



TUGAS AKHIR - SB141510

**ANALISIS MORFO-FISIOLOGI DAN PROFIL
PROTEIN BEBERAPA VARIETAS TEMBAKAU
(*Nicotiana tabacum* L.) TERHADAP
CEKAMAN GENANGAN**

**NOVITA SARI
1512100050**

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

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



FINAL PROJECT - SB141510

**MORPHO-PHYSIOLOGICAL ANALYSIS AND
PROTEIN PROFILE OF SOME TOBACCO
VARIETIES (*Nicotiana tabacum* L.) TO
WATERLOGGING STRESS**

**NOVITA SARI
1512100050**

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

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

LEMBAR PENGESAHAN

**ANALISIS MORFO-FISIOLOGI DAN PROFIL PROTEIN
BEBERAPA VARIETAS TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum*
L.) TERHADAP CEKAMAN GENANGAN**

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Sains
pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**NOVITA SARI
NRP. 1512 100 050**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr. Nurul Jadid, M.Sc (Pembimbing)

Surabaya, 30 Maret 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

**Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si
NIP. 19691121 199802 2 001**

ANALISIS MORFO-FISIOLOGI DAN PROFIL PROTEIN
BEBERAPA VARIETAS TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
TERHADAP CEKAMAN GENANGAN

Nama Mahasiswa : Novita Sari
NRP : 1512100050
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

Abstrak

*Tembakau merupakan tanaman bernilai ekonomis tinggi yang sensitif terhadap cekaman genangan. Beberapa varietas telah banyak dibudidayakan di Indonesia, diantaranya Jepon Mawar, Jepon Banyak dan Rejeb. Hingga saat ini sedikit adanya informasi dan penelitian mengenai respon ketiga varietas tersebut terhadap cekaman genangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon beberapa varietas tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) tersebut terhadap cekaman genangan. Parameter yang diamati meliputi karakter morfologi, fisiologi, dan profil protein. Hasil penelitian menunjukkan pada aspek morfologi, Rejeb memiliki respon yang lebih baik pada parameter tinggi tanaman, luas daun, jumlah akar adventif dan panjang akar dibanding varietas uji yang lain. Cekaman genangan juga menurunkan jumlah daun pada ketiga varietas uji. Selain itu, cekaman genangan dapat menurunkan total klorofil dengan nilai terendah 6,5 mg/L pada varietas Jepon Mawar. Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi protein dengan berat molekul 85,38 kDa pada varietas Rejeb perlakuan cekaman genangan 175%. Protein tersebut terekspresi tidak signifikan pada varietas Jepon Mawar perlakuan 150%, 175% dan 200%. Ekspresi protein tersebut tidak bergantung dengan tingkat penggenangan pada varietas Jepon Banyak.*

*Kata kunci: fisiologi, genangan, morfologi, *Nicotiana tabacum* L., profil protein*

MORPHO-PHYSIOLOGICAL ANALYSIS AND PROTEIN
PROFILE OF SOME TOBACCO VARIETIES (*Nicotiana
tabacum* L.) TO WATERLOGGING STRESS

Student Name : Novita Sari
NRP : 1512100050
Department : Biology
Supervisor : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

Abstract

Tobacco is considered as high-value crop that is sensitive to waterlogging stress. Several varieties has been commonly cultivated in Indonesia are Jepon Mawar, Jepon Banyak, and Rejeb. To date, little information has been reported about tobacco response to waterlogging stress. This research aims to determine response of some tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties to waterlogging stress. Some parameters measured were morphology, physiology, and protein profile. The result of this study showed Rejeb is positively response to waterlogging stress in term of its morfological aspect, including height of plant, width of leaf, number of adventitious roots and length of root, compared to other varieties. Waterlogging stress decreased the number of leaves in all varieties. In addition, chlorophyll content of all treated varieties has decreased, where the lowest value is response in Jepon Mawar (6.5 mg/L). The SDS-PAGE analysis showed that protein having 85.38 kDa molecular weight has been over expressed in Rejeb treated with 175% waterlogging level. In Jepon Mawar trataed with 150%, 175% and 200%, this protein was not significantly expressed. Meanwhile, the expression level of this protein do not depend on waterlogging stress level in Jepon Banyak.

Key words: physiology, waterlogging, morphology, *Nicotiana tabacum* L., protein profile.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
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> L.).....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Tembakau.....	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Tembakau.....	6
2.1.3 Syarat Tumbuh Tanaman Tembakau.....	8
2.2 Cekaman.....	9
2.2.1 Cekaman Genangan	9
2.2.2 Respon Fisiologi dan Morfologi Tanaman Terhadap Cekaman Genangan.....	11
2.2.3 Respon Metabolik dan Adaptasi terhadap Hipoksia dan Anoksia.....	17
2.3 Protein.....	19
2.4 SDS-PAGE untuk Profil Protein.....	21
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23

3.2	Metode yang Digunakan.....	23
3.2.1	Persiapan Media Tanam	23
3.2.2	Pengukuran Kapasitas Lapang	23
3.2.3	Persiapan, Pemeliharaan dan Penanaman Bibit Tanaman.....	24
3.2.4	Perlakuan Cekaman Genangan.....	25
3.2.5	Pengamatan Morfologi.....	25
3.2.6	Pengamatan Profil Protein.....	26
3.2.7	Pengukuran Kadar Klorofil dan pH Tanah.....	28
3.2.8	Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Respon Morfologi Beberapa Varietas Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) terhadap Cekaman Genangan.....	33
4.1.1	Tinggi Tanaman.....	34
4.1.2	Jumlah Daun.....	37
4.1.3	Luas Daun.....	41
4.1.4	Panjang Akar.....	43
4.1.5	Pembentukan Akar Adventif.....	47
4.2	Respon Fisiologi Beberapa Varietas Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) Tercekam Genangan terhadap Kandungan Klorofil	52
4.4	Profil Protein Beberapa Varietas Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) setelah Diberi Cekaman Genangan.....	55

BAB V KESIMPULAN

3.1	Kesimpulan	63
3.2	Saran.....	64
	DAFTAR PUSTAKA	65
	LAMPIRAN.....	87

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 3.1	Tabel Rancangan Penelitian.....	29
Tabel 4.1	Hasil Pengamatan Rerata Pertumbuhan Tinggi Tanaman Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan.....	34
Tabel 4.2	Hasil Pengamatan Rerata Penambahan Jumlah Daun Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan.....	38
Tabel 4.3	Hasil Pengamatan Rerata Luas Daun Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan.....	41
Tabel 4.4	Hasil Pengamatan Rerata Panjang Akar Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan...	43
Tabel 4.5	Hasil Pengamatan Rerata Jumlah Akar Adventif Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan...	48

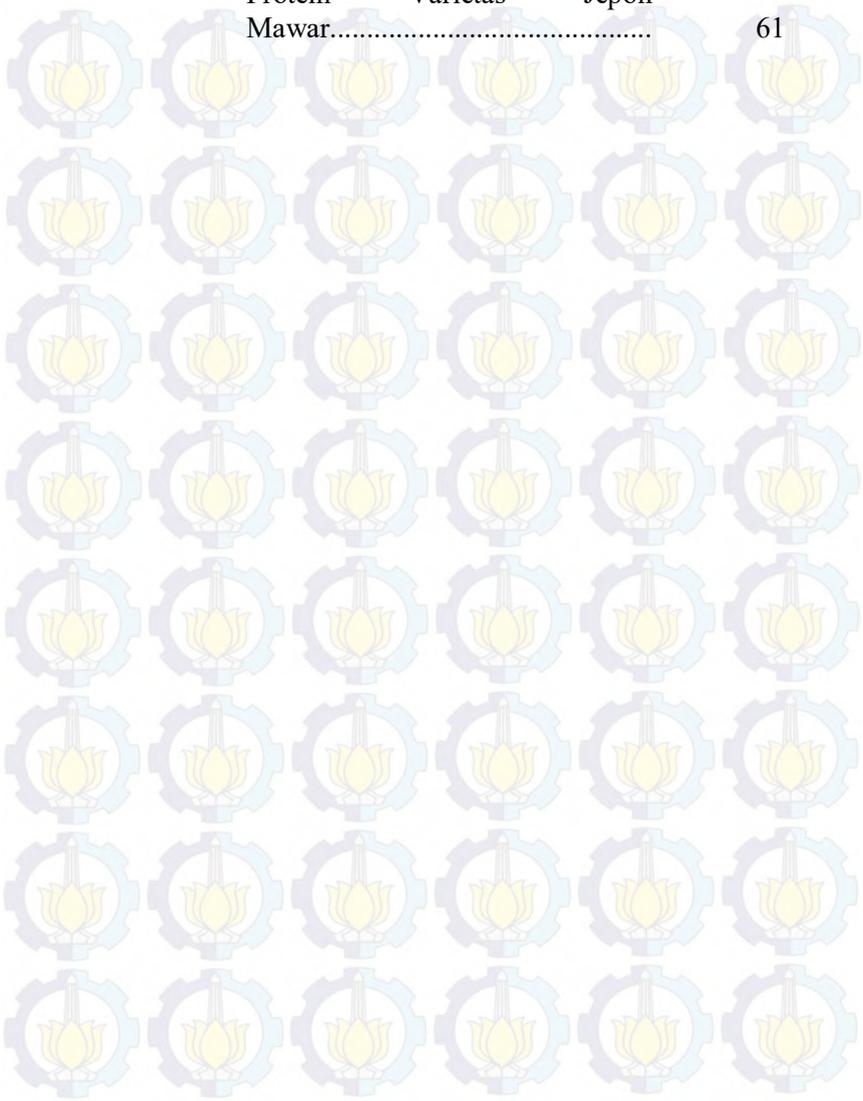
DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Tanaman Tembakau Berumur Enam Minggu.....	7
Gambar 2.2	Perbedaan Tingkat Genangan Atau Kelebihan Air pada Kapasitas Lapang.....	11
Gambar 2.3	Akar dari Tanaman <i>Luffa cylindrica</i> setelah 16 hari tercekam genangan.....	12
Gambar 2.4	Morfologi Tanaman <i>Lotus tenuis</i> yang Tergenang selama 40 hari dengan Tinggi Genangan 6 cm.....	14
Gambar 2.5	Perubahan Jalur Respirasi Aerob ke Respirasi Anaerob dan Beberapa Enzim yang Berperan di dalamnya.....	19
Gambar 4.1	Morfologi Tinggi Tanaman Varietas Jepon Mawar.....	35
Gambar 4.2	Morfologi Tinggi Tanaman Varietas Rejeb.....	36
Gambar 4.3	Daun Tembakau Varietas Jepon Mawar yang Layu setelah 6 Hari Cekaman Genangan.....	39
Gambar 4.4	Daun Tembakau Varietas Jepon	

	Banyak yang Layu setelah 6 Hari Cekaman Genangan.....	39
Gambar 4.5	Akar Tembakau Varietas Rejeb setelah 10 Hari Cekaman Genangan.....	44
Gambar 4.6	Akar Tembakau Varietas Japon Mawar setelah 10 Hari Cekaman Genangan.....	44
Gambar 4.7	Akar Tembakau Varietas Japon Banyak setelah 10 Hari Cekaman Genangan.....	47
Gambar 4.8	Perakaran Tembakau Ketiga Varietas Uji setelah 10 Hari Cekaman Genangan.....	49
Gambar 4.9	Grafik Rerata Total Klorofil Beberapa Varietas Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) Tercekam Genangan terhadap Kandungan Klorofil.....	52
Gambar 4.10	Gejala Klorosis Daun Varietas Japon Banyak pada Perlakuan Cekaman Genangan 175% di atas Kapasitas Lapang.....	54
Gambar 4.11	Hasil Analisis <i>SDS-PAGE</i> Profil Protein Varietas Japon Banyak.....	56
Gambar 4.12	Hasil Analisis <i>SDS-PAGE</i> Profil Protein Varietas Rejeb.....	58

Gambar 4.13 Hasil Analisis *SDS-PAGE* Profil Protein Varietas Jepon Mawar.....

61



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tembakau merupakan salah satu komoditi perkebunan utama di Jawa Timur yang memiliki peran penting dalam pembangunan ekonomi regional melalui penyediaan lapangan pekerjaan (Dinas Perkebunan Provinsi Jatim, 2011) maupun nasional melalui cukai dan pajak (Kurniawan dkk., 2014). Secara historis komoditi tembakau sudah memperoleh perhatian yang besar sebagai komoditi komersial (*high value commodity*) sejak pemerintah Hindia Belanda. Kebijakan penanaman tembakau tersebut terus dilanjutkan oleh pemerintah Indonesia melalui Perusahaan Negara Perkebunan (PNP) (Kurniawan, 2014).

Keberhasilan budidaya tembakau sangat dipengaruhi oleh keadaan iklim (Nur dan Apriana, 2013) yaitu hujan yang turun tidak menentu (Susilawati dkk., 2012) dan terjadinya intensitas curah hujan yang tinggi (Sigit, 2013). Tembakau tumbuh dengan baik di daerah dengan curah hujan berkisar 1500-2000 mm per tahun. Hujan yang berlebihan menyebabkan tanaman menjadi kerdil, pendek, mudah terserang penyakit (Naif, 2007) dan menghambat pertumbuhan akar (Belder *et al.*, 2004). Penelitian Sholeh (1995) menyatakan bahwa terjadinya hujan dengan intensitas lebih dari 10 mm/periode menyebabkan kadar air tanah meningkat melebihi 85% pada lahan sawah dan sedangkan pada lahan tegal sekitar kurang dari 45%. Peningkatan kadar air tanah yang tinggi dapat menurunkan kualitas daun terutama terjadi pada periode pemasakan (Clough dan Milthorpe, 1975). Pada kadar air tanah yang tinggi di atas 75% suhu tanah menjadi stabil dan kelembapan udara tinggi menyebabkan daun tembakau yang dihasilkan aromanya menjadi menurun (Belder *et al.*, 2004). Pada daerah tropis dengan curah hujan yang tinggi seringkali terjadi genangan baik yang bersifat temporer maupun yang berlangsung dalam periode yang relatif lama (Susilawati dkk., 2012).

Genangan merupakan cekaman abiotik yang dapat berdampak pada pertumbuhan dan hasil panen karena adanya insensitas hujan

yang tinggi. Penyebab utama kerusakan pada tanaman selama genangan adalah rendahnya oksigen, sehingga tanaman menunjukkan gejala layu akibat penyerapan nutrisi dan air yang terhambat (Sairam *et al.*, 2008). Genangan juga dapat menyebabkan kondisi hipoksia (rendahnya kadar oksigen) dan anoksia (tidak adanya oksigen) dalam tanah, karena laju difusi oksigen yang rendah dalam air (Barrett, 2003). Rendahnya kadar oksigen ini dapat menghambat respirasi akar yang mengarah pada perubahan jalur respirasi dari aerob ke anaerob (fermentasi) (Voeselek *et al.*, 2004). Ada dua kondisi pada tanaman yang tergenang, yang pertama hanya akar tanaman yang tergenang (*waterlogging*) dan yang kedua seluruh bagian tanaman tergenang (*Submergence*) (Shimamura *et al.*, 2002).

Tanaman pada keadaan tercekam akan berusaha untuk bertahan hidup dengan cara melakukan mekanisme adaptasi melalui adaptasi morfologi, anatomi, fisiologi dan mekanisme metabolik yang memungkinkan tanaman untuk menghindari dan atau mentoleransi faktor stres baik biotik maupun abiotik (Anton *et al.*, 2002; Pourabdol dalam Susilawati dkk., 2012). Tanaman tembakau yang tercekam genangan akan meningkatkan produksi etilen dan Asam Absisat (Hurng, 1993). Hormon etilen yang meningkat ini berfungsi dalam pembentukan akar adventif yang memungkinkan perakaran menyerap oksigen dari udara (Suwanti dkk., 2013), sedangkan meningkatnya hormon asam absisat akan menyebabkan penutupan stomata terjadi lebih awal (Parent *et al.*, 2008). Selain itu etilen akan menginduksi kematian sel pada korteks akar, yang selanjutnya membentuk aerenkim pada akar. Pengembangan jaringan aerenkim inilah merupakan bentuk adaptasi anatomi di kondisi cekaman genangan (Taiz dan Zeiger, 2010). Salah satu respon metabolik yang dilakukan tanaman saat kondisi oksigen rendah adalah induksi “protein stres” yang dikenal dengan protein anaerobik (ANPs) (Dolferus *et al.*, 1997; Drew *et al.*, 1994). Pada jagung, anaerobiosis menginduksi sekitar 20 protein, kebanyakan adalah enzim yang berperan dalam jalur glikolisis atau metabolisme gula-fosfat (Sachs *et al.*, 1980).

Faktor-faktor yang mempengaruhi toleransi tanaman terhadap kondisi tergenang, antara lain varietas, fase pertumbuhan tanaman dan lamanya kondisi tergenang (Boru *et al.*, 2003). Tembakau varietas Rejeb, Jepon Mawar dan Jepon Banyak merupakan varietas tanaman yang dikembangkan di PT. SADHANA, Pasuruan, Jawa Timur. Hingga saat ini, belum pernah ada penelitian mengenai respon ketiga varietas tembakau tersebut terhadap cekaman genangan. Sehingga dapat dijadikan informasi awal mengenai respon varietas Jepon Mawar, Jepon Banyak dan Rejeb terhadap cekaman genangan yang dapat digunakan sebagai langkah awal dalam seleksi varietas tembakau toleran terhadap genangan. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian mengenai respon beberapa varietas tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap cekaman genangan dengan perlakuan perbedaan tinggi genangan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana respon tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) varietas Jepon Mawar, Jepon Banyak dan Rejeb terhadap cekaman genangan?
2. Bagaimana profil protein tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) varietas Jepon Mawar, Jepon Banyak dan Rejeb pada cekaman genangan?

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada :

1. Benih varietas tanaman tembakau yang digunakan berasal dari PT. SADHANA Pasuruan sebanyak 3 varietas yaitu varietas Rejeb, Jepon Mawar, dan Jepon Banyak.
2. Perbedaan perlakuan tinggi genangan dihitung dengan menggunakan persentase dari jumlah air pada kapasitas lapang.
3. Penelitian dilakukan secara *In Vivo* di rumah kaca.

4. Kelembapan dan kandungan air dalam media setelah pemindahan ke *polybag* sampai perlakuan cekaman genangan (21 HST) tidak diukur.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui respon setiap varietas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.) terhadap cekaman genangan.
2. Mengetahui profil protein tanaman tembakau pada cekaman genangan

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan data mengenai pengaruh cekaman genangan terhadap beberapa varietas tembakau, sehingga dapat menjadi kajian untuk penelitian selanjutnya.
2. Dapat memberikan informasi dan pengetahuan secara molekuler tentang respon tanaman tembakau yang mengalami cekaman genangan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.)

Nicotiana spp. adalah salah satu tanaman hasil pertanian (bukan pangan) yang paling penting dan diusahakan secara meluas (Moon *et al.*, dalam Darvishzadeh dkk., 2013). Tanaman yang termasuk dalam familia *Solanaceae* ini memiliki lebih dari 64 spesies, salah satu spesies yang paling banyak dikembangkan adalah *Nicotiana tabacum* (Ren dan Timko dalam Darvishzadeh dkk., 2013). Tembakau mengandung senyawa alkaloid utama, yaitu nikotin (Simpson dan Ogorzaly, 2001).

Secara umum tembakau di Indonesia dapat dibedakan menurut musim tanamnya yang terbagi menjadi dua jenis yaitu :

a. Tembakau *Voor-Oogst* (VO)

Tembakau semacam ini biasanya dinamakan tembakau musim kemarau atau *onberengend*. Artinya tembakau yang ditanam pada waktu musim penghujan dan dipanen pada waktu musim kemarau. Contohnya: tembakau sigaret, tembakau rakyat dan tembakau asapan (Matnawi, 1997).

b. Tembakau *Na-Oogst* (NO)

Tembakau *Na-Oogst* yaitu jenis tembakau yang ditanam akhir musim kemarau. Kemudian dipanen atau dipetik pada musim penghujan (Matnawi, 1997). Tanaman tembakau jenis ini adalah jenis tembakau Besuki (Pemerintah Kabupaten Lamongan dalam Rachmawati dkk, 2013). Contoh lainnya adalah tembakau cerutu dan tembakau pipa (Matnawi, 1997).

Jawa Timur memiliki lokasi pengembangan yang potensial seperti wilayah kabupaten Bojonegoro, Lamongan, Bondowoso, Jember, Blitar, Madura dan lain-lain. Varietas-varietas yang sering ditanam petani di Jawa Timur adalah Grompol Jatim 1, Kasturi, Kasturi 1, Kasturi 2, Coker 176, cangkkring 45, Kemloko 1, Kemloko 2, Kemloko 3, Prancak N-1, Prancak N-2, Prancak 95, Bligon 1, dan Bojonegoro 1 (Purdyaningsih, 2013). Pada

penelitian ini digunakan 3 varietas yaitu, Jepon Mawar, Jepon Banyak dan Rejeb (deskripsi varietas selengkapnya di lampiran).

Tanaman tembakau merupakan salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai pestisida alami. Bagian yang sering digunakan adalah bagian daun dan batang. Daun tembakau kering mengandung 2-8% nikotin. Tanaman tembakau dapat dijadikan sebagai pestisida organik karena kandungan nikotinnya yang tinggi mampu mengusir hama pada tanaman, sehingga tembakau bukan hanya digunakan untuk konsumsi rokok semata, tetapi bisa diolah menjadi pestisida organik (Yuphy *dalam* Meikawati, 2013).

2.1.1 Klasifikasi tanaman tembakau

Susunan taksonomi *Nicotiana tabacum* L. adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Genus	: <i>Nicotiana</i>
Species	: <i>Nicotiana tabacum</i> L.

(Simpson, 2010).

2.1.2 Morfologi tanaman tembakau

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki tinggi 1-3 meter (Levetin dan McMahan, 1999). *N. tabacum* L. merupakan semak 1 tahun, tegak, tinggi tanaman rata-rata 120 cm. Tanaman tembakau memiliki akar tunggang. Selain akar tunggang, terdapat bulu-bulu akar dan akar serabut. Pertumbuhan perakaran ada yang lurus, berlekuk, baik pada akar tunggang maupun akar serabut (Matnawi, 1997). Batang tanaman tembakau agak bulat, agak lunak tetapi kuat, makin ke ujung makin kecil. Batang tanaman tidak bercabang atau sedikit bercabang. Setiap ruas batang tanaman tembakau ditumbuhi dengan daun dan tunas

(Cahyono, 1998). Daun tembakau berwarna hijau, berbentuk oval, ujung meruncing, tepi licin, dan bertulang sirip seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1. Dalam satu tanaman, jumlah daun yang dapat dimanfaatkan sekitar 32 helai (Cahyono, 1998).



Gambar 2.1 Tanaman Tembakau (*N. tabacum* L.) Berumur Enam Minggu (Soitamo *et al.*, 2012).

Bunga tembakau termasuk bunga majemuk yang berbentuk seperti terompet, warna bunga dalam satu helai ada yang kemerah-merahan dan putih (Budiarto, 2007). Kelopak bunga berbulu, benang sari berjumlah lima dan kepala putik satu (Purdyaningsih, 2013). Kepala putik atau tangkai putik terletak di atas bakal buah di dalam tabung bunga. Letak kepala putik dekat dengan benang sari dengan kedudukan sama tinggi. Pangkal putik pendek (Steenis, 2008). Buah berbentuk telur memanjang dan berukuran kecil, berisi biji ringan. Selain itu buah berwarna coklat muda kehitaman dan beruang 2. Buah tembakau akan tumbuh setelah tiga minggu penyerbukan. Biji berukuran kecil dengan diameter berkisar 30 μm sampai 560 μm dan beratnya antara 50 mg hingga 80 mg per 1000 biji. Selain itu biji berjumlah banyak

(13.000 biji/gr) dan melekat di pusat (Goldsworthy dan Fisher, 1992).

2.1.3 Syarat tumbuh tanaman tembakau

Syarat-syarat yang diperlukan untuk mendapatkan daun tembakau yang berkualitas adalah : (1) kelembapan udara sekitar 60%-80%, (2) curah hujan rata-rata per bulan kurang lebih 175 mm, (3) temperatur udara berkisar antara 21-33⁰C, (4) intensitas penyinaran matahari berkisar antara 61%-69% (Sudaryono, 2004).

Tanaman tembakau pada umumnya tidak menghendaki iklim yang kering ataupun iklim yang basah. Angin kencang yang sering melanda lokasi tanaman tembakau dapat merusak tanaman (Abdullah, 2002). Untuk tanaman tembakau dataran rendah, curah hujan rata-rata 2.000mm/tahun, sedangkan untuk tembakau dataran tinggi, curah hujan rata-rata 1.500-3.500 mm/tahun. Penyinaran cahaya matahari yang kurang dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman yang kurang baik sehingga produktivitasnya rendah. Oleh karena itu lokasi untuk tanaman tembakau dipilih di tempat terbuka (Matnawi, 1997).

Tipe tanah yang bertekstur remah, sedikit berpori, pasir halus (tanah ringan) dengan aerasi yang baik lebih cocok untuk pertumbuhan tanaman tembakau, diharapkan tekstur tanah yang seperti ini dapat menghasilkan daun yang tipis, elastis, dan warna krosok (lembaran daun tembakau setelah pengeringan) yang cerah (Matnawi, 1997).

Tanah yang cocok untuk tanaman tembakau yang terpenting adalah tanah tersebut harus cukup gembur, mempunyai kandungan humus yang cukup serta dapat merembeskan air dengan baik tetapi tidak terlalu cepat kering. Jenis tanah seperti itu adalah tanah tipe podsolik, latosol, tanah vulkanik lempung berdebu. Tanaman tembakau menghendaki kondisi lahan yang kering selama 2-3 bulan setelah penanaman untuk proses pemasakan daun dan panen (Damanik *et al.*, 2010).

Tanah yang dapat ditanami tembakau adalah jenis tanah ber pH 5-6. Kesuburan tanah diberi batas sebagai mutu kemampuan

suatu tanah menyediakan unsur hara secara berkesinambungan (Damanik *et al.*, 2010).

2.2 Cekaman

Campbell (2003) mendefinisikan cekaman sebagai kondisi lingkungan yang dapat memberi pengaruh buruk pada pertumbuhan, reproduksi dan kelangsungan hidup tumbuhan. Cekaman dibagi menjadi dua, yaitu cekaman lingkungan biotik dan abiotik. Faktor biotik berasal dari makhluk hidup seperti interaksi antara tanaman dengan hewan dan patogen tanaman, kompetisi antar tumbuhan, dan patogen pada tumbuhan sedangkan faktor abiotik berasal dari faktor tak hidup seperti air (kekeringan, genangan), temperatur, salinitas, cahaya, dan polutan (Kramer *et al.*, 2010).

Air pada tanaman merupakan komponen terbesar dalam seluruh sel. Sekitar 97% air yang diambil oleh tanaman dikeluarkan ke atmosfer (kebanyakan melalui transpirasi). Sekitar 2% digunakan untuk peningkatan volume dan peluasan sel, dan 1% untuk proses metabolisme, terutama fotosintesis. Pertumbuhan tanaman dapat terhambat karena kekurangan air maupun kelebihan air (Taiz dan Zeiger, 2010). Jika jumlah air terlalu melimpah dapat menimbulkan genangan dan menyebabkan cekaman kekurangan oksigen, sedangkan apabila jumlahnya terlalu sedikit dapat menyebabkan cekaman kekeringan. Pada cekaman genangan, pori tanah diisi oleh air, sehingga tumbuhan akan kekurangan oksigen untuk respirasi (Larcher, 2003).

2.2.1 Cekaman Genangan

Genangan merupakan cekaman lingkungan abiotik yang menurunkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Genangan sering terjadi di ekosistem dengan curah hujan yang tinggi, terutama pada tanah dengan drainase buruk (Visser *et al.*, 2003). Genangan merupakan penyebab cekaman hipoksia (ketersediaan oksigen sedikit) atau anoksia (tidak tersedia oksigen) pada tanaman (Smith *et al.*, 2010). Genangan merupakan salah satu

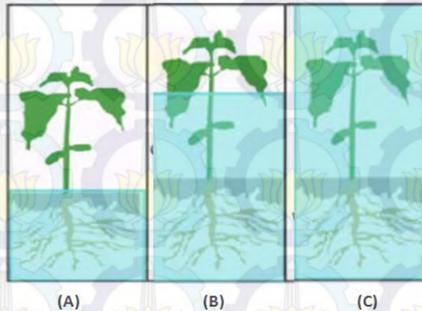
istilah yang dipakai untuk mengetahui bahwa terdapat kelebihan air pada kapasitas lapang (Striker dan Mworio, 2012). Kapasitas lapang adalah keadaan dimana air hanya berada dalam pori-pori mikro tanah dan disebut sebagai air tersedia, sedangkan pori-pori makro tanah ditempati oleh udara (Najiyati dan Danarti, 1998).

Genangan air merupakan kondisi dimana terdapat lapisan air di atas permukaan tanah. Lapisan air ini tingginya biasanya dalam atau dangkal, sehingga hal ini dapat menimbulkan sebagian atau seluruh bagian tanaman terendam air. Ketika tanah tergenang air, rongga udara dan kantong udara dalam tanah hilang. Untuk tanaman, keadaan hipoksia (ketersediaan oksigen sedikit) dimulai ketika kadar gas oksigen dalam tanah berada di bawah 50 mmol/m³.

Pada umumnya setelah tanaman terendam air, ketersediaan oksigen di daun akan mengalami penurunan sebesar 60% dalam satu jam dan 95% dalam sehari, meskipun rata-rata yang tepat dipengaruhi oleh tipe tanah dan suhu. Gas oksigen dipindahkan dari tanah karena kelarutannya yang rendah dan rendahnya difusi dalam air dan juga karena semua mikroorganisme tanah cenderung mengkonsumsi semua oksigen yang tersedia (Smith *et al.*, 2010). Kondisi anoksia terjadi 6-8 jam setelah penggenangan, karena O₂ terdesak oleh air dan sisa O₂ dimanfaatkan oleh mikroorganisme lain. Pada kondisi tergenang, kandungan O₂ yang tersisa dalam tanah lebih cepat habis bila terdapat tanaman karena laju difusi O₂ di tanah basah 10.000 kali lebih lambat dibandingkan dengan di udara (Dennis *et al.*, 2000).

Genangan dapat dibedakan menjadi dua, pertama hanya akar tanaman yang tergenang air (*waterlogging*), dan kedua seluruh bagian tanaman terendam air (*submergence*) (Shimamura *et al.*, 2002). Genangan (*Waterlogging*) adalah suatu keadaan dimana kelebihan air hanya berada pada pori-pori tanah atau tepat hanya pada bagian tanah saja dan dimungkinkan juga berada sangat tipis di atas permukaan tanah atau tidak sampai di atas permukaan tanah sama sekali. Kondisi dimana seluruh akar tanaman terendam air dan hanya sedikit bagian pucuk atau tunas

yang tidak terendam air (berdasarkan kedalaman air) dinamakan kondisi terendam sebagian atau *Partial submergence*. Sedangkan *complete submergence* atau terendam seluruhnya merupakan kondisi dimana seluruh bagian tanaman terendam air. Dalam kondisi inilah tanaman akan menghadapi kondisi yang paling tercekam (Striker dan Mworira, 2012) seperti pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Perbedaan Tingkat Genangan atau Kelebihan Air pada Kapasitas Lapang (Striker dan Mworira, 2012).

Keterangan gambar : (A). Akar Tanaman yang Tergenang Air (*Waterlogging*), (B). Tanaman Terendam Sebagian (*Flooding Partial Submergence*), (C). Tanaman Terendam Keseluruhan (*Flooding Complete Submergence*).

Pada kedalaman air yang sama, tingkat perendaman tanaman akan tergantung pada tahap perkembangan (misalnya bibit atau tanaman dewasa) dan habitus pertumbuhan tanaman (seperti pertumbuhan tegak atau menjalar), jadi apabila tingkat kedalaman air sama namun tahap perkembangan dan kebiasaan pertumbuhan tanaman berbeda maka perubahan sifat morfologi, anatomi dan fisiologisnya akan berbeda pada masing-masing tanaman (Striker dan Mworira, 2012).

2.2.2 Respon fisiologi dan morfologi tanaman terhadap cekaman genangan

Ketahanan tanaman terhadap genangan berbeda, menurut Anton *et al.* (2002) tanaman yang mampu hidup dan tumbuh pada

kondisi tanah tergenang melalui adaptasi anatomi, morfologi dan mekanisme metabolik. Tanaman yang toleran terhadap genangan menunjukkan adaptasi tertentu, seperti pembentukan aerenkim dan akar adventif (Akthar dan Nazir, 2013). Akar adventif terbentuk ketika tanaman merespon keadaan anoksia. Akar adventif menggantikan akar utama yang rusak ketika berada dalam kondisi anoksia dan akar ini memiliki fungsi transpor oksigen karena adanya perkembangan jaringan aerenkim di dalamnya dan tumbuh di daerah permukaan tanah yang mana umumnya kadar oksigen masih tinggi (Smith *et al.*, 2010). Di tanaman *Luffa cylindrica*, akar adventif terbentuk pada hari keempat setelah cekaman genangan diberikan. Sedangkan pada tanaman kontrol tidak terbentuk akar adventif. Akar adventif terbentuk karena merupakan suatu bentuk adaptasi di cekaman genangan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Akar dari Tanaman *Luffa cylindrica* setelah 16 Hari Tercekam Genangan.

Keterangan gambar: (A). Akar tanaman yang tidak Tercekam Genangan dan (B). Akar Adventif pada Permukaan Tanah yang Terbentuk setelah 16 hari Tercekam Genangan (Shimamura *et al.*, 2002). Tanda panah menunjukkan akar adventif.

Respon fisiologis pada tanaman tergenang adalah penutupan stomata dan pengurangan aliran air dari akar menuju ke tajuk. Respon tanaman terhadap genangan seringkali

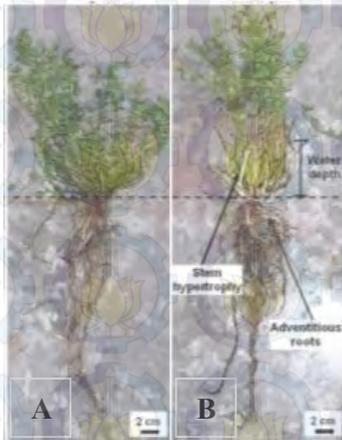
meningkatkan asam absisat pada daun yang berperan dalam penutupan stomata sehingga menghambat pertumbuhan daun (Riche *dalam* Hapsari dan Adie, 2010). Cekaman genangan juga dapat menyebabkan meningkatnya produksi hormon etilen (Visser *et al.*, 2003). Etilen juga dapat menyebabkan stomata menutup, diduga karena etilen dan asam absisat dapat menyebabkan perubahan pada membran pelindung sel sehingga mengganggu keluar-masuknya air dan ion. Kejadian tersebut akan meningkatkan konsentrasi CO₂ dan menyebabkan stomata menutup. Stomata membuka dengan cepat bila tanaman tergenang dalam waktu singkat (Riche *dalam* Hapsari dan Adie, 2010).

Saat terjadi genangan, konsentrasi etilen yang meningkat sangat dipengaruhi oleh adanya oksigen. Peningkatan etilen sejalan dengan peningkatan lama genangan yang mengindikasikan adanya oksigen yang merubah ACC (*1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate*) menjadi etilen. Menurut Bradford (2008), ACC merupakan prekursor etilen, perubahan ACC menjadi etilen tergantung ketersediaan oksigen dan dikatalis oleh enzim ACC oksidase. Saat terjadi genangan, konsentrasi etilen akan meningkat karena etilen tidak berdifusi keluar dari akar (Smith *et al.*, 2010). Sintesis etilen membutuhkan oksigen, sehingga dapat terjadi dalam keadaan hipoksia dan tidak dapat terjadi dalam keadaan anoksia (Videmsek *et al.*, 2006). Hasil penelitian Peeters *et al.* (2002), pada tanaman *Rumex palustri* menunjukkan bahwa genangan selama satu jam mengakibatkan peningkatan konsentrasi etilen 20 kali dari 0.05 $\mu\text{L L}^{-1}$ menjadi 1.0 $\mu\text{L L}^{-1}$ dibandingkan yang tidak tergenang.

Secara morfologis dan fisiologis, efek genangan dapat dicirikan dengan klorosis daun, hambatan pertumbuhan, elongasi daun dan batang yang terendam. Sebagian besar kultivar padi memperlihatkan pemanjangan batang sebagai tanggapan terhadap penggenangan. Elongasi batang selama penggenangan merupakan strategi penghindaran (*escape strategy*) yang memungkinkan tanaman padi untuk melakukan metabolisme secara aerob dan

fiksasi CO₂ dengan batangnya ke permukaan air (Vriezen *et al.*, 2003; Sarkar *et al.*, 2006).

Cekaman pada tanah yang tergenang tidak hanya merubah morfologi akar tetapi juga pada pucuk (tunas). Penelitian yang dilakukan oleh Cox *et al.*, (2003 ; 2004) dan Heydarian *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa tanaman yang toleran terhadap genangan memiliki morfologi yang lebih tinggi daripada tanaman yang tidak tergenang sebagai hasil dari meningkatnya pembelokan dan pemanjangan organ aerial. Respon ini ditunjukkan pada (Gambar 2.4) tanaman *Lotus tenuis* yang tercekam selama 40 hari. Pertumbuhan tinggi tanaman sebagai hasil pemanjangan batang merupakan respon toleransi tanaman terhadap penggenangan (Jackson dan Ram 2003; Kawano *et al.*, 2002). Tinggi tanaman merupakan salah satu petunjuk yang memberikan ciri pertumbuhan (Gardner dkk., 1991).



Gambar 2.4 Morfologi Tanaman *Lotus tenuis* yang Tergenang Selama 40 Hari dengan Tinggi Genangan 6 cm (Striker dan Mworira, 2012).

Keterangan : (A). Tanaman kontrol dan (B). Tanaman tergenang

Respon pertumbuhan tinggi tanaman yang berbeda juga ditunjukkan oleh dua tanaman padi yang tercekam genangan. Varietas *deepwater rice* merespon genangan dengan meningkatkan kemampuan pemanjangan *internode* sebagai bentuk strategi penghindaran (*escape strategy*) untuk memungkinkan ujung daun dapat mencapai permukaan air (Kende *et al.*, 1998). Peningkatan konsentrasi etilen saat kondisi tergenang pada varietas *deepwater rice* menyebabkan penurunan ABA dan peningkatan konsentrasi GA (Kende *et al.*, 1998). Akumulasi etilen pada saat tanaman tergenang akan meregulasi penurunan kandungan ABA melalui penghambatan ekspresi 9-*cis* epoxykarotenoid deoxygenase/ NCED (salah satu enzim yang digunakan untuk mengubah 9-*cis*-violaxanthin dan 9-*cis*-neoxanthin menjadi prekursor ABA yaitu Xanthoxin). Selain itu, penghambatan lain melalui pemecahan ABA menjadi bentuk intermediet ABA yang tidak stabil yaitu 8'-hydroxy ABA oleh ABA 8'-hydroxylase (ABA8ox) (Culter dan Krochko, 1999), yang secara langsung dikonversi ke bentuk *phaseic acid* (PA) dari proses isomerase (Endo *et al.*, 2014). PA dapat direduksi menjadi bentuk tidak aktif *Dihydrophaseic Acid* (DPA). Hal ini dapat menyebabkan penurunan kandungan ABA endogen. Di sisi lain, ABA dapat dinonaktifkan melalui konjugasi dengan glukosa. Proses Glukosilasi pada gugus karboksil ABA dikatalisis oleh *glucosyltransferase* untuk mengubah ABA menjadi bentuk ABA-GE (ABA glucose ester). Penurunan kandungan ABA endogen pada *internode* ini dibutuhkan untuk menstimulus ekspresi (GA) 3-oxidase, yaitu enzim yang digunakan untuk mengkatalisis ke bentuk bioaktif Giberelin (GA1) (Salazar *et al.*, 2015).

Menurut Achard dan Genschik (2009), konsentrasi bioaktif GA yang tinggi dapat merubah stabilitas protein DELLA. Dimana padi hanya memiliki satu macam protein DELLA (SLENDER RICE 1-SLR1) yang merupakan regulator negatif dalam biosintesis GA (Wen dan Chang, 2002). Ketika bioaktif GA tinggi, protein DELLA mengalami proses ubiquitinilasi dan secara cepat didegradasi oleh 26S proteasome. Degradasi protein

DELLA menyebabkan respon GA teraktivasi. Salah satu respon GA adalah dalam proses pematangan batang. GA meningkatkan perombakan karbohidrat di daerah pucuk untuk memproduksi gula sebagai energi untuk aktivitas proton dan pembentukan dinding sel (Voeselek *et al.*, 2003).

Pada kondisi tergenang, akumulasi etilen pada varietas *deepwater rice* meningkat 25 kali lipat saat 24 jam penggenangan karena difusi oksigen mengalami penurunan dan konsentrasi oksigen yang rendah (Hattori *et al.*, 2009). Pemanjangan *internode* ini dipicu oleh regulasi dua gen utama yakni *SNORKEL1* dan *SNORKEL2* (*SK1* dan *SK2*). *SK1* dan *SK2* merupakan kelompok *Ethylene Response Factor* (ERF) yang diinduksi karena adanya peningkatan konsentrasi etilen selama *submergence*. Sedangkan varietas *lowland rice* meningkatkan ekspresi gen *SUB1A* (*Submergence 1A*) yang menekan pembentukan GA melalui peningkatan represor atau regulator negatif GA yakni *SLR1* (*SLENDER RICE1*) dan *SLRL1* (*SLR1-like1*). Hal ini yang memunculkan morfologi *internode* varietas *Lowland Rice* lebih pendek dibandingkan dengan varietas *Deepwater rice* (Salazar *et al.*, 2015).

Peningkatan lama genangan menyebabkan penurunan kemampuan bertahan dan jumlah tanaman hidup. Selain perubahan pada tinggi tanaman, genangan juga menyebabkan daun-daun tanaman mengalami kelayuan. Secara morfologi, daun-daun layu akibat akar yang membusuk dan hancur. Prosesnya adalah akar tidak mampu menyerap air dan unsur hara khususnya N, sehingga kebutuhan air dan N ke bagian tajuk tidak terpenuhi akibatnya daun layu dan menguning. Salah satu manfaat unsur N bagi tanaman itu sendiri sebagai pembentukan klorofil pada daun. Dengan adanya klorofil dapat berlangsung fotosintesis. Jadi, apabila penyerapan unsur N tanaman terganggu karena rusaknya jaringan akar, maka proses fotosintesis akar juga terganggu. Apabila proses fotosintesis terganggu maka akan menyebabkan perluasan daun terhambat karena hasil dari proses fotosintesis itu sendiri salah satunya untuk perluasan daun (Savita

et al., 2004). Hasil penelitian pada tanaman kedelai selama satu sampai dua hari tergenang tidak menyebabkan pengurangan hasil, tetapi tanaman yang tergenang selama tiga hari mengakibatkan daun klorosis, gugur, pertumbuhan terhenti dan akhirnya mati (Boru *et al dalam* Susilawati dkk., 2012).

Menurut Gardner dkk (1991), jumlah dan ukuran daun dipengaruhi oleh genotip dan lingkungan. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa cekaman genangan dapat menghambat pembentukan daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Kozlowski dan Pallardy (1997), yang disebutkan bahwa cekaman genangan dapat menekan pertumbuhan tunas tanaman karena sintesis etilen yang meningkat. Hormon etilen merupakan inhibitor hormon auksin dan sitokinin yang berfungsi dalam pemanjangan meristem apikal dan pembelahan sel. Dengan terhambatnya sintesis auksin dan sitokinin inilah yang dapat menekan pertumbuhan tunas tanaman. Tunas tanaman merupakan tempat duduk daun. Dengan terhambatnya pembentukan tunas tanaman menyebabkan pembentukan daun juga terhambat. Selain itu menurut Dong *et al.* (1983), juga disebutkan bahwa tanaman yang tercekam genangan air akan mensintesis etilen yang lebih banyak, etilen yang meningkat ini dapat menyebabkan penuaan daun yang berujung pada pengguguran daun.

2.2.3 Respon metabolik dan adaptasi terhadap hipoksia dan anoksia

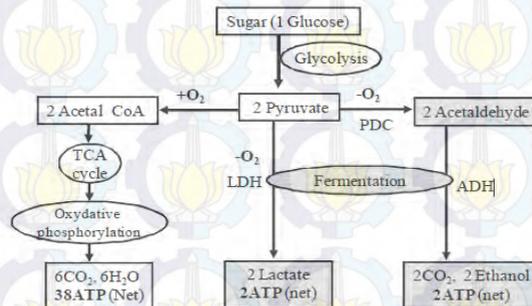
Akibat yang ditimbulkan saat kondisi tanah tergenang adalah cekaman hipoksia, yang diikuti dengan penurunan yang tajam pada ketersediaan oksigen yang mengarah pada kondisi anoksia (Blom dan Voesenek, 1996). Defisiensi oksigen seluler dapat dikatakan sebagai “hipoksia” yakni tingkat ketersediaan oksigen yang dapat membatasi respirasi mitokondria dan “anoksia” ketika respirasi secara keseluruhan dihambat. Adaptasi tanaman saat kondisi hipoksia atau anoksia termasuk salah satunya adalah perubahan proses biokimia dan metabolik terutama ketika ketersediaan O₂ menjadi terbatas (Dat *et al.*, 2004).

Salah satu respon metabolik tanaman ketika tercekam genangan adalah menginduksi protein anaerob. 20 protein anaerob (*Anaerobic stress proteins/ANPs*) mengalami upregulasi selama cekaman genangan yang membantu tanaman untuk menghasilkan energimeskipun kadar oksigen rendah (Subbaiah dan Sachs, 2003). Enzim tersebut berpartisipasi dalam jalur fermentasi (misalnya: PDC /*Pyruvate Decarboxylase* dan ADH/*Alcohol Dehydrogenase*) yang termasuk dalam 20 protein anaerob yang secara selektif diinduksi selama kondisi hipoksi. (Sachs *et al.*, 1980; Chang *et al.*, 2000).

Cekaman genangan dapat mengakibatkan kondisi hipoksia dan anoksia yang dapat menghambat respirasi perakaran tanaman, sehingga mengubah lintasan respirasi dari aerob menjadi anaerob/fermentasi. Sel tanaman memperoleh energi ketika adanya oksigen melalui glikolisis, TCA atau siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif (Gambar 2.5). Ketiadaan oksigen (di bawah kondisi anoksia), siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif akan terhalang, dan sel akan merubah jalurnya melalui respirasi anaerob untuk memenuhi kebutuhannya (Davies, 1980).

Respirasi anaerob mencakup glikolisis dan fermentasi (Gambar 2.5). Penghasilan energi di bawah kondisi anaerob secara besar dihasilkan melalui glikolisis. Piruvat yang dihasilkan pada jalur glikolisis yang merupakan produk akhir harus dikonversi ke produk alternatif lain untuk mengubah NADH ke NAD^+ . Fermentasi etanol atau asam alktat adalah proses yang paling penting untuk mengubah NADH ke NAD^+ selama defisiensi oksigen. Pada fermentasi etanol, piruvat yang merupakan substrat dari *pyruvate decarboxylase* (PDC) akan menghasilkan CO_2 and asetaldehid, kemudian direduksi menjadi ethanol dengan oskidasi NADH ke NAD^+ oleh *alcohol dehydrogenase* (ADH). Pada fermentasi asam laktat, piruvat yang merupakan substrat dari *lactate dehydrogenase* (LDH) akan menghasilkan laktat dengan oksidasi NADH menjadi NAD^+ (Kennedy *et al.*, 1992). Energi yang dihasilkan dari glikolisis dan fermentasi ini lebih rendah dan kurang efisien dibandingkan

dengan respirasi aerob. Dengan ketersediaan energi yang metabolik yang terbatas ini maka akan menghambat beberapa proses pada tanaman seperti pembelahan sel, serapan air, dan unsur hara serta berbagai proses metabolisme lainnya sehingga dapat menekan pertumbuhan tinggi tanaman (Nurbaiti *et al.*, 2012).



Gambar 2.5 Perubahan Jalur Respirasi Aerob ke Respirasi Anaerob dan Beberapa Enzim yang Berperan di dalamnya (Hossain *et al.*, 2011).

ANPs yang diinduksi di bawah kondisi hipoksia diantaranya adalah enzim untuk glikolisis, fermentasi etanol, proses yang berhubungan dengan metabolisme karbohidrat, pembentukan aerenkim (*Xyloglucans endotransglycosylase*) dan pengontrolan pH sitoplasma (Vartapetian, 2006). Hansch *et al.* (2003) melaporkan bahwa pada tembakau dan kentang yang tercekam genangan menginduksi enzim *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 4* yang berperan dalam jalur glikolisis.

2.3 Protein

Protein merupakan makromolekul yang tersusun atas sejumlah asam amino dan dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein terdapat dalam semua sel hidup yang berfungsi sebagai pembangun struktur, biokatalis, hormon dan sumber energi, pengatur pH, dan pembawa sifat turunan. Protein adalah pusat kegiatan dalam proses biologis, sehingga ketersediaan protein

sangat diperlukan oleh seluruh organisme (Wijaya, 2001). Secara molekuler, protein mengekspresikan informasi genetik (Hawab, 2004).

Berdasarkan bentuknya, dikenal protein globular yang bentuknya bulat atau lonjong dan protein *fibrous* berbentuk serabut. Protein dapat dikelompokkan ke dalam protein sederhana, yaitu tersusun atas unit polipeptida saja dan protein majemuk yang tersusun atas senyawa protein dengan karbohidrat atau lipid yang disebut glikoprotein & lipoprotein (Page, 1995). Protein dapat bersifat struktural dan fungsional. Protein struktural merupakan protein berfungsi struktural misalnya kolagen dan keratin yang terdapat pada membran plasma. Sedangkan protein fungsional merupakan protein yang memiliki fungsi tertentu, misalnya enzim dan hormon yang banyak terdapat di dalam sitoplasma & sebagian kompartemen dari organel sel (Fatchiyah dan Arumingtyas, 2001). Struktur dan sifat protein bergantung pada sekuens asam amino dalam polipeptida (Kuchel, 2006). Protein sebagai rantai makromolekul saling terikat oleh ikatan kovalen yang cukup kuat untuk menjaga & memelihara urutan asam amino sebagai subunit makromolekul protein (Wongsosupantio, 1990).

Protein mempunyai berat molekul yang umumnya dinyatakan dalam satuan dalton (Da) atau kilodalton (kDa) (Kuchel, 2006). Protein pada berat molekul kurang dari 20 kDa digolongkan sebagai protein berberat molekul rendah (*Low Molecular Weight*) dan sebaliknya. Tebal tipis pita protein menunjukkan perubahan konsentrasi protein yang terbentuk (Mathius *et al.*, 2001).

Analisis pita protein dilakukan berdasarkan ada tidaknya pita, berat molekulnya dan tebal tipisnya pita proteinnya yang menunjukkan perbedaan konsentrasi (Albert *et al.*, 2002). Penentuan berat molekul protein dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif yaitu dengan membandingkan pita dengan marker, sedangkan secara kuantitatif yaitu dengan menghitung mobilitas relatifnya (Yuwono, 2005).

2.4 SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate- Polyacrilamide Gel Electrophoresis*) Untuk Profil Protein

Elektroforesis merupakan suatu teknik pemisahan makromolekul dengan mekanisme kerja berdasarkan adanya perbedaan kecepatan gerak partikel-partikel bermuatan bila terdapat dalam suatu medan listrik (Wongsosupantio, 1990). *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) merupakan prosedur yang lebih baik dari pada analisis protein lainnya karena dapat digunakan untuk memisahkan semua jenis protein, termasuk protein yang tidak dapat larut dalam air, selain itu komposisi matrik gelya dapat diubah-ubah sesuai penggunaannya (Gersten dan Bijward, 1992). SDS yang memiliki rumus senyawa $C_{12}H_{25}SO_4Na$ merupakan senyawa deterjen yang memiliki gugus sulfat sehingga bersifat amfifilik. SDS bekerja merusak ikatan non- kovalen dan ikatan non-sulfida protein tersier dan kuarterner sehingga rantai menjadi beberapa polipeptida tunggal dan linier. Anion SDS berikatan dengan rantai protein dengan rasio satu anion SDS untuk dua residu asam amino. Hal ini yang menyebabkan protein bermuatan lebih negatif dibandingkan struktur awalnya. Adanya muatan negatif ini memudahkan migrasi fraksi protein pada proses elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid (Purwaningsih, 2007).

SDS-PAGE memberikan informasi tentang berat molekul dan komposisi subunit dari setiap kompleks protein (Imron, 2008). Protein tersebut terdapat pada larutan yang mengandung deterjen yang bermuatan negatif sangat kuat, yakni *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS). Deterjen tersebut mengikat daerah hidrofobik molekul protein sehingga menyebabkan terurainya menjadi rantai polipeptida yang panjang (Alberts dkk., 1994).

Gel poliakrilamida ($CH_2CHCONH_2$) adalah gel sintesis yang bersifat termostabil, transparan, kuat dan dapat dibuat dengan berbagai ukuran & diameter pori-pori yang bervariasi. Nilai diameter pori-pori akrilamid 100-400 nm (Kastenholtz, 2004). Berdasarkan porositas tersebut, maka gel ini dapat

digunakan sebagai media yang representatif untuk memisahkan protein dengan kisaran BM 500-250.000 atau polinukleotida kisaran 5-2000 pasang basa (Fatchiyah *et al.*, 2006). Gel poliakrilamid terbentuk karena adanya reaksi polimerisasi akrilamid dan N-N-Metilen-Bis-Akrlamid. Bis-Akrlamid segera membentuk kolom gel bila diinduksi dengan sumber radikal. Sebagai inisiator radikal adalah amonium persulfat (APS) dan N-N-N-Tetra Methyletylen Diamin (TEMED) sebagai katalisator polimerisasi. Untuk mengetahui lokasi protein pada kolom gel dapat diwarnai dengan zat warna hitam amida atau biru kromasi (Harris dan Angal, 1989). Beberapa pewarna yang dapat digunakan dalam *SDS-PAGE* adalah *Commase Brilliant Blue* (CBB) dan *Silver Salt Staining* (SSS). CBB mengikat protein secara spesifik dengan ikatan kovalen. SSS memiliki sifat lebih sensitif dan akurat namun membutuhkan proses yang lebih lama (Boyer, 1993).

Profil protein adalah pola distribusi protein ditinjau dari berat molekul. Metode penelitian terhadap protein tumbuhan dapat dilakukan dengan alat elektroforesis yang bergerak dari arus negatif (katoda) ke positif (anoda). Protein sensitif terhadap panas listrik maka pada saat *running* harus di dalam pendingin (antara 4-20°C), biasanya memakan waktu 3-4 jam (250-300 volt). Prinsip dasar elektroforesis yaitu proses migrasi molekul bermuatan di dalam suatu media yang bermuatan listrik, dimana kecepatan migrasi bergantung pada muatan, ukuran dan bentuk setiap molekul yang terlibat (Sudarmono, 2006).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di *Green House* PT. SADHANA dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA ITS pada Bulan Juni sampai Desember 2015. Analisis Profil Protein dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Persiapan media tanam

Media tanam yang digunakan untuk perlakuan cekaman genangan merupakan tanah kompos yang diberi penambahan arang sekam dengan perbandingan 2:1. Media tanam yang digunakan sebanyak 1,5 Kg, kemudian dimasukkan dalam *polybag* buntu yang telah diberi label tiap varietas. Selanjutnya ditambahkan pupuk NPK dan SP-36 sebanyak 5 gram tiap *polybag*.

3.2.2 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman yang nantinya digunakan sebagai patokan pemberian taraf penggenangan yaitu dilakukan dengan cara media tanam dalam *polybag* disiram dengan air sampai menetes (jenuh) kemudian didiamkan selama 3 hari sampai tidak ada air yang menetes. Selanjutnya, media tanam ditimbang berat basah dan berat keringnya. Berat basah ditimbang setelah tidak ada air yang menetes dari dalam *polybag*. Berat kering ditimbang setelah media tanam dioven pada suhu 100⁰C selama 24 jam sampai diperoleh berat konstan. Kapasitas lapang dihitung dengan rumus :

$$W = \frac{(Tb - Tk)}{Tk} \times 100\%$$

Keterangan :

W = Kapasitas lapang

Tb= Berat Basah

Tk= Berat Kering

(Hendriyani dan Setiari, 2009)

3.2.3 Persiapan, penanaman, dan pemeliharaan bibit tanaman tembakau

Bibit tanaman tembakau yang akan digunakan untuk seleksi terhadap cekaman genangan awalnya berupa benih. Dari benih dilakukan perkecambahan dengan cara disemai pada nampan kecil yang terdiri dari media tanam (*coco peat* dan kompos dengan perbandingan 1:1) yang dilakukan selama 3 minggu 4 hari, ditempatkan di suatu para-para dan diberi kebutuhan air yang cukup. Setiap dua nampan membutuhkan campuran kedua media tersebut sebanyak 1 liter media. Kemudian ditambahkan pupuk NPK (5 gr/l media) dan disiapkan larutan Ridomil (0,5 gr/l air). Semua bahan dicampur merata dan larutan Ridomil ditambahkan hingga media menjadi cukup lembap.

Bibit yang telah mencapai umur 25 Hari Setelah Sebar (HSS) dipindah ke dalam *pottray* yang berisi 120 lubang tanam. Bibit yang dipindah ke dalam *pottray* adalah bibit yang telah memenuhi kriteria, yaitu munculnya 3-4 daun. Bibit ditumbuhkan selama 15 hari dalam *pottray* untuk kemudian dilakukan penanaman pada *polybag*.

Bibit yang berusia 40 Hari Setelah Sebar (HSS) dipindahkan ke dalam *polybag* buntu berisi media tanam yang terdiri dari tanah kompos dan arang sekam dengan perbandingan 2:1 (berat media tanam sebesar 1,5 kg). Setelah bibit selesai ditanam, dibuat 2 lubang yang tidak jauh dari tanaman. Lubang

tersebut digunakan untuk memasukkan pupuk awal NPK dan SP-36 sebanyak 5 gr/polybag.

Pemeliharaan meliputi aklimatisasi selama 21 hari (Kurniawan, 2014) yang meliputi 14 hari tanpa penyiraman dan selanjutnya dengan penyiraman hingga bibit berumur 61 HSS atau 21 hari setelah tanam (HST) (dosis penyiraman 50 ml/polybag) setiap hari, pencabutan rumput yang tumbuh di polybag dan pengendalian hama penyakit. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan menggunakan insektisida organtrin 1,5 ml/liter air. Penyemprotan insektisida dilakukan 15 HST menggunakan *sprayer*.

3.2.4 Perlakuan cekaman genangan

Pemberian cekaman genangan dilakukan selama 10 hari. Perlakuan dilakukan saat tanaman berumur 21 HST (Kurniawan, 2014). Setiap varietas diberikan cekaman genangan dengan perbedaan tinggi genangan yaitu 100% diatas kapasitas lapang, 150% di atas kapasitas lapang, 175% di atas kapasitas lapang dan 200% di atas kapasitas. Volume air pada tiap perlakuan dijaga dan dipertahankan selama 10 hari cekaman. Pengecekan volume air pada polybag dilakukan setiap harinya. Tinggi genangan air dijaga selama periode 10 hari masa cekaman. Dari masing-masing perlakuan tinggi genangan air dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

3.2.5 Pengamatan morfologi

Pengamatan morfologi dilakukan dengan cara pengukuran pertumbuhan tanaman tembakau meliputi tinggi tanaman (cm), jumlah daun, luas daun (cm), panjang akar (cm), jumlah akar adventif.

- a. Tinggi tanaman (cm) diukur dari pangkal batang sampai ujung daun (pucuk) (Hendriyani dan Setiari, 2009).
- b. Jumlah daun dihitung dari semua daun yang telah membuka sempurna (Suhartono *et al.*, 2008).
- c. Luas daun dihitung dengan cara mencetak pada kertas. Replika daun kemudian digunting dari kertas yang bobot

dan luasnya sudah diketahui. Luas daun ditaksir berdasarkan perbandingan bobot replika daun dan bobot kertas total. Pengukuran luas daun (LD) berdasarkan rumus (Nurhidayati dkk., 2007).

$$LD = LK \times BKR/BK$$

Keterangan :

LD = Luas daun (cm²)

LK = Luas seluruh kertas (cm²)

BKR = Bobot kertas replika daun (g)

BK = Bobot seluruh kertas (g)

Data luas daun diambil dari ukuran daun yang paling besar ± 3 daun kemudian dirata-rata (Nugroho dan Yuliasmara, 2012).

- d. Pengukuran panjang akar dilakukan setelah akar dibersihkan dari media tanam dengan cara merendam bagian akar berikut tanah ke dalam bak air. Setelah tanah terlepas, bagian akar diangkat lalu ditiriskan dan diukur struktur panjang akar mulai dari ujung akar sampai pangkal akar (Herdiawan *et al.*, 2012).
- e. Sedangkan jumlah akar adventif dihitung dengan cara menjumlahkan akar adventif yang muncul dari akar utama yang berdekatan dengan pangkal patang yang lokasinya berada di atas permukaan tanah yang tergenang air (Chen *et al.*, 2002). Akar adventif biasanya terbentuk di dekat pangkal batang dan pada pertumbuhan lateral yang sejajar dengan permukaan tanah dan air (Parent *et al.*, 2008).

3.2.6 Pengamatan Profil Protein

A. Pemanenan

Pemanenan tanaman dilakukan setelah 10 hari cekaman genangan. Masing-masing tanaman pada tiap-tiap perlakuan diambil kemudian ditiriskan untuk menghindari kebusukan. Tanaman dimasukkan ke dalam wadah plastik untuk selanjutnya disimpan dalam *freezer* dan diberi label.

B. Preparasi Sampel (Ekstraksi Protein)

Tanaman yang telah diambil dicuci dengan aquades. Sebanyak 0,250 gram organ daun dicuci dengan *Phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.4. Organ dihomogenasi dengan mortar dingin dan ditambah 500 μ l 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. Untuk elektroforesis digunakan 12,5% *separating gel* dan 5% *stacking gel*.

C. Denaturasi Gel Elektroforesis

Supernatan hasil *sentrifuge* dipekatkan dengan *freeze dryer* hingga menjadi serbuk. Sampel yang berupa serbuk ditambah aquades 60 μ l. Sampel diambil sebanyak 30 μ l dan diekstrak dengan *reducing sampel buffer* (RSB) dengan perbandingan 1:1 pada tabung *ependorf* 1,5 ml. Profil protein tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) ditentukan dengan elektroforesis yang dikembangkan oleh Laemmli (1970) yang telah dimodifikasi yaitu dengan metode SDS-PAGE. Proses elektroforesis dimulai dengan pembuatan buffer elektroda, *buffer* sampel, pewarna *gel* (*comassive blue*), larutan *destainer*, *separating gel* 12,5% dan *stacking gel* 5%.

Setelah larutan siap, maka perangkat *gel* elektroforesis dirangkai. *Plate* pembentuk *gel* disusun sesuai dengan prosedur penyusunan elektroforesis. Kemudian \pm 1,0 ml larutan *separating gel* diisikan pada *plate* menggunakan mikropipet sampai batas yang terdapat pada *plate*. Perlahan tambahkan aquades di atas larutan *gel* dalam *plate* agar permukaan *gel* tidak bergelombang. Biarkan *gel* memadat selama kurang lebih 30 menit (ditandai dengan terbentuknya garis transparan diantara batas air dan *gel* yang terbentuk). Setelah memadat, air yang menutup *separating gel* dibuang dan ditambah larutan *stacking gel* di atas *separating gel*. Sisir pembentuk sumuran dimasukkan antara *plate* dan didiamkan selama 10 menit. Setelah padat sisir diambil.

Gel yang telah memadat siap dirangkai pada alat elektroforesis dan diisi dengan buffer elektroda pH 8,3. Sampel dimasukkan ke dalam sumuran dengan volume 30 μ l/sumuran. Perangkat elektroforesis dihubungkan dengan penghantar listrik 120 V selama 3-4 jam. *Running* dilakukan pada *constant current* 20 mA selama kurang lebih 3 jam atau sampai *tracking dye* mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel. Setelah selesai, *running buffer* dituang dan *gel* diambil dari *plate*.

Gel dilepaskan dan diwarnai dengan pewarna *Commasive Blue* yang umum digunakan dalam analisa SDS-PAGE (Bollag dan Edelstein, 1991). *Gel* direndam dalam 20 ml *staining solution* sambil digoyang kurang lebih selama 15 menit. *Staining solution* kemudian dituang kembali pada wadahnya. Setelah dicuci beberapa kali dengan air, *gel* direndam dalam 50 ml *destaining solution* selama kurang lebih 30 menit. Analisa hasil perhitungan berat molekul dilakukan dengan membandingkan standar protein marker, yaitu *Bovine Serum Albumine* (BSA).

D. Pembuatan kurva standar

Nilai berat molekul protein dihitung dengan menggunakan kurva standar ($y=ax+b$). Kurva standar dibuat dengan mengukur jarak pita marker dengan sumuran. Jarak pita-pita tersebut digunakan sebagai ordinat dari kurva (sumbu x). Sumbu absis (y) dari kurva adalah nilai log dari berat molekul pita marker yang telah diketahui sebelumnya. Dari nilai absis dan ordinat yang telah diperoleh, maka dibuat suatu kurva *Fitted Line Plot* menggunakan MS. Excel 2008. Dari kurva yang diperoleh, maka dapat dianalisa hubungan antara berat molekul protein terhadap jarak yang ditempuh band dari sumurannya akibat elektroforesis (Durrani *et al.*, 2008).

3.2.7 Pengukuran kadar klorofil dan pH tanah

Kadar klorofil daun diukur berdasarkan metode spektrofotometri menggunakan metode Hall dan Rao dalam Priadi (2014) yang telah dimodifikasi. Daun seberat 0,1 gram digerus dalam lumpang porselin dan dilarutkan dalam 10 mL

metanol 95% selama 24 jam di tempat gelap . Selanjutnya, ekstrak disaring dengan kertas saring *Whatman No. 1* dan Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian larutan sebanyak 3 ml tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 dan 663 nm. Kadar klorofil dapat dinyatakan dalam mg klorofil setiap gram bahan (Yoshida *et al.*, 1976 dalam Rachmawati dan Retnaningrum, 2013)). Kadar klorofil total dihitung dengan rumus (Harborne, 1987):

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

Pengukuran pH tanah dilakukan langsung terhadap tanah dalam *polybag* menggunakan *soil tester* (Rahmawati dan Retnaningrum, 2013).

3.2.8 Rancangan penelitian dan analisis data

A. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktorial pertama adalah 3 varietas tanaman tembakau yang terdiri dari Rejeb, Japon Mawar, dan Japon Banyak. Sedangkan faktorial kedua yaitu tinggi genangan air untuk cekaman genangan yang terdiri dari 4 level yaitu 100% (kontrol) (A0), 150% (A1), 175% (A2), dan 200% (A3) di atas kapasitas lapang. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Di bawah ini merupakan tabel rancangan penelitiannya:

Tabel 3.1 Tabel Rancangan Penelitian

Varietas (B)	Perlakuan Persentase Tinggi Genangan (A)			
	A0	A1	A2	A3
B1	B1A0	B1A1	B1A2	B1A3
B2	B2A0	B2A1	B2A2	B2A3
B3	B3A0	B3A1	B3A2	B3A3

Keterangan :

B1 = varietas Rejeb

B2 = varietas Jepon Mawar

B3 = varietas Jepon Banyak

A0 = 100% di atas kapasitas lapang (kontrol)

A1 = 150% di atas kapasitas lapang

A2 = 175% di atas kapasitas lapang

A3 = 200% di atas kapasitas lapang

B1A0= Varietas Rejeb 1 sebagai kontrol

B2A0= Varietas Jepon Mawar sebagai kontrol

B3A0= Varietas Jepon Banyak sebagai kontrol

B1A1= Varietas Rejeb dengan cekaman genangan 150%

B2A1= Varietas Jepon Mawar dengan cekaman genangan 150%

B3A1= Varietas Jepon Banyak dengan cekaman genangan 150%

B1A2= Varietas Rejeb dengan cekaman genangan 175%

B2A2= Varietas Jepon Mawar dengan cekaman genangan 175%

B3A2= Varietas Jepon Banyak dengan cekaman genangan 175%

B1A3= Varietas Rejeb dengan cekaman genangan 200%

B2A3= Varietas Jepon Mawar dengan cekaman genangan 200%

B3A3= Varietas Jepon Banyak dengan cekaman genangan 200%

B. Analisis data

Data pengamatan yang meliputi tinggi tanaman (cm), jumlah daun, luas daun (cm^2), panjang akar (cm), jumlah akar adventif, dianalisis dengan menggunakan uji *ANOVA Two Way* atau *Analysis Of Variance Two Way* yang menggunakan program *Minitab V.16* untuk mengetahui pengaruh faktor interaksi antara varietas tanaman tembakau dengan perlakuan tinggi genangan air untuk cekaman genangan terhadap karakter morfologi tanaman tembakau dengan hipotesa:

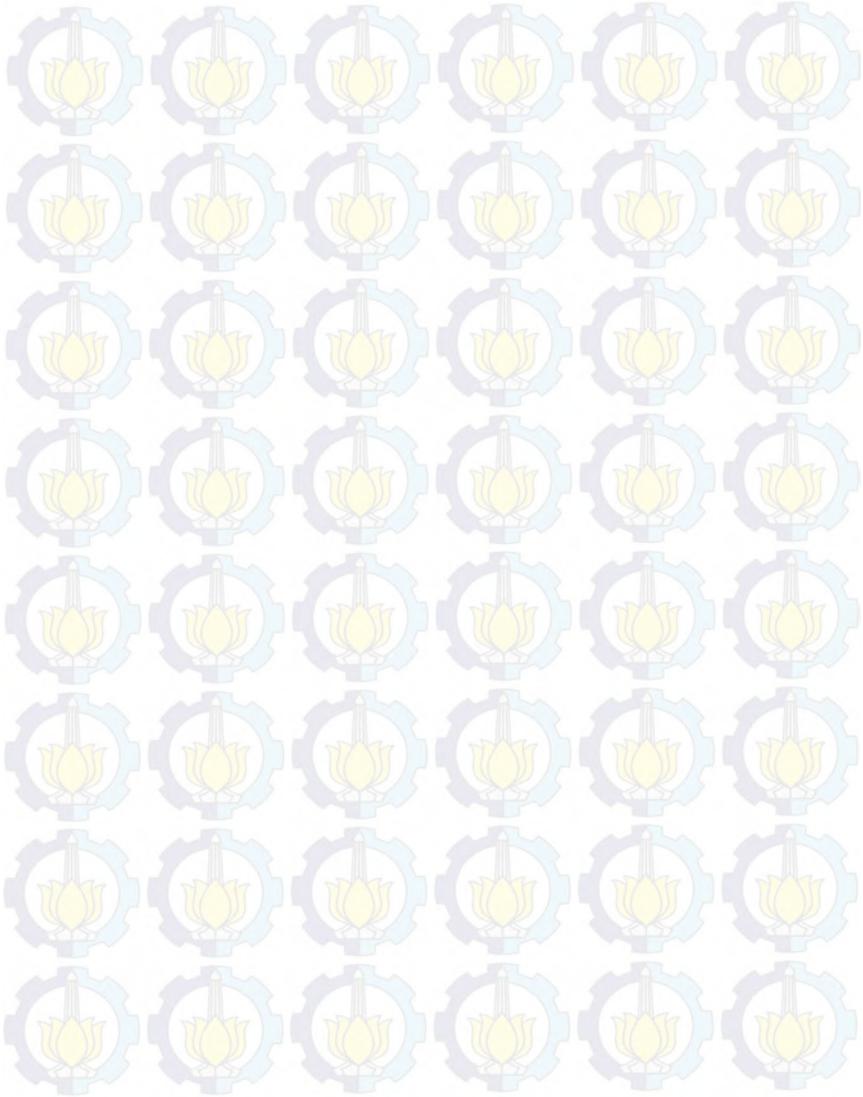
H0: Tidak ada pengaruh interaksi antara faktor varietas tanaman tembakau dan perlakuan tinggi genangan air untuk cekaman genangan terhadap karakter morfologi tanaman tembakau

H1: Ada pengaruh interaksi antara faktor varietas tanaman tembakau dan perlakuan tinggi genangan air untuk cekaman genangan terhadap karakter morfologi tanaman tembakau

Jika H1 diterima, maka dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk mengetahui perbedaan nyata antara pengaruh kombinasi varietas tanaman tembakau dan perlakuan tinggi genangan air untuk cekaman genangan terhadap karakter morfologi tanaman tembakau.

Sedangkan data profil protein dianalisis secara deskriptif, yaitu meliputi berat molekul, kehadiran pita protein, tebal & tipis pita protein, dan jumlah protein yang terbentuk dari sampel, sehingga deskripsi dilakukan antara profil protein perlakuan dengan cekaman genangan dan profil protein yang terbentuk pada kontrol dari tanaman tembakau. Dibuat kurva standar dengan membandingkan pita-pita pada jalur *marker* dengan pita sampel.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman mengembangkan respon anatomi, morfologi, dan fisiologi (Parent *et al.*, 2008) serta mekanisme metabolik (Hossain *et al.*, 2011) tertentu untuk mampu bertahan hidup dan tumbuh pada kondisi tergenang (Pourbadal *dalam* Susilawati *et al.*, 2012). Respon anatomi yang paling utama adalah pembentukan jaringan aerenkim (Seago *et al.*, 2005). Aerenkim merupakan jaringan parenkim yang rongga antar selnya besar dan berfungsi sebagai penyimpan udara (Mulyani *dalam* Hapsari dan Adie, 2010). Respon morfologi secara umum yang dilakukan oleh tanaman adalah dengan pembentukan akar adventif (Gibberd *et al.*, 2001), peningkatan (Grimoldi *et al.*, 1999) dan penghambatan pertumbuhan khususnya tinggi tanaman (Fukao *et al.*, 2006; Skirycz dan Inzé, 2010). Keseluruhan respon anatomi dan morfologi tersebut dilakukan oleh tanaman untuk memfasilitasi transpor oksigen dari tunas ke bagian akar, sehingga kebutuhan oksigen terpenuhi dalam mendukung respirasi aerob (Colmer, 2003a).

Beberapa respon fisiologi tanaman terhadap cekaman genangan adalah penurunan konduktansi stomata (Folzer *et al.*, 2006), perubahan keseimbangan hormon (Else *et al.*, 2001), penurunan transpirasi dan penghambatan laju fotosintesis karena penurunan kadar klorofil daun, awal proses penuaan dan penurunan luas daun (Cao dan Conner, 1999). Respon tersebut terjadi dalam beberapa jam atau hari, bergantung pada tingkat toleransi spesies tanaman (Striker *et al.*, 2005). Berdasarkan beberapa mekanisme respon tanaman terhadap cekaman genangan di atas, dalam penelitian ini diamati respon beberapa varietas tanaman tembakau terhadap cekaman genangan, seperti pengukuran karakter morfologi, pembentukan akar adventif, respon fisiologi pada kadar klorofil serta profil protein.

4.1 Respon Morfologi Beberapa Varietas Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Terhadap Cekaman Genangan

4.1.1 Tinggi tanaman

Pertumbuhan tanaman digunakan sebagai indikator untuk mengetahui karakteristik tanaman dan hubungannya dengan faktor lingkungan (Rachmawati dan Retraningrum, 2013). Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman tembakau setelah perlakuan cekaman genangan ditunjukkan pada Tabel 4.1. Berdasarkan hasil *ANOVA Two Way* (Lampiran 17), diketahui bahwa interaksi faktor varietas dan perlakuan cekaman genangan mempengaruhi pertumbuhan tinggi tanaman dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hasil uji Anova tersebut dilanjutkan uji *Tukey* yang memberikan hasil bahwa faktor perlakuan cekaman genangan berpengaruh secara nyata terhadap pertumbuhan tinggi tanaman dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), hasil dari setiap perlakuan cekaman genangan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan (Lampiran 18).

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Rerata Pertumbuhan Tinggi Tanaman Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan

Varietas	Rerata Pertumbuhan Tinggi Tanaman \pm STD (cm) pada Presentase Genangan			
	100%	150%	175%	200%
Rejeb	18,8 \pm 1,0 bcde	17,1 \pm 2,7 def	26,9 \pm 1,7 a	23,5 \pm 3,0 ab
Jepun Mawar	12,9 \pm 0,6 f	14,6 \pm 2,0 ef	14,0 \pm 5,2 ef	18,4 \pm 2,4 cde
Jepun Banyak	22,3 \pm 0,6 abc	20,4 \pm 1,8 bed	20,2 \pm 0,6 bcd	19,6 \pm 0,5 bcd

Keterangan : rerata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan uji *Tukey* ($p = 0,05$). Angka dibelakang tanda \pm merupakan Standar Deviasi (STD).

Berdasarkan Tabel 4.1 dan Lampiran 17 menunjukkan bahwa cekaman genangan mempengaruhi pertumbuhan tinggi tanaman pada ketiga varietas tanaman tembakau. Terdapat dua macam respon tanaman tembakau saat tercekam genangan. Respon pertama ditunjukkan pada varietas Jepon Mawar dan Rejeb yang relatif mengalami peningkatan tinggi tanaman setelah penggenangan seperti yang terlihat pada Gambar 4.1 dan 4.2. Kemampuan peningkatan tinggi tanaman tergantung pada sifat genetik varietas dan dipengaruhi oleh lingkungan atau tingkat perkembangan tanaman sebelum penggenangan (Jackson dan Ram, 2003; Kawono *et al.*, 2009). Sedangkan respon yang berlawanan ditunjukkan oleh varietas Jepon Banyak yang cenderung mengalami penurunan tinggi tanaman seiring dengan meningkatnya taraf penggenangan. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan Wardhani (2015) pada beberapa varietas tembakau yang dicekam genangan selama 10 hari. Respon penurunan tinggi tanaman ditunjukkan pada varietas Kemloko 2 dan Prancak N-1 seiring meningkatnya volume penggenangan. Sedangkan pada tembakau varietas Kasturi 1, Kemloko 2 dan Paiton 2 menunjukkan respon berbeda yakni peningkatan tinggi tanaman.



Gambar 4.1 Morfologi Tinggi Tanaman Varietas Jepon Mawar. Keterangan gambar : (A). cekaman 200%, (B). cekaman 175%, (C). cekaman 150%, (D). cekaman 100% di atas kapasitas lapang.



Gambar 4.2 Morfologi Tinggi Tanaman Varietas Rejeb. Keterangan gambar : (A). cekaman 100%, (B). cekaman 150%, (C). cekaman 200%, (D). cekaman 175% di atas kapasitas lapang.

Respon pertumbuhan tanaman yang tergenang dimediasi sedikitnya oleh 3 jenis hormon yang berbeda, *Giberelin Acid* (GA), *Absisic Acid* (ABA) dan etilen (Kende *et al.*, 1998); (Kawono *et al.*, 2002). Ketiga hormon tersebut berperan dalam pemanjangan tunas (Voesenek *et al.*, 2003). Etilen berperan penting dalam merespon genangan melalui regulasi Giberelin dan ABA, yang merupakan regulator positif dan negatif dalam pemanjangan tunas (Saika *et al.*, 2007). Akumulasi etilen pada saat tanaman tergenang akan meregulasi penurunan kandungan ABA. Penurunan kandungan ABA endogen pada *internode* ini dibutuhkan untuk menstimulus ekspresi (GA) 3-oxidase, yaitu enzim yang digunakan untuk mengkatalisis ke bentuk bioaktif Giberelin (GA1) sehingga konsentrasi GA meningkat (Salazar *et al.*, 2015). Salah satu respon GA adalah dalam proses pemaingan batang. GA meningkatkan perombakan karbohidrat di daerah pucuk untuk memproduksi gula sebagai energi untuk aktivitas proton dan pembentukan dinding sel (Voesenek *et al.*, 2003). Sehingga dapat diduga bahwa varietas Rejeb dan Japon Mawar mengalami penurunan konsentrasi ABA saat terjadi cekaman

genangan yang digunakan untuk menstimulus peningkatan konsentrasi GA.

Respon yang berbeda juga ditunjukkan oleh dua varietas padi yang tercekam genangan. Varietas *deepwater rice* merespon genangan dengan meningkatkan kemampuan pemanjangan *internode* sebagai bentuk strategi penghindaran (*escape strategy*) untuk memungkinkan ujung daun dapat mencapai permukaan air (Kende *et al.*, 1998). Sedangkan varietas padi *lowland rice* memperlihatkan penurunan pertumbuhan selama penggenangan berlangsung. Hal ini merupakan salah satu strategi untuk menghemat energi selama cekaman genangan berlangsung hingga air surut (Fukao dan Bailey-Serres, 2008). Pemanjangan batang pada varietas *lowland rice* yang mengkonsumsi persediaan energi terbatas selama *submergence* menimbulkan penurunan produktivitas dan kelangsungan hidup (Das *et al.*, 2005). Pada umumnya, kondisi *submergence* ini terjadi secara temporal. Oleh karena itu, secara genetik varietas *lowland rice* yang meningkatkan konsentrasi ABA di bawah kondisi *submergence* adalah bentuk strategi yang menguntungkan sehingga varietas ini dapat kembali tumbuh normal setelah cekaman berhenti (Saika *et al.*, 2007). Hal ini juga diperlihatkan oleh varietas Jepon Banyak yang dapat bertahan selama 10 hari penggenangan dan masih dapat tumbuh setelah proses penggenangan dihentikan.

4.1.2 Jumlah Daun

Daun merupakan salah satu organ tanaman yang berfungsi sebagai tempat terjadinya fotosintesis (Suhartono dkk., 2008). Berdasarkan hasil *ANOVA Two Way* (Lampiran 19), diketahui bahwa interaksi faktor varietas dan cekaman genangan mempengaruhi jumlah daun dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hasil uji Anova tersebut dilanjutkan dengan uji *Tukey* yang memberikan hasil bahwa faktor perlakuan cekaman genangan berpengaruh secara nyata pada jumlah daun ketiga varietas tembakau tersebut (Lampiran 20).

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Rerata Penambahan Jumlah Daun Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan

Varietas	Rerata Penambahan Jumlah Daun \pm STD pada Presentase Genangan			
	100%	150%	175%	200%
Rejeb	7,8 \pm 0,8 a	6,2 \pm 0,8 bcd	7,6 \pm 0,5 ab	7,2 \pm 0,4 ab
Jepon Mawar	7,0 \pm 1,0 ab	6,4 \pm 0,5 abcd	5,4 \pm 0,5 cd	6,8 \pm 0,8 abc
Jepon Banyak	7,6 \pm 0,5 ab	5,4 \pm 0,5 cd	5,2 \pm 0,4 d	5,2 \pm 0,4 d

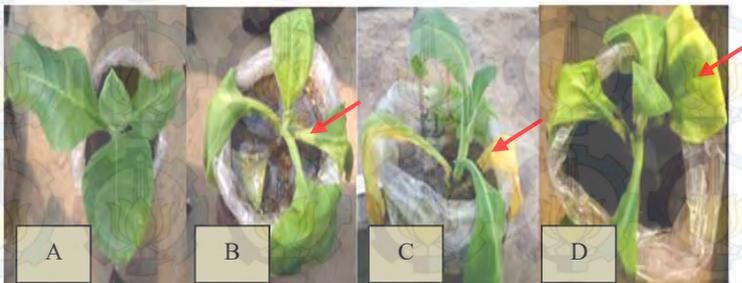
Keterangan : rerata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan uji *Tukey* ($p=0,05$). Angka dibelakang tanda \pm merupakan Standar Deviasi (STD).

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Lampiran 19 menunjukkan bahwa cekaman genangan air mempengaruhi jumlah daun pada ketiga varietas tanaman tembakau. Jumlah daun setiap varietas tembakau pada perlakuan cekaman 150%, 175% dan 200% di atas kapasitas lapang cenderung menurun jika dibandingkan dengan perlakuan 100% di atas kapasitas lapang. Hal ini berarti dengan adanya cekaman genangan air dapat menyebabkan berkurangnya jumlah daun yang ditandai dengan proses penuaan dan gugurnya daun yang terendam seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.3 dan 4.4 Penelitian pada tanaman kedelai menunjukkan bahwa tanaman yang tergenang selama satu sampai dua hari tidak menyebabkan pengurangan hasil, tetapi tanaman yang tergenang selama tiga hari mengakibatkan daun klorosis, gugur, pertumbuhan terhenti dan akhirnya tanaman mati (Boru *et al.*, 2003).



Gambar 4.3 Daun Tembakau Varietas Jepon Mawar yang Layu setelah 6 Hari Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A). cekaman 100%, (B). cekaman 150%, (C). cekaman 175%, (D). cekaman 200% di atas kapasitas lapang.



Gambar 4.4 Daun Tembakau Varietas Jepon Banyak yang Layu setelah 6 hari Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A). cekaman 100%, (B). cekaman 150%, (C). cekaman 175%, (D). cekaman 200% di atas kapasitas lapang.

Tanaman tembakau yang digenangi selama empat hari menunjukkan adanya penuaan daun yang lebih cepat dibandingkan tanaman kontrol (Hurng *et al.*, 1993). Penuaan daun merupakan fenomena dalam siklus hidup tanaman yang dipengaruhi oleh umur dari tanaman itu sendiri, tetapi juga dapat disebabkan karena adanya perubahan kondisi lingkungan (Koyama, 2014). Penuaan daun pada tanaman dapat disebabkan karena meningkatnya hormon etilen selama penggenangan. Etilen

dan ABA merupakan promotor endogen untuk penuaan daun (Thimann, 1980). Kawase (1974) melaporkan bahwa peningkatan produksi etilen menginduksi penuaan daun pada bunga matahari.

Penuaan daun pada tanaman terjadi dengan meningkatnya hormon etilen yang menginduksi peningkatan faktor transkripsi (TFs) seperti *NO APICAL MERISTEM*, *Arabidopsis TRANSCRIPTION ACTIVATION FACTOR*, *CUP-SHAPED COTYLEDON (NAC)*, *APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR (AP2/ERF)*, dan kelompok *WRKY* serta peningkatan ekspresi *SAGs (Senescence Associated Genes)* yang meregulasi penuaan dan pengguguran daun (Gan dan Amasino, 1997; Buchanan-Wollaston *et al.*, 2005; Veyres *et al.*, 2008). *ERF* secara langsung menekan ekspresi gen *EPITHIOSPECIFIER PROTEIN/EPITHIOSPECIFYING SENESCENCE REGULATOR (ESP/ESR)* yang merupakan regulator negatif dari respon penuaan daun (Miao dan Zentgraf, 2007; Koyama *et al.*, 2013). Transkripsi *ESP/ESR* banyak diekspresikan di bagian daun muda, dan mengalami penurunan pada daun tua (Koyama *et al.*, 2013).

Awal dari jalur persinyalan etilen adalah adanya sinyal etilen akan diterima oleh kompleks reseptor yang tersusun atas *CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE1)* dan *ETHYLENE INSENSITIVE (EIN2)*/protein integral pada membran retikulum endoplasma (Ju *et al.*, 2012; Qiao *et al.*, 2012). Sinyal etilen mencegah proses fosforilasi pada *EIN2* (Regulator utama tanaman terhadap sinyal etilen yang berada pada membran integral retikulum endoplasma), sehingga menghasilkan pembelahan pada gugus karboksil *EIN2*. Tidak adanya proses fosforilasi ini menyebabkan domain ekstrinsik *EIN2* ditranslokasikan menuju nukleus dan mengaktifkan *ETHYLENE-INSENSITIVE3 (EIN3)* dan *EIN3-LIKE (EIL)* TFs. Sinyal etilen akan menstabilkan *EIN3* dan *EIL*, yang akan cepat terdegradasi tanpa adanya etilen (Guo dan Ecker, 2003; Potuschak *et al.*, 2003). *EIN3* secara langsung mengontrol gen *NAC (CUP-SHAPED COTYLEDON)* salah satunya *NAP (NAC-like activated by AP3)* yang pengaktifannya bergantung pada jalur

EIN2 (Kim *et al.*, 2014). NAP secara positif meregulasi proses penuaan daun dan mengaktifkan jalur sinyal ABA yang berperan dalam merespon cekaman dan penuaan daun (Guo dan Gan, 2006; Zhang dan Gan, 2012).

4.1.3 Luas Daun

Uji *ANOVA Two Way* dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa interkasi antara faktor varietas dan perlakuan cekaman genangan berpengaruh terhadap luas daun dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Lampiran 21). Hasil uji Anova tersebut dilanjutkan dengan uji *Tukey* yang memberikan hasil bahwa faktor perlakuan cekaman genangan berpengaruh secara nyata pada luas daun ketiga varietas tersebut yang ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Rerata Luas Daun Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan

Varietas	Rerata Pertumbuhan Luas Daun \pm STD (cm ²) pada Presentase Genangan			
	100%	150%	175%	200%
Rejeb	83,6 \pm 5,0 bc	77,2 \pm 17,0 c	137,6 \pm 28,5 a	108,8 \pm 18,2 ab
Jepon Mawar	54,9 \pm 18,9 c	66,6 \pm 15,9 c	65,5 \pm 4,2 c	123,0 \pm 14,2 a
Jepon Banyak	122,7 \pm 8,8 a	83,8 \pm 2,6 bc	81,7 \pm 1,5 bc	81,4 \pm 0,8 bc

Keterangan : rerata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan uji *Tukey* ($p=0,05$). Angka dibelakang tanda \pm merupakan Standar Deviasi (STD).

Berdasarkan Tabel 4.3 dan Lampiran 21 dapat diketahui bahwa luas daun tanaman tembakau yang tercekam genangan mengalami penurunan pada varietas Rejeb perlakuan 150% di atas kapasitas lapang. Sedangkan pada varietas Jepon Banyak,

luas daun tanaman tembakau mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya taraf penggenangan. Penurunan luas daun merupakan salah satu gejala penurunan pertumbuhan tanaman yang dapat diamati ketika tanaman mengalami kondisi hipoksia atau anoksia. Menurut Sena dan Kozlowski (1998), pada saat kondisi hipoksia atau anoksia tanaman akan memperlihatkan penurunan sintesis klorofil karena akumulasi etilen dan atau penurunan sintesis sitokinin. Etilen merupakan salah satu kelompok hormon dalam bentuk gas hidrokarbon yang memiliki efek signifikan pada perkembangan tunas dan akar. Peningkatan sintesis etilen merupakan salah satu bentuk respon tanaman terhadap cekaman dan banyak diproduksi oleh jaringan yang mengalami penuaan atau pematangan (Hopkins dan Huner, 2009).

Penelitian pada bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dalam waktu satu hari penggenangan menunjukkan adanya konsentrasi hormon sitokinin yang sangat rendah pada pembuluh xilem. Sitokinin merupakan salah derivat dari basa nitrogen adenin yang dapat berpengaruh pada proses perkembangan tanaman, termasuk diferensiasi pada kultur jaringan, pertumbuhan tunas lateral, perluasan daun, perkembangan kloroplas, dan penundaan proses penuaan daun (Hopkins dan Huner, 2009). Penurunan sintesis sitokinin pada akar ini disebabkan oleh kondisi hipoksia atau anoksia. Sehingga akar tidak mampu mentranspor sitokinin ke bagian aerial tanaman seperti daun dan batang (Burrows dan Carr, 1969). Sitokinin disintesis pada meristem apikal akar (Short dan Torrey, 1972) dimana menjadi tempat paling awal menurunnya aktivitas metabolik dan kematian sel akibat cekaman genangan dari pada jaringan lain (Van Toai *et al.*, 1995). Akibat sitokinin yang rendah pada organ aerial, utamanya daun menyebabkan terhambatnya pembelahan sel. Dalam penelitian ini, diduga adanya penurunan sitokinin endogen pada Varietas Jepon Banyak disebabkan karena terjadi penurunan ekspresi gen *IPT* yang mengkode enzim isopentenil transferase dalam inisiasi dan pembatasan jalur biosintesis sitokinin. Bila dibandingkan dengan Jepon Banyak perlakuan 100% di atas

kapasitas lapang, ekspresi gen *IPT* diduga terjadi secara normal sehingga pertumbuhan daun dapat terjadi secara normal.

4.1.4 Panjang Akar

Berdasarkan hasil *ANOVA Two Way* (Lampiran 23), diketahui bahwa interaksi faktor varietas dan cekaman genangan berpengaruh signifikan terhadap panjang akar, dengan nilai $p = 0,046 (<0,05)$. Hasil uji Anova tersebut dilanjutkan dengan uji *Tukey* yang memberikan hasil bahwa faktor perlakuan cekaman genangan berpengaruh secara nyata pada panjang akar ketiga varietas tersebut yang ditunjukkan pada Tabel 4.4 (Lampiran 24).

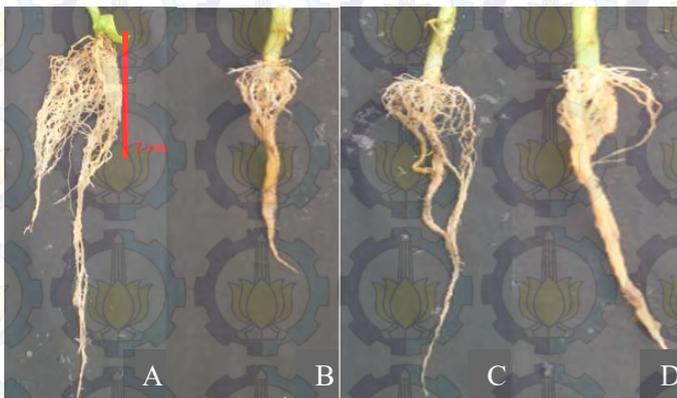
Tabel 4.4 Hasil Pengamatan Rerata Panjang Akar Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan

Varietas	Rerata Panjang Akar \pm STD (cm) pada Presentase Genangan			
	100%	150%	175%	200%
Rejeb	17 \pm 4,9 abc	15 \pm 5,7 abc	19,7 \pm 6,9 ab	19,4 \pm 4,7 abc
Jepon Mawar	14,6 \pm 5,2 abc	11,5 \pm 1,6 abc	11 \pm 4,0 abc	12,9 \pm 4,8 abc
Jepon Banyak	19,9 \pm 6,7 a	11,3 \pm 0,7 abc	10,1 \pm 0,9 bc	9,8 \pm 1,3 c

Keterangan : rerata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan uji *Tukey* ($p=0,05$). Angka dibelakang tanda \pm merupakan Standar Deviasi (STD).

Tabel 4.4 dan Gambar 4.5 menunjukkan bahwa panjang akar varietas Rejeb relatif mengalami peningkatan panjang akar. Varietas Rejeb memiliki jumlah daun yang semakin bertambah seiring dengan meningkatnya persentase cekaman genangan (Tabel 4.2). Pertambahan jumlah daun ini menunjukkan bahwa air dan nutrisi dapat terdistribusi secara optimal ke bagian tajuk tanaman. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa daerah perakaran

varietas Rejeb yang dicekam mengalami sedikit kerusakan. Hal tersebut dapat didukung dengan jumlah akar adventif yang tinggi pada varietas ini ketika dicekam genangan (Tabel 4.5)



Gambar 4.5 Akar Tembakau Varietas Rejeb setelah 10 Hari Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A). cekaman 100%, (B). cekaman 150%, (C). cekaman 200%, (D). cekaman 175% di atas kapasitas lapang.



Gambar 4.6 Akar Tembakau Varietas Jepon Mawar setelah 10 Hari Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A). cekaman 200%, (B). cekaman 175%, (C). cekaman 150%, (D). cekaman 100% di atas kapasitas lapang.

Sementara pada varietas Japonica perlakuan 150%, 175% dan 200% di atas kapasitas lapang memiliki nilai panjang akar yang lebih rendah bila dibandingkan dengan perlakuan 100% di atas kapasitas lapang (Gambar 4.7). Hal ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan akar dengan semakin meningkatnya persentase genangan air. Menurut Hapsari dan Adi (2010), pada kondisi tergenang, volume pori tanah yang berisi udara kurang dari 10% sehingga menghambat pertumbuhan akar. Kekurangan oksigen dalam tanah akibat genangan merupakan faktor pembatas pertumbuhan dan produktivitas tanaman.

Rendahnya oksigen akibat genangan menyebabkan energi yang dihasilkan oleh akar menjadi rendah. Pada sel tanaman yang menerima oksigen cukup (respirasi aerob), oksidasi karbohidrat terjadi dalam 3 tahap. Tahap pertama, konversi 1 molekul glukosa menghasilkan 2 molekul asam piruvat, 2 ATP dan 2 NADH₂ (glikolisis). Tahap kedua, oksidasi satu molekul asam piruvat ke karbondioksida, 1 ATP dan 5 NADH₂ (siklus Krebs). Tahap ketiga, setiap NADH₂ akan digunakan untuk sintesa 3 molekul ATP melalui rantai sitokrom dari NADH₂ ke oksigen dengan melepaskan air (Gibbs dan Greenway, 2003). Respirasi aerobik dari 1 molekul glukosa menghasilkan 38 molekul ATP (Hossain *et al.*, 2011).

Bila kondisi tergenang, rantai sitokrom terputus karena tidak ada oksigen yang menyebabkan akumulasi NADH₂ dan tertekannya siklus Krebs. Rendahnya oksigen akibat genangan menyebabkan energi yang dihasilkan oleh akar rendah. Energi yang rendah akibat dari proses fosforilasi oksidatif penghasil adenosine triphosphat (ATP) terhenti, tetapi beberapa ATP dapat diproduksi dalam glikolisis tergantung pada proses pembentukan kembali NAD⁺ yang merupakan kofaktor NADH (konversi piruvat menjadi etanol atau asam laktat) (Kennedy *et al.*, 1992). Pada fermentasi etanol, piruvat adalah substrat untuk *pyruvate*

decarboxylase (PDC) yang menghasilkan CO₂ dan asetaldehid, yang direduksi membentuk 2 ATP dan 2 etanol melalui oksidasi NADH ke bentuk NAD⁺ oleh enzim *alcohol dehydrogenase* (ADH). Pada fermentasi asam laktat, piruvat adalah substrat *lactate dehydrogenase* (LDH) yang menghasilkan 2 ATP dan 2 laktat dengan oksidasi NADH ke bentuk NAD⁺ (Kennedy *et al.*, 1992; Sairam *et al.*, 2008). Namun, produksi energi (ATP) melalui glikolisis dan fermentasi lebih rendah dibandingkan proses fosforilasi oksidatif (Gibbs dan Greenway, 2003). Rendahnya energi menyebabkan respirasi akar terhambat. Akibatnya pertumbuhan akar juga terhambat. Apabila kondisi anaerob berlangsung lama akan terjadi kerusakan akar akibat akumulasi alkohol dan asam laktat yang dapat mengganggu metabolisme sehingga menghambat pertumbuhan dan hasil tanaman (Komariah, 2008).

Terhambatnya pertumbuhan dan pemanjangan akar juga dapat disebabkan karena perbedaan deposisi suberin tiap varietas tembakau pada dinding sel dari korteks atau eksodermis akar yang terlibat dalam mekanisme ROL (*Radical Oxygen Loss*). Berkaitan dengan hal tersebut, diduga varietas Rejeb memiliki tingkat kandungan suberin yang lebih banyak dibandingkan dengan varietas lainnya. Menurut Visser *et al.*, (2000), hilangnya oksigen dari akar bergantung dari kehadiran penghalang yang dapat menghalangi hilangnya oksigen secara radial ke tanah di sekitarnya. Beberapa spesies tanaman yang hidup pada daerah yang subur (basah), memiliki penghalang di bagian luar dari korteks akar yang mencegah hilangnya oksigen dari akar (Armstrong, 2005). Dengan adanya penghalang tersebut, oksigen akan berdifusi secara longitudinal menuju ujung akar sehingga dapat meningkatkan aerasi pada ujung akar (membentuk zona aerobik) serta memungkinkan pemanjangan akar pada tanah yang tergenang (Pedersen *et al.*, 2004). Zona aerobik yang terbentuk juga dapat mencegah akumulasi senyawa toksik seperti Fe²⁺, Mn²⁺, dan sulfida di sekitar ujung akar (Soukup *et al.*, 2002).



Gambar 4.7 Akar Tembakau Varietas Jepon Banyak setelah 10 Hari Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A). cekaman 200%, (B). cekaman 175%, (C). cekaman 150%, (D). cekaman 100% di atas kapasitas lapang.

4.1.5 Pembentukan Akar Adventif

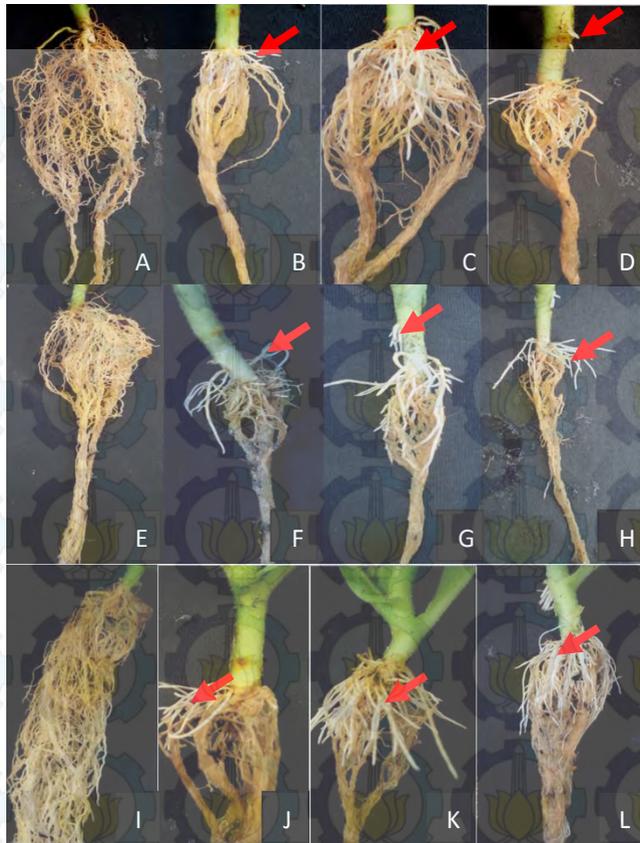
Akar adventif merupakan akar yang tumbuh di bagian dasar batang atau bagian tumbuhan yang kaya lentisel, tumbuh lateral sejajar dengan permukaan air atau tanah (Parent *et al.*, 2008). Akar adventif dapat muncul secara alami dari jaringan batang di bawah kondisi stres lingkungan; akar ini juga dapat diinduksi karena adanya kerusakan mekanis atau regenerasi kultur jaringan tunas (Li *et al.*, 2009). Akar ini merupakan akar *postembryonic* yang muncul pada batang dan daun dan dari jaringan non perisel dalam akar tua (Geiss *et al.*, 2009). Berdasarkan hasil *ANOVA Two Way* (Lampiran 25), diketahui bahwa interaksi faktor varietas dan cekaman genangan berpengaruh signifikan terhadap jumlah akar adventif, dengan nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$). Hasil uji anova tersebut dilanjutkan dengan uji *Tukey* yang memberikan hasil bahwa faktor perlakuan cekaman genangan berpengaruh secara nyata pada jumlah akar adventif yang ditunjukkan pada Tabel 4.5 (Lampiran 26).

Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Rerata Jumlah Akar Adventif Beberapa Varietas Tembakau setelah Perlakuan Cekaman Genangan

Varietas	Rerata Jumlah Akar Adventif \pm STD pada Presentase Genangan			
	100%	150%	175%	200%
Rejeb	0 \pm 0 d	19,4 \pm 7,8abc	23,6 \pm 12,7 a	20,4 \pm 9,5 ab
Jepon Mawar	0 \pm 0 d	18,6 \pm 1,1 abc	6,4 \pm 6,0 bcd	20,6 \pm 2,1 a
Jepon Banyak	0 \pm 0 d	9,6 \pm 11,6 abcd	6,0 \pm 2,3 cd	5,8 \pm 2,7 cd

Keterangan : rerata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan uji *Tukey* ($p=0,05$). Angka dibelakang tanda \pm merupakan Standar Deviasi (STD).

Berdasarkan Tabel 4.5 dan Lampiran 25, diketahui bahwa cekaman genangan memacu pembentukan akar adventif. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman yang mengalami cekaman genangan menunjukkan respon morfologi berupa pembentukan akar adventif untuk dapat bertahan dalam kondisi cekaman genangan. Pembentukan akar adventif pada varietas Rejeb meningkat secara signifikan pada cekaman 175%. Sedangkan pada varietas Jepon Mawar meningkat signifikan pada cekaman 200% di atas kapasitas lapang seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8 Akar adventif mulai muncul pada hari ketiga cekaman genangan.



Gambar 4.8 Perakaran Tembakau Ketiga Varietas Uji setelah 10 Hari Perlakuan Cekaman Genangan.

Keterangan gambar : (A-D) : varietas Rejeb, (A). cekaman 100% , (B). cekaman 150%, (C). cekaman 175% (D) cekaman 200% di atas kapasitas lapang; (E-H) : varietas Jepon Banyak, (E). cekaman 100%, (F). cekaman 150%, (G) cekaman 175%, (H) cekaman 200% di atas kapasitas lapang; (I-L) : varietas Jepon Mawar, (I). cekaman 100%, (J). cekaman 150%, (K). cekaman 175%, (L). 200%) di atas kapasitas lapang dan tanda panah menunjukkan akar adventif.

Pembentukan akar adventif dan aerenkim merupakan salah satu indikator adanya mekanisme adaptasi tanaman pada kebanyakan tanaman yang toleran terhadap genangan (Akhtar dan Nazir, 2013). Akar adventif merupakan akar yang muncul dari batang (*stem*), atau bagian lain tumbuhan (seperti daun pada tanaman *Sedum* dan *Begonia*), dan daerah pada akar utama selain perisikel proksimal menuju zona elongasi (Beck, 2010). Akar adventif berkembang dari akar primordial, yang dapat muncul pada banyak jaringan pada batang tanaman. Seperti pada akar lateral, primordia ini berdiferensiasi menjadi tipe sel akar, dan jaringan pembuluh (*vascular connection*) dibentuk dengan adanya xilem dan floem pada akar asli (Pugnaire & Valladares, 2007).

Pembentukan akar adventif adalah proses yang diinduksi dan diregulasi oleh faktor lingkungan dan hormon, seperti temperatur, cahaya, hormon (khususnya auksin), gula, mineral dan molekul lain. Fitohormon memiliki efek langsung (termasuk pembelahan atau pertumbuhan sel) atau secara tidak langsung (berinteraksi dengan hormon atau molekul lain) (Jaillais dan Chory, 2010; Nemhauser *et al.*, 2006; Santner dan Estelle, 2009). Interaksi auksin dan etilen penting untuk menstimulasi pembentukan akar adventif (Liao dan Lin, 2000). Etilen menyebabkan efek fisiologi yang berlawanan dalam proses pembentukan akar adventif pada 2 spesies tanaman yaitu *Arabidopsis thaliana* dan tomat (*Lycopersicum*), dimana auksin memiliki efek yang sama pada pembentukan akar adventif pada kedua spesies. Pada tanaman tomat, adanya sintesis etilen menyebabkan peningkatan dalam pembentukan akar adventif. Sebaliknya pada tanaman *Arabidopsis*, adanya etilen dapat menurunkan pembentukan akar adventif. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara etilen dan auksin dalam merespon pembentukan akar adventif bergantung pada spesies (Sukumar, 2010).

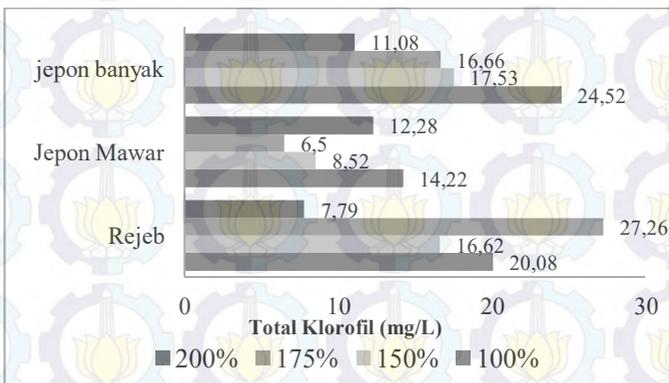
Auksin adalah kelompok dari triptofan yang berperan dalam aspek perkembangan tanaman (Woodward dan Barrel, 2005). Auksin disintesis pada sel-sel meristematik dan secara

aktif ditranspor ke jaringan lain untuk berkoordinasi dan memfasilitasi respon terhadap lingkungan (Pop *et al.*, 2011). Transpor auksin dari sel ke sel lain dimediasi oleh protein transpor yang berada pada membran plasma. Protein transpor ini tersusun atas protein influx (protein yang memediasi perpindahan auksin untuk masuk ke dalam sel) seperti AUX1 (AUXIN RESISTANT 1) dan LAX (like aux) (Swarup *et al.*, 2008), dan protein efflux (protein yang memediasi perpindahan auksin keluar dari sel) yang tersusun atas PIN (PIN FORMED) dan ABCB/MDR/PGP (ATP BINDING CASSETTE B/MULTIDRUG RESISTANCE/P-GLYCIPROTEIN) (Noh *et al.*, 2001; Teale *et al.*, 2006; Zazimalova *et al.*, 2010). Perubahan ekspresi pada Auxin Respon Factor (ARF) dan protein transpor auksin dapat menurunkan pembentukan akar adventif (Xu *et al.*, 2005). Protein transpor ABCB19 diekspresikan di kotiledon, *shoot apical meristem* (SAM) dan hipokotil. Etilen dapat memblokir transpor auksin secara basipetal melalui penghambatan ekspresi ABCB19 pada hipokotil tanaman *Arabidopsis* (Kefford, 1985). Sedangkan peningkatan ekspresi ABCB19 dapat memediasi pembentukan akar adventif (Sukumar, 2010). Sehingga, dapat diduga bahwa perbedaan jumlah akar adventif yang terbentuk pada ketiga varietas tembakau tersebut disebabkan karena adanya perbedaan ekspresi protein transpor ABCB19.

Adanya Akar adventif membantu penyerapan air dan unsur hara pada tanaman yang toleran genangan. Akar adventif juga memudahkan produk akhir fermentasi alkohol, etanol untuk berdifusi dari tanaman, sehingga tidak terakumulasi pada tanaman. Menurut Smith dkk. (2010), beberapa tanaman mampu membentuk akar adventif sebagai respon terhadap hilangnya oksigen. Akar-akar tambahan ini menggantikan akar-akar yang rusak dan lebih efektif dalam transfer oksigen. Akar ini memiliki fungsi lebih efektif karena adanya jaringan aerenkim di dalamnya dan tumbuh di area permukaan tanah yang umumnya kadar oksigen masih tinggi. Terbentuknya aerenkim menunjukkan

bahwa tanaman tercekam genangan menunjukkan respon terhadap kondisi hipoksia dan anoksia yang terjadi. Peningkatan porositas aerenkim dapat meningkatkan pertukaran ke arah pucuk akar tanaman dan meningkatkan proses aerasi dalam akar yang berada di cekaman genangan (Parent *et al.*, 2008).

4.2 Respon Fisiologi Beberapa Varietas Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Tercekam Genangan terhadap Kandungan Klorofil



Gambar 4.9 Grafik Rerata Total Klorofil Beberapa Varietas Tembakau setelah 10 Hari Cekaman Genangan

Berdasarkan Gambar 4.9, dapat diketahui bahwa total klorofil pada ketiga varietas menurun kecuali pada varietas Rejeb perlakuan cekaman genangan 175% dan varietas Jepun Mawar pada perlakuan cekaman genangan 200%. Penurunan kadar klorofil ini diduga disebabkan karena rusaknya akar yang tergenang. Genangan dapat menyebabkan kematian sel-sel akar yang dapat menghambat perkembangan dan fungsi dari sistem akar seperti pengambilan air dan nutrisi, khususnya Nitrogen, sehingga kebutuhan air dan N ke tajuk tidak terpenuhi. Akibatnya daun layu dan menguning. Salah satu manfaat unsur N bagi

tanaman adalah untuk pembentukan klorofil pada daun. Degradasi klorofil dapat ditunjukkan melalui klorosis pada daun yang tercekam genangan (Pociecha *et al.*, 2008) seperti yang terlihat pada Gambar 4.10.

Menurut Gomes dan Kozlowski (1980), dampak negatif dari genangan adalah penghambatan pertumbuhan daun, pengurangan biomassa, penurunan konduktansi stomata dan penurunan jumlah klorofil a dan b di daun. Penurunan klorofil terjadi signifikan pada daun yang lebih tua, hal ini mengindikasikan adanya degradasi klorofil secara cepat pada daun yang berada di dekat akar yang tergenang.

Degradasi klorofil secara besar-besaran terjadi selama proses penuaan daun, pematangan buah, dan juga dalam merespon stres lingkungan (Hortensteiner dan Bernhard, 2010). Menurut Dong *et al.* (1983), bahwa tanaman yang tercekam genangan air akan mensintesis etilen yang lebih banyak. Etilen dapat menyebabkan peningkatan aktivitas *chlorophyllase* dan aktivitas enzim *oxidase*, enzim yang bertanggung jawab dalam proses degradasi klorofil (Jacomino *et al.*, 2003). *Chlorophyllase* (*Chlase*) mengkatalisis pelepasan ikatan *phytol* dari klorofil ke bentuk *chlorophyllide*, yang merupakan tahap pertama dalam katabolisme klorofil (Sabater dan Rodrisol, 1978), aktivitas *Chlase* ini distimulasi oleh etilen (Trebitsh *et al.*, 1993). Dengan berkurangnya kadar klorofil dapat menghambat proses fotosintesis. Hasil dari proses fotosintesis itu sendiri dapat menyebabkan perluasan daun. Jadi apabila proses fotosintesis terganggu, maka akan menyebabkan perluasan daun terhambat.



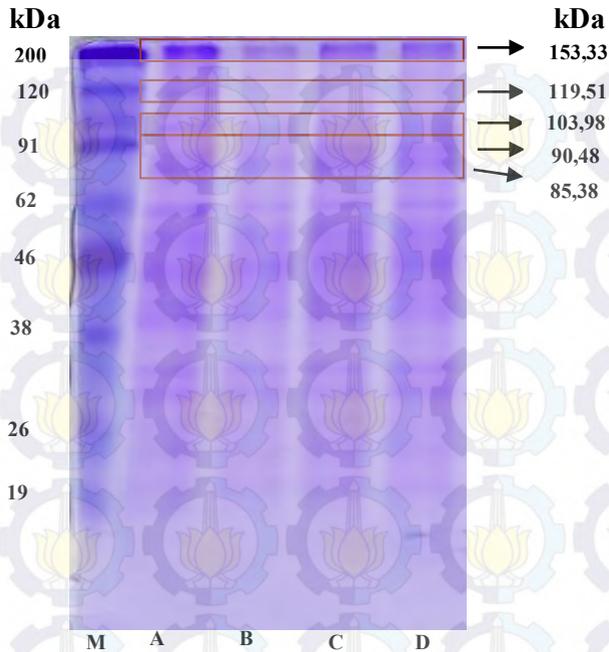
Gambar 4.10 Gejala Klorosis Daun Varietas Jepon Banyak pada Perlakuan Cekaman Genangan 175% di atas Kapasitas Lapang.

Secara fisiologi, daun-daun layu mengindikasikan ketidakmampuan tanaman untuk mengimbangi proses transpirasi. Kekurangan air dalam tubuh tanaman terjadi akibat kekurangan oksigen pada akar. Kekurangan oksigen menggeser metabolisme energi dari aerob menjadi anaerob sehingga berpengaruh kurang baik terhadap jumlah energi yang dihasilkan. Energi yang dihasilkan dari glikolisis dan fermentasi pada metabolisme anaerob ini lebih rendah dan kurang efisien dibandingkan respirasi aerob, yaitu hanya 2 ATP dan produk samping seperti alkohol atau asam asetat. Dengan ketersediaan energi metabolik yang rendah ini maka akan menghambat beberapa proses seperti serapan nutrisi dan unsur hara (Nurbaiti *et al.*, 2012). Akibatnya, tanaman menunjukkan gejala kelayuan walaupun tersedia banyak air (Sairam *et al.*, 2009). Hal ini sesuai dengan Striker (2012) yang menyatakan bahwa pada level fisiologi, genangan mengubah hubungan air dan fiksasi karbon pada tanaman. Penutupan stomata mengurangi transpirasi dan menghambat fotosintesis, hal tersebut merupakan respon yang dapat terjadi dalam waktu beberapa jam atau hari, tergantung pada tingkat toleransi setiap tanaman terhadap genangan.

4.3 Profil Protein Beberapa Varietas Tembakau (*N. tabacum* L.) setelah Diberi Cekaman Genangan

Kondisi hipoksia akibat adanya kelebihan air di lingkungan perakaran dapat memicu dan meningkatkan fermentasi anaerob yang berdampak pada perubahan morfologi dan fisiologi serta proses metabolik. Perubahan tersebut diantaranya adalah proses fotosintesis, energi metabolisme, potensial redoks, kematian sel terprogram, dan degradasi atau sintesis protein (Jackson, 2003). Salah satu bentuk respon tanaman terhadap cekaman abiotik adalah perubahan ekspresi protein dan modifikasi *post-translational* protein untuk mengaktifkan sistem pertahanan dalam menghadapi cekaman (Hashiguchi *et al.*, 2010). Profil protein mengalami perubahan pada kondisi hipoksia dan protein spesifik yang mengalami upregulasi dalam hal ini adalah *anaerobic polypeptides*. Enzim tersebut berperan dalam metabolisme glukosa, glikolisis, fermentasi (Huang *et al.*, 2005), sintesis hormon, kematian sel terprogram (Ahmad dan Salema, 2014).

Ahsan *et al.* (2007) menemukan bahwa 35 protein diekspresikan pada akar tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum*) dalam merespon adanya cekaman genangan. 16 protein mengalami peningkatan ekspresi dan 13 protein mengalami penurunan ekspresi. Pada jagung (*Zea mays*), perlakuan cekaman genangan mengubah pola sintesis protein di akar primer (Sachs *et al.*, 1980). Hasil analisis profil protein dengan *SDS-PAGE* dalam penelitian ini didapat hasil yang beragam, yang ditunjukkan dengan variasi ketebalan maupun degradasi pita protein organ daun seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.11; 4.12; dan 4.13. Jumlah variasi pita protein ini menunjukkan adanya respon tanaman terhadap cekaman genangan.

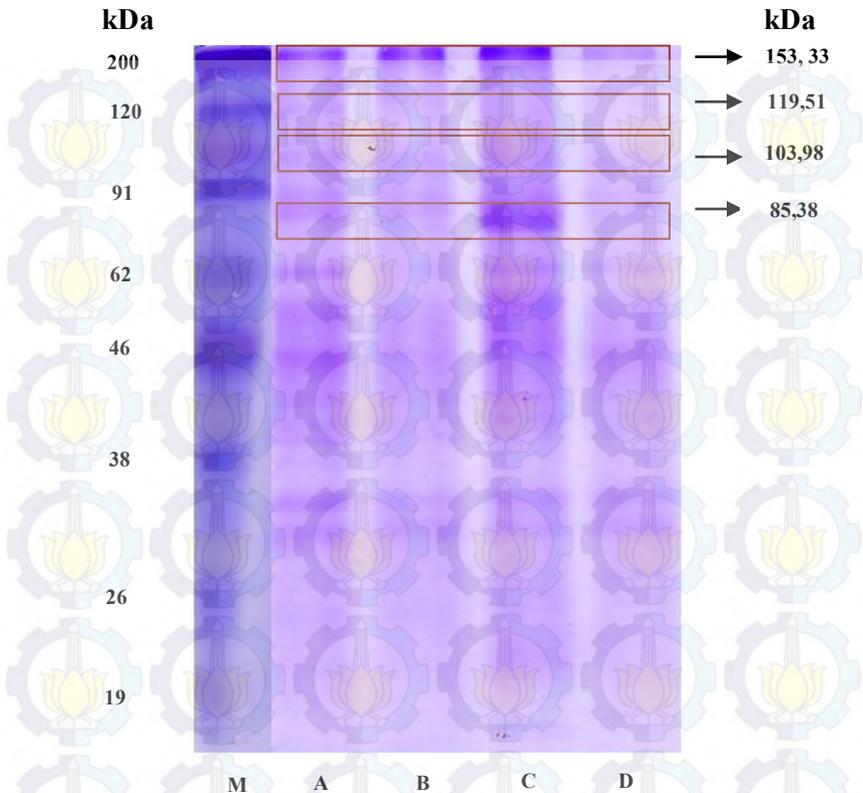


Gambar 4.11 Hasil Analisis *SDS-PAGE* Profil Protein Varietas Jepon Banyak (Keterangan : M= Marker; A= 100% ; B= 150%; C=175%; D=200% di Atas Kapasitas Lapang.

Berdasarkan hasil analisis *SDS-PAGE* varietas Jepon Banyak di atas, protein dengan berat molekul 153,33 kDa mengalami penurunan ekspresi yang ditunjukkan dengan ketebalan pita protein seiring dengan meningkatnya taraf penggenangan. Pita protein dengan berat molekul 119,51 dan 103,98 kDa hanya terekspresi pada perlakuan 100% cekaman genangan dan mengalami degradasi yang ditunjukkan dengan hilangnya pita protein pada perlakuan 150%, 175% dan 200%. Pita protein dengan berat molekul 90,48 kDa hanya terekspresi pada konsentrasi cekaman genangan 175% dan 200%. Sedangkan protein dengan berat molekul 85,38 kDa terekspresi seragam pada

semua perlakuan cekaman genangan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat beberapa protein yang mengalami degradasi atau penurunan ekspresi ketika cekaman genangan. Selain itu juga terdapat protein yang hanya diekspresikan pada taraf penggenangan yang tinggi seperti protein dengan berat molekul 90,48 kDa. Berat molekul protein yang terekspresi berbeda pada semua perlakuan berkisar dari 85,38-153,33 kDa.

Penelitian pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*) yang diberi perlakuan cekaman genangan selama 14 hari menunjukkan bahwa protein yang terekspresi berkisar pada berat molekul 50-110 kDa (Stoychev *et al.*, 2013). Protein dengan berat molekul 50-55 kDa merupakan anggota dari *Rubisco Large-Subunit* (RLS). Protein dengan berat molekul 60-61 kDa yang merupakan *Rubisco Binding Protein* (RBP), protein dengan berat molekul 93-95 kDa yang merupakan *ATP-dependent protease belonging to serine protease* (Clp-P), dan protein dengan berat molekul 110 kDa adalah protein *Rubisco Activase* (RA). Berdasarkan hasil identifikasi, protein tersebut berperan dalam proses fotosintesis. Ekspresi Rubisco menurun dalam total protein terlarut selama merespon cekaman genangan. Rubisco memiliki 2 fungsi yakni berperan sebagai karboksilase yang memediasi asimilasi CO₂ dan sebagai oksigenase dalam mengkatalisis tahap awal fotorespirasi (Kumatsu dan Hossain, 2013). Selain itu, adanya genangan juga dapat menginduksi pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dapat mengarah pada degradasi subunit Rubisco dan *Rubisco Activase*.



Gambar 4.12 Hasil Analisis *SDS-PAGE* Profil Protein Varietas Rejeb (Keterangan : M= Marker; A= 100% ; B= 150%; C=175%; D=200% di Atas Kapasitas Lapang).

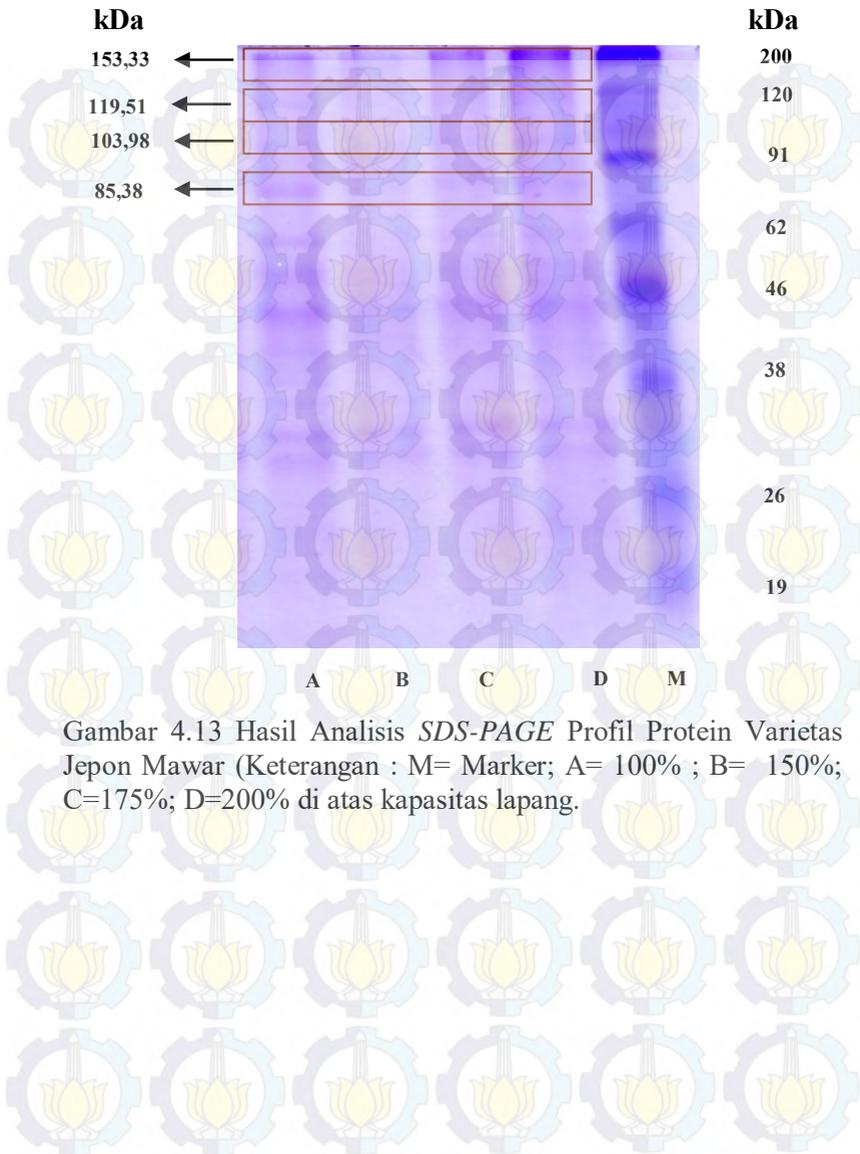
Pada varietas Rejeb, protein yang muncul dengan berat molekul 153,33 kDa mengalami peningkatan ekspresi pada perlakuan cekaman genangan 175% yang ditunjukkan dengan pita yang lebih tebal dari perlakuan lainnya. Protein dengan berat molekul 119,21 dan 103,98 kDa juga diekspresikan pada varietas sebelumnya. Protein ini terekspresi pada perlakuan 100% dan

mengalami degradasi pada perlakuan 150%, 175%, 200%. Selain itu, terdapat peningkatan ekspresi pada pita protein dengan berat molekul 85,38 kDa saat perlakuan cekaman genangan 175%, hal ini terlihat dari ketebalan pita protein. Ketebalan pita menurun saat konsentrasi genangan 200%. Menurut Meisrimler *et al.* (2014), tanaman jagung (*Zea mays*) yang digenangi selama 52 jam menunjukkan peningkatan ekspresi protein dengan berat molekul 85 kDa dan 133 kDa. Protein dengan berat molekul 133 kDa awalnya mengalami penurunan ekspresi saat 4 jam awal cekaman genangan, dan mengalami peningkatan setelah 28 sampai 52 jam cekaman genangan. Sedangkan protein dengan berat molekul 85 kDa secara signifikan meningkat ekspresinya saat 52 jam cekaman genangan. Berdasarkan hasil identifikasi, kedua protein tersebut termasuk dalam kelompok *peroxidase* yang berperan dalam fungsi fisiologis tanaman termasuk perkembangan tanaman, stres oksidatif dan proses yang berhubungan dengan dinding sel tanaman. *Peroxisdase* juga berperan dalam produksi dan detoksifikasi ROS (*Reactive Oxygen species*) yang ditimbulkan karena adanya cekaman (Lüthje *et al.*, 2011).

Stres oksidatif terjadi ketika tidak seimbangnya produksi dan penetralan ROS dalam dalam sel. Cahaya tinggi, panas, serangan patogen, rendahnya kadar oksigen, dan *re-aeration* setelah fase hipoksia dapat meningkatkan produksi ROS (Suzuki *et al.*, 2012). ROS dihasilkan dari oksigen molekular melalui beberapa tahap reduksi. Anion superoksida (O_2^-), *hydroxyl radical* ($\cdot OH$), *singlet oxygen* (1O_2) dihasilkan dari proses reduksi satu atau tiga elektron dari oksigen dengan energi reduksi yang disediakan oleh *electron carrier* dalam mitokondria dan kloroplas (Chang *et al.*, 2012). ROS sangat reaktif dan dapat menimbulkan kerusakan membran lipid dan protein (Meisrimler *et al.*, 2014). Tanaman memiliki sistem proteksi untuk melindungi mitokondria dari produksi ROS yang berlebihan seperti antioksidan (*glutathione, ascorbic acid, tocopherol, tannins, ubiquinol, dan phenolic acid*), *ROS scavenging enzymes* seperti

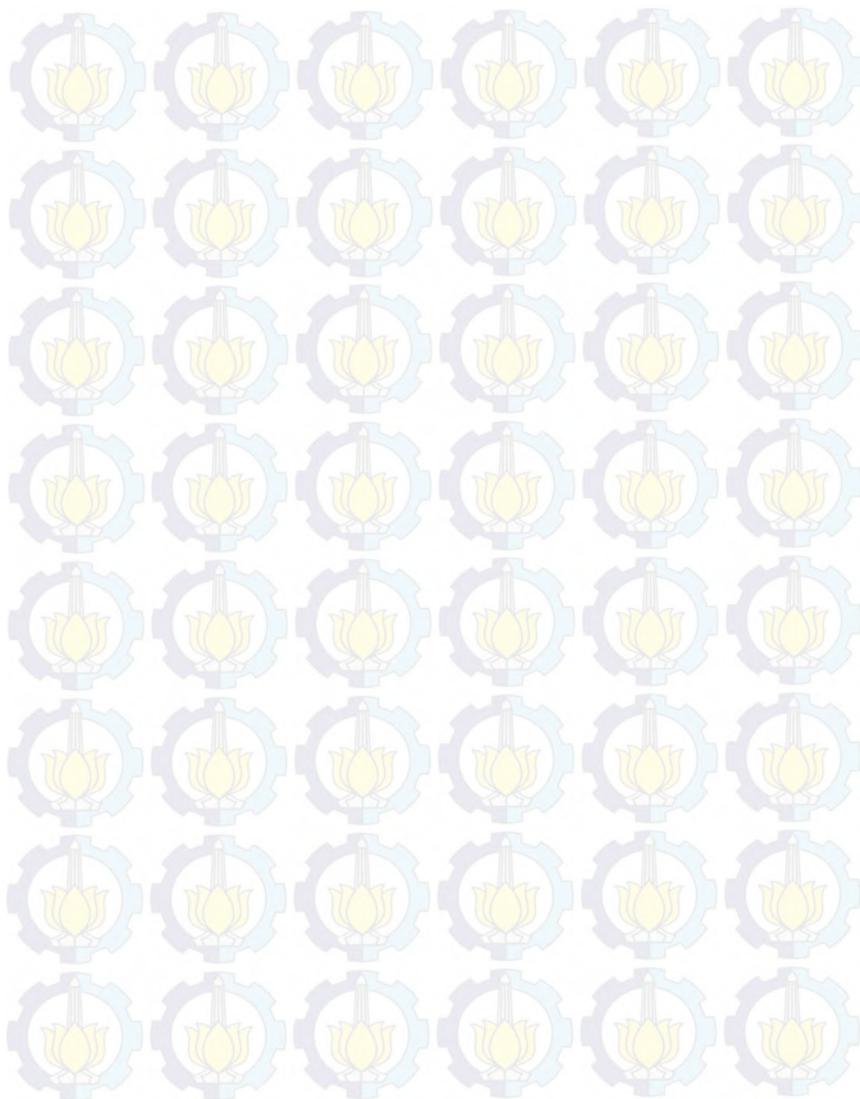
superoxide dismutase (SOD), *catalase (CAT)*, *ascorbate peroxidase (APX)*, dan *gluthatione peroxidase (GPX)*. Sehingga dapat diduga peningkatan ekspresi protein dengan berat molekul 85,38 kDa pada varietas Rejeb (cekaman 175%) merupakan salah satu bentuk mekanisme perlindungan dari stres oksidatif yang dapat merusak membran lipid dan protein lain. Hal ini juga didukung dengan data parameter morfologi varietas Rejeb perlakuan 175% yang menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan 100%.

Pada varietas Jepon Mawar, juga mengekspresikan protein-protein yang muncul pada varietas sebelumnya seperti yang terlihat pada Gambar 4.13, yaitu protein dengan berat molekul 119,51 dan 103,98 kDa yang hanya muncul pada perlakuan cekaman genangan 100%. Protein dengan berat molekul 153,33 kDa ditingkatkan ekspresinya saat perlakuan cekaman genangan 200%. Peningkatan ekspresi ini juga terjadi pada varietas Rejeb dengan perlakuan cekaman 175%. Sedangkan protein dengan berat molekul 85,38 kDa hanya terekspresi pada perlakuan cekaman genangan 100% dan mengalami degradasi atau penurunan ekspresi seiring dengan meningkatnya taraf penggenangan. Sehingga dapat dikatakan bahwa sebagian besar protein yang muncul pada perlakuan 100% mengalami degradasi pada perlakuan lain.



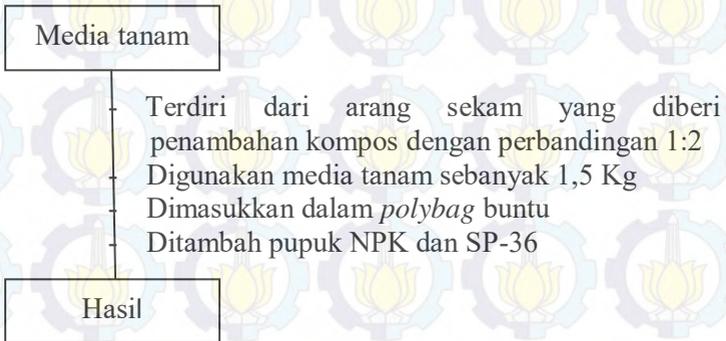
Gambar 4.13 Hasil Analisis *SDS-PAGE* Profil Protein Varietas Japon Mawar (Keterangan : M= Marker; A= 100% ; B= 150%; C=175%; D=200% di atas kapasitas lapang.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

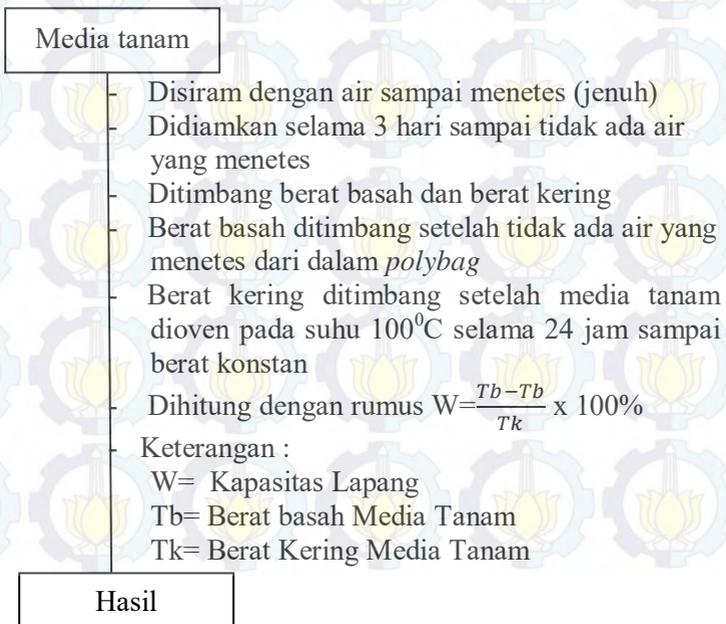


LAMPIRAN

Lampiran 1 : Skema Kerja Persiapan Media Tanam



Lampiran 2 : Skema Kerja Pengukuran Kapasitas Lapang



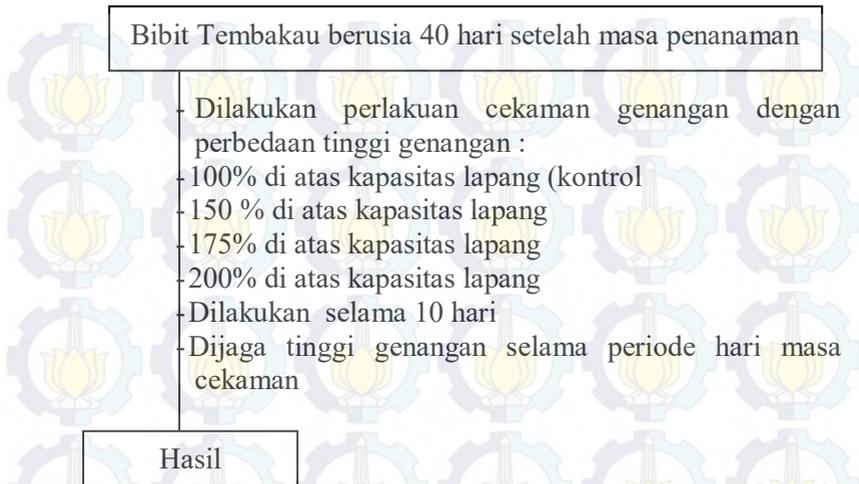
Lampiran 3 : Skema Kerja Persiapan dan Penanaman Bibit Tanaman Tembakau (*N. tabacum* L.)

Media tanam

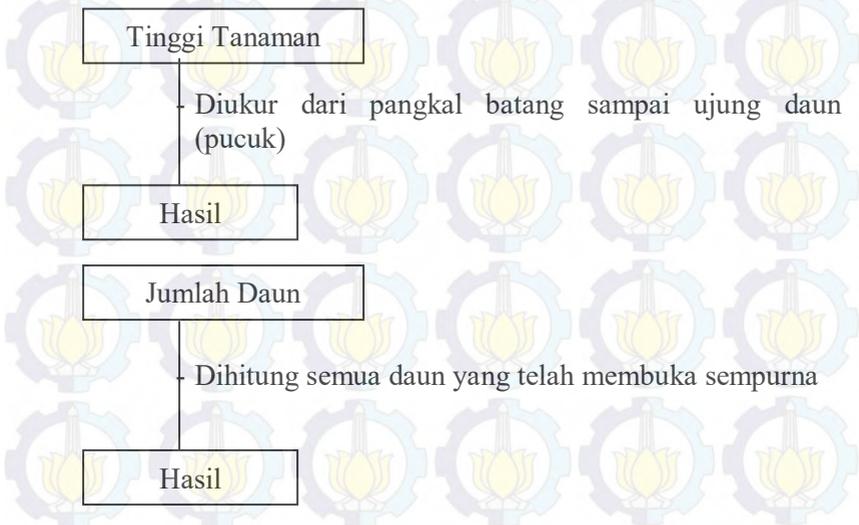
- Disemai dalam nampan berukuran 26 x 35 cm yang terdiri dari media tanam yang terdiri campuran *coco peat* dan kompos 1:1 serta larutan *Ridomil Gold*
- Dibibitkan selama 25 hari
- Ditempatkan dalam para-para
- Diberi kebutuhan air yang cukup
- Pada usia 25 hari, kecambah dipindahkan ke dalam *pottray* ukuran 57x 26 cm yang berisi 102 lubang tanam
- Pada usia 4 minggu setelah perkecambahan, kecambah dipindahkan ke dalam polybag buntu berisi media tanam yang terdiri dari kompos dan arang sekam dengan perbandingan 2:1 (berat media sebesar 1,5 kg) yang telah ditambahkan NPK
- Pemupukan awal adalah NPK dan SP-36 sebanyak 5 gram per tanaman dengan cara ditugal
- Pemupukan kedua menggunakan urea sebanyak 5 gram /tanaman

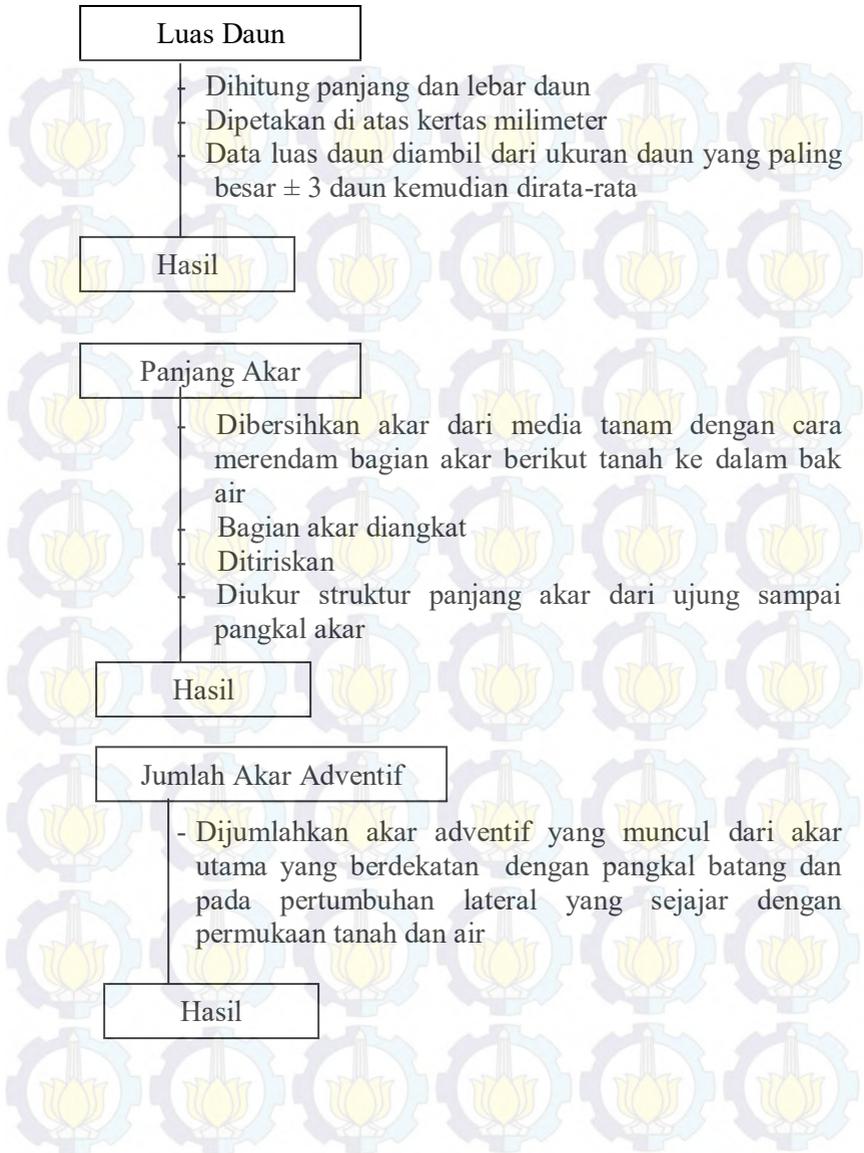
Hasil

Lampiran 4 : Skema Kerja Perlakuan Cekaman Genangan

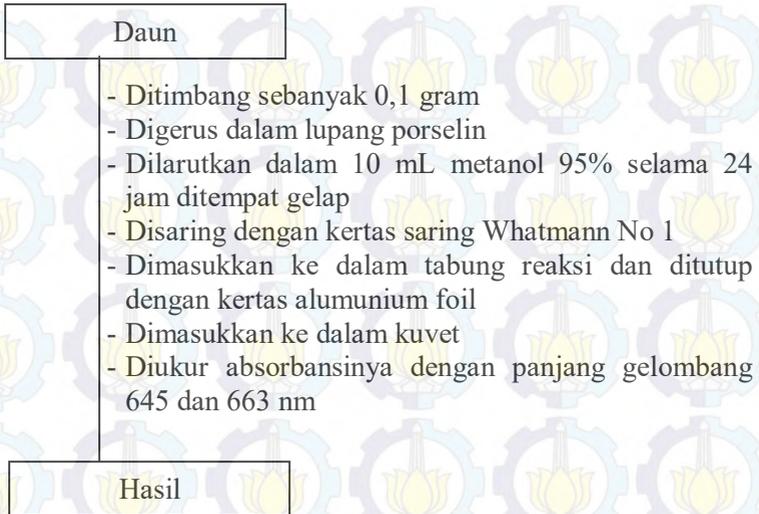


Lampiran 5 : Skema Kerja Pengamatan Morfologi





Lampiran 6 : Skema Kerja Pengamatan Fisiologi

Lampiran 7 : Komposisi Larutan *Separating Gel*

Bahan Kimia	1 Gel 12,5%
30% poliakrilamid	3,125 ml
1 M Tris pH 8,8	1,505 ml
Aquabidest	2,75 ml
10% SDS	75 μ l
10%APS	75 μ l
TEMED	5 μ l

Lampiran 8 : Komposisi Larutan *Stacking Gel 5%*

Bahan Kimia	1 Gel 5%
30% Poliakrilamid	0,45
0,5 M Tris pH 6,8	0,38
Aquabidest	2,11 ml
10% SDS	30 μ l
10% APS	30 μ l
TEMED	5 μ l

Lampiran 9 : Komposisi Larutan *Buffer Ekstrak Protein*

Bahan Kimia	Konsentrasi
NaCl	100 mM
Tris pH 6,8	10 mM
EDTA	1 mM
Triton X-100	1%
SDS	0,1%

Lampiran 10 : Komposisi Larutan *Destainer*

Bahan Kimia	50 ml
Asam asetat glasial	10%
Methanol	50%
Aquades	40%

Lampiran 11: Deskripsi Varietas Jepon Mawar

Pengamatan	Jepon Mawar
Habitus	Piramid
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang 150,5 cm (129,1-171,9 cm)
Warna Batang	Hijau kekuningan
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Rapat
Panjang Ruas / Internode	Panjang tetap < 4,42 3,75 cm (2,25-5,25 cm)
Sirung (cm)	Ada besar, 12,0 cm
Jumlah Daun	Sedang, 24 lb/phn
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	6,50
Panjang Daun (cm)	Besar, 60,8 cm (46,4-75,1 cm)
Lebar Daun (cm)	Besar, 32,8 cm (24,1-41,4 cm)
Indeks Daun (Panjang/lebar)	1,87 (1,17-2,56)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam penampang	Cekung
Sudut Daun	Tegak 52,5° (37,5-67,5 °)
Ujung Daun	Agak Meruncing
Tepi Daun	Licin/Rata
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	0,43 (0,23-0,62)
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	2/5 ke kanan
Sudut Tulang Daun	Agak tajam 57,5° (42,5-72,5 °)
Tangkai Daun	Duduk
Sayap Daun (cm)	Lebar berploi, 4,29 cm (3,79-

	4,78 cm)
Perkembangan Telinga Daun	Medium
Bentuk Telingan Daun (cm)	Lebar berombak, 4,18 cm
Getah	Bergetah
Stem Diameter (cm)	2,81 cm (2,29-3,32 cm)
Warna Bunga	Merah Muda
Ukuran Mahkota Bunga (cm)	2,57 cm (1,98-3,15 cm)
Diameter di Bawah Corolla (cm)	0,45 cm (0,33-0,58 cm)
Benjolan di Bawah Corolla (cm)	0,81 cm (0,45-1,18 cm)
Ujung Mahkota Bunga	Meruncing
Perkembangan Benang Sari	Sempurna
Panjang relative antara Benang Sari dan Putik	Lebih Tinggi
Warna Kepala Putik	Hijau
Inflorescence	Double Conical
Bentuk Buah	Agak Lonjong
Kanopi (cm)	-

(Sumber : PT. SADHANA, 2015)

Lampiran 12 : Gambar Tembakau Varietas Jepon Mawar



(Sumber : PT. SADHANA, 2015).

Lampiran 13 : Deskripsi Varietas Japon Banyak

Pengamatan	Japon Banyak
Habitus	Silindris
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang 169,3 cm (148,1-190,6 cm)
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	Jarang
Panjang Ruas / Internode	Panjang tetap > 4,42 4,33 cm (2,60-6,07 cm)
Sirung (cm)	Tidak Ada
Jumlah Daun	Sedang, 18 lb/phn
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	9,41 (8,22-10,6)
Panjang Daun (cm)	Besar, 61,0 cm (50,2-71,8 cm)
Lebar Daun (cm)	Sedang, 26,7 cm (18,0-35,3 cm)
Indeks Daun (Panjang/lebar)	2,30 (1,78-2,82)
Bentuk Daun	Lonjong
Bentuk Daun dalam penampang	Cekung
Sudut Daun	Tegak 50,0°
Ujung Daun	Meruncing
Tepi Daun	Berombak
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	0,31 (0,28-0,34)
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	Hijau
Phylotaksi	2/5 ke kanan
Sudut Tulang Daun	Agak tajam 70°
Tangkai Daun	Duduk

Sayap Daun (cm)	Sempit licin, 2,37 cm (1,64-3,10 cm)
Perkembangan Telinga Daun	Sedikit
Bentuk Telingan Daun (cm)	Sempit berombak, 1,44 cm (0,86-2,02 cm)
Getah	Bergetah
Stem Diameter (cm)	2,06 cm (1,75-2,36 cm)
Warna Bunga	Merah Muda
Ukuran Mahkota Bunga (cm)	3,18 cm (3,05-3,30 cm)
Diameter di Bawah Corolla (cm)	0,44 cm (0,25-0,63 cm)
Benjolan di Bawah Corolla (cm)	0,82 cm (0,50-1,14m)
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)	110,7 cm (82,8-138,5 cm)

(Sumber : PT. SADHANA, 2015)

Lampiran 14 : Gambar Tembakau Varietas Jepon Banyak



(Sumber : PT. SADHANA, 2015)

Lampiran 15 : Deskripsi Varietas Rejeb

Pengamatan	Rejeb
Habitus	Silindris
Tinggi Tanaman (cm)	Sedang 130-140 cm
Warna Batang	Hijau
Bulu Batang	Berbulu
Kerapatan/Internodia (cm)	-
Panjang Ruas / Internode	-
Sirung (cm)	-
Jumlah Daun	Sedang,16-17 lb/phn
Indeks Ruas (tinggi/jumlah daun)	-
Panjang Daun (cm)	-
Lebar Daun (cm)	-
Indeks Daun (Panjang/lebar)	-
Bentuk Daun	Jantung
Bentuk Daun dalam penampang	Cekung
Sudut Daun	
Ujung Daun	
Tepi Daun	Berombak
Permukaan Daun	Berploi
Tebal Daun (mm)	-
Warna Daun	Hijau
Warna Daun di Bagian Bawah	-
Phylotaksi	-
Sudut Tulang Daun	-
Tangkai Daun	Bertangkai
Sayap Daun (cm)	-
Perkembangan Telinga	-

Daun	
Bentuk Telingan Daun (cm)	-
Getah	Bergetah
Stem Diameter (cm)	-
Warna Bunga	Merah Muda
Ukuran Mahkota Bunga (cm)	
Diameter di Bawah Corolla (cm)	-
Benjolan di Bawah Corolla (cm)	-
Ujung Mahkota Bunga	Meruncing
Perkembangan Benang Sari	Sempurna
Panjang relative antara Benang Sari dan Putik	-
Warna Kepala Putik	Hijau
Inflorescence	Inverted Conical
Bentuk Buah	Membulat
Kanopi (cm)	-

(Sumber : PT. SAMPOERNA, 2015)

Lampiran 16 : Gambar Tembakau Varietas Rejeb



(Sumber : PT. SAMPOERNA, 2015)

Lampiran 17 : Hasil ANOVA *Two Way* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Pertumbuhan Tinggi Tanaman.

Two-way ANOVA: Tinggi versus varietas; perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
varietas	2	508,30	254,148	49,58	0,000
perlakuan	3	116,69	38,895	7,59	0,000
Interaction	6	288,16	48,026	9,37	0,000
Error	48	246,05	5,126		
Total	59	1159,19			

S = 2,264 R-Sq = 78,77% R-Sq(adj) = 73,91%

General Linear Model: Tinggi versus varietas; perlakuan

Factor	Type	Levels	Values
varietas	fixed	3	1; 2; 3
perlakuan	fixed	4	1; 2; 3; 4

Analysis of Variance for Tinggi, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
varietas	2	508,296	508,296	254,148	49,58	0,000
perlakuan	3	116,686	116,686	38,895	7,59	0,000
varietas*perlakuan	6	288,156	288,156	48,026	9,37	0,000
Error	48	246,052	246,052	5,126		
Total	59	1159,190				

S = 2,26409 R-Sq = 78,77% R-Sq(adj) = 73,91%

Lampiran 18: Hasil Uji *Tukey* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Pertumbuhan Tinggi Tanaman.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	N	Mean	Grouping
1	20	21,6	A
3	20	20,6	A
2	20	15,0	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

perlakuan	N	Mean	Grouping
4	15	20,5	A
3	15	20,4	A
1	15	18,0	B
2	15	17,4	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	perlakuan	N	Mean	Grouping
1	3	5	26,9	A
1	4	5	23,5	A B
3	1	5	22,3	A B C
3	2	5	20,4	B C D
3	3	5	20,2	B C D
3	4	5	19,6	B C D
1	1	5	18,8	B C D E
2	4	5	18,4	C D E
1	2	5	17,1	D E F
2	2	5	14,6	E F
2	3	5	14,0	E F
2	1	5	12,9	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 19 : Hasil ANOVA *Two Way* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Penambahan Jumlah Daun.

Two-way ANOVA: Jumlah Daun versus varietas; perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
varietas	2	18,4333	9,21667	21,27	0,000
perlakuan	3	20,7167	6,90556	15,94	0,000
Interaction	6	15,0333	2,50556	5,78	0,000
Error	48	20,8000	0,43333		
Total	59	74,9833			

S = 0,6583 R-Sq = 72,26% R-Sq(adj) = 65,90%

General Linear Model: Jumlah Daun versus varietas; perlakuan

Factor	Type	Levels	Values
varietas	fixed	3	1; 2; 3
perlakuan	fixed	4	1; 2; 3; 4

Analysis of Variance for Jumlah Daun, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
varietas	2	18,4333	18,4333	9,2167	21,27	0,000
perlakuan	3	20,7167	20,7167	6,9056	15,94	0,000
varietas*perlakuan	6	15,0333	15,0333	2,5056	5,78	0,000
Error	48	20,8000	20,8000	0,4333		
Total	59	74,9833				

S = 0,658281 R-Sq = 72,26% R-Sq(adj) = 65,90%

Lampiran 20 : Hasil Uji *Tukey* Interkasi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Penambahan Jumlah Daun.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	N	Mean	Grouping
1	20	7,2	A
2	20	6,4	B
3	20	5,8	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

perlakuan	N	Mean	Grouping
1	15	7,5	A
4	15	6,4	B
3	15	6,1	B
2	15	6,0	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	perlakuan	N	Mean	Grouping
1	1	5	7,8	A
1	3	5	7,6	A B
3	1	5	7,6	A B
1	4	5	7,2	A B
2	1	5	7,0	A B
2	4	5	6,8	A B C
2	2	5	6,4	A B C D
1	2	5	6,2	B C D
3	2	5	5,4	C D
2	3	5	5,4	C D
3	4	5	5,2	D
3	3	5	5,2	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 21 : Hasil ANOVA *Two Way* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Luas Daun.

Two-way ANOVA: Luas Daun versus varietas; perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
varietas	2	6008,9	3004,44	15,18	0,000
perlakuan	3	6603,2	2201,05	11,12	0,000
Interaction	6	25114,3	4185,72	21,14	0,000
Error	48	9502,8	197,97		
Total	59	47229,2			

S = 14,07 R-Sq = 79,88% R-Sq(adj) = 75,27%

General Linear Model: Luas Daun versus varietas; perlakuan

Factor	Type	Levels	Values
varietas	fixed	3	1; 2; 3
perlakuan	fixed	4	1; 2; 3; 4

Analysis of Variance for Luas Daun, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
varietas	2	6008,9	6008,9	3004,4	15,18	0,000
perlakuan	3	6603,2	6603,2	2201,1	11,12	0,000
varietas*perlakuan	6	25114,3	25114,3	4185,7	21,14	0,000
Error	48	9502,8	9502,8	198,0		
Total	59	47229,2				

S = 14,0703 R-Sq = 79,88% R-Sq(adj) = 75,27%

Lampiran 22 : Hasil Uji *Tukey* Interkasi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Luas Daun.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	N	Mean	Grouping
1	20	101,8	A
3	20	92,4	A
2	20	77,5	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

perlakuan	N	Mean	Grouping
4	15	104,4	A
3	15	94,9	A B
1	15	87,1	B C
2	15	75,8	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	perlakuan	N	Mean	Grouping
1	3	5	137,6	A
2	4	5	123,0	A
3	1	5	122,7	A
1	4	5	108,8	A B
3	2	5	83,8	B C
1	1	5	83,6	B C
3	3	5	81,7	B C
3	4	5	81,4	B
1	2	5	77,2	C
2	2	5	66,6	C
2	3	5	65,5	C
2	1	5	54,9	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 23 : Hasil ANOVA *Two Way* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Panjang Akar.

Two-way ANOVA: panjang Akar versus varietas; perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
varietas	2	351,32	175,658	8,71	0,001
perlakuan	3	173,48	57,827	2,87	0,046
Interaction	6	282,77	47,128	2,34	0,046
Error	48	968,36	20,174		
Total	59	1775,93			

S = 4,492 R-Sq = 45,47% R-Sq(adj) = 32,98%

General Linear Model: panjang Akar versus varietas; perlakuan

Factor	Type	Levels	Values
varietas	fixed	3	1; 2; 3
perlakuan	fixed	4	1; 2; 3; 4

Analysis of Variance for panjang Akar, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
varietas	2	351,32	351,32	175,66	8,71	0,001
perlakuan	3	173,48	173,48	57,83	2,87	0,046
varietas*perlakuan	6	282,77	282,77	47,13	2,34	0,046
Error	48	968,36	968,36	20,17		
Total	59	1775,93				

S = 4,49157 R-Sq = 45,47% R-Sq(adj) = 32,98%

Lampiran 24 : Hasil Uji *Tukey* Interkasi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Panjang Akar.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	N	Mean	Grouping
1	20	17,8	A
3	20	12,8	B
2	20	12,5	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

perlakuan	N	Mean	Grouping
1	15	17,2	A
4	15	14,0	A B
3	15	13,6	A B
2	15	12,6	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	perlakuan	N	Mean	Grouping
3	1	5	19,9	A
1	3	5	19,7	A B
1	4	5	19,4	A B C
1	1	5	17,0	A B C C
1	2	5	15,0	A B C C C
2	1	5	14,6	A B C C C
2	4	5	12,9	A B C C C
2	2	5	11,5	A B C C C
2	3	5	11,3	A B C C C
2	3	5	11,0	A B C C C
3	3	5	10,1	B C C
3	4	5	9,8	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 25 : Hasil ANOVA *Two Way* Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Jumlah Akar Adventif.

Two-way ANOVA: Jumlah akar adventif versus varietas; perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
varietas	2	1111,03	555,517	13,27	0,000
perlakuan	3	2501,60	833,867	19,92	0,000
Interaction	6	915,10	152,517	3,64	0,005
Error	48	2009,20	41,858		
Total	59	6536,93			

S = 6,470 R-Sq = 69,26% R-Sq(adj) = 62,22%

General Linear Model: Jumlah akar adventif versus varietas; perlakuan

Factor	Type	Levels	Values
varietas	fixed	3	1; 2; 3
perlakuan	fixed	4	1; 2; 3; 4

Analysis of Variance for Jumlah akar adventif, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
varietas	2	1111,03	1111,03	555,52	13,27	0,000
perlakuan	3	2501,60	2501,60	833,87	19,92	0,000
varietas*perlakuan	6	915,10	915,10	152,52	3,64	0,005
Error	48	2009,20	2009,20	41,86		
Total	59	6536,93				

S = 6,46980 R-Sq = 69,26% R-Sq(adj) = 62,22%

Lampiran 26 : Hasil Uji *Tukey* Interkasi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Jumlah Akar Adventif.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	N	Mean	Grouping
1	20	15,9	A
2	20	11,4	A
3	20	5,3	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

perlakuan	N	Mean	Grouping
2	15	15,9	A
4	15	15,6	A
3	15	12,0	A
1	15	0,0	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

varietas	perlakuan	N	Mean	Grouping
1	3	5	23,6	A
2	4	5	20,6	A
1	4	5	20,4	A B
1	2	5	19,4	A B C
2	2	5	18,6	A B C
3	2	5	9,6	A B C D
2	3	5	6,4	B C D
3	3	5	6,0	C D
3	4	5	5,8	C D
1	1	5	0,0	D
3	1	5	0,0	D
2	1	5	-0,0	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 27: Perhitungan Pengukuran Kapasitas Lapang

Berat awal media tanam : 1500 gr

Berat basah media tanam : 1700 gr

Berat kering media tanam : 1410 gr

$$\text{Kapasitas lapang (W)} = \frac{Tb - Tk}{Tk} \times 100\%$$

$$\text{Kapasitas Lapang (W)} = \frac{1600 - 1410}{1410} \times 100\%$$

Kapasitas Lapang (W) = 20,5 %

Dari kapasitas lapang dengan satuan persen (%) kemudian dikonversi menjadi satuan mililiter (ml) dengan menggunakan rumus $\frac{v}{w}$

$$\text{Kapasitas lapang (W)} = \frac{v}{w}$$

$$20,5\% = \frac{v}{1500}$$

$$v = 307,5 \text{ ml}$$

Jadi, dapat diketahui bahwa media tanam sebanyak 1500 gram memiliki kapasitas lapang 307,5 ml

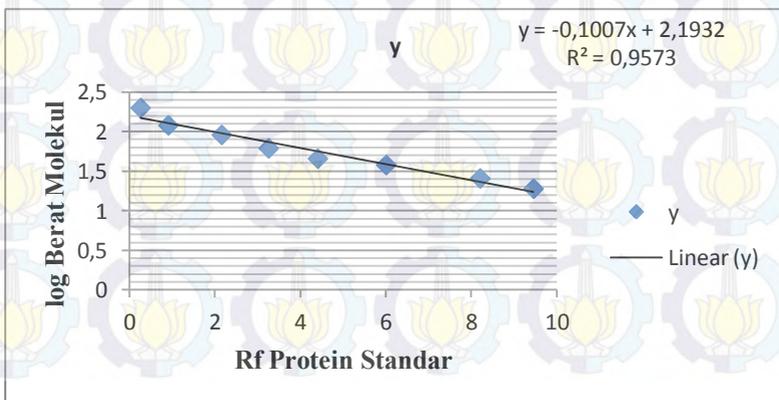
Kapasitas Lapang media tanam 1500 gram = 307,5 ml

150% di atas kapasitas lapang = 461 ml

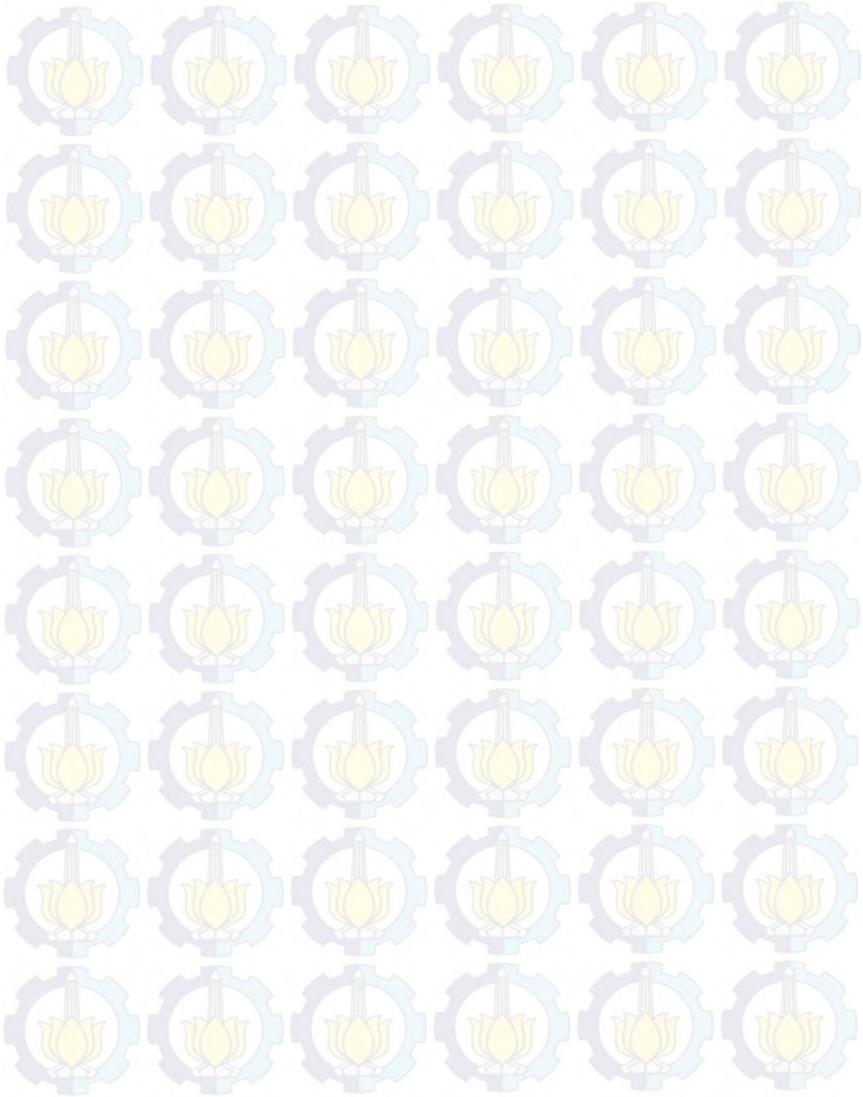
175% di atas kapasitas lapang = 538 ml

200% di atas kapasitas lapang = 615 ml

Lampiran 28: Perhitungan Kurva Standar



“Halaman ini sengaja dikosongkan”



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 :	Skema Kerja Persiapan Media.....	87
Lampiran 2 :	Skema Kerja Pengukuran Kapasitas Lapang.....	87
Lampiran 3:	Skema Kerja Persiapan dan Penanaman Bibit Tanaman Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.).....	88
Lampiran 4 :	Skema Kerja Perlakuan Cekaman Genangan.....	89
Lampiran 5 :	Skema Kerja Pengamatan Morfologi.....	89
Lampiran 6 :	Skema Kerja Pengamatan Fisiologi.....	91
Lampiran 7 :	Komposisi Larutan <i>Separating Gel</i>	91
Lampiran 8 :	Komposisi Larutan <i>Stacking Gel</i>	92
Lampiran 9 :	Komposisi Larutan Buffer Ekstrak Protein.....	92
Lampiran 10 :	Komposisi Larutan Destainer.....	92

Lampiran 11 :	Deskripsi Varietas Jepon Mawar.....	93
Lampiran 12 :	Gambar Tembakau Varietas Jepon Mawar.....	95
Lampiran 13 :	Deskripsi Varietas Jepon Banyak.....	96
Lampiran 14 :	Gambar Tembakau Varietas Jepon Banyak.....	98
Lampiran 15 :	Deskripsi Varietas Rejeb.....	99
Lampiran 16 :	Gambar Tembakau Varietas Rejeb.....	101
Lampiran 17 :	Hasil <i>Anova Two Way</i> Pengaruh Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Pertumbuhan Tinggi Tanaman.....	102
Lampiran 18 :	Hasil Uji <i>Tukey</i> Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Pertumbuhan Tinggi Tanaman...	102
Lampiran 19 :	Hasil <i>Anova Two Way</i> Pengaruh Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Penambahan Jumlah Daun.....	103
Lampiran 20 :	Hasil Uji <i>Tukey</i> Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Penambahan Jumlah Daun.....	104
Lampiran 21 :	Hasil <i>Anova Two Way</i> Pengaruh	

	Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Luas Daun.....	104
Lampiran 22 :	Hasil Uji <i>Tukey</i> Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Luas Daun.....	105
Lampiran 23 :	Hasil <i>Anova Two Way</i> Pengaruh Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Panjang Akar.....	106
Lampiran 24 :	Hasil Uji <i>Tukey</i> Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Panjang Akar.....	106
Lampiran 25 :	Hasil <i>Anova Two Way</i> Pengaruh Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Jumlah Akar Adventif..	107
Lampiran 26 :	Hasil Uji <i>Tukey</i> Interaksi Faktor Varietas dan Perlakuan terhadap Jumlah Akar Adventif	108
Lampiran 27 :	Perhitungan Pengukuran Kapasitas Lapang.....	108
Lampiran 28 :	Perhitungan Kurva Standar.....	109

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisis data menunjukkan bahwa cekaman genangan dapat memberikan respon yang berbeda-beda pada setiap tanaman. Cekaman genangan diduga dapat menginduksi perubahan dari keseimbangan hormonal dan sintesis atau degradasi protein yang berpengaruh pada morfologi dari setiap tanaman. Sehingga dapat disimpulkan beberapa poin sebagai berikut :

1. Pada parameter morfologi (tinggi tanaman dan luas daun) , varietas Rejeb dan varietas Jepon Mawar memiliki respon yang berbeda dengan varietas Jepon Banyak. Varietas Rejeb dan Jepon Mawar relatif meningkatkan tinggi tanaman dan luas daun.
2. Cekaman genangan menurunkan jumlah daun pada ketiga varietas uji.
3. Pada parameter panjang akar, varietas Jepon Mawar dan Jepon Banyak mengalami penurunan panjang akar seiring meningkatnya taraf penggenangan.
4. Pada aspek fisiologi, cekaman genangan dapat menurunkan rerata total klorofil dengan nilai terendah 6,5 mg/L pada varietas Jepon Mawar.
5. Keempat varietas uji sama-sama menunjukkan respon pembentukan akar adventif pada perlakuan 150%, 175% dan 200% yang merupakan respon morfologi secara umum ketika tercekam genangan.
6. Protein yang terekspresi berbeda pada ketiga varietas uji terdapat pada rentang berat molekul 85,38-153,33 kDa. Varietas Rejeb meningkatkan ekspresi protein pada berat molekul 85,38 kDa pada perlakuan 175%, yang tunjukkan dengan ketebalan pita protein. Protein tersebut terdegradasi pada varietas Jepon Mawar perlakuan 150%, 175% dan

200% dan terekspresi sama pada semua perlakuan varietas Jepon Banyak.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar perlakuan cekaman genangan dilakukan dalam rentang waktu >10 hari agar dapat melihat perubahan morfologi yang signifikan. Sebaiknya dilakukan pengujian kadar hormon etilen, ABA dan GA yang dapat dijadikan data pendukung dari peran hormon dalam merespon cekaman genangan. Kemudian untuk analisis profil protein disarankan untuk menggunakan *western blotting* agar dapat diketahui protein spesifik yang terekspresi .

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, A., dan Sudarmanto. 2002. **Budidaya Tembakau**. Jakarta : CV. Yasaguna.

Achard, P., dan P. Genschik. 2009. Releasing the breaks of plant growth: how gas shutdown DELLA proteins. **Journal of Experimental Botany** 60(4) : 1085-1092.

Ahmad, Parvaiz dan Salema Rasool. 2014. **Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance**. Sandiego : Elsevier.

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

Akhtar, I., dan N. Nazir. 2013. Effect waterlogging and Drought Stress in Plants. **International Journal of Water Resources and Environmental Sciences** 2 (2) : 34-40.

Albert, B., D. Bay., J. Lewis., M. Raff., K. Robert., dan J.D. Watson. 1994. **Biologi Molekuler Sel** diterjemahkan oleh A.T. Kantjono. Jakarta: PT. Gramedia.

Anton J.M., Peeters, C.H., Cox, Joris., J. Benschop., Robert A.M., Vreeburg, Jordi Bou., dan Laurentius, A.C.J. Voesenek. 2002. Submergence research using *Rumex palustris* as a model: looking back and going forward. **J. Exp. Bot** 53(368) : 391-398.

Armstrong, J., dan Armstrong, W. 2005. Rice: sulphide-induced barriers to root radial oxygen loss, Fe²⁺ and water uptake, and lateral root emergence. **Annals of Botany** 96: 625–638.

Beck, C. 2010. **An Introduction to Plant Structure and Development**. Cambridge : Cambridge University Press.

Belder, P., B.A.M. Bouman., R. Cabogan., E.C.P, Quilang., Y. Spiertz., S. Peng., dan T.P. Tuong. 2004. Effect of water-saving irrigation on rice yield and water use in typical lowland conditions in asia agric. **Water Manage** 65 : 193-210.

Blom, C.W dan Voesenek, L.A. 1996. Flooding: the Survival Strategies of Plants. **Tree Physiology** 11: 290-295.

Bollag, D.M., dan Edelstein. S.J. 1991. **Protein Methods Department of Biochemistry**. Switzerland: University of Geneva Press.

Boru, G.T.T., Van Toai. J., Alves, D. Hua dan M. Knee. 2003. Response of soybeans to oxygen deficiency and elevated root-zone carbon dioxide concentration. **Annals Bot** 91 (4) : 447-453.

Boyer, RF. 1993. **Modern Experimental Biochemistry Jilid 2**. California: The Benjamin Cummings page 25.

Bradford, K.J. 2008. Shang fa yang: pioneer in plant ethylene biochemistry. **Plant Sci** 172:2-7.

Buchanan-Wollaston, V., Page, T., Harrison, E., Breeze, E., Lim, P. O., Nam, H. G., *et al.* 2005. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in Arabidopsis. **Plant J** 42: 567–585.

Burrows W.J., dan Carr D.J. 1969. Effects of flooding the root system of sunflower plants on the cytokinin content of the xylem sap. **Plant Physiology** 22: 1105–1112.

Cahyono, Bambang. 1998. **Tembakau, Budidaya dan Analisis Tani**. Yogyakarta : Kanisius.

Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G. 2003. **Biologi Jilid 2 Edisi Kelima**. Jakarta : Erlangga.

Cao, F.L., dan Conner, W.H. 1999. Selection of flood-tolerant *populus deltoides* clones for reforestation projects in china. **Forest Ecology and Management** 117: 211-220.

Chang, R., Jang, C. J., Branco-Price, C., Nghiem, P., dan Bailey-Serres, J. 2012. Transient MPK6 activation in response to oxygen deprivation and reoxygenation is mediated by mitochondria and aids seedling survival in *Arabidopsis*. **Plant Mol. Biol** 78: 109–122.

Chang, W.P., Huang, L., Shen, M., Webster, C., Burlingame, A.L., Roberts, J.K. 2000. Patterns of protein synthesis and tolerance of anoxia in root tips of maize seedling acclimated to low oxygen environment and identification of proteins by mass spectrometry. **Plant Physiology** 122: 295-318.

Chen, H., Qualls, R.G., dan Miller, G. C. 2002. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding : biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. **Elsevier, Environmental and Experimental Botany** 48 : 119-128.

Clough, B.F., dan Milthpore. 1975. Effects of water deficit on leaf tobacco development. **Journal Plant Physiology** 2 : 291-300.

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.

Cox, M.C.H., Benschop, J.J., Vreeburg, R.A.M., Wagemaker, C.A.M., Moritz, T., Peeters, A.J.M., dan Voesenek, L.A.C.J. 2004. The roles of ethylene, auxin, abscisic acid, and gibberellin in the hyponastic growth of submerged *Rumex Palustris* petioles. **Plant Physiology** 136: 2948–2960.

Cox, M.C.H., Millenaar, F.F., van Berkel, Y.E.M., Peeters, A.J.M., dan Voesenek, L.A.C.J. 2003. Plant movement. submergence-induced petiole elongation in *Rumex palustris* depends on hyponastic growth. **Plant Physiology** 132: 282–291.

Cutler, A.J., dan Krochko, J.E. 1999. Formation and breakdown of ABA. **Trends Plants Sci** 4:472–478.

Damanik, M.M.B., Bachtiar, E.H., Sarifuddin, F., dan Hamidah, H. 2010. **Kesuburan Tanah dan Pemupukan**. Medan : USU Press.

Darvishzadeh, R, mirzaei, L, Maleki, Hamid Hatami, Laurentin, Hernan, dan Alavi, Seyyed Reza. 2013. Genetic variation in Oriental tobacco (*Nicotiana tabacum L.*) by agromorphological traits and simple sequence repeat markers. **Revista Ciencia Agronomica** 44(2): 347-355.

Das, K.K., Sarkar, R.K. dan Ismail, A.M. 2005. Elongation ability and non-structural carbohydrate levels in relation to submergence tolerance in rice. **Plant Sci** 168: 131–136.

Dat, J., Capelli, N., Folzer, H., Bourgeade, P., dan Badot, P.M. 2004. Sensing and Signaling during Plant Flooding. **Plant Physiology and Biochemistry** 42: 273-382.

Davies, DD. 1980. Anaerobic metabolism and the production of organic acids. In: **Davies DD (ed) The Biochemistry of Plants 2**: 581- 611.

Dennis, E.S., Dolferus, R., Ellis, M., Rahman, M., Wu, Y., Hoeren, F.U., Grover, A., Ismond, K.P., Good, A.G., dan peacock, W.J. 2000. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. **J. Exp. Bot**, 51 : 89-97.

Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur. 2011. **Produksi Tembakau Virginia Melorot Tajam**. Surabaya : Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur.

Dolferus, R., M. Ellis., G. Bruxelles., B. Trevaskis., F. Hoeren., E.S. Dennis., dan W. J. Peacock. 1997. Strategies of gene action in *Arabidopsis* during hypoxia. **Annals of Botany** 79: 21-31.

Dong, J.G., Yu, Z.W., dan Yu, S.W. 1983. Effect of increased ethylene production during different periods on the resistance of wheat plants to waterlogging. **Acta Phytophysiol Sin** 9 : 383-389.

Drew, M.C., Cobb, B.G., Johnson, J.R., Andreas, D., Morgan, P.W., Jordan W., dan He, C.J. 1994. Metabolic acclimation of root tips to oxygen deficiency. **Annals of Botany** 74 : 281-286.

Durrani, Rabia., Abubakar, M., Arshed, M. Javed., Ullah, S.S.I., dan Ali, Qurban. 2008. Biological characterization and protein profiles of two model bacteria by SDS-Page and FT-IR. **Journal of Agricultural and Biological Science** Vol. 3 (5&6): 6-11.

Else, M.A., Coupland, D., Dutton, L., dan Jackson, M.B. 2001. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*ricinus communis*) despite diminished delivery of aba from the roots to shoots in xylem sap. **Physiology Plantarum** 111: 46-54.

Endo, Akira., Masanori, O., dan Tomokazu, K. 2014. **Absisic Acid: Metabolism, Transport and Signaling**. Canada : Springer.

Fatchiyah dan Arumingtyas, E.L. 2006. **Kromosom, Gen, DNA, Sintesis Protein dan Regulasi**. Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler. Malang: UB Press.

Folzer, H., Dat, J., Capelli, N., Rieffel, D., dan Badot P.M. 2006. Response to flooding of sessile oak: an integrative study. **Tree Physiology** 26: 759-766.

Fukao, T., Xu, K., Ronald, P.C. dan Bailey-Serres, J.A. 2006. Variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice. **Plant Cell** 18: 2021-2034.

Fukao, T., Yeung, E. dan Bailey-Serres, J. 2008. Submergence tolerance conferred by *SUB1A* is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin response in rice . **Plant Cell** 105(43): 16814-16819.

Gan, S., dan Amasino, R.M. 1997. Making Sense of senescence (molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence). **Plant Physiol** 113: 313-319.

Gardner, F.P., Pearce, R.B., dan Mitchell, R.L. 1991. **Physiology of Crop Plants**. Diterjemahkan oleh Herawati Susilo. Jakarta : Universitas Indonesia Press.

Geiss, G., Gutierrez, L., dan Bellini, C. 2009. **Adventitious Root Formation: New Insights and Perspectives**. Wiley-Blackwell.

Gersten, D.M., dan bijward, K.E. 1992. **Separation of Protein by SDS-PAGE in the Presence os Soluble, Aqueous Polymers; Ficoll and Polyvinilpyrolidon Electrophoresis** 13 : 399-401.

Gibberd, M.R., Grey, J.D., Cocks, P.S., Colmer TD. 2001. Waterlogging tolerance among a diverse range of *trifolium* accessions is related to root porosity, lateral root formation and 'aerotropic rooting'. **Annals Botany** 88: 579-589.

Gibbs, J., dan H. Greenway. 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. i. growth, survival and anaerobic catabolism. **Funct. Plant Biol** 30:1-47.

Goldsworthy dan N. M. Fisher. 1992. **Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik**. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.

Gomes, A.R.S., dan T.T. Kozlowski. 1980. Effects of flooding on *Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus globulus* seedling. **Oecologia** 46: 139-142.

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

Guo, H., dan Ecker, J. R. 2003. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF(EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. **Cell** 115: 667-677.

Guo, Y., dan Gan, S. 2006. AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence. **Plant J** 46: 601-612.

Hapsari, R.T., dan M.M. Adie. 2010. Peluang Perakitan dan Pengembangan Kedelai Toleran Genangan. **Jurnal Litbang Pertanian** 29 (2) : 50-57.

Hashiguchi, A., Ahsan, N., dan Komatsu, S. 2010. Proteomics application of crops in the context of climatic changes. **Food Res. Int** 43: 1803-1813.

Hattori, Y., Nagai, K., Furukawa, S., Song, X.-J., Kawano, R., Sakakibara, H., Wu, J., Matsumoto, T., Yoshimura, A., Kitano, H. *et al.* 2009. The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. **Nature** 460: 1026-1030.

Hawab, H.M. 2004. **Pengantar Biokimia**. Malang: Bayu Media.

Hendriyani, I. K., dan N. Setiari. 2009. Kandungan klorofil dan pertumbuhan kacang panjang (*Vigna sinensis*) pada tingkat penyediaan air yang berbeda. **Jurnal Sains & Mat**, Vol. 17(3): 145-150.

Herdawan, I., Abdullah, L., Sopandie, D., Karti, P.D.M.H., dan Hidayati, N. 2012. Karakteristik morfologi tanaman pakan *Indigofera zollingeriana* pada berbagai taraf stres kekeringan dan interval pemangkasan. **JITV** 17(4) : 276-283.

Heydarian, Z., Sasidharan, R., Cox, M.C.H., Pierik, R., Voesenek, L.A.C.J., dan Peeters, A.J.M. 2010. A kinetic Analysis of hyponastic growth and petiole elongation upon ethylene exposure in *Rumex palustris*. **Annals of Botany** 106: 429–435.

Hodson, M.J. dan J.A. Bryant. 2012. **Functional Biology of Plants**. USA : Willey Blackwell, A John Willey & Sons, Ltd., Publication.

Hortensteiner, Stefan., dan Bernhard Krautler. 2011. Chlorophyll breakdown in higer plants. **Biochimica Biophysica Acta** 1807: 977-988.

Hossain, M.A., dan Uddin, S.N. 2011. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat: morphological and metabolic adaptations under hypoxia or anoxia. **Australian Journal of Crop Science** 5(9): 1094-1101.

Huang, S., Greenway, H., Colmer, T.D., dan Millar, A.H. 2005. Protein synthesis by rice coleoptiles during prolonged anoxia: implications for glycolysis, growth and energy utilization. **Ann. Bot** 96: 661-668.

Hurng, W.P., dan C.H. Kao. 1994. Effect of flooding on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism, the levels of antioxidants, and lipid peroxidation in senescing tobacco leaves. **Journal Plant Growth Regulation** 14 : 37-44.

Hurng, Wei Pirng., Huu, S.L., Cherng, K.L. dan Ching, H.K. 1993. Role of abscisic acid, ethylene, and polyamines in flooding promoted senescence tobacco leaves. **Journal Plant Physiol** 143: 102-105.

Imron, T.A. 2008. **Praktikum Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)**. <URL <http://biocyber.com>> [24 November 2015].

Jackson, M.B. 2003. **The Impact of Flooding Stress on Plants And Crops**. School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol. pp. 1-15.

Jackson, M.B., dan P.C. Ram. 2003. Physiological and molecular basis susceptibility and tolerance of rice plants to complete submergence. **Annals of Botany** 91: 227-241.

Jacomino, A.P., Mendonca, K., Kluge, R.A. 2003. Armazenamento refrigerado de limoes "siciliano" tratados com etileno. **Rev. Bras. Frut.** 25: 45-48.

Jaillais, Y., dan Chory, J. 2010. Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration. **Nat Struct Mol Biol** 17(6):642-645.

Ju, C., Mee, G., Marie, J., Lin, D. Y., Ying, Z. I., Chang, J., *et al.* 2012. CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in *Arabidopsis*. **Proc. Natl. Acad. Sci** 111: 10013–10018.

Kastenholz, B. 2004. Preparative native continuous polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) an efficient method for isolators cadmium cofactors in biological system. **Analytical Letter**, Vol 37(4) : 657-665.

Kawano, N., Ella, E., Ito, O., Yamauchi, Y., dan Tanaka, K. 2002. Metabolic changes in rice seedlings with different submergence tolerance after desubmergence. **Environmental and Experimental Botany** 47:195–203.

Kawano, N., Ito, O., dan Sakagami, J. 2009. Morphological and physiological responses of rice seedlings to complete submergence (flash flooding). **Annals of Botany** 103: 161-169.

Kawase, M. 1974. Role of ethylene in induction of flooding damage in sunflower. **Physiol Plant** 31: 29-38.

Kefford, N.P. 1985. **Encyclopedia of Plant Physiology**. Honolulu, Hawaii : Springer.

Kende, H., van der Knaap, E., dan Cho, HT. 1998. Deepwater rice: a model plant to study stem elongation. **Plant Physiology** 118: 1105-1110.

Kennedy, R.A., Rumpho, M.E., dan Fox, T.C. 1992. Anaerobic metabolism in plants. **Plant Physiol** 100: 1- 6.

Kennedy, RA., Rumpho, ME., dan Fox, TC. 1992. Anaerobic metabolism in plants. **Plant Physiol** 100: 1- 6.

Kim, H. J., Hong, S. H., Kim, Y. W., Lee, I. H., Jun, J. H., Phee, B., *et al.* 2014. Gene regulatory cascade of senescence-associated nac transcription factors activated by ETHYLENE-INSENSITIVE2-mediated leaf senescence signalling in *Arabidopsis*. **J. Exp. Bot** 65: 4023–4036.

Komariah. 2008. Identifikasi varietas kedelai toleran terhadap genangan. **Jurnal Agrikultur** 8: 23-32.

Komatsu, Setsuko., dan Hossain, Z. 2013. Organ-specific proteome analysis for identification of abiotic stress response mechanism in crop. **Frontiers in Plant Science** Vol 4.

Koyama, Tomotsugu. 2014. The roles of ethylene and transcription factors in the regulation of onset of leaf senescence. **Review Article in Plant Science** Vol.5.

Kozlowski, T.T. dan S.G. Pallardy. 1997. **Physiology of woody Plants**. San Diego : Academic Press.

Kranner, I., Minibayeva, F.V., Beckett, R.P., dan Charlotte, E.S. 2010. Tansley review : what is stress? concepts, definitions and application in seed science. **Journal of New Phytologist** 188 : 655-673.

Kuchel, P.W dan Gregory. 2006. **Biokimia**. Jakarta : Erlangga.

Kurniawan, Bayu Adi., Sisca, Fajriani., dan Ariffin. 2014. Pengaruh jumlah pemberian air terhadap respon pertumbuhan dan hasil tanaman tembakau. **Jurnal Produksi Tanaman** 2 (1) : 59-64.

Labra, M., Gianazza, Waitt., Eberini, Sozzi., Regondi., dan Grassi. 2005. *Zea mays* L. protein changes in response to potassium dichromate treatment. **Chemosphere** 62: 1234-1244.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-685.

Larcher, W. 1995. **Physiology Plant Ecology**. Germany : Springer-Verlag.

Levetin, E dan McMahon, K. 1999. **Plants and Society**. USA: McGraw-Hill, Inc.

Li, S.W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., dan An, L. 2009. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **The Bot Rev** 75(2): 230-247.

Lüthje, S., Möller, B., Perrineau, F.C., dan Wöltje, K., 2013. Plasma membrane electron pathways and oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal** 18: 2163–2183.

Mathius, N.T., G. Wijana., E. Guharja., H. Aswidinnoor., S. yahya., dan Subroto. 2001. Respon Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) terhadap Cekaman Kekeringan. **Menara Perkebunan** 69(2) : 29-45.

Matnawi, Hudi. 1997. **Budidaya Tembakau Bawah Naungan**. Yogyakarta : Kanisius.

Meikawati, W., Salawati, T., dan Nurullita, U. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Sebagai Pestisida untuk Pengendalian Hama Ulat Grayak pada Tanaman Cabai. **Prosiding Seminar Nasional**.

Meisrimler, C.N., Friedrich, B., dan Sabine, L. 2014. Alterations in Soluble Class III Peroxidases of Maize Shoots by Flooding Stress. **Proteomes** 2: 303-322.

Miao, Y., dan Zentgraf, U. 2007. The antagonist function of *Arabidopsis* WRKY53 and ESR/ESP in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium. **Plant Cell** 19: 819–830.

Naif, A.D. 2007. Tembakau Deli, **Manikam. Gatra**. <http://perantara.de/id/gatra.pdf> [14 September 2015].

Najiyanti, S., dan Danarti. 1998. **Petunjuk Mengairi dan Menyiram Tanaman**. Jakarta : Penebar Swadaya.

Nemhauser, J.L., Hong, F., dan Chory, J. 2006. Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses. **Cell** 126(3): 467-475.

Noh, B., Murphy, A.S., dan Spalding, E.P. 2001. Multidrug resistance-like genes of *Arabidopsis* required for auxin transport and auxin-mediated development. **Plant Cell** 13: 2441-2454.

Nugroho, K.W. dan F. Yuliasmara. 2012. **Penggunaan Metode Scanning untuk Pengukuran Luas Daun Kakao**. Jember: Warta, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.

Nur, Y.H. dan D. Apriana. 2013. Daya saing tembakau virginia lokal di pasar dalam negeri. **Buletin Ilmiah Litbang Perdagangan** 7 (1): 1995.

Nurbaiti, Yulia, A.E., dan Sitorus, J. 2012. Respon pertumbuhan bibit kelapa sawit (*Elais guineensis* Jazcq.) pada medium gambut dengan berbagai periode genangan. **Jurnal Agrotek Trop** 1 (1): 14-17.

Nurhidayati, Tutik., Muharto., dan Dini E. 2007. Pemanfaatan sludge industri sebagai alternatif media tanam jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) yang berasosiasi dengan mikoriza arbuskula. **Jurnal Purifikasi** 8(1) : 17-18.

Parent, C., Capelli, N., Berger, A., Crevecoeur, M., dan Dat, J.F. 2008. An Overview of Plant Responses to Soil Waterlogging. **Journal of Plant Stress** 2 (1) : 20-27.

Pedersen, O., Binzer, T., dan Borum, J. 2004. Sulfide intrusion in eelgrass (*Zostera marina L.*). **Plant, Cell & Environment** 27: 595–602.

Peeters, A.J.M., C.H. Cox., J.J. Benschop., R.A.M. Vreeburg., J. Bou, L.A.C.J. Voesenek. 2002. Submergence research using *Rumex palustris* as a model: looking back and going forward. **J. Exp. Bot** 53: 391-398.

Pop, Tiberia I., Doru, Pamfil., dan Bellini, Catherine. 2011. Auxin control in the formation of adventitious roots. **Not Bot Hort Agrobot Cluj** 39 : 307-316.

Potuschak, T., Lechner, E., Parmentier, Y., Yanagisawa, S., Grava, S., Koncz, C., *et al.* 2003. EIN3-dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two *Arabidopsis* F-box proteins: EBF1 and EBF2. **Cell** 115: 679–689.

Priadi, Dwi Putro dan Susilawati. 2014. Hubungan karakter agronomi dan fisiologi sepuluh varietas cabai merah akibat perbedaan waktu genangan. **Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal**. Palembang, 26-27 September.

Pugnaire, F.I., dan F. Valladare. 2007. **Functional Plant Ecology, 2nd Edition**. USA: CRC Press.

Purdyaningsih. 2013. **Mengenal Varietas Unggul Tembakau di Jawa Timur sebagai Upaya Meningkatkan Mutu Benih**. Surabaya.

Purwaningsih, A. 2007. **Identifikasi Protein Daging Sapi & Babi dengan Elektroforesis Gel Poliakrilamid- Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE)**. Surabaya : Universitas Airlangga.

Qiao, H., Shen, Z., Huang, S. C., Schmitz, R. J., Urich, M. A., Briggs, S. P., dan Ecker, J. R. 2012. Processing and subcellular trafficking of ER-tethered EIN2 control response to ethylene gas. **Science** 338: 390–393.

Rachmawati, D. dan E. Retrianingrum. 2013. Pengaruh tinggi dan lama penggenangan terhadap pertumbuhan padi kultivar sintatur dan dinamika populasi rhizobakteri pemfiksasi nitrogen non simbiosis. **Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik** 15 (2) : 117-125.

Sabater, B., dan Rodrisol, M.T. 1978. Control of chlorophyll degradation in detached leaves of barley and oat through effect of kinetin on chlorophyllase. **Physiol Plant** 43: 274–276.

Sach, M.M., Freeling, M., dan Okimoto, R. 1980. The anaerobic proteins of maize. **Cell** 20 : 761-767.

Saika, H., M. Okamoto, K., Miyoshi, T., Kushiro, S., Shinoda, *et al.* 2007. Ethylene promotes submergence-induced expression of *OsABA8ox1*, a gene that encodes ABA 8'-Hydroxylase in rice. **Plant Cell Physiology** 48:287-298.

Sairam, R.K., Kumutha, D. dan Ezhilmathi, K. 2009. Waterlogging tolerance: nonsymbiotic haemoglobin-nitric oxide homeostasis and antioxidant. **Current Sci.** 96(5): 674-682.

Sairam, R.K., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P.S., Srivastava, G.C., 2008. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biol Plant** 52: 401- 412.

Salazar, Carolina., Cristian, Hernandez., dan Maria, Teresa Pino. 2015. Plant water stress: associations between ethylene and abscisic acid response. **Chilean Journal of Agricultural Research** 75.

Santner, A., Estelle, M. 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. **Nature** 459(7250):1071-1078.

Sarkar, R. K., Reddy, J. N., Sharma, S. G., dan Ismail, A. M. 2006. Physiological Basis of Submergence Tolerance in Rice and Implications for Crop Improvement. **Current Science** 91(7): 899-906.

Savita, U.S., Rathore, T.K., dan Mishra, H.S. 2004. Response of some Maize Genotypes to Temporary Waterlogging. **Journal of Plant Biol** 31 (1) 29-36.

Schmitz, Aaron J., Folsom, Jing J., Jikamaru, Yusuke., Ronald, P., dan Walia, H. 2013. SUB1A-mediated submergence tolerance response in rice involves differential regulation of the brassinosteroid pathway. **New Phytologist** 198: 1060-1070.

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

Sena, G.A.R., dan Kozlowski. 1988. Physiological and growth responses to flooding of seedling of *Hevea brasiliensis*. **Biotropica** 20: 286-296.

Shimmamura, S., Yoshida, S., dan Mochizuki, T. 2007. Cortical Aerenchyma Formation in Hypocotil and Adventitious Roots of *Luffa cylindrical* Subjected to Soil Flooding. **Annals of Botany** 100 : 1431-1439.

Sholeh, Rachman dan Machfudz. 1995. Penetapan Waktu Tanam Tembakau Madura berdasarkan sebaran Curah Hujan dan Kebutuhan Air dalam Iklim dan Produktivitas Pertanian. **Pros Simp. Met. Pert.** 4 : 81-89.

Short, K.C., dan Torrey J.G. 1972. Cytokinins in seedling roots of pea. **Plant Physiology** 49: 155–160.

Sigit, Agus. 2013. Curah Hujan Tinggi, Hambat Musim Tanam Tembakau. **KR Jogja**. <http://krjogja.com/> [21 September 2015].

Simpson dan Ogorzaly. 2001. **Economic Botany: Plant in Our World, Third Edition**. USA : McGraw-Hill Companies, Inc.

Simpson, M.G. 2010. **Plant Systematic Second Edition**. USA: Elsevier, Inc.

Skiryecz, A., dan Inzé, D. 2010. More from less: plant growth under limited water. **Curr. Opin. Biotechnol** 21: 197-203.

Smith, A.M., Coupland, G., Dolan, L., Harberd, N., Jones, J., Martin, C., Sablowski, R., dan Amey, A. 2010. **Plant Biology**. Francis: Garland Science, Taylor and Francis Group.

Soitamo, A.J., Jada, B, dan Lehto, R. 2012. Expression of geminiviral AC2 rna silencing suppressor change sugar and jasmonate responsive gene expression in transgenic tobacco plants. **BMC Plant Biology** 12: 204.

Song, N.A., 2006. Aktivasi peroksidase dan profil protein lini kasus padi (*Oryza sativa* L.) toleran kekeringan. **Thesis ITB.**

Soukup, A., Votrubova, O., dan Cizkova, H. 2002. Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. **New Phytologist** 153: 277–287.

Steenis, V. 2005. **Flora untuk Sekolah di Indonesia**. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Stoychev, Veselin., Lyudmila, S.S., Irina, V., Anelia, K., Rosa, N., Urs, Feller., dan K. Demirevska. 2013. Protein changes and proteolytic degradation in red and white clover plants subjected to waterlogging. **Acta Physiol Plant.**

Striker, G.G. dan J. Mworio. 2012. **Botany-Flooding Stress on Plants : Anatomical, Morphological and Physiological Responses**. Argentina : IEFVA-CONICET, Faculty of Agronomy, University Buenos Aires.

Subbaiah, C dan Sachs, M. 2003. Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. **Annals Botany** 91: 119-127.

Sudarmono. 2006. Pendekatan konservasi tumbuhan dengan teknik molekuler elektroforesis. pusat konservasi tumbuhan ex situ-kebun raya bogor- lembaga ilmu pengetahuan indoensia (LIPI). **Inovasi** 7, XVIII.

Sudaryono. 2004. Pengaruh naungan terhadap perubahan iklim mikro pada budidaya tanaman tembakau rakyat. **Jurnal Tek. Lingkungan P3TL-BPPT** 5 (1) : 56-60.

Suhartono, R.A.S. Zaed dan A. Khoiruddin. 2008. Pengaruh interval pemberian air terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman

kedelai (*Glycine max (L.) Merrill*) pada berbagai jenis tanah. **Embryo** 5 (1) : 98-112.

Sukumar, Poornima. 2010. The Role of Auxin and Ethylene in Adventitious Root Formation in Arabidopsis and Tomato. **Disertasi**. North Carolina : Wake Forest University Graduate School of Arts and Sciences.

Susilawati, Suwignyo, R.A., Munandar, dan Hasmeda, M. 2012. Karakter Agronomi dan Toleransi Varietas Cabai Merah Akibat Genangan pada Fase Generatif. **Jurnal Lahan Suboptimal** 1 (1) : 22-30.

Suwarti, Efendi, R., Azrai, M., dan Thahir, N. 2013. Pertumbuhan, Hasil dan Indeks Sensitivitas Tanaman Jagung Terhadap Cekaman Genangan Air. **Seminar Nasional Serealia**.

Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R., dan Miller, G. 2012. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. **Plant Cell Environ** 35: 259–270.

Swarup, K., Benkova, E., Swarup, R., Casimiro, I., Peret, B., Yang, Y., Parry, G., Nielsen, E., De Smet, I., Vanneste, S., Levesque, M.P., Carrier, D., James, N., Calvo, V., Ljung, K., Kramer, E., Roberts, R., Graham, N., Marillonnet, S., Patel, K., Jones, J.D.G., Taylor, C.G., Schachtman, D.P., May, S., Sandberg, G., Benfey, P., Friml, J., Kerr, I., Beeckman, T., Laplace, L., dan Bennett, M.J. .2008. The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. **Nature Cell Biology** 10: 946-954.

Taiz, L. dan E. Zeiger. 2010. **Plant Physiology: Fifth Edition**. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Teale, W.D., Paponov, I.A., dan Palme, K. 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. **Nature Reviews Molecular Cell Biology** 7: 847-859.

Thimann, K.V. 1980. The Senescence of Leaves. In: Thimann, K.V (ed): **Senescence in Plants** pp. 85-115. Boca Raton, Florida : CRC Press, Inc.

Trebitsh T., Goldschmidt E.E., dan Riov J. 1993. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in Citrus fruit peel. **Proc. Natl. Sci. USA** 90: 9441–9445.

VanToai, T.T., Saglio, P., Ricard, B., dan Pradet, A. 1995. Developmental regulation of anoxic stress tolerance in maize. **Plant, Cell and Environment** 18: 937–942.

Vartapetian, B.B. 2006. Plant anaerobic stress as a novel trend in ecological physiology, biochemistry, and molecular biology: 2 further development of the problem. **Russian Journal of Plant Physiology** 53 : 711-738.

Veyres, N., Danon, A., Aono, M., Galliot, S., Karibasappa, Y. B., Diet, A., *et al.* 2008. The *Arabidopsis* sweetie mutant is affected in carbohydrate metabolism and defective in the control of growth, development and senescence. **Plant Journal** 55: 665–686.

Videmsek, U., Turk, B., dan Vodnik, D. 2006. Root aerenchyma-formation and function. **Acta Agriculturae Slovenica** 87 : 445-453.

Visser, E.J.W., Colmer, T.D., Blom, C.W.P.M dan Voesenek, L.A.C.J. 2000. Changes in growth, porosity, and radial oxygen

loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. **Plant, Cell & Environment** 23: 1237-1245.

Visser, E.J.W., Voeselek, L.A.C.J., Vartapetian, B.B., dan Jackson, M.B. 2003. Flooding and Plant Growth. **Ann. Bot.** 91 : 107-109.

Voeselek, L.A.C.J., dan Bailey-Serres, J. 2013. Flooding tolerance: O₂ sensing & survival strategies: **Current Opinion in Plant Biology** 16: 647-653.

Vriezen, W.M., Zhou, Z., & Van Der Straeten, D. 2003. Regulation of submergence-induced enhanced shoot elongation in *Oryza sativa* L. **Annals of Botany**, 91: 263-270.

Wen, CK., dan Chang C. 2002. Arabidopsis RGL1 encodes a negative regulator of gibberellin responses. **The Plant Cell** 14: 87-100.

Wongsosupantio, S. 1990. **Elektroforesis Gel Protein**. Yogyakarta : UGM Press.

Woodward, A.W., dan Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. **Ann Bot** 95(5):707-735.

Xu, M., Zhu, L., Shou, H.X., dan Wu, P. 2005. A PIN1 family gene, OsPIN1, involved in auxin dependent adventitious root emergence and tillering in rice. **Plant and Cell Physiology** 46: 1674-1681.

Yuwono, Triwibowo. 2005. **Biologi Molekuler**. Jakarta : Erlangga.

Zazimalova, E., Murphy, A.S., Yang, H., Hoyerova, K., dan Hosek, P. 2010. Auxin transporter-why so many?. **Cold Spring Harb Perspect in Biol** 2: a001552.

Zhang, K., dan Gan S.S. 2012. An abscisic acid-AtNAP transcription factor-SAG113 protein phosphatase 2C regulatory chain for controlling dehydration in senescing *Arabidopsis* leaves. **Plant Physiol** 158: 961–969.

Barrett-Lennard, E.G. 2003. The interaction between waterlogging and salinity in higher plants causes consequences and implications. **Plant and Soil** 253: 35-54.

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

BIODATA PENULIS



Penulis dengan nama lengkap Novita Sari ini lahir di Surabaya, 7 November 1993. Anak bungsu dari pasangan M. Husen Malik dan Hariani ini memulai pendidikannya di TK Roudlotul Atfal Mojokerto pada usia 5 tahun. Kemudian lulus dari TK, ia memasuki jenjang SD di Madrasah Ibtidaiyah Roudlotul Huda. Setelah lulus dari MI Roudlotul Huda, ia melanjutkan sekolah di SMPN 2 Sooko selama 3 tahun. Kemudian setelah lulus SMP, ia melanjutkan sekolah di salah satu SMA favorit di

Mojokerto yaitu SMAN 1 Sooko. Ketertarikannya dengan Biologi bermula ketika ia mendapatkan beasiswa dari program bimbingan belajar PRIMAGAMA selama 1,5 tahun. Setelah menekuni jenjang SMA selama 3 tahun, akhirnya ia memilih masuk ke Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Di ITS ini, ia memilih jurusan Biologi karena keinginannya sebagai seorang pendidik/pengajar sejak masa SMAnya. Ia mengambil konsentrasi Botani selama kuliah di Jurusan Biologi ITS.

Selama menjadi mahasiswa, Penulis aktif dalam kegiatan dakwah kampus. Penulis mengikuti LDJ FKIQ, JMMI ITS, dan pernah menjadi Supervisor Beasiswa Pesantren Mahasiswa Mutiara. Penulis juga pernah menjadi Asisten Praktikum bidang Botani seperti Struktur Perkembangan Tumbuhan 1, Taksonomi Tumbuhan dan Genetika. Info selengkapnya bisa ditanyakan melalui email ssnovita@yahoo.co.id.