direndam dalam 50 ml *destaining solution* (dengan komposisi 10% asam asetat glasial; 50% metanol; dan 40% aquades) sambil digoyang selama \pm 30 menit atau sampai *band protein* terlihat jelas. Analisis perhitungan berat molekul dilakukan dengan membandingkan pada standar marker, yaitu Bovine Serum Albumine (BSM).

3. Identifikasi Profil Protein

Profil protein yang diamati meliputi Berat Molekul (BM), keberadaan pita protein, tebal tipis pita protein dan jumlah protein yang terbentuk pada organ daun. Perbedaan respon tanaman terhadap cekaman genangan ditetapkan berdasarkan protein lain yang terbentuk, dimana tidak dimiliki oleh kontrol.

4. Pembuatan Kurva Standar

Nilai Berat Molekul (BM) protein dihitung dengan menggunakan kurva standar ($y = ax + b$). Kurva standar dibuat dengan mengukur jarak band marker dari sumuran. Jarak band tersebut digunakan sebagai ordinat dari kurva (sumbu X). Sumbu Y dari kurva merupakan nilai log dari BM band marker yang telah diketahui sebelumnya. Dari nilai X dan Y yang diperoleh, maka dibuat Kurva Standar dengan Persamaan Linear menggunakan MS. Excell

2013. Dari kurva yang diperoleh dapat dianalisa hubungan antara BM protein terhadap jarak yang ditempuh band dari sumurannya akibat elektroforesis.

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

3.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 macam varietas uji terhadap cekaman genangan periodik. Macam varietas tersebut diantaranya Japon Pelakean, Jinten, Manilo dan Marakot yang masing-masing memiliki 3 kali ulangan.

Tabel 3.3 Tabel Rancangan Percobaan

Varietas	Parameter Pertumbuhan		
	1	2	3
A			
B			
C			
D			

a. Bagan Percobaan

Tabel 3.4 Tabel Randomisasi Percobaan

A1	C1	D1	B1
C2	A2	B2	D2
C3	B3	A3	D3

$$\begin{aligned} \text{Unit percobaan} &= t \times r \\ &= 4 \times 3 \\ &= 12 \end{aligned}$$

t = jumlah perlakuan ;

r = jumlah pengulangan

Keterangan :

A1 = varietas jepon pelakean pada ulangan ke-1

A2 = varietas jepon pelakean pada ulangan ke-2

A3 = varietas jepon pelakean pada ulangan ke-3

B1 = varietas jinten pada ulangan ke-1

B2 = varietas jinten pada ulangan ke-2

B3 = varietas jinten pada ulangan ke-3

C1 = varietas manilo pada ulangan ke-1

C2 = varietas manilo pada ulangan ke-2

C3 = varietas manilo pada ulangan ke-3

D1 = varietas marakot pada ulangan ke-1

D2 = varietas marakot pada ulangan ke-2

D3 = varietas marakot pada ulangan ke-3

b. Tabel Hasil Pengamatan

Tabel 3.5 Tabel Hasil Pengamatan Pada Varietas Jepon Pelakean

Varietas Parameter	Jepon Pelakean		
	1	2	3
TT (Tinggi Tanaman)			
DB (Diameter Batang)			
PA (Panjang Akar)			
LD (Lebar Daun)			
JK (Jumlah Klorofil)			
SB (Stomata Terbuka)			
ST (Stomata Tertutup)			
BO (Biomassa)			

Tabel 3.6 Tabel Hasil Pengamatan Pada Varietas Jinten

Varietas Parameter	Jinten		
	1	2	3
TT (Tinggi Tanaman)			
DB (Diameter Batang)			

PA (Panjang Akar)			
LD (Lebar Daun)			
JK (Jumlah Klorofil)			
SB (Stomata Terbuka)			
ST (Stomata Tertutup)			
BO (Biomassa)			

Tabel 3.7 Tabel Hasil Pengamatan Pada Varietas Manilo

Varietas Parameter	Manilo		
	1	2	3
TT (Tinggi Tanaman)			
DB (Diameter Batang)			
PA (Panjang Akar)			
LD (Lebar Daun)			
JK (Jumlah Klorofil)			
SB (Stomata Terbuka)			
ST (Stomata Tertutup)			
BO (Biomassa)			

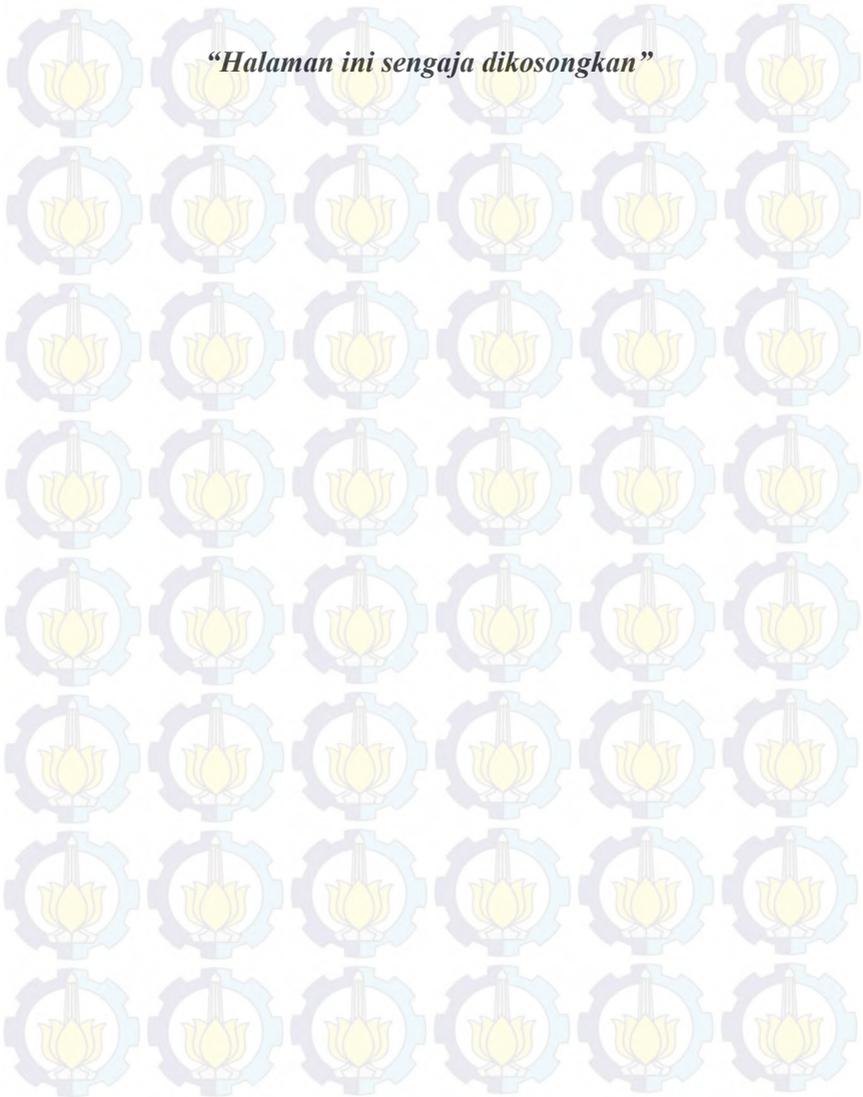
Tabel 3.8 Tabel Hasil Pengamatan Pada Varietas Marakot

Varietas Parameter	Marakot		
	1	2	3
TT (Tinggi Tanaman)			
DB (Diameter Batang)			
PA (Panjang Akar)			
LD (Lebar Daun)			
JK (Jumlah Klorofil)			
SB (Stomata Terbuka)			
ST (Stomata Tertutup)			
BO (Biomassa)			

3.3.2 Analisa Data

a. ANNOVA dan Uji Tukey

Data yang diperoleh diuji dengan Analisis Varian (ANNOVA) *One Way* (satu faktor) untuk mengetahui perbedaan respon pada parameter setelah diberi perlakuan (kecuali hasil analisis profil protein dianalisis secara deskriptif). Jika terdapat beda nyata, kemudian dilanjutkan dengan Uji *Tukey* taraf 95%.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan tanaman akan terhambat secara signifikan dalam kondisi hipoksia maupun anoksia, karena akar dan tanah tersaturasi jenuh oleh air (Sairam *et al.*, 2008). Kondisi tersebut mengakibatkan tanaman mengembangkan berbagai respon untuk dapat bertahan hidup, baik secara anatomi, morfologi, fisiologi dan molekuler (Colmer & Voeselek, 2009 dalam Striker, 2012). Respon anatomi yang paling umum terjadi adalah pembentukan aerenkim (Justin & Armstrong, 1987; Seago *et al.*, 2005.), yang berfungsi untuk memfasilitasi transpor oksigen dari tunas ke akar (Pistelli *et al.*, 2012 dalam Striker, 2012).

Respon morfologi secara umum yang dilakukan oleh tanaman, diantaranya terbentuknya akar adventif dan peningkatan tinggi tanaman. Hal ini berdampak pada meningkatnya biomassa organ aerial, yaitu pada organ batang (Grimoldi *et al.*, 1999 dalam Carolina *et al.*, 2015). Respon morfologi tersebut dilakukan tanaman untuk memfasilitasi distribusi oksigen ke jaringan yang terendam melalui jaringan aerenkim (Laan *et al.*, 1990; Colmer, 2003a). Beberapa respon morfologi lain yang teramati adalah terjadinya daun layu (*wilting*), penuaan dini pada daun, dan peningkatan diameter batang (Dennis *et al.*, 2000 dalam Carolina *et al.*, 2015).

Respon fisiologis tanaman terhadap cekaman genangan sangat bergantung pada tingkat toleransi suatu spesies tanaman. Respon fisiologis tersebut dapat berupa penutupan stomata, pengurangan transpirasi dan penghambatan fotosintesis (Mollard *et al.*, 2008; 2010 dalam Carolina, 2015). Tanaman juga merespon kondisi anoksia dengan meregulasi sintesis protein khusus untuk kondisi anaerob (Poliptida Anaerobik/ANPS) (Sachs *et al.*, 1980).

4.1 Respon Morfologi Terhadap Cekaman Genangan Peridoik

4.1.1 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman merupakan respon umum yang terjadi pada tanaman yang tercekam genangan. Hal ini dapat terjadi sebagai akibat interaksi hormon-hormin tanaman, diantaranya Asam Absisat (ABA), Giberelin (GA) dan Etilen (Jackson, 2008).



Gambar 4.1 Grafik Rerata Tinggi Tanaman Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik di atas terlihat bahwa diantara keempat varietas uji yang diberi perlakuan, hanya Varietas Jepon Pelakean yang menunjukkan peningkatan tinggi tanaman. Sedangkan tiga varietas uji lain menunjukkan respon sebaliknya, yaitu penurunan tinggi tanaman dibandingkan kontrol. Hasil ini sesuai dengan perhitungan statistik ANNOVA-One Way yang menunjukkan P-value sebesar 0,788 yang lebih besar dari α 0,05.

Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian cekaman genangan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter tinggi tanaman. Pada dasarnya, setiap varietas memiliki respon yang berbeda berdasarkan interaksi hormonal dalam internal tanaman tersebut. Hal ini juga terjadi pada penelitian sebelumnya oleh Dubois *et al.* (2011), yang menunjukkan bahwa antar varietas padi yang satu dengan yang lain menunjukkan respon berbeda dalam tinggi tanaman. Perbedaan respon tersebut juga dikarenakan faktor hormon-hormon yang terlibat dalam kondisi tercekam, diantaranya etilen, ABA dan GA.

Varietas Jepon Pelakean menunjukkan respon umum yang terjadi pada tanaman yang tercekam genangan, yaitu hipertrofi batang dibanding kontrol. Mekanisme respon adaptasi hipertrofi batang tersebut memerlukan biosintesis hormon giberelin (GA) yang bergantung pada ketersediaan hormon asam absisat (ABA). Pada dasarnya, akumulasi etilen yang meningkat di bawah kondisi hipoksia menyebabkan regulasi tingkat ABA menurun melalui penghambatan ekspresi 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase dan melalui aktivasi pemecahan ABA menjadi *phaseic acid*. Hal ini tentu menyebabkan penurunan kandungan ABA endogen yang diperlukan dalam stimulasi ekspresi GA 3-oxidase (sebuah enzim yang mengkatalis perubahan menjadi giberelin bioaktif /GA1). Di samping itu, peningkatan hormon etilen endogen akan menghasilkan pH yang lebih rendah dalam apoplas yang membantu merangsang pelonggaran dinding sel sebagaimana tahapan yang dibutuhkan untuk mengawali pemanjangan sel (Jackson, 2008).

Terjadinya hipertrofi batang dalam kondisi hipoksia/anoksia, berkaitan dengan adanya komposisi jaringan spons putih yang memiliki volume antar ruang gas yang besar (Armstrong *et al.*, 1994). Jaringan tersebut merupakan aerenkim sekunder yang terbentuk secara eksternal dari felogen dan merupakan homolog dari jaringan gabus (Shimamura *et al.*, 2010; Teakle *et al.*, 2011). Perannya adalah meningkatkan ruang gas yang memungkinkan untuk terjadinya kenaikan pergerakan gas

antara jaringan yang terendam dan tidak terendam (Teakle *et al.*, 2011). Adapun beberapa spesies yang telah diteliti sebelumnya dan dapat mengembangkan hipertrofi pada batang adalah *Lythrum salicaria* (Stevens *et al.*, 1997), *Lotus uliginosus* (James & Sprent, 1999), *L. tenuis* (Striker *et al.*, 2005), *Glycine max* (Shimamura *et al.*, 2010; Melilotus Siculus, 2010 dan Teakle *et al.*, 2011).

Sebaliknya, pada Varietas Marakot, Manilo dan Jinten menunjukkan respon yang berlawanan dengan Varietas Jepon Pelakean. Ketiga varietas tersebut menunjukkan tinggi tanaman kurang dari kontrol. Pada penelitian Dubois *et al.* (2011) yang memberikan cekaman genangan antara dua varietas padi menunjukkan respon yang berbeda pula. Varietas *lowland-rice* menunjukkan respon yang berbeda dari varietas *deepwater-rice* yang mengalami pemanjangan batang seperti pada umumnya. Varietas *lowland-rice* ini meningkatkan ekspresi gen *SUB1A* yang menekan pembentukan GA melalui peningkatan represor SLR1 dan SLRL1. Sehingga, dapat diduga bahwa varietas Marakot, Manilo, dan Jinten juga meningkatkan ekspresi gen *SUB 1A-like* yang berperan dalam biosintesis GA. Kemudian gen *SUB 1A-like* meningkatkan ekspresi represor SLR1 dan SLRL1 yang menekan sintesis GA. Hal ini kemudian memunculkan morfologi batang ketiga varietas tersebut lebih kecil dibandingkan kontrol.

4.1.2 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Panjang Akar

Kelebihan air selama cekaman genangan dapat mengurangi ketersediaan oksigen pada akar tanaman, sehingga menghalangi difusi gas ke dalam sel tanaman (Sanchez-Blanco *et al.*, 1994; Drew, 1997; Amador *et al.*, 2012). Penelitian sebelumnya pada tanaman alpukat (*Persea americana*), menyatakan bahwa menurunnya kandungan oksigen dapat menyebabkan pertumbuhan akar menurun dan nekrosis pada akar (Gil *et al.*, 2009).

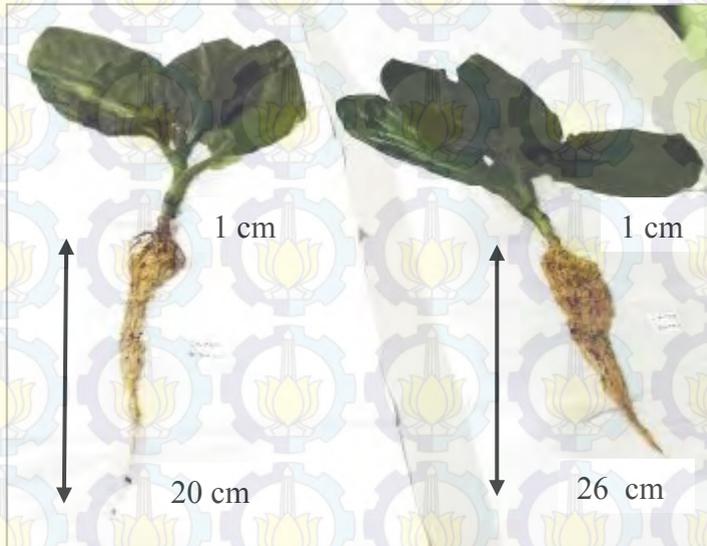


Gambar 4.2 Grafik Rerata Panjang Akar Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik di atas, keempat varietas uji menunjukkan penurunan panjang akar dibandingkan kontrol. Rerata penurunan panjang akar terbesar terjadi pada Varietas Marakot, yaitu 20,99 cm dibandingkan 34,23 cm pada kontrol. Sedangkan pada ketiga varietas uji lain menunjukkan perubahan yang tidak jauh berbeda dengan tanaman kontrol. Sejalan dengan hal tersebut, hasil analisa statistik menunjukkan tidak adanya pengaruh yang signifikan pada parameter panjang akar, yaitu dengan P-value sebesar 0,240 ($> \alpha 0,05$).

Menurunnya pertumbuhan akar tersebut disebabkan oleh adanya peningkatan hormon etilen di bawah kondisi hipoksia/anoksia. Hal ini juga memicu terjadinya peningkatan enzim AIP (*anoxia-induced protease*) pada ujung akar sebelum 24 jam penggenangan (*submergenced*) yang menginisiasi kematian jaringan pada akar tanaman. Enzim AIP merupakan

protein inhibitor yang disintesis di bawah kondisi anoksia dengan kisaran berat molekul 22 ± 25 kDa. Enzim ini semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu dan aktivitas proteolitik pada akar yang tergenang (*submerged*) selama 48 jam (Subbaiah *et al.*, 2000). Selain itu, terjadi peningkatan ekspresi gen *XET1* yang diinduksi pada akar jagung dalam kondisi anoksia dan memungkinkan keterlibatannya dalam proses kematian ujung akar tanaman (Saab dan Sachs, 1996).



Gambar 4.3 Perbandingan Panjang Akar Varietas Jinten Perlakuan (A) dan Kontrol (B) (Dokumentasi pribadi, 2015).

4.1.3 Dampak Cekaman Genangan Terhadap Kemunculan Akar Adventif

Kemunculan akar adventif ini merupakan salah satu respon umum tanaman yang tergenang untuk mendapat suplai oksigen yang menurun, utamanya pada akar. Etilen dan Auksin saling berinteraksi mengendalikan pembentukan akar adventif. Pengaruh Etilen pada tiap spesies berbeda-beda, dimana sebagian

besar berdampak positif membentuk akar adventif (Roy *et al.*, 1972; review dalam De-Klerk *et al.*, 1999; Clark *et al.*, 1999; Negi *et al.*, 2010), namun sebagian kecil spesies menunjukkan respon penghambatan (Coleman *et al.*, 1980; Nordstrom dan Eliasson, 1984), atau tidak berdampak signifikan (Batten dan Mullins, 1978).



Gambar 4.4 Grafik Rerata Jumlah Kemunculan Akar Adventif Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Interaksi kedua hormon tersebut juga diduga berbeda pada keempat varietas uji dalam pembentukan akar adventif, baik dari segi waktu pembentukan maupun jumlah. Pada hari ke-4 perlakuan, beberapa varietas telah memunculkan akar adventifnya hingga ke permukaan tanah, yaitu varietas Jepun Pelakean dan Marakot. Sedangkan pada varietas Jinten dan Manilo muncul pada hari ke 5-6 perlakuan. Dari segi jumlah, rerata kemunculan akar adventif tertinggi terjadi pada varietas Jepun Pelakean yaitu sebanyak 11 buah tiap individunya, kemudian Varietas Marakot

yang memiliki rerata 10 akar adventif tiap individunya. Sedangkan pada tanaman kontrol, sama sekali tidak memunculkan akar adventif, hal ini dikarenakan tanaman *N. tabacum* yang ditumbuhkan secara normal tergolong tanaman terestrial (tanah tidak tersaturasi jenuh oleh air). Hasil perhitungan statistik ANNOVA-One Way menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter kemunculan akar adventif ini, dimana *P-value* sebesar 0,149 ($> \alpha$ 0,05).

Saat kondisi hipoksia, terjadi peningkatan aktivitas dari 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase, yang merupakan sebuah enzim utama dalam biosintesis etilen (He *et al.*, 1994; Sairam *et al.*, 2008). Pada penelitian sebelumnya oleh Visser *et al.* (1996), pembentukan akar adventif *Rumex palustris* terjadi melalui peran etilen yang dapat meningkatkan sensitivitas auksin dan memediasi transpor auksin secara basipetal dari tunas ke akar. Sehingga akumulasi auksin tersebut, kemudian memunculkan akar adventif di sekitar pangkal batang. (Riov and Yang, 1989; Visser *et al.*, 1996).

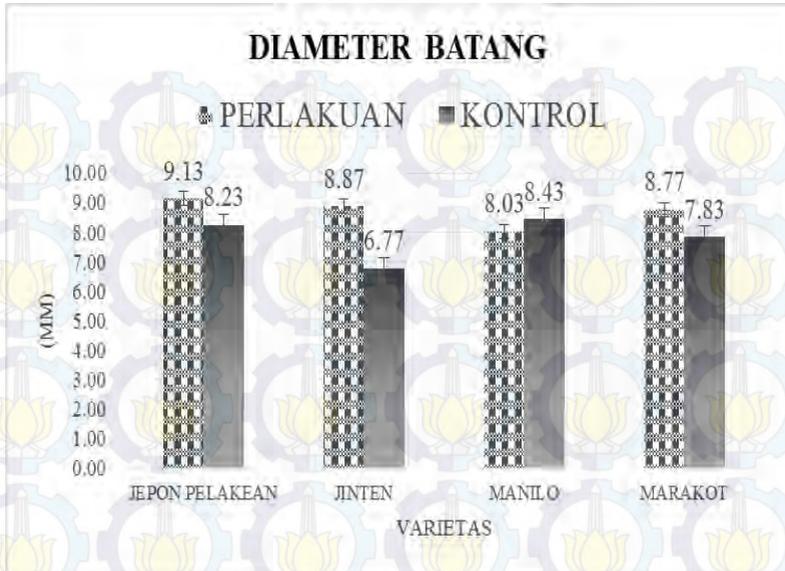
Akar adventif diperlukan untuk mempertahankan pertumbuhan tanaman selama tanaman terendam (waterlogged) menjaga kesinambungan pengambilan nutrisi dan air (Sairam *et al.*, 2008). Sehingga, pada penelitian ini, munculnya akar adventif pada keempat varietas uji dapat mendukung pertumbuhannya selama perlakuan. Hal ini terbukti pada jumlah populasi yang tetap hingga akhir perlakuan.



Gambar 4.5 Kemunculan Akar Adventif pada Varietas Marakot yang Diberi Perlakuan (Dokumentasi pribadi, 2015).

4.1.4 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Diameter Batang

Respon peningkatan diameter batang pada tanaman yang tercekam genangan merupakan strategi adaptasi melalui pembentukan aerenkim, sehingga menambah diameter batang. Adapun pembentukannya dikontrol oleh peningkatan hormon etilen endogen pada jaringan yang terendam dan memicu ekspresi Xyloglucan Endotransglycosylase (XET) (Drew *et al.*, 2000).



Gambar 4.6 Grafik Perubahan Diameter Batang Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik diatas, pada Varietas Jepon Pelakean, Jinten, dan Marakot memiliki diameter batang lebih besar dibanding tanaman kontrol. Sedangkan hanya pada varietas manilo yang menunjukkan penurunan diameter batang yang ditunjukkan dengan nilai rata-rata antara tanaman kontrol dan perlakuan yang berselisih 0,4 saja. Berdasarkan hasil analisis statistik ternyata parameter diameter batang belum menunjukkan respon yang signifikan berbeda diantara keempat varietas. Hal ini terlihat dari P-value yang muncul sebesar 0,076 ($> \alpha 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian cekaman genangan secara periodik selama 10 hari, keempat varietas uji menunjukkan respon yang sama (tolak H_0).

Pembentukan aerenkim ditunjukkan oleh tanaman sebagai respon saat ketersediaan oksigen rendah, yang membantu memfasilitasi difusi gas (seperti O_2) antara akar hipoksia/anoksia

dengan lingkungan aerialnya (Garthwaite *et al.*, 2008; Pistelli *et al.*, 2012). Di bawah kondisi hipoksia, pembentukan aerenkim melibatkan kematian sel akibat peningkatan laju biosintesis etilen (Jackson, 1985; He *et al.*, 1994; Gunawardena *et al.*, 2001). Jaringan aerenkim ini juga terbentuk pada organ batang dimana membentuk sebuah sistem yang saling berhubungan dari daun ke ujung akar (Mommer *et al.*, 2007; 2006).

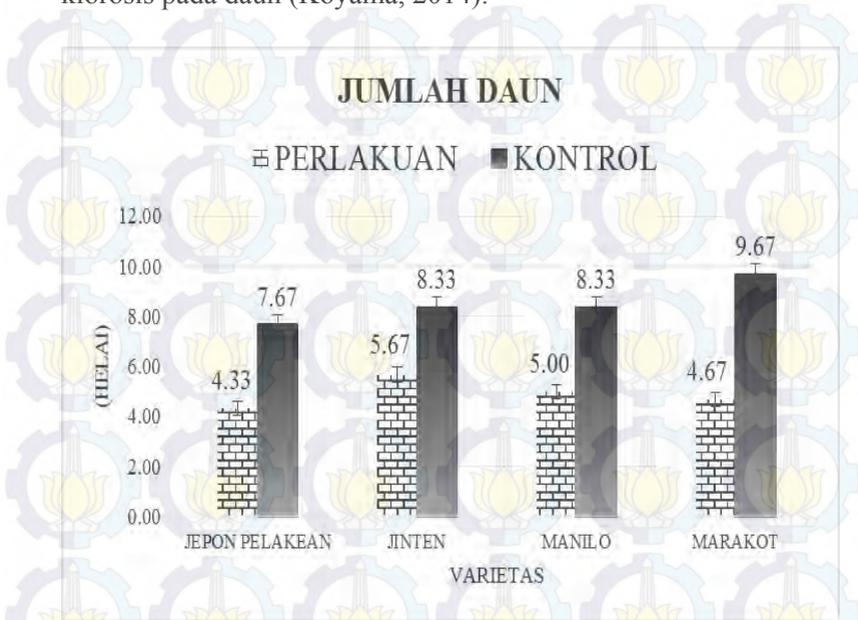
Pembentukan aerenkim dipicu oleh peningkatan sensitivitas hormon etilen endogen (He *et al.*, 1992). Dalam kondisi tergenang, konsentrasi subambien O₂ merangsang produksi etilen di akar, yang kemudian akan terakumulasi di dalamnya dan menginduksi *Program Cell Death* (PCD) atau kematian sel dalam jaringan korteks (He *et al.*, 1996). Selain itu, peningkatan etilen juga berdampak dalam meningkatkan enzim selulase pada akar yang berperan dalam lisis sel (Drew, 1992; Grineva and Bragina, 1993; He *et al.*, 1994). Kemudian terjadi pula peningkatan aktivitas pektinase maupun xylanase yang berperan untuk mendegradasi polisakarida pada dinding sel (Lasanthi *et al.*, 2007 ; Liu *et al.*, 2005 ; Sab dan Sachs., 1996).

Penelitian sebelumnya pada spesies *Zea mays*, cekaman genangan menginduksi ekspresi gen *XET1* yang mengkode pembentukan XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLYCOSYLASE (XET1), yang merupakan sebuah enzim yang berperan dalam pelonggaran dinding sel (Peschke dan Sachs, 1994; Saab dan Sachs, 1995, 1996). Kekurangan oksigen memicu pembentukan XET1 pada akar primer, mesokotil dan koleoptil. Induksi XET1 oleh kondisi hipoksia berasosiasi dengan pembentukan aerenkim (Saab dan Sachs, 1996).

4.1.5 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Jumlah Daun

Jumlah daun pada tanaman yang tercekam genangan mengalami penurunan dengan adanya interaksi antara hormon etilen dan ABA (Koyama, 2014). Menurunnya jumlah daun ini dapat terjadi melalui penuaan dini pada daun dan pengguguran

daun. Hal ini sebelumnya diperantarai pula dengan terjadinya klorosis pada daun (Koyama, 2014).



Gambar 4.7 Grafik Perubahan Jumlah Daun Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik diatas, terlihat bahwa keempat varietas uji menunjukkan respon penurunan jumlah daun akibat pemberian perlakuan cekaman genangan periodik. Rerata penurunan daun terbesar terjadi dalam varietas marakot, yaitu 9,67 pada kontrol, yang kemudian menurun reratanya menjadi 4,67 pada perlakuan. Parameter jumlah daun ini menunjukkan respon yang berbeda nyata pada keempat varietas uji setelah dianalisis menggunakan ANNOVA-One Way (P -value = 0,055). Sehingga dilanjutkan dengan Uji Tukey. Hasil ini juga sesuai dengan data pada grafik, bahwa parameter jumlah daun menyebabkan penurunan yang signifikan berbeda dibanding

kontrol maupun antar varietas uji. Berikut pengelompokan varietas berdasar uji Tukey (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Pengelompokan Respon Varietas Hasil Uji Tukey
Keterangan (1 = Jepon Pelakean; 2 = Jinten; 3= Manilo; Marakot)

Varietas	Rata-rata ± Standar Deviasi*
Jinten	4.33 ± 1.53 ^a
Manilo	5.67 ± 1.15 ^{ab}
Marakot	5.00 ± 0.58 ^{ab}
Jepon Pelakean	4.67 ± 0.58 ^b

*rata-rata ± standar deviasi yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata berdasarkan uji ANNOVA dan uji lanjut Tukey pada taraf signifikansi 95%

Penuaan dini pada tanaman terjadi dengan meningkatnya hormon etilen yang menginduksi peningkatan faktor transkripsi (TFs) dan ekspresi gen SAGs yang meregulasi pengguguran daun (Gan dan Amasino, 1997; Buchnann-Wollaston *et al.*, 205; Veyres *et al.*, 2008). Beberapa contoh TFs diantaranya NO APICAL MERISTEM, *Arabidopsis* TRANSCRIPTION ACTIVATION FACTOR, CUP-SHAPED COTYLEDON (NAC), dan APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR (AP2/ERF). ERF secara langsung menekan ekspresi gen *EPITHIOSPECIFIER PROTEIN / EPITHIOSPECIFYING SENESCENSE REGULATOR (ESP/ESR)* yang merupakan regulator negatif dari respon penuaan pada daun (Miao dan Zentgraf, 2007; Koyama *et al.*, 2013).

Jalur pensinyalan etilen diawali dengan mentransmisikan sinyal ke CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPINSE1) dan ETHYLENE INSENSITIVE2 (EIN2), yang merupakan protein membran integral (Ju *et al.*, 2012; Qiao *et al.*, 2012). Setelah

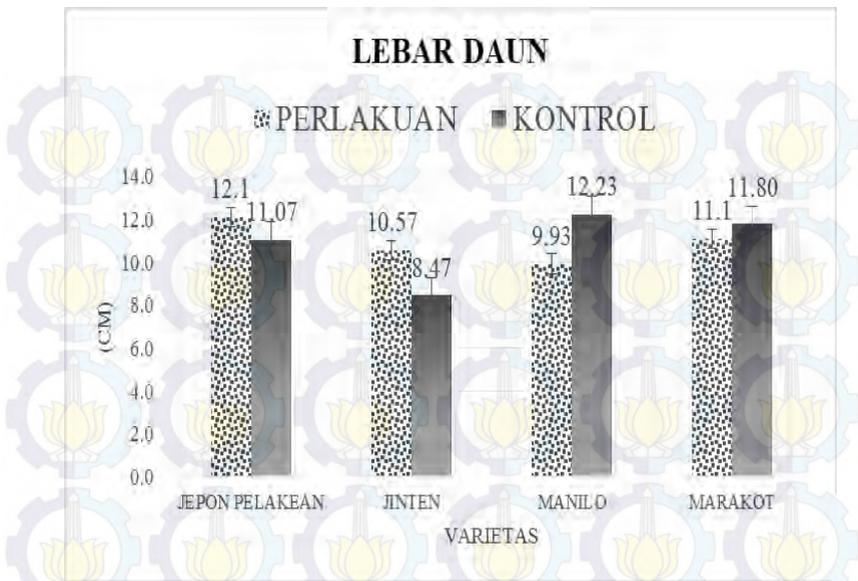
melalui membran sel, kemudian ditranslokasikan ke nukleus dan mengaktifasi faktor transkripsi ETHYLENE-INSENSITIVE3 (EIN3) maupun EIN3-LIKE (EIL). EIN3 mengontrol gen *AtNAP* yang secara positif meregulasi penuaan daun dan mengaktifasi komponen jalur pensinyalan ABA. ABA juga berperan untuk penuaan daun maupun merespon cekaman abiotik yang terjadi (Guo dan Gun, 2006; Zhang dan Gan, 2012).



Gambar 4.8 Kerusakan Daun Akibat Kondisi *Partial Submergence* (Dokumentasi pribadi, 2015).

4.1.6 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Lebar Daun

Tanaman merepon kondisi cekaman genangan dengan mengubah keseimbangan hormon dan pertumbuhan abnormal yang dimungkinkan terjadi karena over-produksi hormon etilen (Grichko dan Glick, 2001; Saleem *et al.*, 2007). Pertumbuhan abnormal yang terjadi saat kondisi hipoksia/anoksia, utamanya dalam hal lebar daun adalah meurunnya lebar daun. Kondisi ini juga diperparah dengan defisiensi nutrien yang utamanya mempengaruhi pertumbuhan tanaman dalam kondisi cekaman genangan (Steffens *et al.*, 2005).

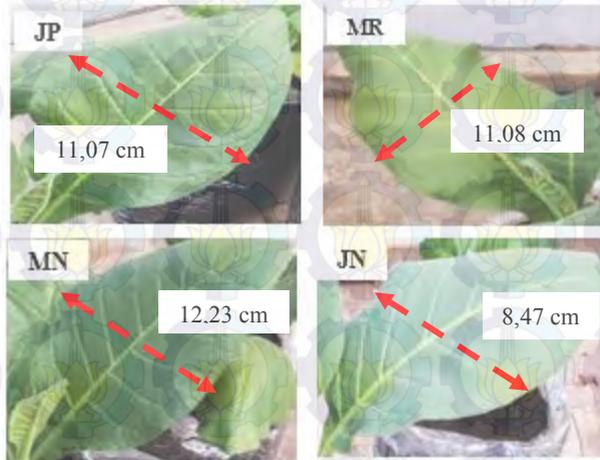


Gambar 4.9 Grafik Perubahan Lebar Daun Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik diatas, varietas Jepon Pelakean dan Jinten, menunjukkan lebar daun yang lebih besar dibanding tanaman kontrol. Berbeda halnya dengan varietas manilo dan marakot yang memiliki rata-rata lebar daun lebih kecil dibandingkan tanaman kontrol. Analisa statistik menunjukkan P value sebesar $0,149 > 0,05$, sehingga dikatkan bahwa perlakuan cekaman genangan tidak memberikan pengaruh yang signifikan diantara keempat varietas uji berdasarkan parameter lebar daun.

Perbedaan lebar daun dari keempat varietas uji tersebut, juga disebabkan oleh karakter morfologi daun masing-masing varietas. Dari keempat varietas uji yang digunakan, varietas Jinten yang memiliki daun lebih lonjong dibanding ketiga varietas lainnya. Sehingga pada grafik 4.8 terlihat rerata kontrol paling rendah dibanding ketiga varietas lain. Namun, jika dibandingkan dengan kontrol, varietas manilo mengalami penurunan rerata

lebar daun paling tinggi, sebesar 2,3. Hal ini dapat dikaitkan pada interaksi hormonal yang berbeda pada setiap varietas, utamanya hormon sitokinin yang mengalami penurunan dalam kondisi hipoksia/anoksia (Burrows dan Carr, 1969).



Gambar 4.10 Morfologi Daun Keempat Varietas Uji pada Kontrol (Dokumentasi pribadi, 2015).

Keterangan (JP= Varietas Jepon Pelakean; MR= Varietas Marakot; MN= Varietas Manilo; JN=Varietas Jinten)

Dalam waktu satu hari cekaman genangan, konsentrasi hormon sitokinin dilaporkan memiliki konsentrasi sangat rendah pada pembuluh xylem. Hal ini sebagai akibat menurunnya sintesis sitokinin pada akar, yang disebabkan oleh kondisi hipoksia/anoksia. Sehingga, hal tersebut menyebabkan ketidakmampuan akar dalam mentranspor sitokinin ke organ aerial dari tanaman, yaitu daun dan batang (Burrows dan Carr, 1969). Akibatnya, sitokinin yang rendah di organ aerial, utamanya organ daun menyebabkan terhambatnya pembelahan sel dan mempengaruhi rerata lebar daun perlakuan yang lebih sempit dari kontrol. Sitokinin disintesis pada meristem ujung akar (Short dan Torrey, 1972), yang menjadi tempat paling awal menurunnya

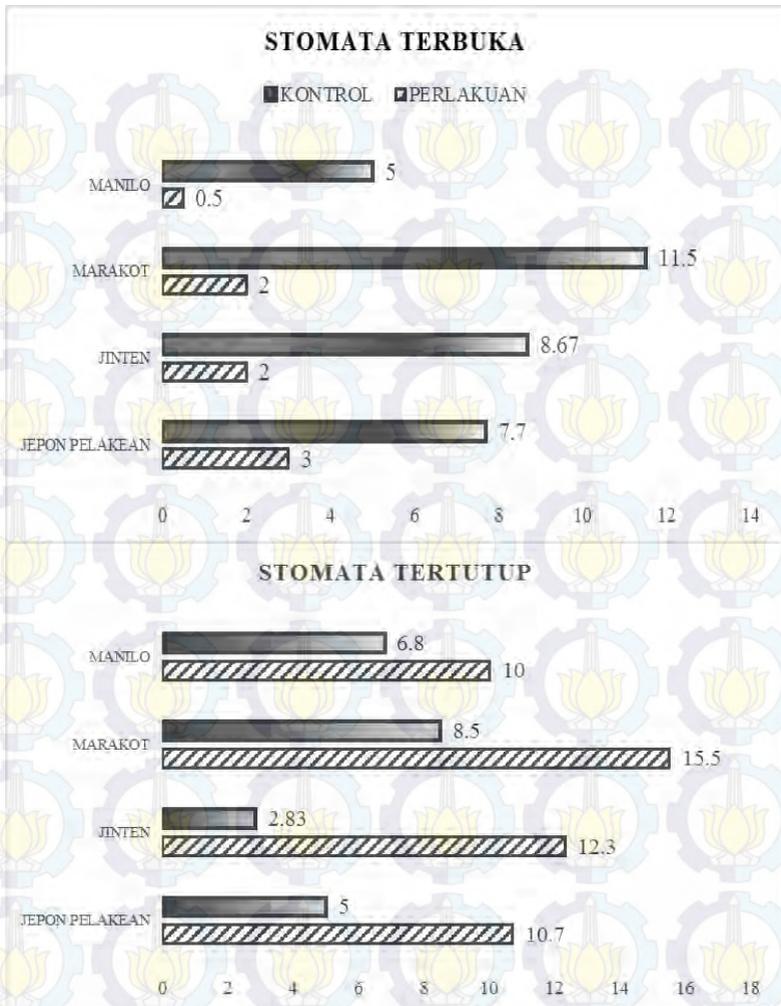
aktivitas metabolik dan kematian sel dibanding jaringan lain (VanToai *et al.*, 1995). Berkaitan dengan hal tersebut, diduga terjadi penurunan ekspresi dari gen *IPT* yang mengkode isopentenyl transferase dalam inisiasi dan pembatasan tahapan jalur biosintesis sitokinin. Bila dibandingkan dengan kontrol, diduga ekspresi gen *IPT* terjadi secara normal, dan mengakibatkan pertumbuhan normal organ daun.

4.2 Respon Fisiologi Terhadap Cekaman Genangan Peridoik

4.2.1 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Stomata

Hasil pengamatan stomata daun abaksial *N. tabacum* yang telah diberi perlakuan, menunjukkan adanya penurunan jumlah stomata terbuka dan terjadi sebaliknya pada kontrol yang memiliki lebih banyak stomata terbuka. Hal ini mengindikasikan adanya gangguan konduktansi stomata di bawah kondisi tergenang. Dalam satu bidang pandang, pada perlakuan terlihat ada dominasi penutupan stomata, namun tetap ada yang terbuka. Sehingga dapat dikatakan bahwa cekaman genangan periodik menyebabkan penutupan parsial pada stomata, seperti yang terlihat pada grafik 4.10.

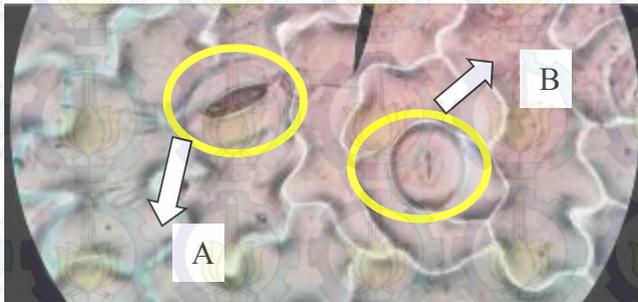
Morfologi dan kerapatan stomata keempat varietas tidak sama, namun memiliki tipe stomata yang sama, yaitu tipe anisositik (sel penjaga dikelilingi oleh 3 buah sel tetangga dengan ukuran yang berbeda). Varietas Manilo, Jinten, dan Marakot memiliki karakteristik morfologi stomata yang berukuran kecil dan kerapatan yang rendah. Sedangkan pada varietas Jepon Pelakean memiliki stomata yang berukuran besar dan kerapatan yang tinggi. Sehingga dari data terlihat bahwa Varietas Marakot memiliki rerata jumlah stomata tertinggi (Grafik 4.10).



Gambar 4.11 Grafik Rerata Jumlah Stomata Tertutup dan Terbuka Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik.

Berdasarkan grafik diatas, penutupan stomata tertinggi berturut-turut terjadi pada varietas Manilo mencapai 95,2%; Marakot 88,6 %; Jinten 86%; dan Jepon Pelakean 78%. Sehingga dapat dikatakan cekaman genangan periodik mengakibatkan rerata stomata tertutup mencapai >70% dari total stomata dalam satu bidang pandang. Jika dibandingkan dengan kontrol, perbandingan jumlah stomata terbuka dan tertutup tidak berselisih jauh, kecuali pada varietas Jinten yang menunjukkan perbandingan masing-masing 4:1. Namun, perbedaan yang terjadi pada masing-masing varietas tersebut, menurut hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan dengan *P-value* sebesar $0,08 > \alpha 0,05$.

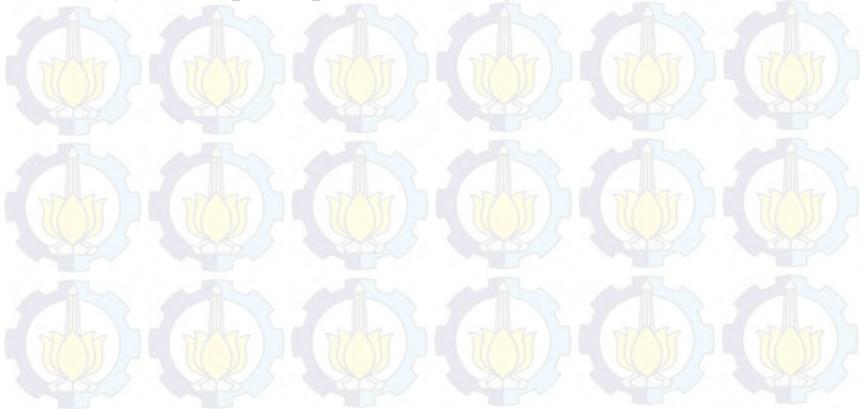
Banyaknya stomata yang menutup ini merupakan sebuah respon yang umum terjadi saat cekaman genangan, dimana berkaitan dengan penurunan fiksasi CO₂ (Jackson dan Drew, 1984). Menariknya, bahwa kebanyakan akar tanaman yang tergenang atau terpapar genangan yang berkepanjangan, melibatkan berbagai respon fisiologis yang kebanyakan mirip pada cekaman kekeringan (Kozlowski *et al.*, 1984; Kramer *et al.*, 1954; 1969; Glinskie *et al.*, 1985; Pezeshki *et al.*, 2001).

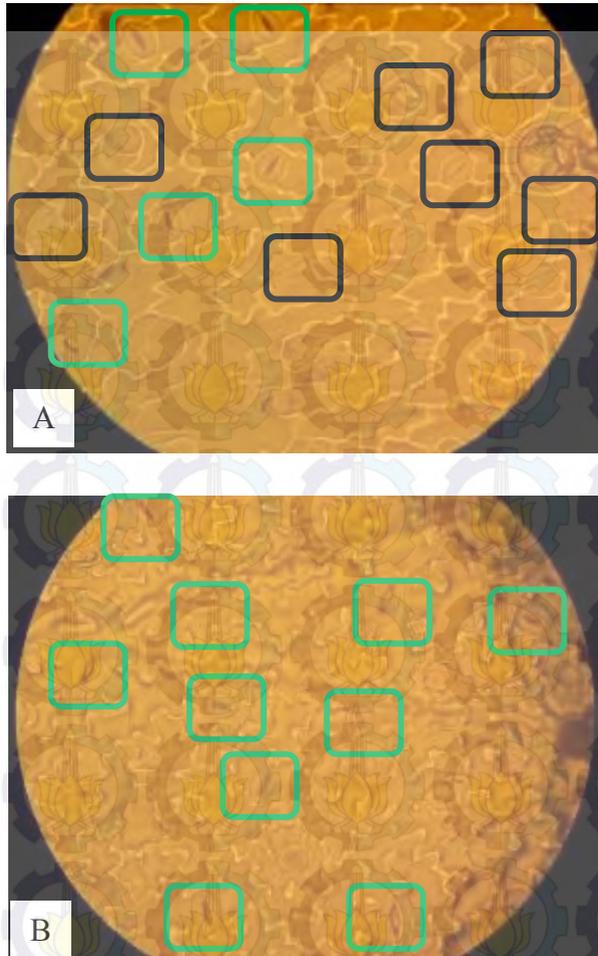


Gambar 4.12 Perbedaan Stomata Tertutup (A) dan Terbuka (B) pada Varietas Manilo dengan Perbesaran 1000x (Dokumentasi pribadi, 2015).

Penyebab menutupnya stomata seperti yang telah diteliti pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*), dikarenakan adanya peningkatan ABA sebagai respon cekaman genangan (Else *et al.*, 1996). Aktivator ABA, yaitu protein SnRK2 kinase (OST1/SRK2E) berperan dalam jalur transduksi sinyal yang mengontrol penutupan stomata (Mustilli *et. al.*, 2002; Yoshida *et al.*, 2002). SnRK2 merupakan salah satu kelompok SNF1-related PKase pada Arabidopsis dan padi yang juga teraktivasi oleh cekaman kekeringan, salinitas dan perlakuan ABA eksogen (Yoshida *et. al.*, 2002).

Selain itu, keterbatasan suplai CO₂ dapat berpengaruh secara langsung pada transpor elektron terhadap reduksi molekul oksigen membentuk *superoxide radicals* (O₂⁻) pada fotosistem I. *Superoxide dismutation* kemudian membentuk hidrogen peroksida (H₂O₂) (Asada, 2006). H₂O₂ bertindak sebagai sinyal lokal atau sistemik, salah satunya dalam menutupnya stomata pada daun (Karpinska *et. al.*, 2000). Dampak H₂O₂ pada sel penjaga stomata dapat menginduksi peningkatan ion kalsium (efflux ion K⁺) dari sel penjaga seperti yang telah dilaporkan oleh McAinsh *et. al.* (1996) yang memberikan H₂O₂ eksogen pada *Vicia faba*. Akibatnya, tekanan turgor turun, kemudian menyebabkan penutupan stomata (Anjum *et al.*, 2011).

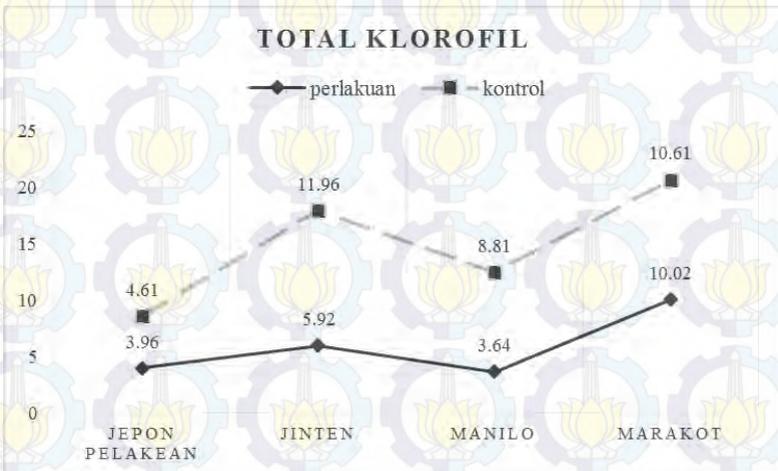




Gambar 4.13 Pengamatan Stomata Daun Abaksial Varietas Marakot Antara Kontrol (A) dan Perlakuan (B) Dengan Perbesaran 100x (Dokumentasi pribadi, 2015).

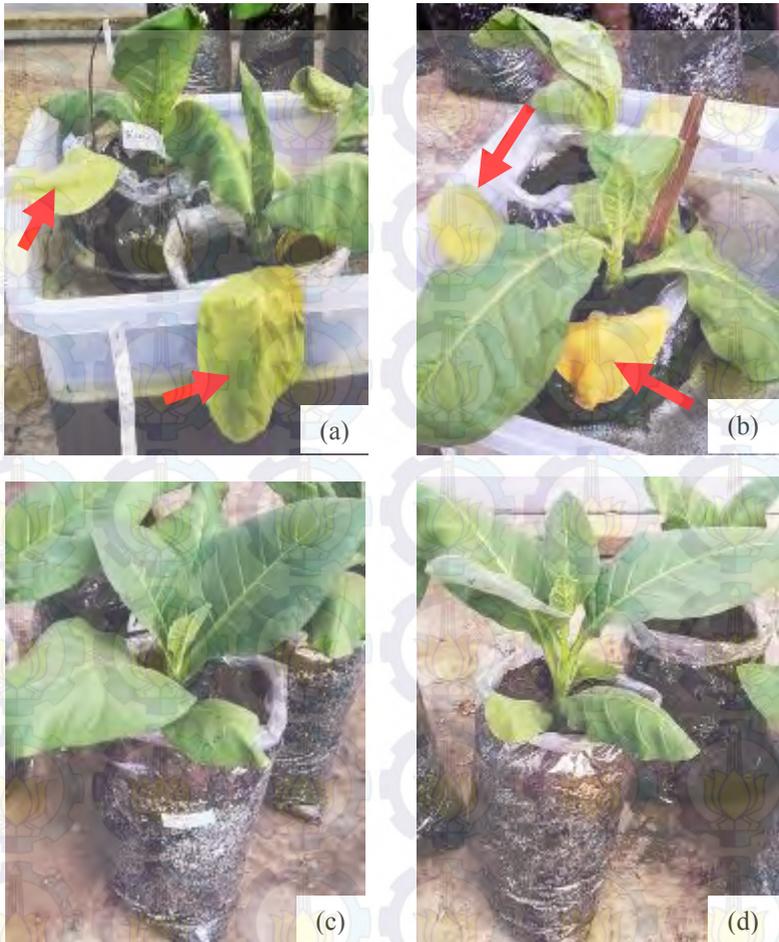
Keterangan  = stomata tertutup;  = stomata terbuka).

4.2.2 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Total Klorofil Tanaman



Gambar 4.14 Grafik Rerata Total Klorofil Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol.

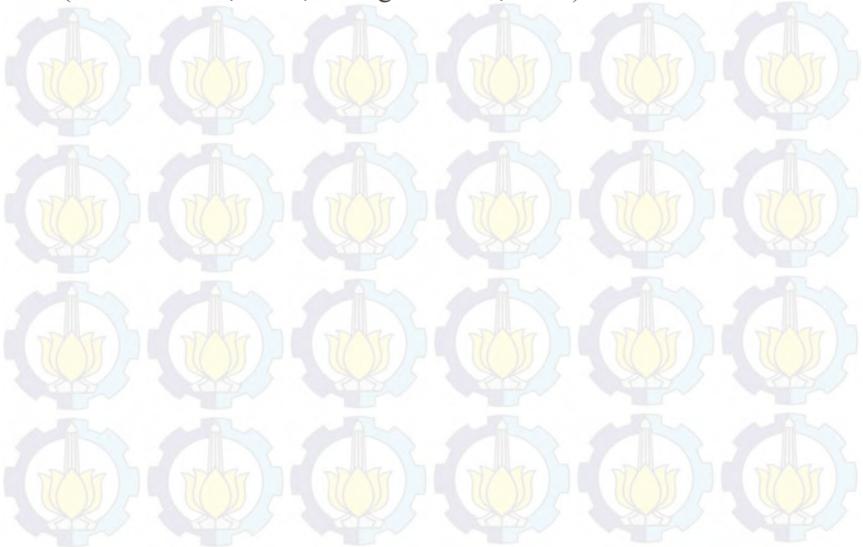
Berdasarkan grafik di atas, terjadi penurunan rerata total klorofil serempak pada keempat varietas uji akibat pemberian perlakuan. Kandungan klorofil tertinggi dimiliki oleh varietas Marakot di bawah kondisi cekaman genangan, yang mana hanya mengalami penurunan sebesar 2,8%, kemudian varietas Jepon Pelakean menurun sebesar 7,6% dibanding kontrol. Sedangkan, penurunan kandungan klorofil terbesar terjadi pada Varietas Manilo yaitu sebesar 41,5%, disusul varietas Jinten sebesar 33,8% bila dibandingkan dengan kontrol. Rentang penurunan total klorofil pada keempat varietas cukup jauh, dimana dapat dikatakan bahwa Varietas Marakot dan Jepon Pelakean memiliki kualitas total klorofil lebih baik dibanding dua varietas uji lainnya pada parameter ini.



Gambar 4.15 Klorosis Pada Daun Varietas Marakot (A) dan Jinten (B) Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol (Dokumentasi pribadi, 2015).

Keterangan (C= Marakot Kontrol; D= Jinten Kontrol)

Hasil penelitian berupa menurunnya klorofil di semua varietas uji, menunjukkan bahwa pemberian perlakuan cekaman genangan periodik diduga menginduksi peningkatan hormon etilen tanaman. Pada akar hipoksia/anoksia, terjadi peningkatan ACC setidaknya selama 4 jam kondisi perendaman (*submergence*). Konversi ACC menjadi etilen membutuhkan oksigen. Kemudian ACC ditranspor ke bagian batang dan juga daun yang tidak tergenang dan ACC dioksidasi menjadi etilen (Bradford dan Yang, 1980). Akibatnya terjadi peningkatan kadungan hormon etilen pada daun dan menyebabkan terjadinya klorosis di beberapa daun, yang ditandai oleh penurunan drastis kandungan klorofil (Bradford dan Dilley, 1978; Morgan dan Drew, 1997). Salah satu faktor transkripsi dalam pensinyalan biosintesis etilen yaitu EIN3 mengontrol gen *AtNAP* yang secara positif meregulasi penuaan daun dan mengaktifasi komponen jalur pensinyalan ABA. ABA juga berperan untuk penuaan daun maupun merespon cekaman abiotik yang terjadi (Guo dan Gun, 2006; Zhang dan Gan, 2012).



4.2.3 Dampak Cekaman Genangan Periodik Terhadap Biomassa Tanaman



Gambar 4.16 Grafik Berat Kering Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik Dibandingkan dengan Tanaman Kontrol.

Biomassa tanaman merupakan ukuran yang paling sering digunakan untuk mendiskripsikan dan mengetahui pertumbuhan suatu tanaman. Biomassa tanaman relatif mudah diukur dan merupakan gabungan dari hampir semua peristiwa yang dialami oleh suatu tanaman selama siklus hidupnya (Sitompul dan Guritno, 1995).

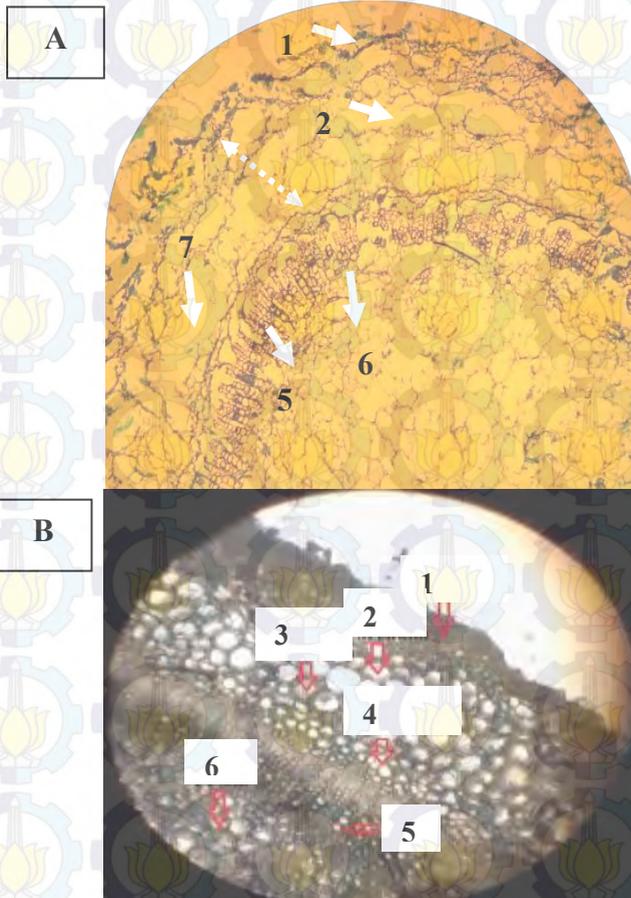
Berdasarkan grafik diatas, varietas Jepon pelakean memiliki berat kering tertinggi dibanding ketiga varietas lainnya, yaitu sebesar 1,17 mg. Hasil tersebut merepresentasikan berbagai parameter yang telah diukur sebelumnya, dimana varietas jepon pelakean sebagian besar menunjukkan rerata pertumbuhan paling baik dibanding varietas lain. Sehingga proses metabolisme, utamanya fotosintesis diduga lebih optimal dibawah kondisi

cekaman genangan dari ketiga varietas uji lainnya. Hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh signifikan dengan P-value sebesar 0,303 yang lebih besar dari nilai α 0,05.

Keseluruhan perubahan morfologi, fisiologi dan biokimia ini akan terakumulasi pada berat kering yang menggambarkan biomassa tanaman tanpa kandungan air. Salah satu perubahan morfologi yang sangat berpengaruh pada berat kering adalah berkurangnya pertumbuhan akar. Pertumbuhan akar akan tereduksi karena terjadinya kerusakan pada ujung akar akibat akumulasi hormon etilen yang tinggi di bawah kondisi hipoksia. Hormon ini juga dapat memacu penuaan dini pada tanaman, sehingga jumlah daun akan menurun drastis dan terjadinya klorosis daun dapat menyebabkan daun tidak lagi berfungsi optimal, utamanya untuk fotosintesis (Subbaiah *et al.*, 2000). Ketiga hal ini berperan besar mengurangi biomassa tanaman

Jika cekaman genangan terus terjadi, maka selanjutnya penurunan kapasitas fotosintesis di sel mesofil (Liao dan Lin, 1994; Yordanova dan Popova, 2001) akan mengarah pada penurunan lebih lanjut dari hasil fotosintesis. Kapasitas fotosintesis yang lebih rendah tersebut dapat dikaitkan dengan (i) kandungan klorofil daun yang lebih rendah akibat genangan (Yordanova dan Popova, 2001; Manzur *et al.*, 2009), (ii) berkurangnya aktivitas enzim karboksilase, dan (iii) adanya kerusakan oksidatif pada fotosistem II oleh *Reactive Oxidative Species* (ROS) (Yordanova *et al.*, 2004). Hal tersebut menyebabkan turunnya tingkat pertumbuhan tanaman yang tergenang. Penurunan pertumbuhan dan lambatnya laju transpor glukosa dalam floem (Pezeshki, 1994; Pezeshki, 2001; Sachs dan Vartapetian, 2007), mengakibatkan pati/amilum mulai menumpuk di kloroplas (Wample dan Davies, 1983). Sehingga hal tersebut akan mengarah pada umpan balik negatif pada laju fotosintesis (Liao dan Lin, 2001).

4.3 Pembentukan Jaringan Aerenkim pada Batang dan Akar *N. tabacum* Akibat Cekaman Genangan Periodik

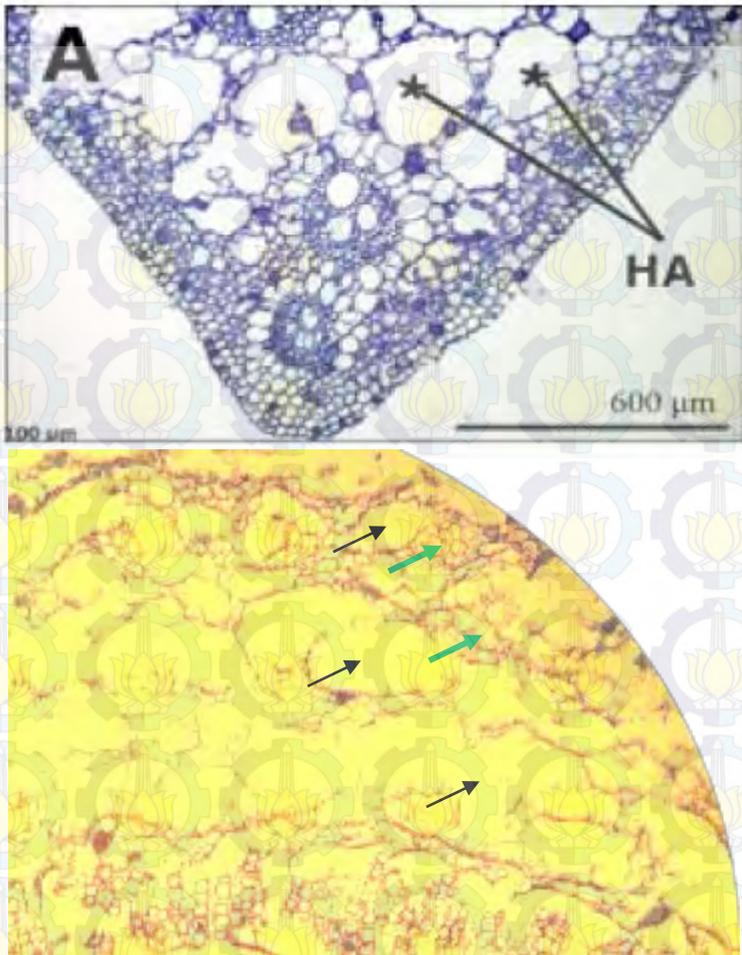


Gambar 4.17 Pembentukan Jaringan Aerenkim pada Batang Beberapa Varietas *N. tabacum* Setelah Diberi Cekaman Genangan Periodik (A) (Dokumentasi pribadi, 2015); Dibandingkan dengan Literatur (B) (Steffens *et al.*, 2010)
Keterangan (1= epidermis; 2= parenkim; 3= kolenkim; 4= sklerenkim; 5= xilem; 6= floem; 7= aerenkim; perbesaran 100x).

Berdasarkan hasil sayatan melintang batang *N. tabacum*, terlihat bahwa keempat varietas menunjukkan struktur anatomi yang sama, dalam hal munculnya jaringan aerenkim. Sehingga dapat membantu suplai gas (aerasi) ke dalam jaringan yang terendam. Hal demikian juga terjadi pada sayatan melintang akar adventif, keempat varietas uji yang menunjukkan adanya jaringan aerenkim. Munculnya aerenkim ini tidak lepas dari pengaruh hormonal, utamanya peningkatan hormon etilen dalam kondisi tercekam genangan (Subbaiah *et al.*, 2000).

Jaringan aerenkim merupakan ruang antar sel yang berukuran besar yang berperan sebagai mediator pertukaran gas internal dan mempertahankan kekuatan jaringan. Struktur ini sangat penting dalam kondisi hipoksia atau pada spesies akuatik (Williams dan Barber, 1961; Jackson dan Armstrong, 1999; Evans, 2004). Jaringan ini ditandai dengan adanya ruang gas longitudinal yang saling berhubungan antara akar dan tunas. Pembentukan jaringan aerenkim diinduksi oleh cekaman genangan (Sauter M, *et al.*, 1995; Visser *et al.*, 2000) dan berkembang pada jaringan yang sudah ada atau bersamaan dengan perkembangan akar baru (akar adventif) (Drew *et al.*, 1997). Macam jaringan aerenkim berdasarkan proses fisiologis, yaitu : (a) aerenkim *lysigenous* yang terbentuk akibat kematian sel dan (b) aerenkim *schizogenous* di mana ruang gas berkembang melalui pemisahan sel yang sebelumnya saling terhubung dan mengalami pemanjangan sel yang berbeda, dimana membentuk ruang antara sel-sel parenkim (Choi WG *et al.*, 2007; Evans DE, 2004; Justin *et al.*, 1987).

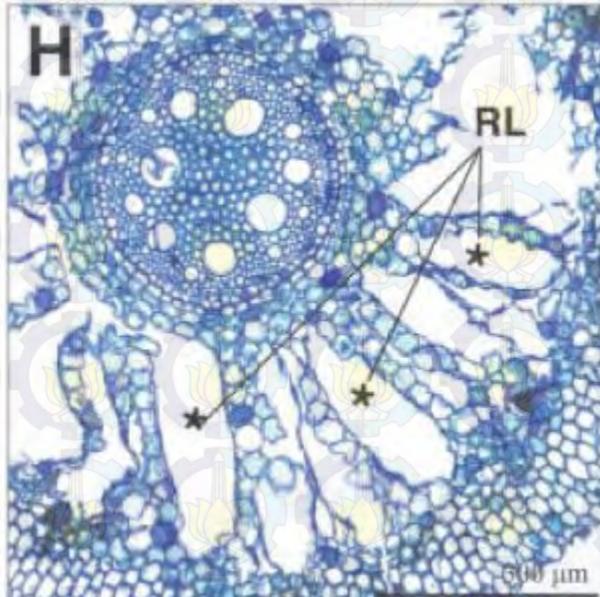
Berdasarkan pengamatan sayatan melintang batang keempat varietas, diduga aerenkim yang terbentuk memiliki bentuk *honeycomb aerenchyma* (Gambar 4.8). Hal ini didasarkan pada bentuk aerenkim keempat varietas uji yang memiliki bentuk sel dengan ruang yang cukup besar dengan bentuk tidak tertaur dan dikelilingi oleh sel-sel parenkim lain yang tidak mengalami kematian sel.



Gambar 4.18 Tipe *Honeycomb Aerenchyma* pada Batang *Brasenia schreberi* (A) (Jung *et al.*, 2008); Tipe *Honeycomb* Varietas Marakot (B) dengan Perbesaran 400x (Dokumentasi pribadi, 2015).

Keterangan (tanda panah hitam menunjukkan aerenkim; tanda panah hijau menunjukkan sel-sel parenkim).

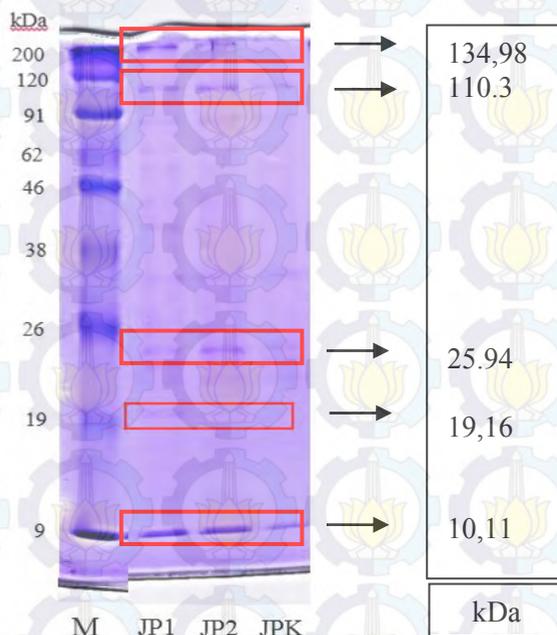
Sedangkan, pada sayatan melintang akar keempat varietas uji, terlihat jaringan aerenkim yang terbentuk memiliki tipe radial lysigeny (Lampiran 4). Hal ini didasarkan pada bentuk sel aerenkim yang membentuk pola radial, dan bentuk sel yang melintang pada jaringan korteks tanaman. Diduga pembentukan aerenkim ini terjadi secara lisogeny yang melibatkan kematian sel dengan adanya peningkatan hormon etilen yang juga memicu peningkatan enzim selulase dan pektinase (Lasanthi *et al.*, 2007 ; Liu *et al.*, 2005; Sab dan Sachs, 1996). Hal ini diperkuat oleh fakta bahwa tipe aerenkim radial lysigeny pada sayatan akar merupakan tipe yang secara umum terdapat pada berbagai Eudicots/tanaman berbunga (Jung *et al.*, 2008).



Gambar 4.19 Tipe Radial Lysigeny Aerenchyma pada Akar *Typha latifolia* (A) (Jung *et al.*, 2008).

4.4 Profil Protein *N. tabacum* yang Diberi Cekaman Genangan Periodik

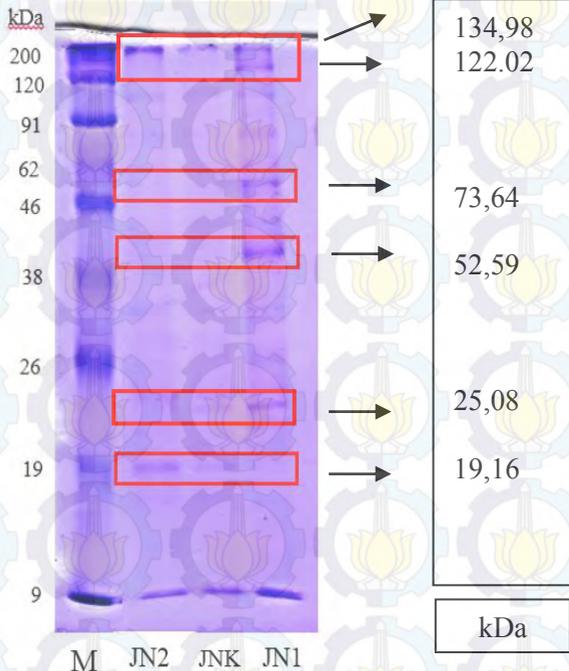
Hasil analisis profil protein dengan SDS-PAGE dalam penelitian ini didapat hasil yang beragam, yang ditunjukkan dengan variasi ketebalan maupun degradasi pita protein organ akar dan daun. Jumlah variasi pita protein ini menunjukkan adanya respon tanaman terhadap perubahan lingkungan; dalam hal ini adalah pemberian cekaman genangan secara periodik.



Gambar 4.20 Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Jepon Pelakean (Keterangan : M = Marker; JP = Jepon Pelakean; 1= *Waterlogging*; 2= *Partial Submergence*; K= Kontrol).

Berdasarkan hasil analisis SDS-PAGE diatas, Varietas Jepon Pelakean meningkatkan ekspresi protein dengan berat molekul 134,98 kDa saat kondisi *waterlogging*. Namun ekspresi protein tersebut mengalami sedikit penurunan ekspresi saat

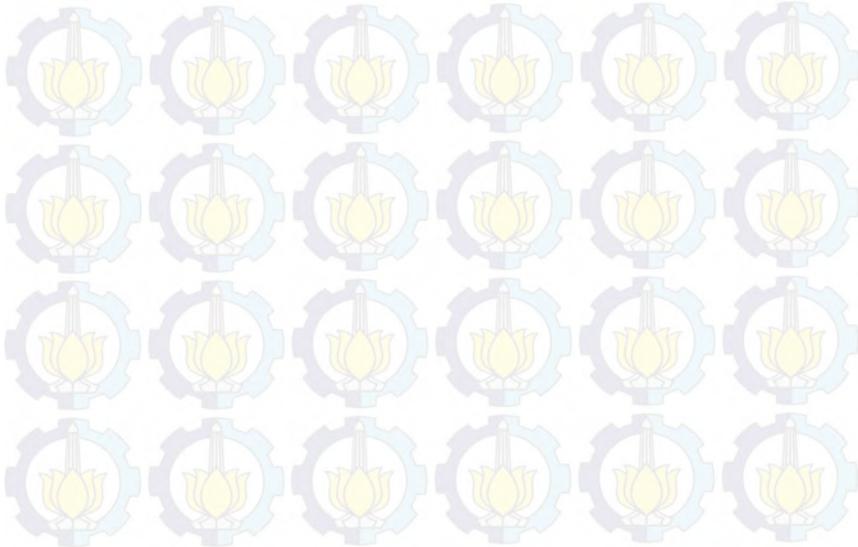
kondisi *partial submergence*, dimana pita protein yang ditunjukkan menurun menjadi 137,27 kDa dan tidak muncul pada kontrol. Pita protein dengan berat molekul 110,3 kDa juga mengalami peningkatan ekspresi dibanding kontrol saat kondisi *waterlogging*, dan sedikit menurun saat *partial submergence* menjadi 106,64 kDa. Protein dengan BM 25,94 kDa mengalami peningkatan ekspresi saat kondisi *partial submergence*, sebaliknya protein sebesar 19,16 kDa merupakan protein yang hanya muncul pada perlakuan yaitu saat *waterlogging*. Sedangkan protein sebesar 10,11 kDa hanya mengalami peningkatan ekspresi jika dibanding kontrol.

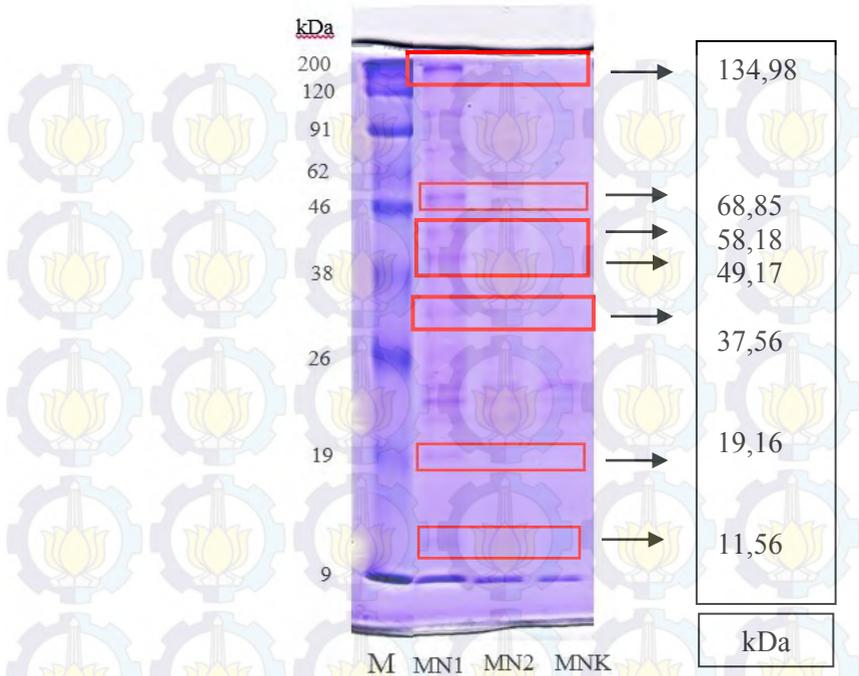


Gambar 4.21 Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Jinten (Keterangan : M = Marker; JN = Jinten; 1= *Waterlogging*; 2= *Partial Submergence*; K= Kontrol).

Pada varietas Jinten sebagian besar protein yang muncul pada kontrol mengalami penurunan ekspresi atau bahkan degradasi, yang ditunjukkan dengan pita protein yang lebih tipis dari kontrol, maupun hilangnya pita protein pada perlakuan. Misalnya pada protein dengan berat molekul 122,02 ; 52,59 ; dan 25,08 kDa.

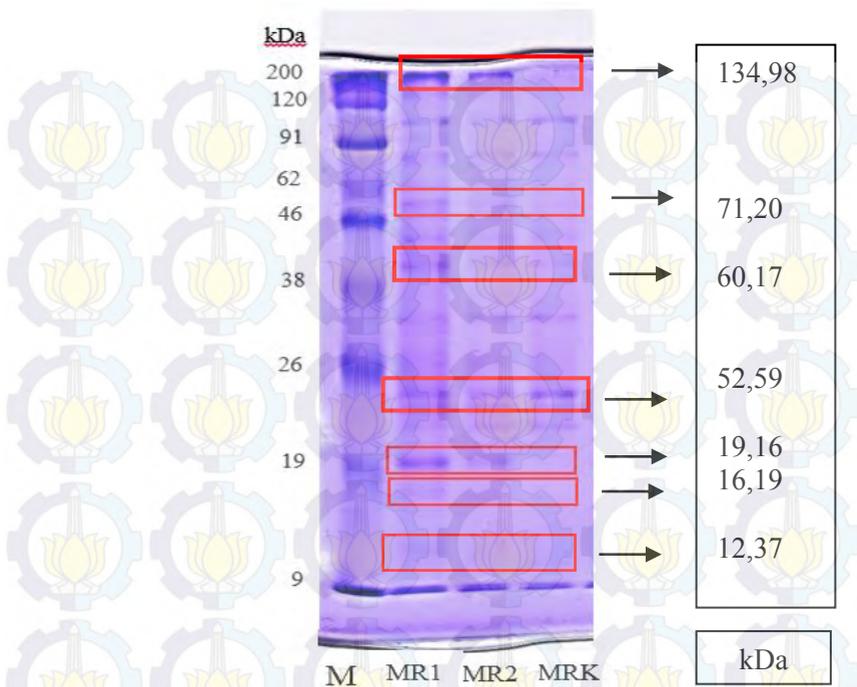
Selain kondisi tersebut, ada pula pita protein yang mengalami peningkatan ekspresi saat *partial submergence*, terlihat dari ketebalan pita protein dibanding kontrol, yaitu pita protein dengan 134,98 kDa, dan menurun ketebalan pita saat *waterlogging*. Protein ini juga dimiliki oleh varietas sebelumnya, yaitu jepon pelakean, namun waktu ekspresinya berbeda, dimana Jepon Pelakean muncul saat *waterlogging*, sedangkan pada jinten muncul pada kontrol. Selain itu, Varietas Jinten juga memiliki protein sebesar 19,16 kDa yang terespresasi saat *waterlogging* dan juga terkepresasi pada kontrol. Namun, ekspresinya pada kontrol mengalami penurunan, terlihat dari ketebalan pita protein yang terbentuk.





Gambar 4.22 Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Manilo (Keterangan : M = Marker; MN = Manilo; 1= *Waterlogging*; 2= *Partial Submergence*; K= Kontrol).

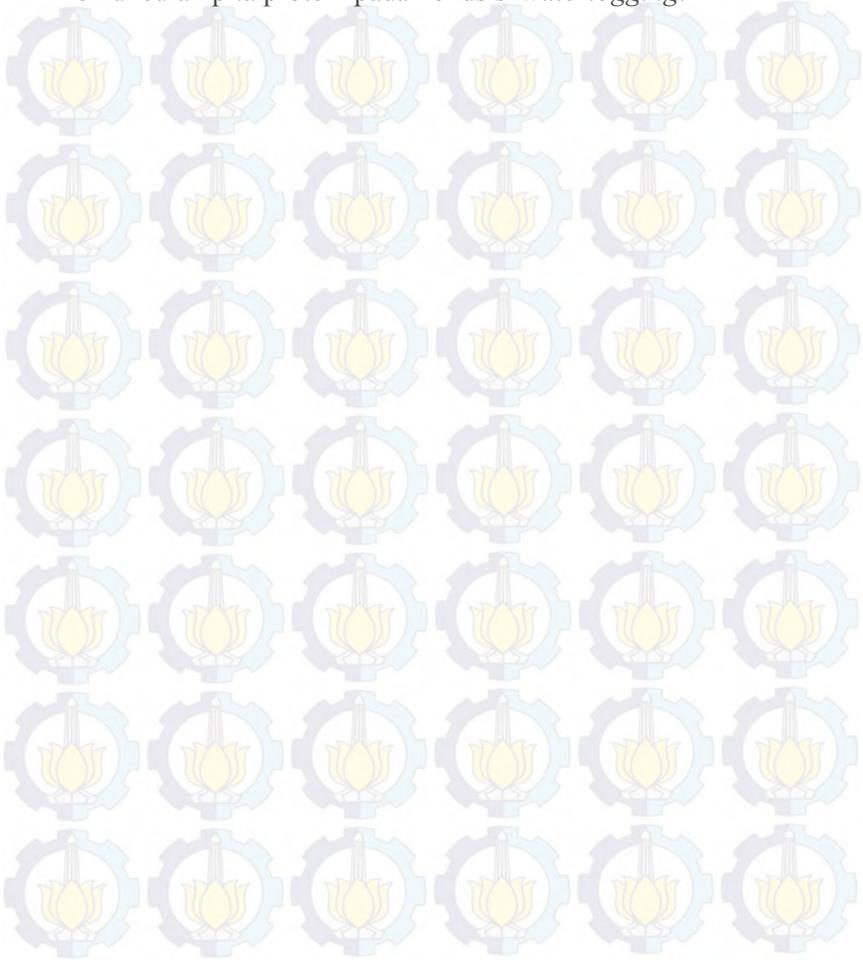
Pada varietas Manilo, ada 2 jenis protein yang juga muncul di 2 varietas sebelumnya dengan waktu ekspresi yang berbeda, dimana protein dengan berat molekul 134,98 dan 19,16 kDa terakumulasi saat *waterlogging*. Kemudian ada 4 protein yang mengalami peningkatan ekspresi saat kondisi *waterlogging*, diantaranya protein dengan berat molekul 68,85 ; 58,18 ; 49,17 ; dan 37,56 kDa. Protein yang hanya muncul pada perlakuan adalah protein dengan berat molekul 11,56 kDa.



Gambar 4.23 Hasil Analisis SDS-PAGE Profil Protein Varietas Marakot (Keterangan : M = Marker; MR = Marakot; 1= *Waterlogging*; 2= *Partial Submergence*; K= Kontrol).

Pada varietas Marakot, juga mengekspresikan protein-protein yang muncul pada varietas-varietas sebelumnya, yaitu protein dengan berat molekul 134,98 kDa yang muncul saat *waterlogging* dan protein sebesar 19,16 kDa yang muncul di kedua kondisi perlakuan, baik *waterlogging* maupun *partial submergence* dan tidak muncul pada kontrol. Sehingga, kedua jenis protein tersebut dapat dikatakan sebagai protein baru. Selain itu, varietas marakot juga memiliki 1 jenis protein sebesar 137,27 kDa yang juga muncul pada varietas Japon Pelakean dengan waktu ekspresi yang sama, yaitu saat *waterlogging*. Protein ini

juga hanya muncul pada perlakuan. Empat jenis protein lain terkespresi sebagai hasil peningkatan ekspresi dari kontrol, yaitu protein dengan berat molekul 71,20 ; 60,17 ; 52,59; 16,19 kDa yang muncul saat *waterlogging*. Sehingga dari pita-pita protein yang muncul pada varietas marakot, diperoleh dominansi kemunculan pita protein pada kondisi *waterlogging*.



BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

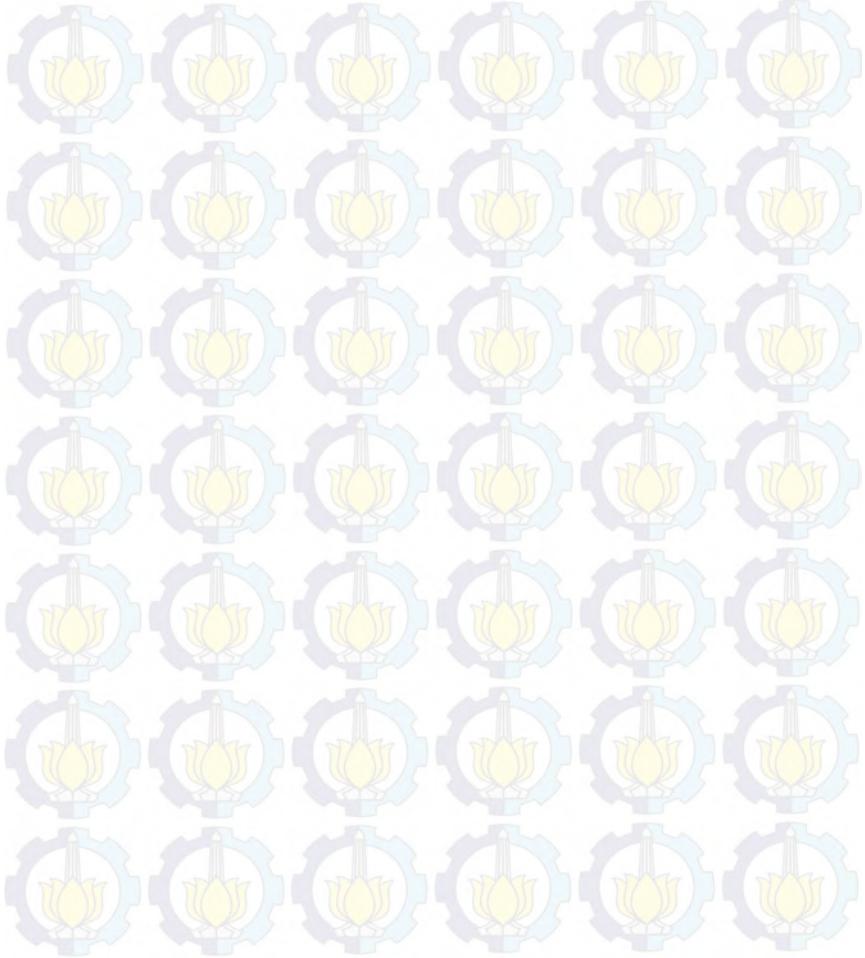
Berdasarkan penelitian dan analisa data menunjukkan bahwa cekaman genangan menginduksi sebagian besar pertumbuhan abnormal dan perubahan keseimbangan hormonal di bawah kondisi tercekam genangan. Sehingga dapat disimpulkan beberapa poin sebagai berikut :

- Pada semua parameter aspek morfologi, varietas Jepon Pelakean memiliki rerata pertumbuhan lebih baik dari ketiga varietas uji lain, kecuali pada parameter jumlah daun yang memiliki selisih rerata dengan Varietas Jinten sebesar 1,34
- Pada aspek fisiologi, varietas rerata penutupan stomata dan penurunan kandungan klorofil tertinggi terjadi pada varietas Manilo
- Keempat varietas uji sama-sama menunjukkan respon pembentukan aerenkim dengan tipe bentuk yang serupa, baik pada organ batang (*honeycomb aerenchyma*) maupun organ akar (*radial lysigeny aerenchyma*)
- Varietas Jepon Pelakean memiliki biomassa tertinggi, baik dari segi berat basah (3,3 mg) maupun berat kering (1,17 mg)
- Keempat varietas uji mampu membentuk aerenkim pada organ akar dan batang
- Varietas Manilo, Marakot dan Jepon Pelakean meningkatkan ekspresi protein pada berat molekul 134,98 kDa secara konsisten saat *waterlogging*. Varietas Jinten meningkatkan ekspresi protein tersebut saat *partial submergence*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar perlakuan cekaman genangan dilakukan dalam rentang waktu

yang lebih lama (>10 hari), agar dapat melihat perubahan morfologi yang signifikan. Kemudian untuk analisis profil protein disarankan untuk dilanjutkan menggunakan *western blotting* agar dapat diketahui protein spesifik yang terekspresi baik saat *waterlogging* maupun *partial submergence*.



DAFTAR PUSTAKA

Ahsan N, Lee D-G, Lee S-H, Lee K-W, Bahk J-D and Lee B-H. 2007a. **A proteomic screen and identification of waterlogging regulated proteins in tomato roots; *Plant Soil* 295 37–51**

Alam, Iftekhar, Dong-Gi Lee, Kyung-Hee Kim, Choong-Hoon Park, Shamima Akhtar Sharmin, Hyoshin Lee, Ki-Won Oh, Byung-Wook Yun And Byung-Hyun Lee. 2010. **Proteome analysis of soybean roots under waterlogging stress at an early vegetative stage. *J. Biosci.* 35(1), March 2010, 49–62.**

Ambavaram, M.M.R.; Basu, S.; Krishnan, A.; Ramegowda, V.; Batlang, U.; Rahman, L.; Baisakh, N.; Pereira, A. 2014. **Coordinated regulation of photosynthesis in rice increases yield and tolerance to environmental stress. *Nat. Commun.* doi:10.1038/ncomms6302.**

Arbona, V.; Manzi, M.; Ollas, C.; Gómez-Cadenas. 2013. **A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 4885–4911.**

Armstrong, W. 1979. **Aeration in higher plants. *Advances in Botanical Research* 7, 225–332.**

Bailey–Serres, J. & Voesenek L.A.C.J. 2008. **Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review of Plant Biology* 59, 313–339.**

Bradford, K.J. & Hsiao, T.C. 1982. **Stomatal behavior and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 70, 1508–1513.**

Carolina, Salazar1, Cristián Hernández, dan María Teresa Pino. 2015. **Plant water stress: Associations between ethylene and**

abscisic acid response. Chilean Journal Of Agricultural Research 75.

Colmer, T.D. & Pedersen, O. 2008. **Underwater photosynthesis and respiration in leaves of submerged wetland plants: gas films improve CO₂ and O₂ exchange.** *New Phytologist* 177, 918–926.

Colmer, T.D. & Voeselek L.A.C.J. 2009. **Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments.** *Functional Plant Biology* 36, 665–681.

Colmer, T.D. 2003a. **Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots.** *Plant, Cell & Environment* 26, 17–36.

Davies FS, Flore JA. 1986. **Flooding, gas exchange and hydraulic root conductivity of highbush blueberry.** *Physiologia Plantarum* 67, 545–551.

DeBell D.S., Hook D.D., McKee Jr W.H. 1984. **Growth and physiology of loblolly pine roots under various water table level and phosphorous treatments.** *For. Sci.* 30:705-714.

Directive 2007/60/EC of the **European parliament and of the council of 23 October 2007 on the assessment and management of flood risks.** *Off J Eur Union L*: 27–34

Freeman, W.H and Company. 2002. **Biochemistry 5th Edition.** NCBI Bookshelf. diunduh dari www.ncbi.nlm pada 25 Januari 2016.

Grimoldi, A.A., Insausti, P., Roitman, G.G. & Soriano, A. 1999. **Responses to flooding intensity in *Leontodon taraxacoides*.** *New Phytologist* 141, 119–128.

Gupta, B.; Sengupta, A.; Saha, J.; Gupta, K. 2013. **Plant abiotic stress: 'Omics' approach.** *J. Plant Biochem. Physiol.* 1, e108.

Haug, B., J.W. Johnson and D.S. Nesmith, 1997. 8433-5-2. **Responses to root zone CO enrichment and hypoxia 68.**

Thomson, C.J., T.2 D. Colmer, E.L.J. Watkin H. Greenway. 1992. **Tolerance of wheat tolerance.** *Crop Science*, 37: 464-468. involved in the soybean response to flooding; *Phytochemistry* 69 1295–1303

J.-F. Briat, et al. 2009. **Ferritins and iron storage in plants,** *Biochim. Biophys. Acta.*

Jackson M.B. and Colmer T.D 2005: **Response and Adaptation by Plants to Flooding Stress.** *Annals of Bot.*, 96, 501-505.

Jackson, M.B. & Drew, M. 1984. **Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants.** *In* Flooding and plant growth. T T Kozlowski (ed). pp. 47–128. Academic Press Inc., Orlando, Florida.

Jung F., Böhning-Gaese K., Prinzing A. 2008. **Life history variation across a riverine landscape: intermediate levels of disturbance favor sexual reproduction in the ant-dispersed herb *Ranunculus ficaria*.** *Ecography*, 31, 776-786.

Jung, Jongduk dan Hong-Keun Choi. 2008. **Anatomical Patterns of Aerenchyma in Aquatic and Wetland Plants.** *Journal Of Plant Biology.* 51(6): 428-439

Justin, S.H.F.W. & Armstrong, W. 1987. **The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding.** *New Phytologist* 106, 465–495.

Kamal, A.H.; Rashid, H.; Sakata, K.; Komatsu, S. **Gel-free quantitative proteomic approach to identify cotyledon proteins in soybean under flooding stress.** *J. Proteom.* **2015**, *112*, 1–13.

Kozłowski, T.T. & Pallardy, S.G. 1984. **Effects of flooding on water, carbohydrate and mineral relations.** *In* **Flooding and plant growth.** T T Kozłowski (ed). pp. 165–193. Academic Press Inc., Orlando, Florida.

Kozłowski, T.T. 1997. **Responses of woody plants to flooding and salinity.** *Tree Physiology Monograph* **1**. <http://www.heronpublishing.com/tp/monograph/kozłowski.pdf> [Verified 28 July 2011].

Stueber, Kurt. 2003. **Nicotiana tabacum; Atropa belladonna.** Diunduh dari www.biolib.de pada 25 Januari 2016.

Laan, P., Tosserams, M., Blom, C.W.P.M. & Veen, B.W. 1990. **Internal oxygen transport in *Rumex* species and its significance for respiration under hypoxic conditions.** *Plant & Soil* **122**, 39–46.

Lieffers V.J. and Rothwell R.L. 1986a. **Effects of water table and substrate temperature on root and top growth of *Picea mariana* and *Larix laricina* seedlings.** *Can J For Res*, **16**, 1201-1206.

Lieffers V.J. and Rothwell R.L. 1986b. **Rooting of peatland black spruce and tamarack in relation to depth of water table.** *Can J Bot*, **65**, 817-821.

Miranda, H. 2011. **Stress Response in Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803.** Ph.D. Thesis, Umeå University, Umeå, Sweden.

Mollard, F.P.O., Striker, G.G., Ploschuk, E.L. & Insausti, P. (2010). **Subtle topographical differences along a floodplain promote different plant strategies among *Paspalum dilatatum* subspecies and populations.** *Austral Ecology* 35, 189–196.

Mollard, F.P.O., Striker, G.G., Ploschuk, E.L., Vega, A.S. & Insausti, P. 2008. **Flooding tolerance of *Paspalum dilatatum* (Poaceae: Paniceae)**

Mommer, L., Pedersen, O. & Visser, E.J.W. 2004. **Acclimation of a terrestrial plant to submergence facilitates gas exchange under water.** *Plant, Cell & Environment* 27, 1281–1287.

Naidoo, G. & Mundree, S.G. 1993. **Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth.** *Oecologia* 93, 360–366.

Number of flood events by continent and decade since 1950.
Available online : http://www.grida.no/graphicslib/detail/number-of-flood-events-by-continent-and-decade-since-1950_10c2. Diupload pada tahun 2012.

Pinheiro, C.; Chaves, M.M. 2011. **Photosynthesis and drought: Can we make metabolic connections from available data?** *J. Exp. Bot.* 62, 869–882.

Ponnamperuma, F.N. 1972. **Chemistry of submerged soils.** *Advances in Agronomy* 24, 29–95.

Ponnamperuma, F.N. 1984. **Effects of flooding on soils.** *In Flooding and Plant Growth.* T.T. Kozlowski (ed). pp 9–45. Academic Press, Orlando, Florida.

Pucciariello, Chiara, Laurentius A.C.J. Voesenek, Pierdomenico Perata dan Rashmi Sasidharan. 2014. **Plant Responses to Flooding**. Vol 5. Diakses dari www.frontiersin.org

Sachs M M, Subbaiah C C and Saab I N. 1996. **Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize**; *J. Exp. Bot.* **47** 1–15

Sachs MM, Freeling M, dan Okimoto R. 1980. **The Anaerobic Protein Of Maize**. *Cell* **20** : 761-767

Seago, J.L., Marsh, L.C., Stevens, K.J., Soukup, A., Vortubová, O. & Enstone, D.E. 2005. **A re-examination of the root cortex in wetland flowering plants with respect to aerenchyma**. *Annals of Botany* **96**, 565–579.

Shi F, Yamamoto R, Shimamura S, Hiraga S, Nakayama N, Nakamura T, Yukawa K, Hachinohe M, Matsumoto H and Komatsu S. 2008. **Cytosolic ascorbate peroxidase 2 (cAPX 2)**

Sitompul, S.M., dan B. Guritno. 1995. **Analisis Pertumbuhan Tanaman**. Yogyakarta: UGM Press.

Sparrow, L.A. and N.C. Uren, 1987. **The role of manganese toxicity in crop yellowing onseasonally waterlogged and strongly acidic soils in northeastern Victoria**. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **27**: 303-307.

Stevens K.J., Peterson, R.L., Reader, R.J. 2002. **The Aerenchymatous phellem of *Lythrum salicaria* (L.): a Pathway for Gas Transport and its Role in Flood Tolerance**. *Annals of Bot* , **89**(5), 621-625

Striker, G.G., Insausti, P., Grimoldi, A.A., Ploschuk, E.L. & Vasellati, V. 2005. **Physiological and anatomical basis of**

differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. *Plant & Soil* 276, 301–311.

Striker, Gustavo Gabriel. 2012. **Flooding Stress on Plants: Anatomical, Morphological and Physiological Responses**, Botany, Dr. John Mworira (Ed.). diakses dari : <http://www.intechopen.com/books/botany/flooding-stress-on-plants-anatomical-morphological-andphysiological-Responses>

Van Steenis, C.G.G.J. 2005. **Flora**. Moeso Surjowinoto, Penerjemah. Jakarta. Pradnya Paramitha. hal. 324.

Vartapetian, B.B. & Jackson, M. 1997. **Plant adaptations to anaerobic stress**. *Annals of Botany* 79, 3–20.

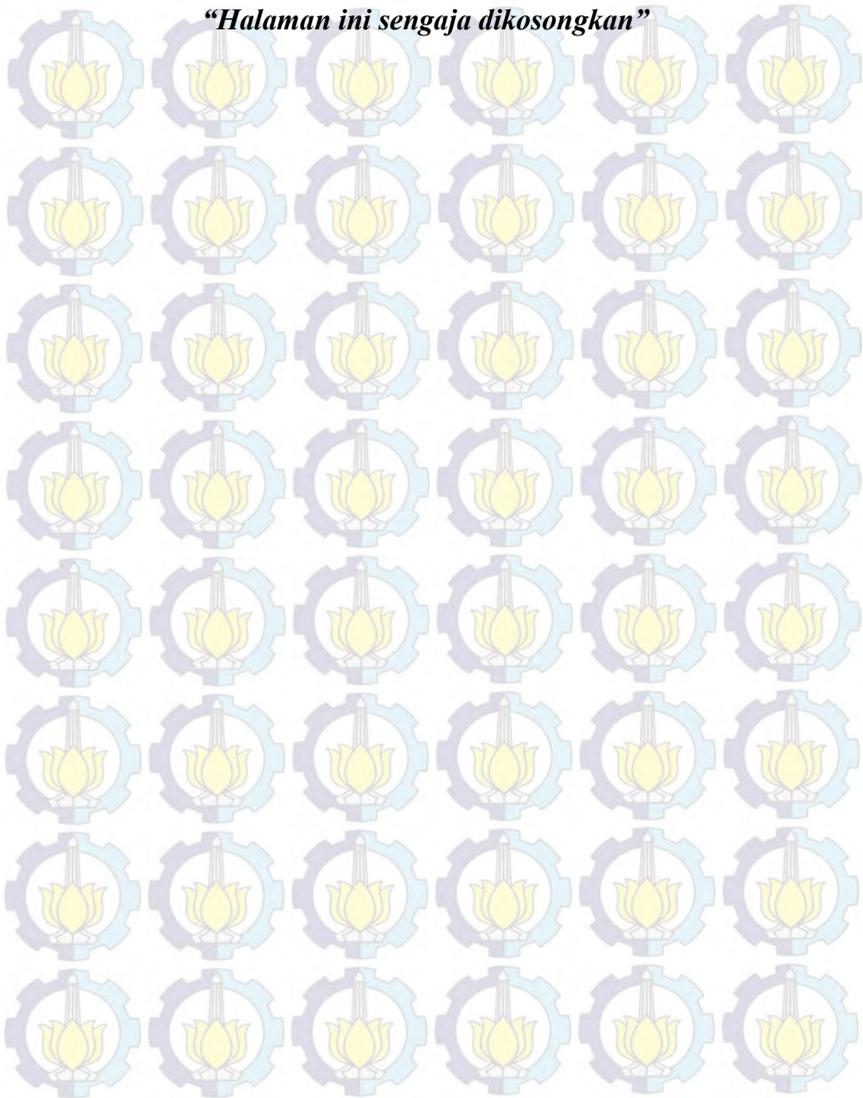
Vashisht, D., Hesselink, A., Pierik, R., Ammerlaan, J.M.H., Bailey–Serres, J., Visser, E.J.W., Pedersen, O., van Zanten, M., Vreugdenhil, D., Jamar, D.C.L., Voeselek L.A.C.J. & Sasidharan, R.. 2011. **Natural variation of submergence tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions**. *New Phytologist* 190, 299–310.

Voeselek, L.A.C.J., Colmer, T.D., Pierik, R., Millenaar, F.F. & Peeters, A.J.M. 2006. **How plants cope with complete submergence**. *New Phytologist* 170, 213–226.

Voeselek, L.A.C.J., Rijnders, J., Peeters, A.J.M., Van de Steeg H.M.V. & De Kroon, H. 2004. **Plant hormones regulate fast shoot elongation under water: from genes to communities**. *Ecology* 85, 16–27.

Weyers J.D.B., Johanson L.G. 1985. **Accurate estimation of stomatal aperture from silicone rubber impressions**. *New Phytol.* 101:0-7.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Parameter Morfologi dan Fisiologi

Aspek Morfologi

PANJANG AKAR			JUMLAH DAUN		
VAR	PERLAKUAN	KONTROL	VAR	PERLAKUAN	KONTROL
JEPON PELAK EAN	25.83	27.1	JEPON PELAK EAN	4.33	7.67
JINTEN	20.43	26.6	JINTEN	5.67	8.33
MANILO	22.8	26.23	MANILO	5.00	8.33
MARAKOT	20.9	34.23	MARAKOT	4.67	9.67
TINGGI TANAMAN			JUMLAH AKAR ADVENTIF		
VAR	PERLAKUAN	KONTROL	VAR	PERLAKUAN	KONTROL
JEPON PELAK EAN	10.5	9.63	JEPON PELAK EAN	11.33	0
JINTEN	10.5	11.53	JINTEN	5.67	0
MANILO	10.27	14.2	MANILO	3.00	0
MARAKOT	9.03	14	MARAKOT	10.33	0

DIAMETER BATANG			LEBAR DAUN		
VAR	PERLAK UAN	KONT ROL	VAR	PERLAK UAN	KONT ROL
JEPON PELAK EAN	9.13	8.23	JEPON PELAK EAN	12.1	11.07
JINTEN	8.87	6.77	JINTEN	10.57	8.47
MANIL O	8.03	8.43	MANIL O	9.93	12.23
MARA KOT	8.77	7.83	MARA KOT	11.1	11.80

Aspek Fisiologi

Analisis Klorofil Total Daun

Nama Varietas	PERLAKUAN GENANGAN		HASIL PERHITUNGAN (ppm)
	Serapan 663 nm	Serapan 645 nm	
JEPON PELAKEAN	0.305	0.075	3.96
JINTEN	0.423	0.125	5.92
MANILO	0.275	0.071	3.64
MARAKOT	0.466	0.311	10.02

Nama Varietas	KONTROL		HASIL PERHITUNGAN (ppm)
	Serapan 663 nm	Serapan 645 nm	
JEPON PELAKEAN	0.618	0.228	9.56
JINTEN	0.902	0.592	19.19
MANILO	1.127	0.436	17.85
MARAKOT	1.334	0.525	21.30

Berat kering dan Berat Basah Tanaman

VARIETAS	BERAT BASAH		BERAT KERING	
	BBP	BBK	BKP	BKK
JEPON PELAKEAN	21.77	54.37	1.17	3.3
JINTEN	18.57	25.59	0.93	1.67
MANILO	20.23	50.93	0.83	3.28
MARAKOT	20.6	53.27	0.97	2.25

Stomata Terbuka dan Tertutup

Varietas	bid pandang	st.buka	ratarata st.buka	st tutup	ratarata st. tutup
JPP 1	1	3	3	11	10.7
	2	4		10	
JPP2	1	2		10	
	2	2		10	
JPP 3	1	3		12	
	2	4		11	
JPK 1	1	7	7.7	5	5
	2	7		4	
JPK 2	1	10		5	
	2	10		6	
JPK 3	1	5		5	
	2	7		5	

Varietas	bid pandang	st.buka	ratarata st.buka	st tutup	ratarata st.tutup	
JNP 1	1	5	2	15	12.3	
	2	4		13		
JNP 2	1	1		14		
	2	1		11		
JNP 3	1	1		11		
	2	0		10		
JNK 1	1	9		4		2.83
	2	10		2		
JNK 2	1	8	4			
	2	9	5			
JNK 3	1	10	0			
	2	6	2			

Varietas	bid pandang	st.buka	ratarata st.buka	st tutup	ratarata st.tutup	
MRP 1	1	3	2	18	15.5	
	2	2		18		
MRP 2	1	0		12		
	2	1		10		
MRP 3	1	2		20		
	2	4		15		
MRK 1	1	5		10		8.5
	2	8		5		
MRK 2	1	18	9			
	2	15	10			
MRK 3	1	10	8			
	2	13	9			

Varietas	bid pandang	st.buka	ratarata st.buka	st tutup	ratarata st.tutup
MNP 1	1	1	0.5	8	10
	2	0		15	
MNP 2	1	0		11	
	2	1		10	
MNP 3	1	0		9	
	2	1		7	
MNK 1	1	3	5	10	6.8
	2	2		6	
MNK 2	1	6		10	
	2	7		6	
MNK 3	1	5		4	
	2	7		5	

Lampiran 2. Hasil Analisa Statistik ANNOVA ONE-WAY

Aspek Morfologi

Hasil uji Anova pengaruh cekaman genangan periodik terhadap jumlah daun

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	2.917	0.972	3,89	0,055
Error	8	2.000	0.250		
Total	11	4.917			

Hasil Uji Tukey pengaruh cekaman genangan periodik terhadap jumlah daun

Radiasi	N	Rata-rata	Grup
2	3	5.6667	A
3	3	5.0000	AB
4	3	4.6667	AB
1	3	4.3333	B

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap tinggi tanaman

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	4.45	1.48	0.35	0,788
Eror	8	33.61	4.20		
Total	11	38.06			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap jumlah akar adventif

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung g	P
Varietas	3	138.9	46.3	2.34	0,149
Eror	8	158.0	19.8		
Total	11	296.9			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap panjang akar

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung g	P
Varietas	3	54.1	18.0	1.72	0,240
Eror	8	84.0	10.5		
Total	11	138.1			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap lebar daun

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung g	P
Varietas	3	7.57	2.52	2.35	0,149
Eror	8	8.59	1.07		
Total	11	16.16			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap diameter batang

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	1.993	0.664	3.35	0,076
Eror	8	1.587	0.198		
Total	11	3.580			

Aspek Fisiologi

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap berat kering

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	0.1758	0.0586	1.44	0,303
Eror	8	0.3267	0.0408		
Total	11	0.5025			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap jumlah stomata terbuka

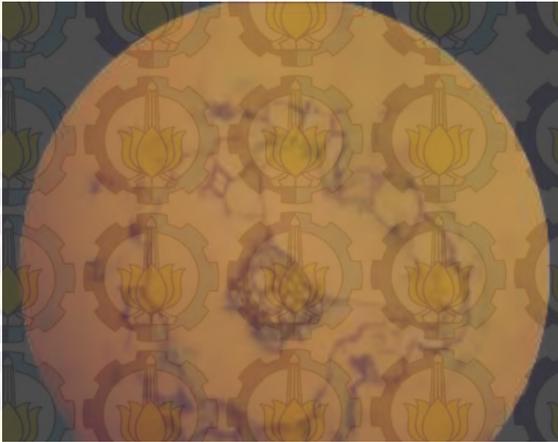
Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	3.56	1.19	0.66	0,602
Eror	8	14.50	1.81		
Total	11	18.06			

Hasil uji Anova pengaruh pengaruh cekaman genangan periodik terhadap jumlah stomata tertutup

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Varietas	3	54.23	18.08	3.26	0,080
Error	8	44.33	5.54		
Total	11	98.56			

Lampiran 3. Hasil Sayatan Anatomi Organ Akar dan Batang

Varietas Jinten

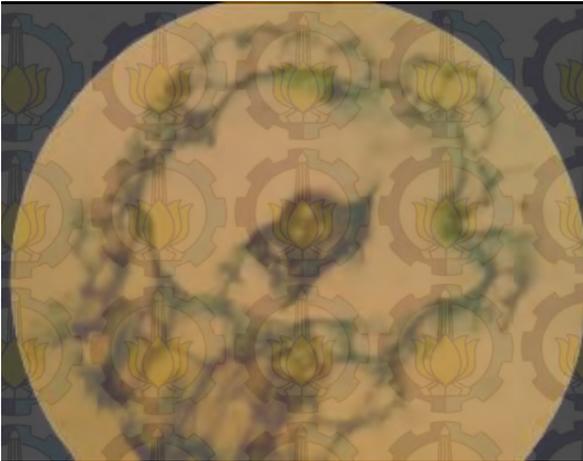


Sayatan melintang organ akar (Perbesaran 400x)

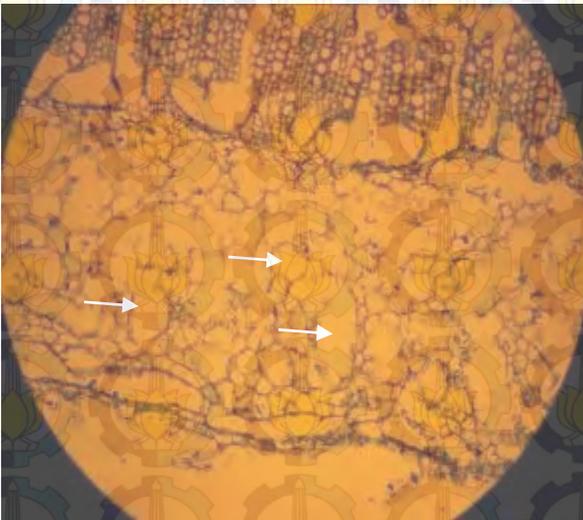


Sayatan melintang organ daun (Perbesaran 100x)

Varietas Jepon Pelakean

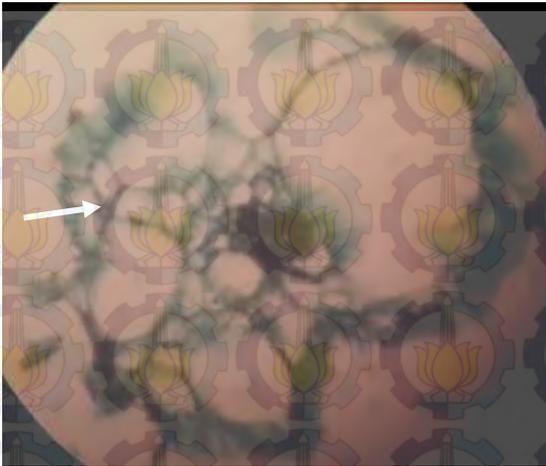


Sayatan
melintang
organ akar
(Perbesaran
400x)

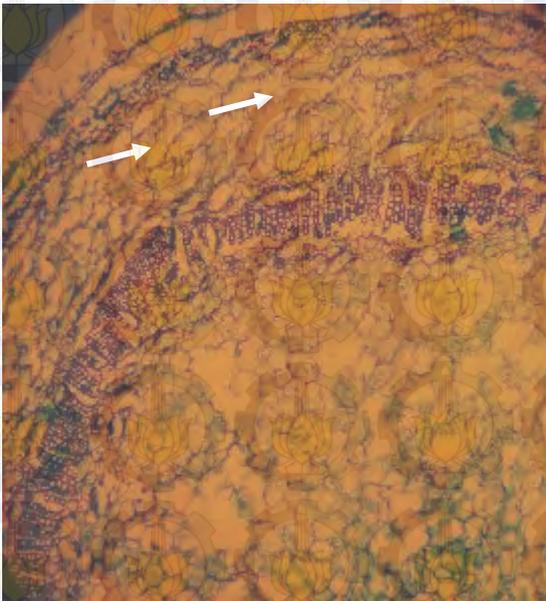


Sayatan
melintang
organ daun
(Perbesaran
400x)

Varietas Manilo

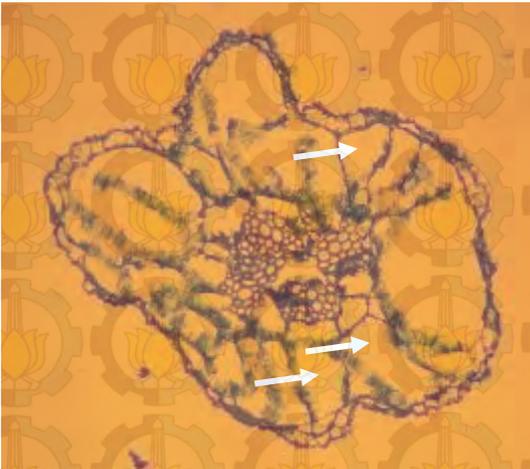


Sayatan
melintang
organ akar
(Perbesaran
1000x)

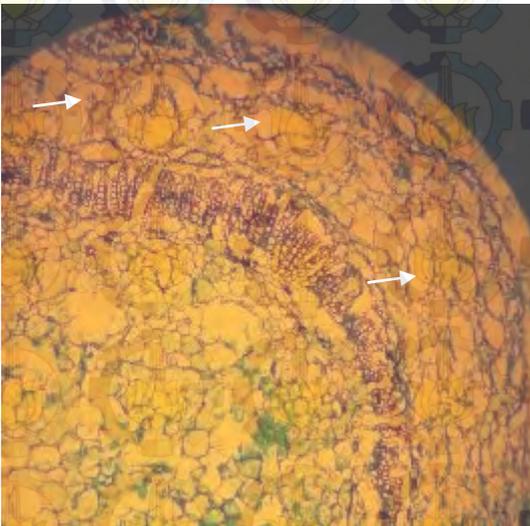


Sayatan
melintang
organ daun
(Perbesaran
100x)

Varietas Marakot



Sayatan
melintang
organ akar
(Perbesaran
400x)



Sayatan
melintang
organ daun
(Perbesaran
100x)

Lampiran 4. Deskripsi Morfologi Keempat Varietas Uji
(PT. SADHANA, 2015)

Varietas Manilo



Pengamatan	Manilo
Habitus	Silindris
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang, 158,5 cm (132,8 – 184,3 cm)
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Jarang
Panjang Ruas / Internode	Panjang berganti >4.42 6,54 cm (4,74 – 8,34 cm)
Sirung (cm)	Tidak ada
Jumlah Daun	Sedang, 21 lb/phn (15 – 26)

	lb)
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	7,67 (6,14 – 9,20)
Panjang Daun (cm)	Besar, 64,3 cm (49,3 – 79,2 cm)
Lebar Daun (cm)	Besar, 32,5 cm (25,4 – 39,6 cm)
Indeks Daun (panjang/lebar)	1,98 (1,69 – 2,26)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam Penampang	Cekung
Sudut Daun	Horisontal, 70,0°
Ujung Daun	Agak meruncing
Tepi Daun	Berombak
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	0,4
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	3/8 ke kiri
Sudut Tulang Daun	Agak tajam, 62,5°
Tangkai Daun	Duduk
Sayap Daun (cm)	Lebar berploi, 5,79 cm (3,09 – 8,49 cm)
Perkembangan Telinga Daun	Medium
Bentuk Telinga Daun (cm)	Lebar berombak, 3,79 cm (2,44 – 5,13 cm)
Getah	Bergetah
Stem diameter (cm)	3,00 cm (2,41 – 3,59 cm)
Warna bunga	Merah muda

Ukuran mahkota bunga (cm)	2,38 cm (1,80 – 2,96 cm)
Diameter di bawah corolla (cm)	0,43 cm (0,40 – 0,46 cm)
Benjolan di bawah corolla (cm)	0,80 cm (0,56 – 1,03 cm)
Ujung mahkota bunga	Meruncing
Perkembangan benang sari	Sempurna
Panjang relative antara benang sari dan putik	Lebih rendah
Warna kepala putik	Hijau
Inflorescence	Spherical
Bentuk buah	Agak lonjong
Kanopi (cm)	112,3 cm (91,1 – 133,4 cm)

Varietas Jinten



Pengamatan	Jinten
Habitus	Piramid
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang, 153,8 cm (136,0 – 171,5 cm)
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Jarang
Panjang Ruas / Internode	Panjang tetap <4.42 4,04 cm (2,03 – 6,06 cm)
Sirung (cm)	Ada sedang, 1,00 cm
Jumlah Daun	Sedang, 25 lb/phn
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	6,15 (5,44 – 6,86)
Panjang Daun (cm)	Besar, 56,6 cm (50,5 – 62,8 cm)
Lebar Daun (cm)	Sedang, 24,4 cm (20,2 – 28,5 cm)
Indeks Daun (panjang/lebar)	2,33 (1,74 – 2,93)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam Penampang	Cekung
Sudut Daun	Horisontal, 62,5° (53,8 – 71,2°)
Ujung Daun	Meruncing
Tepi Daun	Berombak
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	0,34 (0,31 – 0,37)
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	5/13 ke kanan

Sudut Tulang Daun	Agak tajam, 60,0°
Tangkai Daun	Bertangkai
Sayap Daun (cm)	Sempit licin, 0,86 cm (0,27 – 1,44 cm)
Perkembangan Telinga Daun	Medium
Bentuk Telinga Daun (cm)	Sempit berombak, 1,23 cm (0,98 – 1,48 cm)
Getah	Bergetah
Stem diameter (cm)	2,85 cm (2,47 – 3,22 cm)
Warna bunga	Putih
Ukuran mahkota bunga (cm)	2,22 cm (1,72 – 2,72 cm)
Diameter di bawah corolla (cm)	0,38 cm (0,33 – 0,43 cm)
Benjolan di bawah corolla (cm)	0,72 cm (0,62 – 0,82 cm)
Ujung mahkota bunga	Meruncing
Perkembangan benang sari	Sempurna
Panjang relative antara benang sari dan putik	Sama
Warna kepala putik	Hijau
Inflorescence	Inverted conical
Bentuk buah	Agak lonjong
Kanopi (cm)	99,8 cm (60,2 – 139,4 cm)

Varietas Marakot



Pengamatan	Marakot
Habitus	Piramid
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang, 121,4 cm (98,4 – 144,4 cm)
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Jarang
Panjang Ruas / Internode	Panjang berganti >4.42 4,87 cm (4,45 – 5,28 cm)
Sirung (cm)	Ada sedang, 1,80 cm (1,26 – 2,33 cm)
Jumlah Daun	Sedang, 19 lb/phn (15 – 23 lb)

Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	6,40 (5,15 – 7,65)
Panjang Daun (cm)	Besar, 52,3 cm (38,7 – 65,9 cm)
Lebar Daun (cm)	Sedang, 27,2 cm (18,8 – 35,6 cm)
Indeks Daun (panjang/lebar)	1,93 (1,53 – 2,33)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam Penampang	Cekung
Sudut Daun	Tegak, 58,0°
Ujung Daun	Agak meruncing
Tepi Daun	Berombak
Permukaan Daun	Berbendol
Tebal Daun (mm)	0,35
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	2/5 ke kanan
Sudut Tulang Daun	Agak tajam, 66,0° (49,6 – 82,4°)
Tangkai Daun	Duduk
Sayap Daun (cm)	Lebar berploi, 3,51 cm (2,24 – 4,78 cm)
Perkembangan Telinga Daun	Medium
Bentuk Telinga Daun (cm)	Lebar berombak, 2,83 cm
Getah	Bergetah
Stem diameter (cm)	2,67 cm (1,95 – 3,39 cm)
Warna bunga	Putih
Ukuran mahkota	2,44 cm (1,93 – 2,96 cm)

bunga (cm)	
Diameter di bawah corolla (cm)	0,39 cm (0,35 – 0,43 cm)
Benjolan di bawah corolla (cm)	0,68 cm (0,47 – 0,89 cm)
Ujung mahkota bunga	Meruncing
Perkembangan benang sari	Sempurna
Panjang relative antara benang sari dan putik	Lebih tinggi
Warna kepala putik	Hijau
Inflorescence	Inverted conical
Bentuk buah	Agak lonjong
Kanopi (cm)	98,6 cm (85,3 – 112,0 cm)

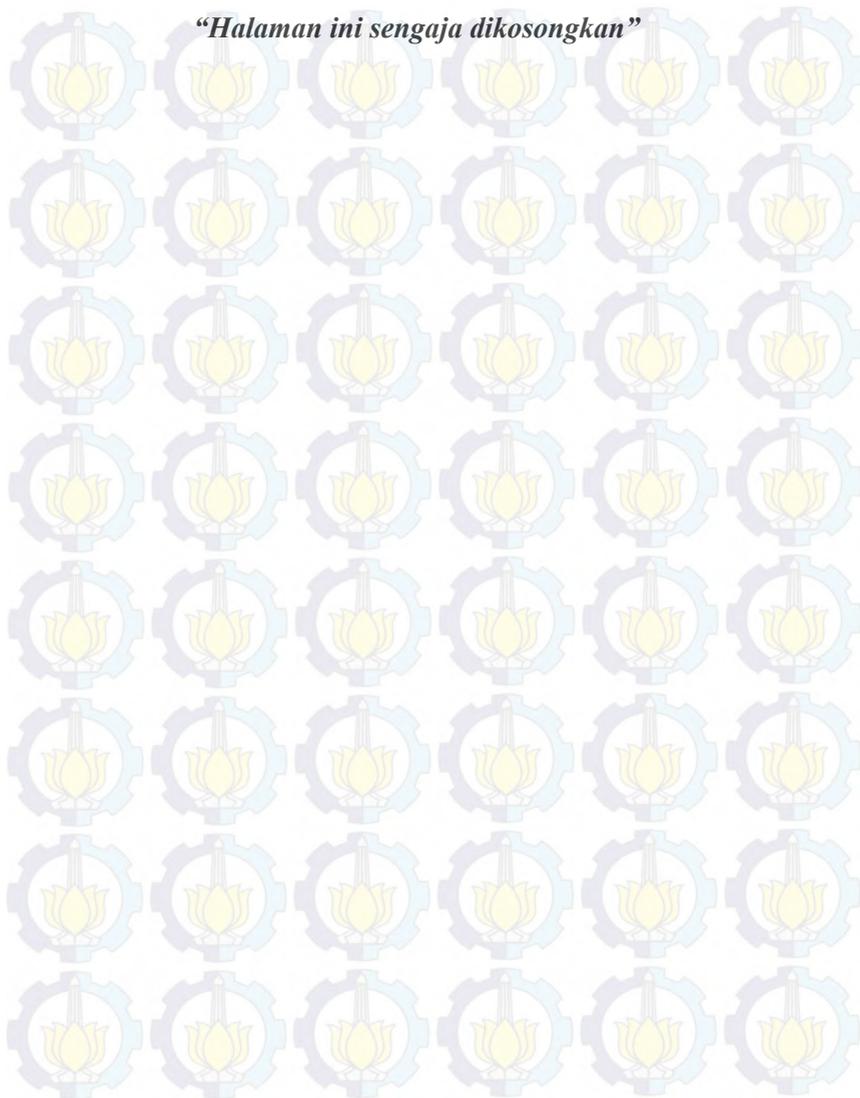
Varietas Jepon Pelakean



Pengamatan	Jepon Pelakean
Habitus	Piramid
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang, 147,0 cm (97,6 – 196,4 cm)
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Jarang
Panjang Ruas / Internode	Panjang tetap >4.42 4,56 cm (3,03 – 6,08 cm)
Sirung (cm)	Tidak ada
Jumlah Daun	Sedang, 20 lb/phn
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	7,51
Panjang Daun (cm)	Besar, 67,3 cm (61,1 – 73,6 cm)
Lebar Daun (cm)	Besar, 32,0 cm (24,1 – 39,9 cm)
Indeks Daun (panjang/lebar)	2,11 (1,66 – 2,56)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam Penampang	Cekung
Sudut Daun	Tegak, 56,7°
Ujung Daun	Meruncing
Tepi Daun	Licin/rata
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	0,36
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	2/5 ke kanan

Sudut Tulang Daun	Agak tajam, 63,3° (46,0 – 80,7°)
Tangkai Daun	Duduk
Sayap Daun (cm)	Lebar berploi, 3,47 cm
Perkembangan Telinga Daun	Medium
Bentuk Telinga Daun (cm)	Sempit berombak, 2,38 cm (1,59 – 3,17 cm)
Getah	Bergetah
Stem diameter (cm)	3,06 cm (2,36 – 3,77 cm)
Warna bunga	Merah muda
Ukuran mahkota bunga (cm)	2,26 cm (1,64 – 2,88 cm)
Diameter di bawah corolla (cm)	0,47 cm (0,31 – 0,63 cm)
Benjolan di bawah corolla (cm)	0,83 cm (0,62 – 01,04 cm)
Ujung mahkota bunga	Meruncing
Perkembangan benang sari	Sempurna
Panjang relative antara benang sari dan putik	Lebih tinggi
Warna kepala putik	Hijau
Inflorescence	Inverted conical
Bentuk buah	Lonjong
Kanopi (cm)	134,7 cm (120,5 – 148,8 cm)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BIODATA PENULIS



R. Yuvita Rakhman, lahir pada 09 Juni 1993 di Sumenep, Jawa timur sebagai anak kedua dari pasangan Arief Rakhman Hakim dan R.A Nurul Kamariyah. Penulis menempuh pendidikan formal di SD Muhammadiyah 1 Gresik, SMP Negeri I Sumenep dan RSMA-BI 1 Sumenep. Setelah lulus dari SMA penulis kemudian melanjutkan pendidikan di S1 Biologi FMIPA-ITS, masuk pada tahun 2012 melalui SNMPTN Undangan 2012. Penulis berhasil mendapatkan

kesempatan satu diantara tiga puluh satu peraih Beasiswa Unggulan CIMB NIAGA bersama KEMDIKBUD RI 2012-2016. Selama kuliah penulis juga mengikuti organisasi BEM ITS Muda Bersahabat dan BEM ITS Kolaborasi di Kementerian Kebijakan Publik sebagai Asisten Kajian Startegis. Penulis juga terlibat dalam dunia LKMM ITS sebagai Pemandu JAWARA VII FMIPA ITS dan Tim AD-HOC HIMABITS sebagai juru bicara.