



TESIS - SB185401

**PENGARUH PRA PERLAKUAN ASAM ASETAT
TERHADAP RESPON TANAMAN JEWAWUT
(*Setaria italica*) DAN KAJIAN LITERATUR
EKSPRESI GENETIK TANAMAN C4 PADA KONDISI
TERCEKAM KEKERINGAN**

**CHOIROTIN NISA
01311850010008**

Dosen Pembimbing
Dr. Nurul Jadid, M.Sc

PROGRAM MAGISTER
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020



TESIS - SB185401

**PENGARUH PRA PERLAKUAN ASAM ASETAT
TERHADAP RESPON TANAMAN JEWAWUT
(*Setaria italica*) DAN KAJIAN LITERATUR
EKSPRESI GENETIK TANAMAN C4 PADA KONDISI
TERCEKAM KEKERINGAN**

**CHOIROTIN NISA
01311850010008**

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

**PROGRAM MAGISTER
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020**



THESIS - SB185401

**THE EFFECT OF PRE TREATMENT OF ACETIC
ACID TO PLANT RESPONSE OF JEWAWUT
(*Setaria italica*) AND REVIEW OF C4 PLANT
GENETIC EXPRESSION IN DROUGHT STRESS**

**CHOIROTIN NISA
01311850010008**

Supervisor
Dr. Nurul Jadid, M.Sc

**MASTER PROGRAM
DEPARTEMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Telah disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

Magister Sains (M.Si)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

CHOIROTIN NISA

NRP: 01311850010008


Tanggal Ujian : 14 Juli 2020

Periode Wisuda : September 2020

Disetujui oleh :

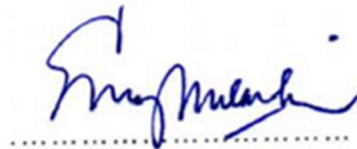
Pembimbing :

1. Dr. Nurul Jadid, M.Sc
NIP. 19820512 200501 1 002



Penguji :

1. Dr. Enny Zulaika, MP
NIP. 19600109 198803 2 001



2. Dr. Tutik Nurhidayati, M.Si
NIP. 19720910 199802 2 002



Kepala Departemen Biologi

Fakultas Sains dan Analitika Data



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

“halaman ini sengaja dikosongkan”

**PENGARUH PRA PERLAKUAN ASAM ASETAT TERHADAP
RESPON TANAMAN JEWAWUT (*Setaria italica*) DAN KAJIAN
LITERATUR EKSPRESI GENETIK TANAMAN C4 PADA
KONDISI TERCEKAM KEKERINGAN**

Nama Mahasiswa : Choirotin Nisa
NRP : 01311850010008
Pembimbing : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

ABSTRAK

Kekeringan merupakan salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman pangan. Salah satu upaya untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan yaitu melalui pengembangan rekayasa teknik budidaya tanaman. Salah satu titik kritis budidaya tanaman terletak pada fase awal vegetatif. Jewawut (*Setaria italica*) adalah salah satu tanaman penghasil karbohidrat, kaya akan serat dibandingkan padi berpotensi untuk dikembangkan sebagai makanan fungsional, terutama di daerah rawan kekeringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap beberapa aksesori tanaman jewawut secara morfologi, fisiologi dan molekular setelah tercekam kekeringan. Asam asetat dalam penelitian ini diduga dapat meningkatkan sintesa asam jasmonat dan asam absisat yang selanjutnya meregulasi gen ketahanan dan sintesa metabolit tanaman yang berperan untuk meningkatkan resistensi tanaman terhadap kondisi kekeringan. Metode yang digunakan yaitu dengan Pra perlakuan berupa penambahan asam asetat di tanah (15, 30, dan 45 mM) dilakukan pada fase vegetatif dua aksesori jewawut (GM dan PK). Selanjutnya, tanaman dicekam kekeringan selama 10 hari. Berdasarkan hasil analisa *two way* Annova didapatkan bahwa pra perlakuan AA pada kondisi kekeringan memberikan pengaruh secara nyata pada parameter morfologi yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, dan panjang akar. Semakin tinggi konsentrasi asam asetat menyebabkan penurunan pada panjang akar dan tinggi tanaman. Pra perlakuan AA pada kondisi kekeringan tidak berpengaruh pada parameter fisiologi yaitu KAR daun, total klorofil, dan karotenoid. Namun demikian, terlihat perbedaan pada tanaman jewawut yang diberi pra perlakuan AA 30 mM mampu mempertahankan KAR daun lebih baik sebagai respon terhadap kekeringan. Sedangkan hasil analisa pada bobot kering malai dan bobot kering tanaman memberikan pengaruh nyata terlihat pada pra perlakuan AA konsentrasi 45 mM. Pemberian pra perlakuan AA eksogen pada tanaman jewawut diduga dapat mengaktifkan gen promotor sehingga mampu meningkatkan ekspresi gen jalur biosintesis asam asetat yang menyebabkan tanaman lebih tahan terhadap cekaman kekeringan. Beberapa gen yang terlibat dalam kondisi tercekam kekeringan yaitu *AOCs*, *COII*, *JAZ*, *ALDH*, *PDC*, *TSPO*, *MYB*, *HSP21*, *ABI2*, dan *OST1*.

Kata kunci : asam asetat, cekaman kekeringan, ekspresi gen, jewawut.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

THE EFFECT OF PRE TREATMENT OF ACETIC ACID TO PLANT RESPONSE OF JEWAWUT (*Setaria italica*) AND REVIEW OF C4 PLANT GENETIC EXPRESSION IN DROUGHT STRESS

Nama Mahasiswa : Choirotin Nisa
NRP : 01311850010008
Pembimbing : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

ABSTRACT

*Drought is one of the external factors that affect the growth of food crops. One effort to increase plant resistance to drought stress is through the development of plant cultivation techniques. One of the critical points of crop cultivation lies in the initial vegetative phase. Jewawut (*Setaria italica*) is one of the carbohydrate-producing plants, rich in fiber compared to rice, has the potential to be developed as a functional food, especially in drought-prone areas. This study aims to determine the effect of pre-treatment of acetic acid on some accessions of Jewawut plants morphologically, physiologically and molecularly after being gripped by drought. Acetic acid in this research is thought to be able to increase the synthesis of jasmonic acid which further regulates the resistance genes and synthesis of plant metabolites which play a role in increasing plant resistance to drought conditions. The method used is the Pre treatment in the form of the addition of acetic acid in the soil (15, 30, and 45 mM) carried out in the vegetative phase of two Jewawut accessions (GM and PK). Based on the results of the two way Annova analysis it was found that the pre-treatment of AA in drought conditions significantly affected the morphological parameters, namely plant height, number of leaves, and root length. The higher concentration of acetic acid causes a decrease in root length and plant height. AA pre treatment in drought conditions did not affect the physiological parameters namely leaf KAR, total chlorophyll, and carotenoids. However, differences were seen in barley plants which were given a 30 mM AA pre-treatment were able to maintain better KAR leaves in response to drought. While the results of analysis on panicle dry weight and plant dry weight had a significant effect on the pre-treatment AA concentration of 45 mM. Pre-treatment of exogenous AA in Jewawut plants is thought to activate the promoter gene so that it can increase gene expression of acetic acid biosynthetic pathways that cause plants to be more resistant to drought stress. Some of the genes involved in drought-strained conditions are AOCs, COII, JAZ, ALDH, PDC, TSPO, MYB, HSP21, ABI2, and OST1.*

Keywords: acetic acid, drought stress, gene expression, Jewawut

“halaman ini sengaja dikosongkan”

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tesis ini yang berjudul “Pengaruh Pra Perlakuan Asam Asetat terhadap Respon Tanaman Jewawut (*Setaria Italica*) dan Kajian Literatur Ekspresi Genetik Tanaman C4 pada Kondisi Tercekam Kekeringan”. Karya ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister (S2) di Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan kontribusi dalam penyusunan tesis ini, diantaranya Bapak Dr. Nurul Jadid, M.Sc selaku dosen pembimbing, Ibu Dr. Enny Zulaika, M.P selaku dosen Ketua Sidang, Ibu Dr. Tutik Nurhayati, M.Si selaku dosen penguji dan Orang tua serta teman-teman mahasiswa S2 Biologi ITS yang telah memberikan bantuan secara material maupun moral.

Kritik dan saran yang membangun atas penyusunan proposal tesis sangat berarti bagi penulis. Penulis berharap tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 8 Juli 2020

Penulis

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL TESIS	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR AKRONIM.....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Manfaat penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Deskripsi <i>Setaria italica</i>	7
2.2 Cekaman kekeringan.....	8
2.3 Siklus TCA (<i>Tricarboxylic Acid Cycle</i>).....	9
2.4 Respon tanaman terhadap cekaman kekeringan	13
2.5 Mekanisme adaptasi terhadap cekaman kekeringan	17
BAB 3 METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Skema Penelitian.....	19
3.3 Jenis Penelitian.....	20
3.4 Sumber Data	20
3.5 Metode Pengumpulan Data	20
3.6 Teknik Analisis Data	24
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap morfologi tanaman jewawut pada kondisi kekeringan.....	27

4.2 Pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap fisioasalogi tanaman jewawut pada kondisi kekeringan	31
4.3 Pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap aspek molekular tanaman.	38
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	(A) Tanaman utuh <i>Setaria italica</i> , (B) Ligula, (C) Malai, (D) Spikelet.....	7
Gambar 2.2	Skema siklus TCA pada tanaman.....	10
Gambar 2.3	Peranan biosintesis asam asetat dalam merespon kekeringan.....	11
Gambar 2.4	Aktivasi gen pengatur biosintesis spesifik dan jalur pensinyalan JA di <i>Arabidopsis</i>	12
Gambar 2.5	Strategi ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan..	17
Gambar 3.1	Skema Penelitian	19
Gambar 3.2	Morfologi pertumbuhan <i>Setaria italica</i>	22
Gambar 4.1	Hasil pengamatan pra perlakuan asam asetat terhadap panjang akar tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan....	30
Gambar 4.2	Bentuk akar tanaman jiwawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan.....	30
Gambar 4.3	Efek pra perlakuan asam asetat pada tanaman jiwawut.....	31
Gambar 4.4	Hasil pengamatan pra perlakuan asam asetat terhadap KAR daun tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan.....	32
Gambar 4.5	Hasil pengamatan pra perlakuan asam asetat terhadap total klorofil tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan.....	33
Gambar 4.6	Hasil pengamatan karotenoid tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan.....	35
Gambar 4.7	Hasil pengamatan bobot kering malai dan bobot kering tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan.....	37
Gambar 4.8	Bentuk malai tanaman jiwawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan.....	38
Gambar 4.9	Representatif skematik signaling pada metabolisme tanaman terhadap cekaman kekeringan.....	41
Gambar 4.10	Persepsi asam jasmonat dan transduksi sinyal selama stress abiotic.....	44

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap morfologi tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan.....	27
Tabel 4.2	Regulasi berbagai senyawa metabolit yang terlibat dalam cekaman kekeringan pada tanaman C4.....	40
Tabel 4.3	Regulasi berbagai gen yang terlibat dalam cekaman kekeringan pada berbagai tanaman	41
Tabel 4.4	Regulasi berbagai gen yang terlibat dalam cekaman kekeringan dengan perlakuan asam asetat.....	42
Tabel 4.5	Interaksi factor transkripsi dengan protein JA-ZIM domain dan respon tanaman terhadap regulasi JA.....	45

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil analisa annova total klorofil dan karotenoid.....	59
Lampiran 2	Hasil analisa annova KAR daun.....	60
Lampiran 3	Hasil analisa annova tinggi tanaman.....	61
Lampiran 4	Hasil analisa annova jumlah daun.....	62
Lampiran 5	Hasil analisa annova jumlah anakan per rumpun.....	63
Lampiran 6	Hasil analisa annova panjang akar.....	64
Lampiran 7	Hasil analisa annova bobot kering malai.....	65
Lampiran 8	Hasil analisa annova bobot kering tanaman.....	66

“halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR AKRONIM

1O2	singlet oxygen	FIL	filamentous flower-like yabby protein
2-OGDH	<i>2-oxoglutarate dehydrogenase complex</i>	FUM	Glabrous 1,3
ABA	Abscisic acid	GL1,3	Gambir Manis
ABI2	ABA INSENSITIVE 2	GM	general transcription factor
ACO	<i>aconitase</i>	GTF	Phosphoric acid
ALDH	<i>Dehydrogenase Aldehyde</i>	H3PO4	histone deacetylase 6, 19
ALDH	Aldehyde dehydrogenasae	HDA6,19	Heat shock protein 21
AOC	allene oxide cyclase	HSP21	Hari Setelah Tanam
AOS	<i>Allene Oxide Synthase</i>	HST	<i>isocitrate dehydrogenase</i>
APX	ascorbate peroxidase	IDH	Jasmonic Acid
ASK1	Arabidopsis SKP1 homolog 1	JA	jasmonate-zinc finger
ATAF	Arabidopsis transcription activation factor	JA ZIM	inflorescence meristem jasmonyl isoleucine
AtHTK1	Arabidopsis thaliana	JA-Ile	jasmonic acid transfer prot
bHLH	histidine kinase domain	JAT1	jasmonate ZIM domain
CAT	basic Helix-Loop-Helix	JAZ	Kadar Air Relatif
CDPK	Catalase	KAR	Late Embryogenesis Abun
CO11	Calcium-dependent proteinkinase	LEA	mitogen-activated protein
CS	coronatine insensitive 1	MAPKs	<i>malondialdehyde</i>
CUC	<i>citrate synthase</i>	MDA	<i>malate dehydrogenase</i>
CUL1	family of TF	MDH	mediator 25
DA	cullin 1	MED25	family of TF
DC	drought avoidance	MYB	family of TF
DE	dicarboxylate carrier	NAC	Nicotinamide Adenine Dir
DHN	drought escape	NAD	no apical meristem
DNA	dehydrin	NAM	novel interactor of JAZ
DREB	deoxyribonucleic acid dehydration-responsive element-binding protein	NINJA	Oryza sativa bHLH
DT	element-binding protein	OsBHL-148	OPEN STOMATA1
E2	drought tolerance ubiquitin-conjugating enzymes	OST1	pyruvate carrier
EGL3	enzymes	PC	<i>Pyruvate</i>
EIL1	enhancer of GLABRA3	PDC	<i>Dehydrogenase Complex</i>
EIN3	Ethylene Insensitive 3-like protein 1	Phosducin	Phosducin
ERD	Ethylene Insensitive early responsive to dehydration	PDC	phosphoenolpyruvate
ET	Ethylene	PEP	Polman Kuning
		PK	<i>Quantitative Trait Locus</i>
		QTLs	ring box 1
		RBX1	responsive to de-
		RD	hydration
		RNA	Ribonucleic Acid

RNA Pol II	RNA polymerase II
ROS	Reactive Oxygen Species
RPD1	Root primordium defective
RWC	Relative Water Content
SA	Salisilic Acid
SbASR-1	Salicornia brachiata abscisic acid stress ripening
S _{CoA} L	<i>succinyl CoA ligase</i>
SDH	succinate dehydrogenase
SFC	succinate/fumarate carrier
SiASR4	Setaria italica abscisic acid stress ripening
SOD	superoxide dismutase
TBA	thiobarbituric acid
TCA	trichloroacetic acid
TCA cycle	tricarboxylic acid cycle
TF	transcription factor
TPL	topless
TSPO	the outer membrane tryptophan- rich sensory protein
UB	ubiquitin

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jewawut (*Setaria italica*) adalah salah satu tanaman penghasil karbohidrat yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai makanan fungsional, terutama di daerah rawan kekeringan. Jewawut berasal dari China dan menjadi tanaman pangan sereal tradisional di China sejak zaman kuno (Zhengli *et al.*, 2011). Daerah penghasil utama millet adalah dataran semi-kering di Asia Selatan (khususnya di India) dan wilayah Sahel (selatan Sahara) di Afrika (Amadou & Moussa, 2018). Saat ini millet telah dibudidayakan di Andhra Pradesh, Karnataka, Maharashtra, Tamil Nadu, Rajasthan, Madhya Pradesh, Uttar Pradesh dan negara-negara timur laut (Kumari, Dikshit, & Sharma, 2011).

Di Indonesia Jewawut dikenal sebagai tanaman sereal. Biasanya masyarakat menggunakan Jewawut sebagai pakan burung dan selama ini pemanfaatannya sebagai tanaman pangan fungsional masih terbatas di beberapa wilayah seperti Bengkulu, Sumatera Selatan, Jawa Barat dan Papua (Sulistiyowati, 2015). Nilai nutrisi dari sereal ini, diantaranya memiliki nilai indeks glikemik rendah (Jali, *et al.*, 2012), tinggi kandungan protein dan kaya serat makanan (Amadou *et al.*, 2013) dan mengandung antioksidan (Almaski *et al.*, 2017), sehingga membuat millet berpotensi dikembangkan sebagai makanan fungsional. Butiran Jewawut mengandung 12,3% protein, 4,7% lemak, dan 60,6% karbohidrat (Kumari *et al.*, 2011).

Jewawut dilaporkan relatif toleran terhadap kekeringan (Lata *et al.*, 2010). Kekeringan adalah salah satu tekanan abiotik yang paling signifikan menghambat produksi tanaman secara global. Meskipun relatif toleran terhadap kekeringan, tingkat toleransi Jewawut terhadap kekeringan bervariasi antar genotipe (Begum *et al.*, 2013). Oleh karena itu, pemilihan genotipe millet yang tahan terhadap kekeringan sangat penting dilakukan. Tanaman yang tahan terhadap cekaman kekeringan, pada dasarnya memberikan respon melalui 3 cara, yaitu morfologis, fisiologis dan molekuler. Secara fisiologis, periode cekaman

kekeringan yang panjang akan mempengaruhi seluruh proses metabolisme di dalam sel dan mengakibatkan penurunan produktivitas tanaman. Tahap awal kekeringan mengakibatkan berkurangnya pembukaan stomata untuk meminimalisir laju transpirasi yang mengakibatkan terjadinya penurunan konsentrasi CO₂ di intrasel, sehingga tanaman mengalami over reduksi pada transfer electron fotosintesis (Zlatev & Yordanov, 2005). Hal ini dapat memicu terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) yang diawali dengan pengikatan electron pada transfer electron fotosintesis oleh oksigen (Asada, 2006). Senyawa ROS juga dapat menyebabkan cekaman oksidatif bagi tanaman yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan ultrastruktur sel (Wise & Naylor, 1987).

Respon fisiologi tanaman terhadap cekaman kekeringan yang lain berupa akumulasi senyawa prolin. Senyawa tersebut berfungsi untuk pengaturan derajat osmotik sel (*osmotic adjustment*). Menurut Veeranagamallaiah *et al.*, (2007) melaporkan bahwa terjadi peningkatan akumulasi prolin pada *S.italica* kultivar Prasad dan Lepakshi. prolin berperan sebagai senyawa osmoregulatory dan osmoprotektan ketika tanaman menghadapi cekaman kekeringan. Akumulasi prolin dapat menurunkan potensial osmotik sehingga menurunkan potensial air dalam sel tanpa membatasi fungsi enzim dan menjaga tekanan turgor pada sel. Menurut penelitian (Pan *et al.*, 2018) pada Jewawut yang dicekam kekeringan menunjukkan bahwa kadar prolin meningkat dibandingkan kontrol. Sintesis senyawa ini mengindikasikan toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan juga dilaporkan dapat memicu tanaman untuk beradaptasi secara morfologi dan anatomi.

Menurut Ahanger *et al.*, (2017) mekanisme resistensi tanaman yang tercekam kekeringan dapat melibatkan reprogram transkripsi, metabolisme sel, pensinyalan hormon dan modifikasi kromatin. Mekanisme resistensi tanaman dapat dikendalikan oleh banyak gen dan ekspresi dari masing-masing gen tersebut sangat kompleks. Hasil analisis QTLs (*Quantitative Trait Locus*) menunjukkan bahwa terdapat 20 kandidat gen yang berperan terhadap perkecambahan dan toleransi kekeringan tanaman *Setaria italica* dari genotip yang berbeda (Tang *et al.*, 2017). Namun, di Indonesia masih sedikit penelitian yang mengkaji hubungan genetik antar aksesori *Setaria italica* yang berkaitan

dengan cekaman kekeringan. Sehingga dengan adanya keanekaragaman genetik tersebut, memberikan peluang besar untuk mengetahui ekspresi gen yang terlibat dalam toleransi kekeringan pada *S.italica*. Beberapa penelitian telah melaporkan pengaturan gen *dehidrogenase aldehida (ALDH)* sebagai respons terhadap berbagai kondisi stress abiotik. Over ekspresi dari family gen *ALDH* yang berbeda pada *Arabidopsis thaliana* memberikan toleransi terhadap stres kekeringan dan melindungi tanaman terhadap peroksidasi lipid dan stres oksidatif (Kotchoni *et al.*, 2006). Pada genom *Foxtail millet* telah berhasil diidentifikasi 20 gen *ALDH* dengan menggunakan qRT-PCR, diantaranya *SiALDH11A1* yang mengalami peningkatan ekspresi pada kondisi kekeringan, dimana gen ini memediasi kerusakan sel selama tanaman pada kondisi tercekam kekeringan (Zhu *et al.*, 2014). Selain gen *ALDH*, beberapa gen lain juga ditemukan pada kondisi kekeringan yang mampu menginduksi Jasmonic Acid (JA) yaitu *Allene Oxide Synthase (AOS)* (Pan *et al.*, 2018; XU *et al.*, 2019).

Mekanisme toleransi tanaman *S.italica* dalam menghadapi kondisi kekeringan belum banyak diteliti. Sehingga hal ini menarik untuk dikaji mekanisme toleransinya melalui penelitian yang meliputi aspek morfologi, fisiologi dan molekular yang berhubungan dengan pertumbuhan dan produksinya. Studi terbaru menunjukkan bahwa asam asetat memiliki peran yang berkaitan dengan adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan melalui sintesis asam jasmonat. Pemberian asam asetat eksogen berhasil meningkatkan toleransi kekeringan di *Arabidopsis*, jagung, padi dan tanaman gandum (Kim *et al.*, 2018). Namun dalam hal ini, studi mengenai ekspresi gen melalui jalur biosintesis asam asetat masih belum banyak dikaji. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa ekspresi gen tertentu melalui jalur asam asetat berperan penting untuk toleransi kekeringan. Menurut Utsumi *et al.*, (2019) melaporkan bahwa pemberian perlakuan asam asetat berperan dalam menunda penurunan RWC (*Relative Water Content*) pada daun tanaman yang tercekam kekeringan dan juga menunjukkan bahwa asam asetat berperan melalui pensinyalan asam jasmonat dan asam absisat (ABA) untuk merespon kekeringan.

Pada penelitian ini dilakukan modifikasi perlakuan fase awal vegetatif tanaman untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kondisi kekeringan

dengan memberikan pra perlakuan asam asetat eksogen. Diharapkan dengan adanya pra perlakuan asam asetat pada fase vegetatif *Setaria italica* untuk ketahanan tanaman dapat dijadikan sebagai dasar upaya percepatan pemuliaan tanaman pangan lokal Indonesia. Selain itu penelitian ini penting dilakukan untuk mendapatkan marka molekular yang dapat mendukung program pemuliaan tanaman.

1.2 Rumusan Masalah

Berikut rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu

1. Bagaimana pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap respon morfologi dan fisiologi beberapa aksesori tanaman jiwawut pada kondisi tercekam kekeringan ?
2. Bagaimana pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap respon molekular tanaman pada kondisi tercekam kekeringan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu

1. Mengetahui pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap beberapa aksesori tanaman jiwawut secara morfologi dan fisiologi setelah tercekam kekeringan.
2. Mengetahui pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap tanaman secara molekular setelah tercekam kekeringan.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Biji jiwawut di dapatkan dari Koleksi Pusat Penelitian Biologi LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Cibinong berupa aksesori Polman kuning (PK) dan Gambir Manis (GM).
2. Kapasitas lapang diseragamkan 100% di awal penelitian.
3. Tidak dilakukan analisis fisika dan kimia pada tanah.
4. Penelitian eksperimen dilakukan pada parameter morfologi (tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah anakan per rumpun, panjang akar) dan

fisiologi (kadar air relatif daun, total klorofil, karotenoid) serta parameter produktivitas (bobot kering malai dan bobot kering tanaman)

5. Studi literatur dilakukan pada parameter molekular yaitu ekspresi gen yang terlibat pada tanaman yang diberi perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan tidak terbatas pada tanaman jewawut melainkan tanaman C4 lainnya.

1.5 Manfaat penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu

1. Memberikan kontribusi bagi para peneliti dan program pemuliaan tanaman Jewawut (*Setaria italica*) dengan menyediakan sumber genetik tanaman Jewawut (*Setaria italica*) yang toleran cekaman kekeringan.
2. Sebagai dasar upaya percepatan pemuliaan tanaman pangan lokal Indonesia.
3. Mendapatkan informasi terkait gen-gen responsif yang dapat mendukung program pemuliaan tanaman.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi *Setaria italica*

Setaria italica atau yang lebih dikenal dengan sebutan Jewawut merupakan tanaman serealia yang didomestikasi dari tipe liar “*green millet*” (*Setaria viridis*) dari India (Lata *et al.*, 2013), merupakan makanan pokok dan pakan di beberapa wilayah Asia dan Afrika. Tanaman jewawut termasuk dalam kelas *monocotyledonae*. Adapun taksonomi tanaman jewawut adalah sebagai berikut

Regnum : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Classis : Liliopsida
Ordo : Cyperales
Familia : Poaceae
Genus : *Setaria*
Spesies : *Setaria italica* (L.)



Gambar 2.1 (A) Tanaman utuh *Setaria italica*, (B) Ligula, (C) Malai, (D) Spikelet diadopsi dari Ibrahim & Peterson, (2014)

Tanaman jewawut merupakan tanaman semusim seperti rumput, yang dapat tumbuh mencapai ketinggian 10-100 cm, batangnya tegak, dan kadang bercabang (Ibrahim & Peterson, 2014). Daun tunggal, berseling, bentuk garis atau pita, meruncing di ujung, tulang daun tengahnya menonjol dengan pelepah sepanjang 10 – 15 cm. Ligula pendek dan berjumbai. Malainya rapat, agak berambut, dan dapat mencapai panjang hingga 30 cm (lihat Gambar 2.1). Bulirnya kecil berdiameter sekitar 3 mm, warna bulir mulai dari hitam, ungu, merah hingga kecokelatan (Brink *et al.*, 2006). Biji berukuran kecil berdiameter sekitar 2- 3 mm dan berwarna coklat hingga hitam (Heuzé *et al.*, 2015). Pertumbuhan dan perkembangan Jewawut umumnya mulai berbunga sekitar 60 hari setelah disemai, dan pembungaan berlangsung selama 10-15 hari. Jewawut sebagian besar melakukan penyerbukan sendiri dengan rata-rata penyilangan 4% hibrida alami antara jenis liar dan budidaya dapat terjadi. Total durasi panen adalah 80-120 hari, meskipun beberapa kultivar hanya perlu 60 hari untuk matang. Jewawut sebagian besar telah kehilangan kemampuan penyebaran benih alami, dan menunjukkan kecenderungan kematangan tanaman yang seragam. Jewawut mengikuti jalur fotosintesis siklus-C4 (Brink *et al.*, 2006). Jewawut merupakan tanaman yang relatif tahan terhadap kekeringan, memiliki toleransi suhu sekitar 5-35⁰C, dapat tumbuh subur di tanah berpasir hingga tanah berlumpur (kecuali tanah salin) dengan pH antara 5,5 dan 8,3 (Heuzé *et al.*, 2015)

2.2 Cekaman kekeringan

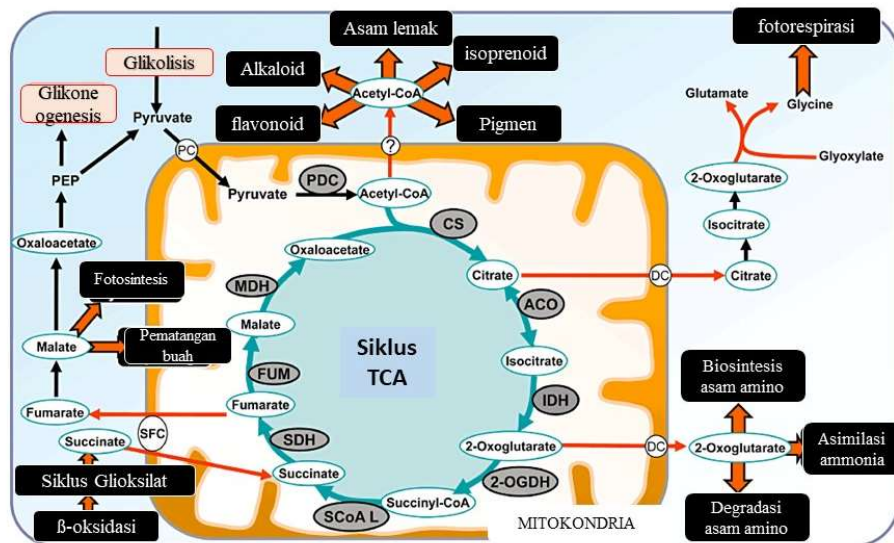
Cekaman kekeringan adalah keadaan lingkungan yang menyebabkan kekurangan air bagi tanaman. Kekeringan merupakan salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Tanaman yang mengalami kekeringan pada waktu yang lama akan mengalami perubahan – perubahan morfologi, anatomi, fisiologi, dan biokimia sehingga dapat menyebabkan kematian. Menurut Widiatmoko *et al.* (2012) dalam (Yuwariah dkk., 2019) menyatakan bahwa kekeringan disebabkan karena (1) kekurangan suplai air di daerah sistem perakaran dan (2) kebutuhan air yang berlebihan oleh daun yang dikarenakan laju evapotranspirasi lebih tinggi dibandingkan

dengan laju absorpsi air oleh akar, meskipun keadaan air tanah tersedia cukup. Apabila kondisi air jumlahnya terbatas, maka air harus dimanfaatkan secara efisien. Kebutuhan air tanaman dapat ditentukan berdasarkan nilai kandungan air pada keadaan kapasitas lapang dan nilai kandungan air pada keadaan titik layu permanen. Menurut penelitian Yuwariah *et al.*, (2019) menyatakan bahwa pemberian air 25% kapasitas lapang berpengaruh terhadap jumlah anakan per rumpun dan menyebabkan terjadi penurunan konsentrasi klorofil daun pada tanaman jiwawut.

2.3 Siklus TCA (*Tricarboxylic Acid Cycle*)

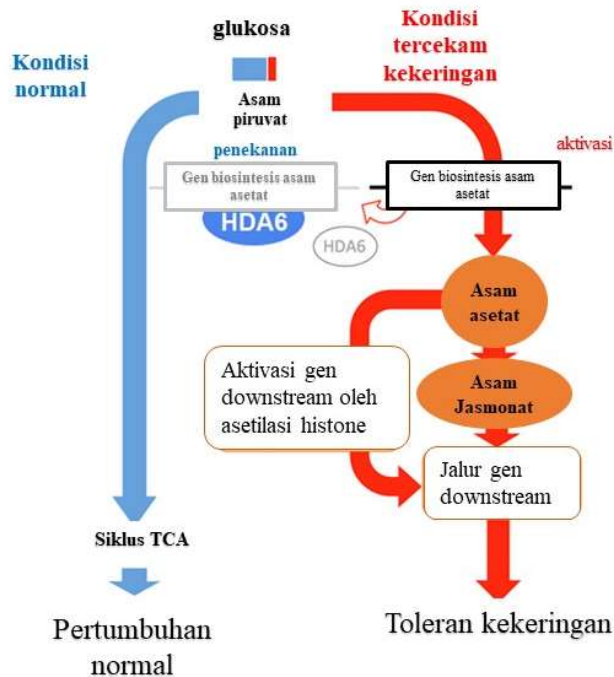
Siklus TCA merupakan suatu reaksi katabolik yang mendukung sintesis ATP, berperan sebagai komponen penting dari metabolisme pernapasan pada mitokondria (Araújo *et al.*, 2012). Peran utama mitokondria dalam sel tanaman antara lain memproduksi ATP dan berpartisipasi dalam banyak proses seluler penting lainnya seperti optimasi fotosintesis (Nunes-Nesi & Fernie, 2007) dan homeostasis dan pensinyalan redoks sel tanaman (Noctor *et al.*, 2007). Selain itu, mitokondria terlibat erat dalam produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan proses kematian sel terprogram (Logan, 2008), pengembangan bunga (Carlsson *et al.*, 2008), dan perkecambahan biji (Macherel *et al.*, 2007).

Siklus TCA terdiri dari satu set delapan enzim dalam matriks mitokondria yang menggabungkan produk oksidasi piruvat dan malat (dihasilkan dalam sitosol) menjadi CO₂ dengan generasi NADH untuk oksidasi pada saat respirasi sel (Fernie *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 Skema siklus TCA pada tanaman diadopsi dari Araújo *et al.*, (2012)

Pada tanaman, piruvat memasuki matriks mitokondria melalui pembawa piruvat yang belum teridentifikasi, yang diperkirakan akan beroperasi di dalam membran bagian dalam mitokondria. Setelah berada dalam matriks, piruvat didekarboksilasi secara oksidatif dan diubah menjadi asetil KoA melalui aksi kompleks piruvat dehidrogenase (*PDC*) mitokondria bersamaan melepaskan CO_2 dan mengurangi NAD^+ menjadi NADH (Araújo *et al.*, 2012). Enzim *PDC* dianggap sebagai titik pengaturan utama untuk fluks ke dalam siklus TCA (Gambar 2.2) dan berperan dalam proses pembungaan sebagaimana yang dikonfirmasi oleh penelitian Yui *et al.*, (2003) yang menyatakan bahwa pembungaan pada tanaman tembakau diikuti dengan penurunan level subunit E1a yang berasal dari *piruvat dehydrogenase* (*PDH*).

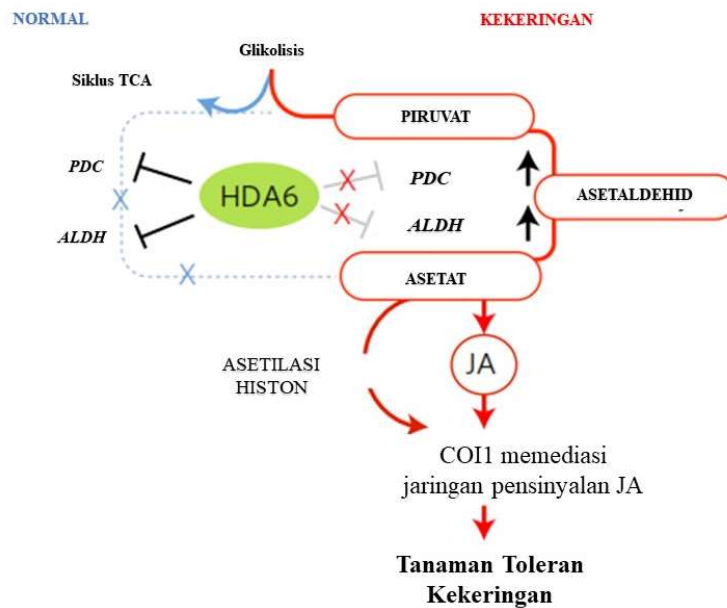


Gambar 2.3 Peranan biosintesis asam asetat dalam merespon kekeringan
(Sumber: <https://www.jst.go.jp/EN/achievements/research/bt2019-08.html>)

Selama kondisi normal ketika ada banyak kelembaban, histone deacetylase *HDA6* dari *Arabidopsis thaliana* langsung mengikat gen biosintesis asam asetat, menekan biosintesis asam asetat. Oleh karena itu, jalur metabolisme sentral berawal dari glukosa → asam piruvat → siklus TCA (siklus asam sitrat). Di sisi lain, sebagai respons terhadap kekeringan, *HDA6* melepaskan diri dari gen biosintesis asam asetat. Akibatnya, asam asetat disintesis dalam metabolisme tanaman. Asam asetat hasil sintesis menginduksi biosintesis asam jasmonat, hormon tanaman yang berfungsi sebagai respons abiotik. Asetilasi Histon yang menggunakan asam asetat sebagai substrat dapat mengaktifkan jaringan downstream gen yang berfungsi sebagai respon cekaman abiotic dan membuat tanaman lebih toleran terhadap kekeringan. Menurut penelitian (Kim *et al.*, 2018) respon stres kekeringan menggunakan mutan enzim pengubah histone berhasil mengidentifikasi mutan *Arabidopsis* histone deacetylase *HDA6* dengan toleransi kekeringan yang kuat tanpa hambatan pertumbuhan

dalam kondisi normal. Sehingga dalam hal ini menunjukkan bahwa *HDA6* memiliki peran mendasar dalam mengatur jalur respons kekeringan.

Dalam *HDA6*, asetat terakumulasi dibandingkan dengan tanaman wild type. Kelimpahan asetat berkorelasi dengan peningkatan toleransi kekeringan tanaman: pada *HDA6*, kadar asam asetat lebih tinggi daripada tanaman wild type dan kelangsungan hidup lebih meningkat, tetapi *PDC1* dan *ALDH2B7* yang kekurangan biosintesis asetat lebih sensitif terhadap kekeringan. Ini adalah indikasi pertama bahwa biosintesis asetat sangat penting untuk toleransi kekeringan tanaman. Sehingga untuk mengkonfirmasi kesimpulan ini, toleransi kekeringan tanaman dengan pretreatment dengan asam asetat eksogen perlu dilakukan. Menurut (Rasheed *et al.*, 2018) pemberian asam asetat secara eksogen pada *Arabidopsis* dapat mengaktifkan gen promotor sehingga mampu meningkatkan ekspresi gen jalur biosintesis asam asetat yang menyebabkan tanaman lebih tahan terhadap cekaman kekeringan.



Gambar 2.4 Aktivasi gen pengatur biosintesis spesifik dan jalur pensinyalan JA diadopsi dari Kim *et al.*, (2018).

Jalur biosintesis asetat yang dimediasi oleh piruvat dekarboksilase (*PDC*) dan asetaldead dehidrogenase (*ALDH*), berkorelasi dengan anoksia. *PDC*

adalah kunci utama yang memulai langkah untuk mengarahkan kembali fluks metabolik dari piruvat dalam glikolisis menjadi asetaldehida untuk proses fermentasi di bawah anoksia. *ALDH* mendetoksifikasi asetaldehida menjadi asetat dan diregulasi selama pemulihan dari anoksia.

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa *PDC* berperan pada jalur biosintesis asam asetat pada tanaman *Arabidopsis* dengan cara mengkonversikan piruvat asetaldehida dan asetaldehida yang dihasilkan diubah menjadi asam asetat oleh *ALDH2B7*. Asetaldehida juga dapat dikonversi menjadi etanol dan sebaliknya. Menurut (Rasheed *et al.*, 2018) pada *Arabidopsis*, gen *PDC1* dan *ALDH2B7* memiliki peran fungsional dalam jalur fermentasi asam asetat. *Pyruvate dehydrogenase* (PDH) mengubah piruvat menjadi enzim Acetyl-Co A (Acetyl-CoA melalui jalur PDHC, dan gen *ALDH2B7* juga mengkonversi asetaldehida yang kemudian dikonversi menjadi asetat oleh enzim *ALDH*. *ALDH* mengubah aldehida menjadi asam karboksilatnya yang sesuai dengan memanfaatkan NAD + atau NADP + sebagai kofaktor untuk menghasilkan NADH atau NADPH.

Pada tanaman, beberapa penelitian telah melaporkan pengaturan gen *ALDH* sebagai respons terhadap berbagai kondisi stress kekeringan. Ekspresi gen *ALDH* yang berlebihan dapat meningkatkan toleransi stress abiotik. Analisis qRT-PCR lebih lanjut menegaskan bahwa ekspresi *ALDH2B7* secara signifikan diatur di akar dan pucuk tanaman wild type dalam menanggapi stress kekeringan (Rasheed *et al.*, 2018). Selain itu gen *allene oxide synthase* (AOS) juga dilaporkan mampu mengkatalisasi langkah pertama dari biosintesis *Jasmonic acid* dibuktikan dengan meningkatnya ekspresi JA dalam kondisi cekaman kekeringan (Pan *et al.*, 2018).

2.4 Respon tanaman terhadap cekaman kekeringan

Respon tanaman terhadap kekeringan berawal dari respon secara fisiologi yang merupakan serangkaian proses dalam tanaman, yang diikuti oleh perubahan secara morfologi baik, sebagai mekanisme ketahanan tanaman maupun dampak dari proses akibat cekaman kekeringan. Perubahan morfologi juga berdampak terhadap perubahan proses fisiologi lanjutan, sehingga terjadi saling pengaruh antar keduanya.

Air merupakan komponen utama tanaman bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hampir sekitar 80 – 90% air membentuk bobot segar jaringan yang sedang tumbuh aktif (Taiz & Zeiger, 2003). Peranan air pada tanaman antara lain : (a) sebagai pelarut, didalamnya terdapat gas, garam, zat terlarut lainnya yang bergerak keluar masuk sel, (b) sebagai pereaksi dalam fotosintesis dan proses hidrolisis, (c) air esensial untuk menjaga tekanan turgor terutama pada pembesaran sel, pembukaan stomata dan menyangga bentuk daun muda dan struktur lainnya (Knipfer & Fricke, 2011). Setiap gram pembentukan bahan organik penyusun tanaman, rata-rata membutuhkan 500 g air yang diabsorpsi oleh akar ditransportasikan ke seluruh bagian tanaman dan selanjutnya air akan hilang ke atmosfer. Setiap tanaman harus dapat menyeimbangkan antara proses kehilangan air dan proses penyerapannya, bila proses kehilangan air tidak diimbangi dengan penyerapan melalui akar maka akan terjadi kekurangan air di dalam sel tanaman yang dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada banyak proses dalam sel tanaman (Taiz & Zeiger, 2003). Kekurangan air akan mempengaruhi pertumbuhan dan hasil tanaman karena terjadinya perubahan pada anatomi, morfologi, fisiologi, biokimia dan pada akhirnya menurunkan produktivitas tanaman.

Respon fisiologi tanaman terhadap kekurangan air adalah dengan mengurangi laju transpirasi untuk penghematan air. Kekurangan air pada daun akan menyebabkan sel-sel tanaman kehilangan turgor. Mekanisme yang dapat memperlambat laju transpirasi atau menurunkan dampak kehilangan air adalah dengan cara menutup stomata, dan memperkecil luas permukaan daun dengan penggulungan daun (Fischer *et al.*, 2003).

Menurut Akram *et al.*, (2013), kekeringan menyebabkan laju fotosintesis menurun secara signifikan pada semua tahap pertumbuhan. Kekeringan yang terjadi pada fase inisiasi malai menurunkan laju fotosintesis sebesar 30,69% dan pada fase anthesis 28%. Perubahan fisiologi yang terjadi akibat kekeringan adalah terjadinya penurunan PAR (*Photosynthetically Active Radiation*), laju fotosintesis, tingkat transpirasi, kerapatan stomata, dan degradasi pigmen. Inisiasi malai merupakan fase paling penting terjadinya perubahan fisiologis. Kekeringan pada fase inisiasi malai menyebabkan terganggunya proses

biokimia, fisiologis, dan penurunan aktivitas enzimatis dan degradasi pigmen klorofil yang terjadi melalui siklus TCA. Menurut (Araújo *et al.*, 2012) menyatakan bahwa Siklus TCA berperan dalam respirasi seluler pada tanaman salah satunya respon fisiologis yang berhubungan dengan ketahanan tanaman yang melibatkan respirasi seluler pada cekaman kekeringan, yaitu terjadinya penurunan transpirasi dengan mengurangi jumlah stomata dan meningkatkan fotosintesis dengan cara meningkatkan kandungan klorofil (Oukarroum *et al.*, 2007). Tanaman padi yang mengalami cekaman kekeringan menunjukkan gejala daun menggulung dan mengering. Gejala ini mengindikasikan bahwa daun tidak dapat melakukan aktivitas metabolisme secara normal, tidak dapat menyerap hara dan terhambatnya pembentukan klorofil daun (Banyo *et al.*, 2013).

Selain itu, penelitian Guo *et al.*, (2012) menyatakan bahwa bersamaan dengan terjadinya penurunan potensial osmotik, akumulasi prolin dan betain meningkat pada akar dan tunas. Penurunan osmotik dalam sel dapat menyebabkan tanaman mempertahankan turgor sehingga proses fisiologis dan biokimia tetap normal dalam keadaan cekaman kekeringan.

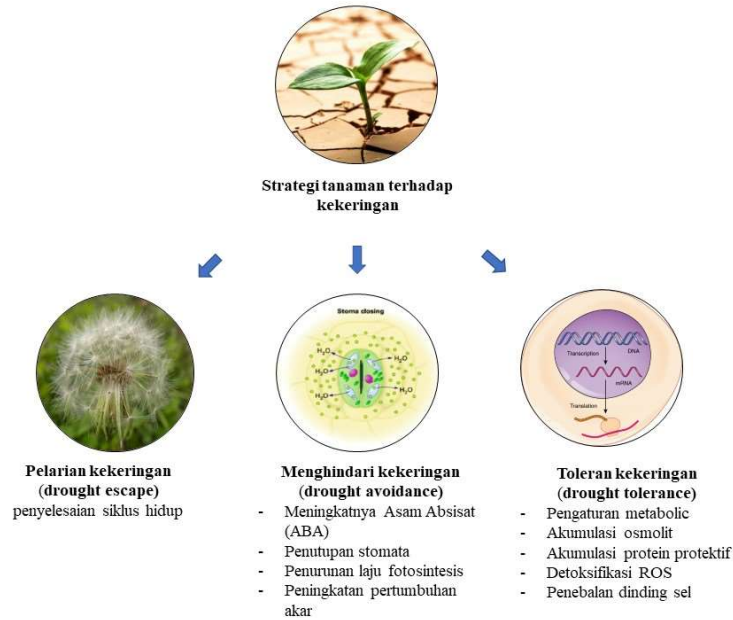
Respon fisiologis lainnya yaitu terjadi penutupan stomata pada tanaman yang disebabkan berkurangnya potensial air yang diakibatkan karena terjadinya penimbunan ABA (*abscisic acid*) (Kempa *et al.*, 2008). Namun, penutupan stomata akan menghentikan proses metabolisme penting dalam tanaman, oleh karena itu tanaman akan menjaga agar stomata tetap terbuka sebanyak mungkin (Tanaka *et al.*, 2005). Selama air cukup tersedia pada siang hari, stomata terbuka agar CO₂ dapat masuk melalui daun dan terjadi proses fotosintesis. CO₂ merupakan bahan baku penting untuk fotosintesis. Fotosintesis akan terhenti jika tidak terdapat CO₂. Terganggunya fotosintesis pada siklus TCA dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan tanaman. Hal ini merupakan salah satu penyebab utama tanaman yang tumbuh di lahan kering akan lebih kecil dari tanaman yang tumbuh di lahan dengan pasokan air yang cukup tersedia (Kondoh *et al.*, 2006). Penurunan laju fotosintesis berhubungan dengan kombinasi beberapa proses antara lain : (1) penutupan stomata secara hidroaktif mengurangi suplai CO₂ ke dalam daun, (2) dehidrasi kutikula,

dinding epidermis dan membran sel sehingga mengurangi permeabilitasnya terhadap CO₂, (3) bertambahnya tahanan mesofil terhadap pertukaran gas menyebabkan penurunan efisiensi sistem fotosintesis yang berkaitan dengan proses biokimia dan aktivitas enzim dalam sitoplasma (Perez-Martin *et al.*, 2009).

Perubahan biofisik merupakan gejala awal yang mudah dikenali melalui parameter morfologi jika tanaman mengalami cekaman kekeringan. Beberapa gejala biofisik akibat kekeringan diantaranya adalah penurunan tinggi tanaman (Abayomi, 2008), penurunan luas permukaan daun (Zubaer *et al.*, 2007), panjang akar (Comas *et al.*, 2013), dan keterlambatan waktu pembungaan (Audebert *et al.* 2013). Namun demikian, respon tanaman terhadap cekaman kekeringan berbeda-beda tergantung pada lama, intensitas cekaman, spesies tanaman dan tahap pertumbuhan tanaman (Kusvuran, 2012). Kekeringan pada fase vegetatif dan generatif menurunkan kandungan air pada daun yang kemungkinan disebabkan oleh hilangnya air melalui evapotranspirasi (Sikuku & Onyango, 2012). Pada fase generatif, fotosintat banyak dialihkan ke bagian generatif, yaitu malai dan gabah, sehingga pertumbuhan akar menjadi lebih terhambat daripada pertumbuhan bagian tajuk. Cekaman kekeringan yang terjadi pada saat fase vegetatif akan mengganggu inisiasi pengisian biji yang menyebabkan spikelet steril dan gabah hampa (Mostajeran & Rahimi-Eichi, 2009).

Seperti yang dikemukakan oleh Leder & Monda (2004) bahwa jewawut mampu tumbuh pada cekaman kekeringan, tetapi tidak toleran terhadap periode cekaman kekeringan yang panjang sebaik tanaman sorgum. Ditambahkan oleh Karyudi & Fletcher, (2003) bahwa jewawut yang mengalami cekaman kekeringan berat tidak mampu melakukan recovery karena disebabkan sistem perakaran dangkal, potensial osmotik kapasitas osmoregulasi tinggi, dan peningkatan prolin serta kalsium.

2.5 Mekanisme adaptasi terhadap cekaman kekeringan



Gambar 2.5 Strategi ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan diadopsi dari Osmolovskaya *et al.*, (2018)

Strategi tanaman dalam menghadapi kekeringan (Gambar 2.5) dapat dilakukan melalui: 1) melepaskan diri dari kekeringan, dengan cara mempercepat siklus hidup, antara lain dari gejala percepatan pembungaan, 2) menghindari kekeringan dengan cara seperti mempertahankan potensial air jaringan tetap tinggi dengan menekan kehilangan air, atau meningkatkan serapan air, serta 3) toleransi terhadap kekeringan melalui kemampuan bertahan dan pemulihan cepat akibat kekeringan melalui mekanisme perlindungan seperti daun lebih kecil, perakaran lebih dalam dan dormansi parsial (Farooq *et al.*, 2010). Lebih lanjut, diterangkan lebih komprehensif oleh Farooq *et al.*(2009) yang menyebutkan tiga mekanisme ketahanan kekeringan tanaman yaitu: 1) mekanisme morfologi, 2) mekanisme fisiologis, serta 3) mekanisme molekular terhadap kekeringan, Mekanisme ketahanan kekeringan secara morfologi berlangsung dengan cara melepaskan diri, menghindar, dan fleksibilitas fenotipe. Mekanisme fisiologis kekeringan berlangsung melalui konservasi air, pemanfaatan antioksidan, stabilitas

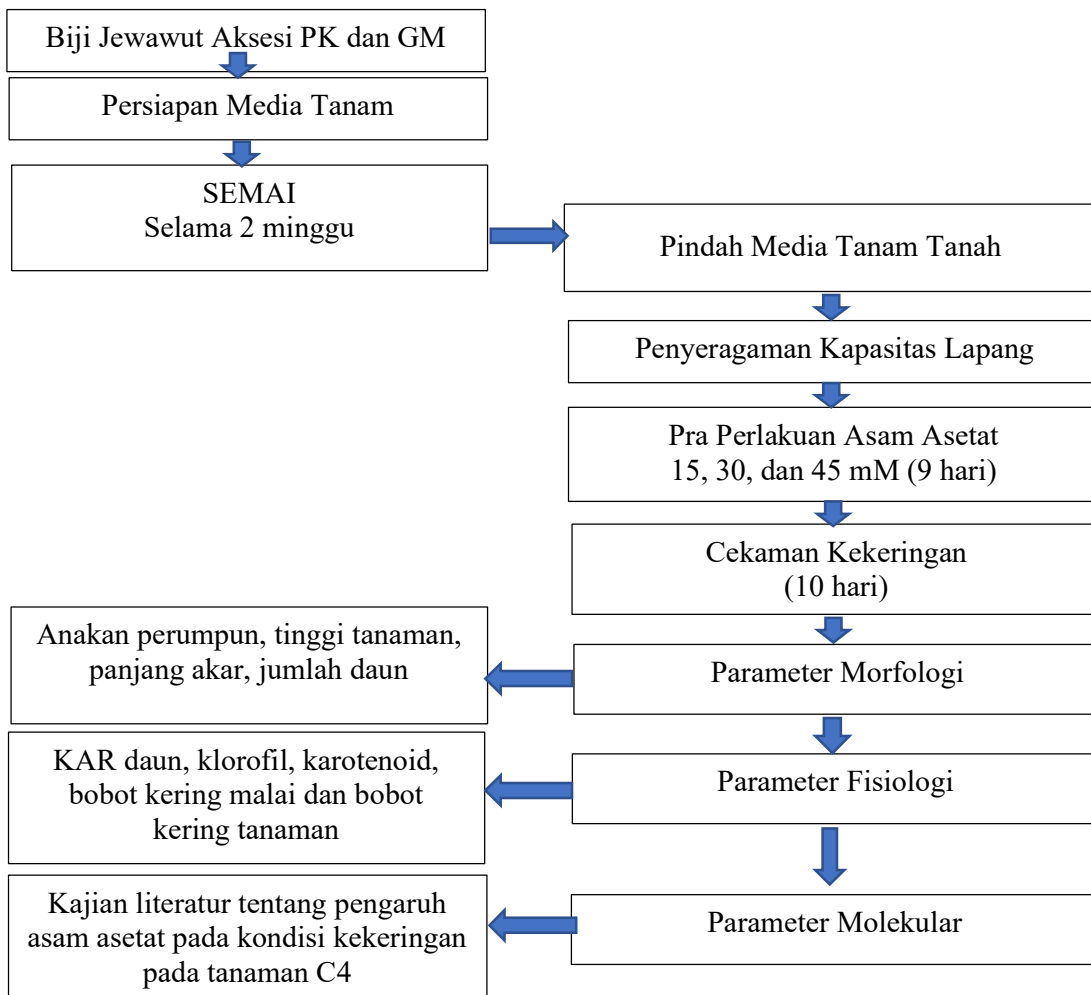
membran sel, peran zat pengatur tumbuh, serta respon osmosis dan larutan kompatibel. Selanjutnya mekanisme ketahanan secara molekular terjadi melalui protein stress, akuaporin dan sinyal yang tersusun ion atau senyawa kimia.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – April 2020 di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan Departemen Biologi dan *Urban Farming Eco Campus* Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema penelitian

3.3 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dan kualitatif. Penelitian kuantitatif merupakan penelitian yang sesuai dengan tujuan dan hipotesis penelitian yang mana subjek atau populasi penelitiannya telah ditentukan (Lapau, 2012). Sedangkan penelitian kualitatif merupakan suatu penelitian yang hasil penelitiannya tidak diperoleh melalui prosedur statistika atau metode kuantifikasi yang lain, biasanya pengumpulan data dilakukan secara studi pustaka dengan menggunakan buku-buku dan literatur penunjang (Anggito & Johan, 2018).

Pada penelitian kuantitatif dilakukan analisis eksperimen pada parameter morfologi dan fisiologi berdasarkan hipotesis dengan menggunakan data statistik kemudian di interpretasikan dalam bentuk grafik maupun tabel. Sedangkan penelitian kualitatif perlu dilakukan analisis deskriptif dengan cara studi literatur pada parameter molekular. Metode analisis deskriptif memberikan gambaran dan keterangan yang secara jelas, objektif, sistematis, analitis dan kritis tentang aspek molekular dalam penelitian ini.

3.4 Sumber Data

Sebagai penelitian kuantitatif dan kualitatif, maka sumber data ada dua macam yang akan dipaparkan sebagai berikut :

1. Sumber primer adalah suatu referensi yang dijadikan sumber utama acuan penelitian. Dalam penelitian ini, sumber primer yang digunakan merupakan data statistika dari hasil eksperimen meliputi parameter morfologi (tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah anakan per rumpun, panjang akar) dan parameter fisiologi (analisa klorofil, karotenoid, Kadar Air Relatif daun, bobot kering malai dan bobot kering tanaman).
2. Sumber sekunder adalah referensi pendukung dan pelengkap bagi sumber primer. Sumber sekunder dalam penelitian ini yaitu paper ilmiah dari penelitian Kim *et al.*, (2018), Rasheed *et al.*, (2018) dan Utsumi *et al.*, (2019)

3.5 Metode Pengumpulan Data

Dalam penelitian kualitatif, metode yang digunakan untuk mengumpulkan data penelitian berupa data-data kepustakaan yang telah dipilih, dicari, disajikan dan dianalisis. Sumber data penelitian ini mencari data-data kepustakaan yang substansinya membutuhkan tindakan pengolahan secara filosofis dan teoritis. Data yang disajikan adalah data yang berbentuk kata yang memerlukan pengolahan supaya ringkas dan sistematis. Pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan mengumpulkan buku-buku tentang parameter molekular. Kemudian dipilih, disajikan dan dianalisis serta diolah supaya ringkas dan sistematis.

Sedangkan dalam penelitian kuantitatif metode pengumpulan data dilakukan secara eksperimen dengan rincian metode sebagai berikut :

1. Persiapan Bahan Tanaman dan Media Tanam

S.italica yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas 2 aksesori Polman Kuning (PK) dan Gambir Manis (GM) yang merupakan aksesori lokal yang diperoleh dari LIPI Cibinong. Media tanam yang digunakan merupakan media tanam tanah merk trubus masing-masing polybag total 2 kg.

2. Pembibitan *Setaria italica*

S.italica di semai pada media tanah dan kompos organik (1:1 v/v) sampai berumur 2 minggu, dilakukan proses penyiraman secara rutin sesuai kapasitas lapang media tanam. Selanjutnya semaian yang berumur 2 minggu diseleksi berdasarkan ukuran yang seragam dan dipindahkan ke media tanam polybag yang berisi tanah 2 kg.

3. Penentuan Kapasitas Lapang

Disiapkan tanah sebanyak 2 kg dimasukkan polybag, dilakukan penyeragaman kapasitas lapang 100% yang dilakukan dengan cara menyiram tanah yang ada di polybag dengan air kran hingga mencapai titik jenuh tanah (tanah basah keseluruhan dan air dapat menetes) selanjutnya volume air yang digunakan untuk titik jenuh dijadikan sebagai volume penyiraman. Pada penelitian ini kapasitas lapang yang diperoleh untuk 2 kg tanah yaitu 250 mL.

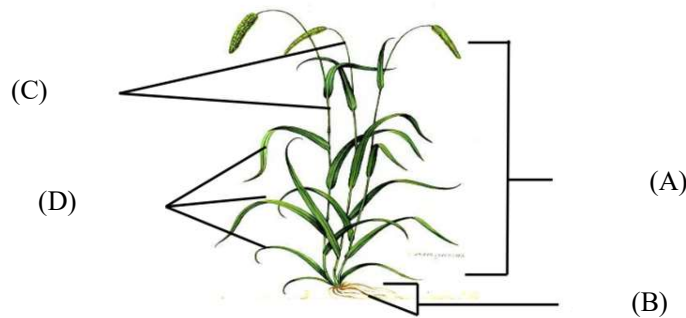
4. Perlakuan Pemberian Asam Asetat

Bibit yang berumur 4 minggu diberi perlakuan asam asetat sesuai kapasitas lapang dengan konsentrasi 15, 30, dan 45 mM pada tanah dan dibiarkan tumbuh selama 9 hari. Dilakukan hal yang sama dengan tanaman kontrol dengan penambahan air. Polybag dikondisikan dengan diberi kapilaritas. Selanjutnya setelah perlakuan pemberian asam asetat 9 hari, tanaman siap dilakukan uji cekaman kekeringan.

5. Uji Cekaman Kekeringan

Tanaman yang telah diberi perlakuan asam asetat selanjutnya tanaman itu dicekam kekeringan atau tanpa penyiraman selama 10 hari.

6. Pengamatan Morfologi



Gambar 3.2 Morfologi pertumbuhan *Setaria italica* yaitu (A) tinggi tanaman, (B) akar, (C) jumlah anakan per rumpun, dan (D) jumlah daun.

a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur mulai dari permukaan tanah hingga ujung daun terpanjang. Tinggi tanaman diamati setelah perlakuan cekaman kekeringan selesai.

b. Panjang akar (cm)

Panjang akar diukur dari pangkal sampai dengan ujung akar terpanjang. Panjang akar diamati setelah perlakuan cekaman kekeringan selesai.

c. Jumlah anakan per rumpun

Jumlah anakan per rumpun dihitung setelah perlakuan cekaman kekeringan selesai.

d. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung keseluruhan daun per tanaman. Jumlah daun diamati setelah perlakuan cekaman kekeringan selesai.

7. Pengamatan Fisiologi

Pengamatan parameter fisiologi dilakukan setelah perlakuan cekaman kekeringan sebagai berikut :

a. Analisa Kadar Air Relatif (KAR) Daun

Penetapan KAR daun metode Slatyer dan Barrs (1965) dalam Hapsah, Yahya, Oelim, & Purwoko, (2006) sebagai berikut: sembilan buah contoh daun ukuran 1 cm² ditimbang bobot segarnya, kemudian direndam selama 4 jam. Selanjutnya, ditimbang bobot turgid daun, dan terakhir dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 70°C, dan ditimbang bobot keringnya. Berikut rumus perhitungan kadar air relatif (KAR)

$$KAR = \frac{\text{bobot segar} - \text{bobot kering}}{\text{bobot turgid} - \text{bobot kering}} \times 100\%$$

b. Analisa Kandungan Klorofil dan Karotenoid

Disiapkan sampel daun segar 1 gram diambil dari lahan, dicuci bersih dengan aquades. Disiapkan mortar dan pelarut aseton 80% sebanyak 100 ml. Selanjutnya dibuat ekstraksi sampel daun menggunakan pelarut aseton 80% dengan cara digerus hingga larut. Sampel yang sudah homogen di letakkan ditempat gelap selama 12 jam. Diambil bagian supernatan kemudian dimasukkan kedalam kuvet. Untuk kandungan klorofil diukur absorbansi (O.D) dengan spektrofotometri pada ukuran 645 dan 663 nm (Rajput & Patil, 2017), sedangkan untuk karotenoid diukur absorbansi (O.D) dengan spektrofotometri pada ukuran 480 dan 510 nm. Dihitung Kadar klorofil dan karotenoid dengan rumus berikut :

$$\text{Klorofil-a (mg/g berat segar)} = \frac{12.7 (A663) - 2.69 (A645) \times V}{1000} \cdot W$$

$$\text{Klorofil-b (mg/g berat segar)} = \frac{22.9 (A645) - 4.68 (A663) \times V}{1000} \cdot W$$

$$\text{Total klorofil (mg/g berat segar)} = \frac{20.2 (A645) + 8.02 (A663) \times V}{1000} \cdot W$$

$$\text{Karotenoid (mg/g berat segar)} = \frac{7.4 (A480) + 1.49 (A510) \times V}{1000} \cdot W$$

Keterangan :

A = Absorbansi pada gelombang spesifik

V = volume terakhir dari ekstrak klorofil dalam aseton 80%

W = berat segar jaringan yang diekstrak (gram)

c. Parameter Produktifitas (bobot kering malai dan bobot kering tanaman)

Pengamatan parameter produktifitas dilakukan setelah perlakuan cekaman kekeringan dengan cara panen bagian malai dan bagian tanaman yaitu daun, batang, dan akar. Selanjutnya hasil panen di oven selama 5 hari dan dilakukan penimbangan untuk mendapatkan bobot kering tanaman dan bobot kering malai.

3.6 Teknik Analisis Data

Analisis adalah serangkaian upaya sederhana tentang bagaimana data penelitian dikembangkan dan diolah ke dalam kerangka kerja sederhana. Data yang sudah terkumpul kemudian dianalisis untuk mendapatkan informasi.

Pada penelitian kuantitatif, penelitian ini dirancang dan dilaksanakan dengan metode rancangan factorial dalam rancangan acak lengkap (RAL). Sedangkan factor yang diamati terdiri atas 2 faktor. Faktor pertama adalah aksesori terdiri atas 2 taraf yaitu aksesori Gambir manis (GM) dan aksesori Polman kuning (PK). Faktor kedua adalah perlakuan asam asetat terdiri atas 4 taraf yaitu konsentrasi 0, 15, 30, dan 45 mM. Data morfo-fisiologi yang di peroleh dianalisis dengan *Annova two way* pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

Sedangkan pada penelitian kualitatif digunakan teknik analisis data berupa analisis isi (*content analysis*). Analisis isi merupakan analisis ilmiah tentang isi

pesan suatu data dari berbagai literatur. Sehingga analisis isi dapat dijadikan sebagai bahan analisis dan komparatif terhadap data molekular tentang cekaman kekeringan. Data analisis isi merupakan data sekunder, sehingga dapat diketahui makna, kedudukan dan hubungan aspek molekular yang berkaitan dengan aspek morfologi dan fisiologi dalam penelitian ini.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pra Perlakuan Asam Asetat terhadap morfologi tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan

Penelitian ini dilakukan pada 2 aksesori tanaman jiwawut (*Setaria italica*) yaitu Gambir Manis (GM) dan Polman Kuning (PK). Pemberian pra perlakuan asam asetat sebesar 45 mM, 30 mM, dan 15 mM dilakukan ketika tanaman jiwawut berumur 35 HST (Hari Setelah Tanam) selama 9 hari. Selanjutnya tanaman tersebut dicekam kekeringan selama 10 hari. Analisis *two way* ANNOVA menunjukkan bahwa pra perlakuan asam asetat dan jenis aksesori tanaman jiwawut berpengaruh (*p value* < 0.05) terhadap parameter morfologi yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun dan panjang akar. Hasil tersebut kemudian dilakukan uji lanjut *Tukey* (Tabel 4.1). Respon yang berbeda ditunjukkan pada parameter jumlah anakan per rumpun. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan tidak berpengaruh terhadap jumlah anakan per rumpun (Lampiran 5).

Tabel 4.1. Pengaruh pra perlakuan asam asetat terhadap morfologi tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan berdasarkan uji *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95% ± standar deviasi

Perlakuan asam asetat	Rata-rata ± standar deviasi					
	Tinggi tanaman (cm)		Jumlah daun (helai)		Panjang akar (cm)	
	GM	PK	GM	PK	GM	PK
Kontrol	131,6 ± 2,89 ^d	168,3 ± 2,89 ^b	17 ± 1,0 ^a	11,3 ± 1,2 ^c	36 ± 1 ^c	30 ± 0 ^d
0 mM	105,3 ± 6,11 ^e	146,6 ± 4,04 ^c	13,6 ± 0,58 ^b	11 ± 1,0 ^c	46,6 ± 2,89 ^a	40 ± 0 ^b
15 mM	98,3 ± 0,58 ^{ef}	180,6 ± 6,66 ^a	10,3 ± 0,58 ^c	11,3 ± 0,58 ^c	37 ± 1,41 ^{bc}	39,3 ± 1,2 ^{bc}
30 mM	98 ± 2 ^{ef}	149 ± 1,73 ^c	10,6 ± 0,58 ^c	9,6 ± 0,58 ^c	30,3 ± 0,58 ^d	25,3 ± 0,6 ^c
45 mM	93,6 ± 2,89 ^f	122,3 ± 4,04 ^d	10 ± 0 ^e	10,6 ± 0,58 ^c	25 ± 0 ^e	24 ± 0 ^e

Keterangan : angka dengan huruf notasi yang sama pada uji *Tukey* tidak berbeda nyata

a. Tinggi tanaman

Tanaman jiwawut yang diberi pra perlakuan asam asetat sebesar 0, mM, 45 mM, 30 mM, dan 15 mM selama 9 hari dan dicekam kekeringan 10 hari, hasil penelitian menunjukkan bahwa tinggi tanaman pada kedua aksesori saat umur 54

HST (Hari Setelah Tanam) sangat beragam, yakni berkisar antara 93,6 – 168,3 cm. Hal ini sesuai dengan penelitian Yu Li, dkk., (1995) dalam Miswanti dkk (2015) yang menyatakan bahwa tinggi tanaman jiwawut berbeda - beda seperti jiwawut yang tertinggi diperoleh dari Fujian sebesar 170,9 cm dan jiwawut asal Finland sebesar 70 cm. Berdasarkan hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa tinggi tanaman berbeda nyata. Semakin tinggi konsentrasi asam asetat, tinggi tanaman mengalami penurunan yang signifikan terutama pada aksesori GM. Sedangkan pada aksesori PK tinggi tanaman yang dicekam kekeringan tanpa pra perlakuan asam asetat (0 mM) relatif sama dengan perlakuan 30 mM. Menariknya tinggi tanaman control pada aksesori GM relatif sama dengan aksesori PK pada konsentrasi asam asetat 45 mM diduga hal ini disebabkan adanya perbedaan sensitivitas pada tiap aksesori dan pengaruh dari asam asetat terhadap fisiologis tanaman. Asam asetat diduga menginduksi biosintesis ABA dan JA, hormon tanaman yang berfungsi sebagai respons abiotik. Menurut Kim *et al.*, (2018) pemberian asam asetat eksogen mampu meningkatkan toleransi cekaman kekeringan melalui jalur asam jasmonat dan asetilasi histon H4. Asetilasi Histon yang menggunakan asam asetat sebagai substrat dapat mengaktifkan jaringan downstream gen yang berfungsi sebagai respon cekaman abiotik dan membuat tanaman lebih toleran terhadap kekeringan. Menurut Sikuku & Onyango (2012) sebagai respon adaptif tanaman terhadap cekaman kekeringan atau defisit air menyebabkan terjadinya penurunan tekanan turgor yang mempengaruhi pembelahan dan ekspansi sel. Hilangnya turgiditas sel akan menghambat pembelahan dan perkembangan sel. Ekspansi sel (pembesaran sel) membutuhkan tekanan turgor untuk memperpanjang dinding sel dan gradien dalam potensial air berfungsi untuk membawa air dalam sel akan tetapi jika tanaman mengalami defisit air, maka dapat menekan ekspansi sel dan pertumbuhan sel karena tekanan turgor yang rendah. Sehingga pertumbuhan tanaman dapat terganggu. Selain itu pada kondisi stres osmotik juga terjadi penghambatan hormon sitokinin yang berperan dalam pembelahan dan perkembangan sel (Li *et al.*, 2019). Hal ini sesuai dengan penelitian Rahman *et al.*, (2019) menyatakan bahwa penurunan tinggi tanaman terjadi pada *Zea mays* yang diberi perlakuan asam asetat konsentrasi 38 mM.

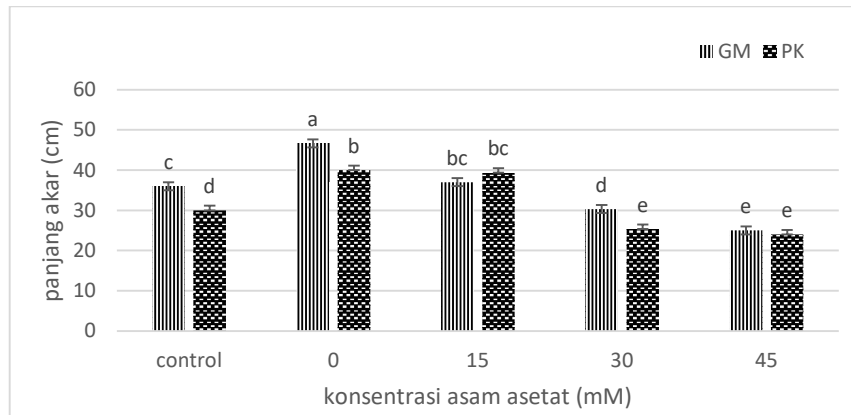
b. Jumlah daun

Pada pengamatan jumlah daun saat umur 54 HST, berdasarkan uji *Tukey* menunjukkan bahwa ada perbedaan pada perlakuan kontrol dan 0 mM. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi cekaman kekeringan menyebabkan penurunan jumlah daun yang signifikan dibandingkan kontrol diduga hal ini sebagai respon untuk mengurangi laju transpirasi pada daun. Sedangkan pada pra perlakuan asam asetat jumlah daun tidak berbeda nyata, namun secara fenotip terlihat ada perbedaan daun tampak layu jika dibandingkan dengan kontrol diduga pra perlakuan asam asetat menginduksi ABA yang berperan dalam penutupan stomata pada daun. Daun berfungsi sebagai organ fotosintesis yang bertugas untuk menghasilkan fotosintat dan melakukan distribusi ke seluruh bagian tanaman. Semakin banyak jumlah daun, maka semakin banyak cahaya yang diserap untuk proses fotosintesis. Menurut Basu *et al.*, (2016) cekaman kekeringan dapat mengurangi fotosintesis dengan mengurangi luas daun dan laju fotosintesis per satuan luas daun. Berkurangnya laju fotosintesis dapat terjadi karena adanya induksi ABA yang memicu penutupan stomata, sehingga asimilasi CO₂ berkurang mengakibatkan produksi ROS yang dapat merusak perangkat fotosintesis (Laxa *et al.*, 2019). Penelitian Rahman *et al.*, (2019) menyatakan bahwa asam asetat berperan dalam melindungi pigmen fotosintesis dan mengurangi induksi kerusakan oksidatif dari akumulasi ROS. Hal ini juga didukung oleh penelitian Utsumi *et al.*, (2019) bahwa perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan dapat meningkatkan berbagai gen responsif ABA.

c. Panjang Akar

Pengamatan panjang akar dilakukan pada tiga bibit per ulangan tiap konsentrasi asam asetat pada umur 54 HST. Berdasarkan analisa *Tukey* menunjukkan bahwa panjang akar berbeda nyata. Panjang akar pada kedua aksesori saat umur 54 HST sangat beragam, yakni berkisar antara 24 – 46,6 cm (Tabel 4.1). Berdasarkan data hasil pengamatan menunjukkan bahwa akar terpanjang yaitu 46,4 cm dan 40 cm ada pada perlakuan 0 mM kedua aksesori. Hal ini

menunjukkan bahwa pada kondisi tercekam kekeringan terjadi peningkatan panjang akar dan juga terlihat perbedaan bentuk akar pada tiap aksesori (Gambar 4.2).



Gambar 4.1 Hasil pengamatan pra perlakuan asam asetat terhadap panjang akar tanaman jowarut pada kondisi kekeringan

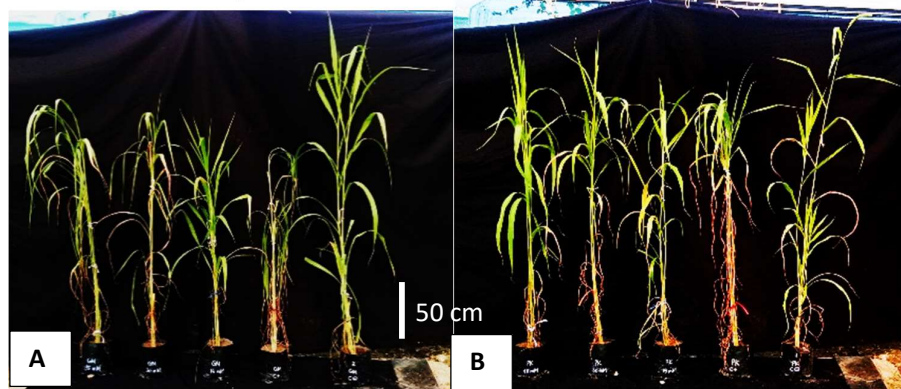


Gambar 4.2 Bentuk akar tanaman jowarut (A) aksesori GM (B) aksesori PK dengan pra perlakuan asam asetat konsentrasi 45 mM , 30 mM, 15 mM, 0 mM, dan kontrol (kiri-kanan) kondisi kekeringan

Selain itu semakin tinggi konsentrasi asam asetat menyebabkan pertumbuhan akar semakin terhambat sehingga akar lebih pendek, penurunan panjang akar ini mengindikasikan bahwa konsentrasi asam asetat yang terlalu tinggi akan menghambat pertumbuhan akar. Namun meskipun demikian terlihat bentuk akar lebih mengarah ke pertumbuhan akar lateral. Bentuk akar pada aksesori GM dan PK juga terlihat sangat berbeda, diduga dipengaruhi oleh genotype tanaman tersebut. Menurut beberapa penelitian hambatan pertumbuhan akar akibat cekaman kekeringan telah dilaporkan pada tanaman jagung (Efendi *et al.* 2010; Qayyum *et al.* 2012), padi (Nio *et al.* 2010), dan gandum (Dhanda *et al.*

2004). Menariknya pada aksesi GM panjang akar perlakuan kontrol relatif sama dengan perlakuan asam asetat 15 mM. Hal ini diduga pra perlakuan asam asetat dapat meminimalkan efek penghambatan terhadap panjang akar melalui biosintesis asam jasmonat. Asam jasmonat merupakan fitohormon memainkan peran penting, diantaranya berperan dalam respon abiotik dan menghambat panjang akar (Liu *et al.*, 2012). Hasil penelitian ini sesuai dengan Matsura *et al.*, (1996) dalam Beyene *et al.*, (2015) yang melaporkan bahwa panjang akar meningkat pada sorghum dan millet pada kondisi cekaman kekeringan. Hal ini menunjukkan bahwa variasi karakter akar selain ditentukan oleh lingkungan tumbuh juga diduga ditentukan oleh faktor genetik dan perlakuan asam asetat. Asam asetat berpotensi meningkatkan penyerapan Ca^{2+} dan Mg^{2+} , serta meningkatkan efisiensi penggunaan air (Rahman *et al.*, 2019).

4.2 Pengaruh Pra Perlakuan Asam Asetat terhadap fisiologi tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan

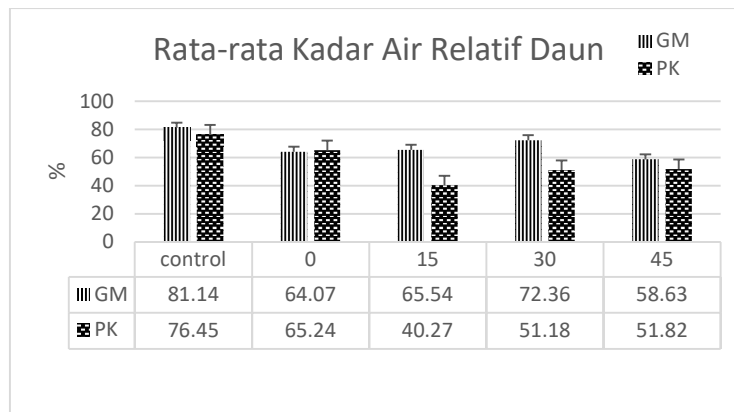


Gambar 4.3 Efek pra perlakuan asam asetat pada tanaman jiwawut (A) aksesi GM (B) aksesi PK dengan konsentrasi asam asetat 45 mM , 30 mM, 15 mM, 0 mM, dan kontrol (kiri-kanan) pada kondisi kekeringan

Berdasarkan hasil pengamatan secara visual pada saat tanaman jiwawut usia 54 HST, untuk menentukan efek perlakuan asam asetat terhadap fisiologis tanaman jiwawut pada kondisi kekeringan, daun ke empat dari bagian atas dipilih untuk pengukuran kadar air relatif (KAR) daun, total klorofil dan total karotenoid karena daun pada jiwawut yang diberikan cekaman kekeringan menunjukkan daun mengering dimulai dari bagian bawah keatas batang. Hasil menunjukkan

bahwa tanaman yang diberi perlakuan asam asetat 30 mM mampu mempertahankan KAR daun lebih baik, relatif sama terhadap tanaman kontrol (Gambar 4.3A-B). Hal ini sesuai dengan penelitian Doran (1928) menyatakan bahwa pemberian asam asetat dengan konsentrasi terendah pada tanaman mampu menekan tingkat kelayuan daun tanaman. Pengaruh cekaman kekeringan pada tanaman jiwawut pada penelitian ini ditandai dengan proses pelayuan daun sejak hari ke 7-10 saat dicekam kekeringan. Proses pelayuan ini menyebabkan terjadinya penggulungan daun pada kedua aksesori yang merupakan salah satu mekanisme tanaman menghindari cekaman kekeringan (Fang & Xiong, 2015). Selama cekaman kekeringan, laju pertumbuhan dan perkembangan daun muda terhambat dan mempercepat terjadinya proses senesen (penuaan daun) yang bertujuan untuk mengurangi laju transpirasi pada daun (Yang *et al.*, 2002). Menurut Biswas dan Mondal (1986) dalam Faozi dkk (2006) senesen daun juga dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa klorofil dan protein daun. Selain menyebabkan senesen pada daun, cekaman kekeringan juga mempengaruhi KAR daun. Berikut hasil penelitian pada parameter KAR daun (Gambar 4.6).

a. Kadar Air Relatif Daun

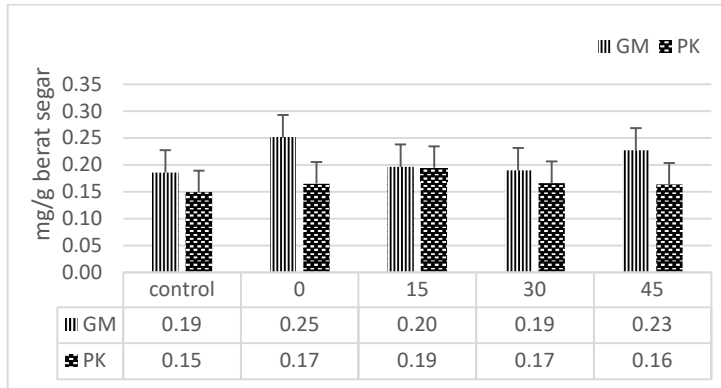


Gambar 4.4 Hasil pengamatan KAR daun tanaman jiwawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan

Jiwawut memiliki sensitivitas terhadap kekeringan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat variasi rerata penurunan KAR. Kadar air relatif (KAR) daun merupakan ukuran dari status air pada tanaman sebagai konsekuensi fisiologis terhadap kadar air tanah (Moaveni, 2011). KAR daun berkaitan dengan

kemampuan penyerapan air lebih banyak dari tanah dan kemampuan tanaman untuk mengontrol kehilangan air melalui stomata (Elviwirda et al. 2016). Selain itu adanya penurunan KAR daun menggambarkan adanya perubahan potensial osmotik, laju transpirasi dan absorpsi air dari dalam tanah pada kondisi kekeringan (Utsumi *et al.*, 2019). Berdasarkan analisa Anova menunjukkan bahwa KAR daun tanaman jewawut kedua aksesori dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan tidak berbeda nyata. Menariknya pada pra perlakuan asam asetat 30 mM memiliki KAR daun relative sama dibanding kontrol hal ini diduga KAR mampu mempertahankan KAR daun pada konsentrasi tersebut pada kondisi kekeringan. Menurut penelitian Rasheed *et al.*, (2018) pada tanaman singkong, RWC (*Relative Water Content*) daun tidak berubah dalam kondisi non-stres, sedangkan pada kelompok yang diberi perlakuan asam asetat relatif sama terhadap kelompok kontrol. RWC daun pada tanaman singkong yang diberi perlakuan asam asetat secara signifikan lebih tinggi daripada kontrol pada hari ke 6, tetapi tidak pada hari ke 4 setelah dicekam kekeringan. Laju fotosintesis, konduktansi stomata, dan laju transpirasi dalam tanaman yang diberi asam asetat menurun secara signifikan setelah 7 hari perlakuan asam asetat dibandingkan dengan control. Sehingga dapat dinyatakan bahwa perlakuan asam asetat berkaitan dengan mekanisme pertahanan status air pada tanaman. Menurut Bao *et al.*, (2000) pada kondisi normal Asetat endogen pada tanaman dapat mencapai konsentrasi sekitar 1,4 mM, dan asetat pada konsentrasi ini dapat bertindak sebagai sumber karbon dalam menyediakan bioenergi untuk pertumbuhan tanaman. Konsisten dengan penelitian ini, penelitian terbaru telah mengungkapkan bahwa perlakuan dengan asam asetat dapat menginduksi akumulasi ABA, selanjutnya akumulasi hormon tersebut meregulasi penutupan stomata dan menurunkan laju transpirasi sebagai mekanisme pertahanan ketika tercekam kekeringan (Kim *et al.*, 2017). Untuk mengetahui pengaruh pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan lebih lanjut, pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan pada pigmen fotosintesis yaitu klorofil dan karotenoid. Hal ini dikarenakan pada kondisi kekeringan tanaman akan mempertahankan proses fotosintesis dengan menghasilkan senyawa antioksidan untuk mengurangi dampak dari ROS (*Reactive Oxygen Spesies*).

b. Total Klorofil



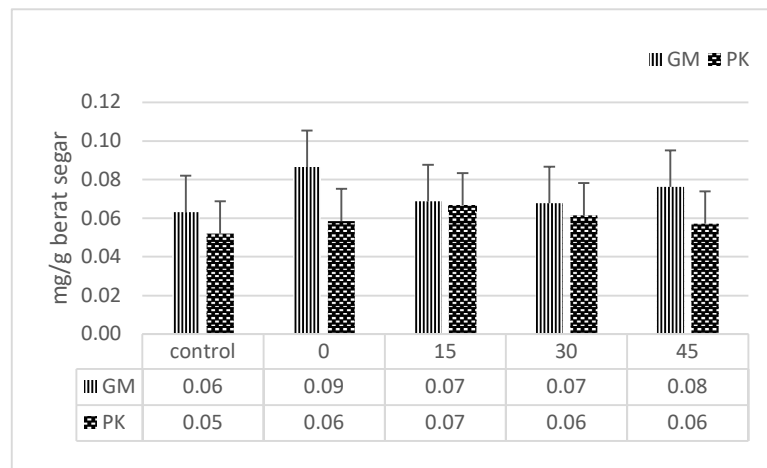
Gambar 4.5 Hasil pengamatan total klorofil tanaman jiwawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan

Dari hasil analisa Annova pada kedua aksesi saat umur 54 HST menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata pada parameter total klorofil. Berdasarkan selisih rata-rata total klorofil terlihat bahwa penurunan total klorofil tertinggi ada pada aksesi perlakuan 15 mM relatif sama dengan perlakuan kontrol yaitu 0,6 mg/g berat segar. Hasil ini menunjukkan bahwa efek negatif dari kekeringan pada pigmen fotosintesis diduga dapat diminimalkan oleh perlakuan asam asetat. Menurut Rasheed *et al.*, (2018) tingkat total klorofil dan karotenoid tidak berubah dalam kondisi tidak stres dan setelah 4 hari kekeringan. Namun, setelah 6 hari kekeringan, kadar total klorofil dan karotenoid menurun pada tanaman kontrol yang diolah air tetapi tidak pada tanaman yang diolah asam asetat. Hasil ini konsisten dengan data KAR daun dan fenotip layu daun pada perlakuan asam asetat 15 mM. Menurut penelitian Paul Ajithkumar & Panneerselvam (2013), juga menyatakan bahwa pigmen fotosintesis klorofil berkurang dengan adanya stres kekeringan. Tingkat klorofil yang menurun atau tidak berubah selama cekaman kekeringan tergantung pada durasi dan tingkat kekeringan. Penurunan total klorofil pada kondisi kekeringan menyiratkan kapasitas yang lebih rendah untuk menangkap cahaya, karena produksi ROS

terutama didorong oleh penyerapan energi berlebih pada proses fotosintesis, sehingga hal ini dapat dihindari dengan menurunkan pigmen penyerap (Mafakheri *et al.*, 2010). Menurut Cui *et al.*, (2016) dan Gürel *et al.*, (2016) tanaman mengatasi stres melalui berbagai mekanisme diantaranya penyesuaian osmotik, akumulasi protein pelindung, dan sistem pertahanan antioksidan.

Millet (jewawut) merupakan tanaman C4, penting bagi tanaman C4 melakukan fiksasi karbon melalui fotosintesis (Lata, Gupta & Prasad, 2013). Namun, cekaman kekeringan dapat mengubah lingkungan intraseluler yang mengakibatkan penurunan laju transfer elektron, pemutusan fosforilasi fotosintesis, peningkatan hidrolisis, dan berkurangnya biosintesis klorofil dan aktivitas enzim fotosintesis (Shi *et al.*, 2018). Proses fotosintesis terjadi di kloroplas, cekaman kekeringan dapat merusak permeabilitas membran plasma (Kasim *et al.*, 2015). Hal ini dikarenakan kloroplas merupakan organel pusat yang menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS), sehingga jika terjadi akumulasi ROS di dalam kloroplas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif dan menghambat fotosintesis (Gollan, Tikkanen & Aro, 2015).

c. Karotenoid



Gambar 4.6 Hasil pengamatan karotenoid tanaman jewawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan

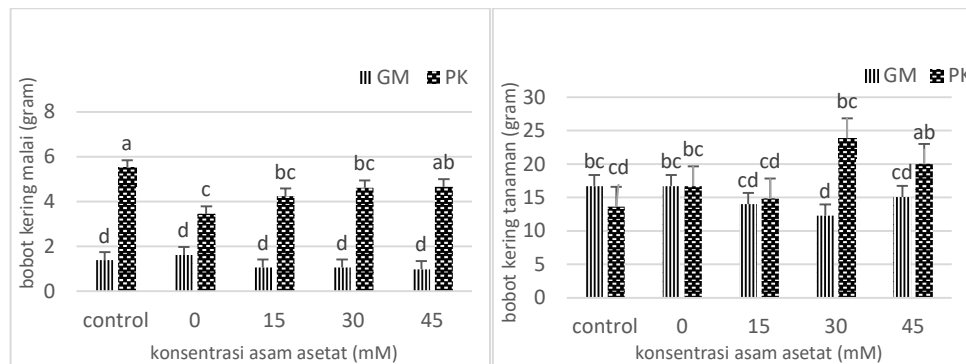
Pada hasil analisa Anova menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pada parameter karotenoid. Berdasarkan selisih rata-rata karotenoid terlihat bahwa

peningkatan karotenoid tertinggi ada pada perlakuan 0 mM relatif sama dengan perlakuan 45 mM yaitu 0,02 mg/g berat segar. Hal ini dikarenakan karotenoid berperan sebagai antioksidan non-enzimatis (Mattos and Celso, 2015). Selain itu perlakuan asam asetat juga berfungsi untuk meningkatkan aktivitas katalase, enzim yang berperan dalam mempercepat penguraian H₂O₂ menjadi air dan oksigen (Rahman *et al.*, 2019). Hal ini didukung oleh penelitian Utsumi *et al.* (2019) menyatakan bahwa terjadi peningkatan gen *CAT* yang berperan dalam mengatur aktivitas antioksidan, seperti menjaga stabilitas kandungan hydrogen peroksida yang berlebihan bersifat toksik pada tanaman. Karotenoid merupakan kelas molekul antioksidan lipofilik yang terdapat pada tanaman, alga, dan mikroorganisme (Patias *et al.*, 2017). Dalam penelitian yang melibatkan spesies cyanobacterial, Patias *et al.* (2017) berhasil membuktikan ekstrak karotenoid yang merupakan antioksidan memiliki kemampuan menangkap radikal peroksil. Selain itu pada tanaman tembakau transgenic dengan over ekspresi gen *carotenoid e-hydroxylase (SILUTI)* mampu meningkatkan toleransi stres kekeringan dengan mempertahankan fotosintesis serta penanganan ROS (Wang *et al.*, 2018).

Pada tanaman, karoten biasanya menyerap cahaya diantara 400 dan 550 nm dari spektrum yang terlihat dan meneruskan energi yang ditangkap ke Chl (Durchan *et al.*, 2012). Sebagai antioksidan, karoten menangkap ¹O₂ untuk menghambat kerusakan oksidatif dan quench triplet sensitizer (3Chl *) dan molekul chlorophyll (Chl*) yang berperan mencegah pembentukan ¹O₂ untuk melindungi apparatus fotosintesis. Karotenoid bertindak sebagai prekursor bagi molekul pensinyalan yang memengaruhi perkembangan tanaman dan respons stres biotik / abiotik. Kapasitas karotenoid untuk menangkap, mencegah atau mengurangi produksi klorofil triplet dapat dipertimbangkan oleh kekhususan kimianya (Edreva, 2005). Di antara antioksidan yang ada dalam kloroplas, karoten dianggap sebagai garis pertahanan pertama tanaman terhadap toksisitas ¹O₂ dan selain itu, produk yang dihasilkan dari oksidasi langsung oleh ¹O₂ juga sangat berpotensi sebagai antioksidan (Triantaphylidès and Havaux, 2009). Karotenoid selain sebagai pigmen juga membantu pertahanan tanaman pada kondisi kekeringan. Meskipun sistem pertahanan antioksidan terganggu dalam kondisi

stres, tanaman mampu melepaskan energi berlebihan dengan pembuangan panas yang terkait dengan peningkatan konsentrasi karotenoid pada tanaman yang tercekam (Mattos and Celso, 2015). Dengan demikian, dianggap bahwa peran antioksidan dan pigmen karotenoid dalam mengatur transpor elektron fotosintesis sangat penting (Ma *et al.*, 2013).

d. Bobot Kering Malai dan Bobot Kering Tanaman



Gambar 4.7 Hasil pengamatan bobot kering malai dan bobot kering tanaman jiwawut dengan pra perlakuan asam asetat pada kondisi kekeringan

Pada penelitian ini juga diamati parameter produksi melalui bobot kering malai. Malai dipanen saat umur 54 HST, berdasarkan hasil uji *Tukey* menunjukkan bahwa bobot kering malai berbeda nyata antara kontrol dengan konsentrasi asam asetat 45 mM (Gambar 4.7), relatif konsisten dengan bobot kering tanaman pada perlakuan kontrol dan 45 mM. Selain itu pada tanaman yang diberi pra perlakuan asam asetat tampak terlihat penurunan bobot bentuk malai. Diduga perbedaan bentuk dikarenakan genotip yang berbeda dan pemberian asam asetat diduga berpengaruh terhadap proses pertumbuhan biji pada saat fase reproduktif tanaman jiwawut selama kondisi kekeringan. Perbedaan bobot kering malai antar aksesori berkaitan dengan jumlah anakan yang aktif (Miswanti dkk, 2015). Bobot kering malai aksesori GM lebih rendah dibandingkan aksesori PK. Hal ini dikarenakan pada aksesori GM tidak tumbuh anakan per rumpun sama sekali. Selain itu adanya perbedaan tersebut kemungkinan juga disebabkan cekaman kekeringan. Ketersediaan air di dalam tanah merupakan salah satu faktor lingkungan abiotik yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman. Kekurangan air akan mempengaruhi pertumbuhan dan hasil tanaman

karena terjadinya perubahan pada anatomi, morfologi, fisiologi, biokimia dan pada akhirnya menurunkan produktivitas tanaman.



Gambar 4.8 Bentuk malai tanaman jiwawut (A) Aksesori GM (B) Aksesori PK dengan pra perlakuan asam asetat konsentrasi 45 mM, 30 mM, 15 mM, 0 mM, dan kontrol (kiri-kanan) pada kondisi kekeringan.

Bobot kering merupakan parameter pertumbuhan yang baik untuk mengamati pengaruh cekaman kekeringan. Bobot kering merupakan akumulasi fotosintat tanaman selama pertumbuhannya. Penurunan bobot kering ini mungkin terkait dengan penurunan laju fotosintesis pada kedua aksesori selama periode cekaman kekeringan. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan transpor hara dan distribusi fotosintat ke seluruh bagian tanaman akibat penurunan kadar air media sehingga mempengaruhi proses transpor hara dan distribusi fotosintat. Pada fase generatif, fotosintat banyak dialihkan ke bagian generatif, yaitu malai dan gabah, sehingga pertumbuhan akar menjadi lebih terhambat daripada pertumbuhan bagian tajuk. Sedangkan menurut Mostajeran & Rahimi-Eichi (2009) cekaman kekeringan yang terjadi pada saat fase vegetatif akan mengganggu inisiasi pengisian biji yang menyebabkan spikelet steril dan gabah hampa. Pada penelitian ini malai yang dihasilkan masih dalam kondisi spikelet fertile, namun terlihat perbedaan pada bobot kering malai antar aksesori. Pada aksesori GM bentuk malai terlihat lebih rapat jika dibandingkan dengan aksesori PK (Gambar 4.8). Sehingga hal ini juga dapat mempengaruhi bobot kering malai.

4.3 Pengaruh Asam Asetat terhadap Aspek Molekular Tanaman

Pada kondisi cekaman kekeringan, tanaman memiliki strategi adaptasi melalui tiga mekanisme yaitu *drought escape* (DE), *drought avoidance* (DA) dan *drought tolerance* (DT) (Fang & Xiong, 2015). DE merupakan kemampuan

tanaman untuk mempertahankan diri dengan cara mempercepat siklus hidup, antara lain dari gejala percepatan pembungaan. DA adalah kemampuan tanaman untuk mempertahankan proses fisiologis normal yang mendasar dalam kondisi stres kekeringan ringan atau sedang dengan menyesuaikan struktur morfologi tertentu atau tingkat pertumbuhan untuk menghindari efek negatif yang disebabkan oleh stres kekeringan. Sedangkan DE didefinisikan sebagai kapasitas relatif tanaman untuk mempertahankan fungsi status air daun di bawah kondisi rendah. Hal ini mengacu pada akumulasi aktif penyesuaian osmotik dalam sel tanaman, sehingga meningkatkan kapasitas penyesuaian osmotik untuk mempertahankan turgor yang tinggi dan peningkatan kapasitas dalam menghilangkan zat berbahaya yang terakumulasi dalam tanaman dan antioksidasi, dll. Ukuran kapasitas ini mencakup beberapa sifat fisiologis seperti penyesuaian osmotik, konten ABA, konten prolin, kadar gula terlarut, aktivitas peroksidase dan kandungan klorofil, (Luo, 2010).

Analisis fungsional terhadap berbagai aspek penelitian sangat penting terutama untuk mempelajari mekanisme molekuler terhadap toleransi cekaman abiotik dan biotik agar dapat digunakan sebagai dasar untuk pemuliaan tanaman. Beberapa pendekatan telah dilakukan untuk melihat respon tanaman yang toleran stress abiotik ataupun biotik yaitu respon molekuler melalui ekspresi gen dan respon fisiologis melalui senyawa metabolit sekunder dalam system tanaman. Metabolomic diketahui berperan secara signifikan terhadap studi biologi pada tanaman dengan kondisi tercekam. Sebagai respon terhadap stress abiotik, tanaman mengalami perubahan senyawa metabolisme primer dan sekunder yang dapat diidentifikasi dan di analisis secara fisiologis dan molekuler. Beberapa penelitian yang telah berhasil menganalisa perubahan metabolit dapat diamati pada Tabel 4.2. Studi transkriptomik menggunakan sampel daun yang diberi perlakuan kekeringan selama 6 hari pada tanaman *Setaria italica* berhasil mengidentifikasi 3066, 1895, dan 2148 gen yang diekspresikan (Shi, Cheng, Wen, Wang, & Shi, 2018). Menurut (Tang *et al.*, 2017), hasil analisa dengan QTL terkait toleransi kekeringan telah teridentifikasi 20 kandidat gen yang berperan terhadap perkecambahan dan toleransi kekeringan bibit awal *S.italica*. sehingga

berdasarkan hal tersebut kajian lebih lanjut terkait perbedaan genotip *S.italica* dalam merespon kekeringan sangat penting dilakukan untuk meningkatkan genetic toleransi kekeringan pada tanaman *Poaceae*.

Tabel 4.2 Regulasi berbagai senyawa metabolit yang terlibat dalam cekaman kekeringan pada tanaman C4

Kelas Metabolit	Metabolite	Spesies tanaman	Regulasi	Fungsi	Referensi
Polyols	Organic acid	<i>Oryza sativa</i>	Up	Prekursor untuk banyak senyawa	(Farooq <i>et al.</i> , 2010)
	Spermidine	<i>Oryza sativa</i>	Down	Integritas membrane dan transduksi sinyal	(Do <i>et al.</i> , 2013)
		<i>Arabidopsis thaliana</i>	Up		(Alet <i>et al.</i> , 2011)
Sugar alcohol	Myoinositol	<i>Zea mays</i>	Up	Osmotic adjustment	(Miguel <i>et al.</i> , 2016)
Amino acid	Proline	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Up	Stabilitas struktur protein, dan mempromosikan aktivitas dari enzim antioksidan	(Nemat Alla, Khedr, & Nada, 2012)
		<i>Zea mays</i>	Up		(Lugan <i>et al.</i> , 2010)
		<i>Setaria italica</i>	Up		(Paul Ajithkumar & Panneerselvam, 2013)
	Tyrosine	<i>Zea mays</i>	Up	Osmoprotektan dan persinyalan sel	(Nemat Alla <i>et al.</i> , 2012)
	Valine	<i>Zea mays</i>	Up	Protein asam amino	(Muscolo, Junker, Klukas, Riewe, & Altmann, 2015)

Pada kondisi kekeringan, tanaman akan mengakumulasikan berbagai zat organik dan anorganik (Tabel 4.2) untuk mengurangi potensi osmotik dan meningkatkan retensi air dalam sel. Fenomena ini didefinisikan sebagai penyesuaian osmotik (*Osmotic adjustment*). Menurut (Fang & Xiong, 2015) penyesuaian osmotik bertujuan untuk mempertahankan struktur sel dan fotosintesis pada potensial air yang rendah dan untuk menunda penuaan daun dan kematian sel dengan meningkatkan panjang akar. Berdasarkan uraian diatas resistensi kekeringan pada tanaman merupakan sifat yang kompleks yang melibatkan perubahan morfologi, fisiologis dan molekular. Sejumlah gen telah ditemukan terlibat dalam jaringan regulasi kekeringan, dan diperkirakan memberikan toleransi stress dengan produksi protein dan metabolit yang berperan dalam sistem pertahanan tanaman. Diperkirakan bahwa gen yang diekspresikan selama cekaman kekeringan membantu meningkatkan toleransi seluler melalui

pemeliharaan osmotic homeostatis atau melalui control dan perbaikan kerusakan, dan atau dengan mengatur ekspresi gen (Tiwari *et al*, 2017). Berikut merupakan beberapa regulasi gen yang diekspresikan pada tanaman kondisi kekeringan.

Table 4.3. Regulasi berbagai gen yang terlibat dalam cekaman kekeringan pada berbagai tanaman

Gen	Spesies tanaman	Regulasi	Referensi
<i>SiASR4</i>	<i>Setaria italica</i>	up	Li <i>et al.</i> , 2017
<i>SbASR-1</i>	<i>Oryza sativa</i>	up	Tiwari <i>et al.</i> , 2015
<i>bHLH</i>	<i>Foxtail millet</i>	up	Wang <i>et al.</i> , 2018
<i>DREB1</i>	<i>Setaria italica</i>	up	Gawai <i>et al.</i> , 2017
<i>RPDI</i>	<i>Arabidopsis</i>	up	Kinoshi <i>et al.</i> , 2006
<i>APX</i>	<i>Arachis hipogaea</i>	up	Tiwari <i>et al.</i> , 2015
<i>CAT</i>		down	
<i>SOD</i>		down	

Studi terbaru menunjukkan bahwa asam asetat memiliki peran yang berkaitan dengan adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan melalui sintesis asam jasmonat dan asetilasi histon H4 yang dapat mempengaruhi jalur pensinyalan JA dan ABA untuk toleransi kekeringan tanaman. Pemberian asam asetat eksogen berhasil meningkatkan toleransi kekeringan di Arabidopsis, jagung, padi dan tanaman gandum (Kim *et al.*, 2018). Menurut (Rasheed *et al.*, 2018) pemberian asam asetat secara eksogen pada Arabidopsis dapat mengaktifkan gen promotor sehingga mampu meningkatkan ekspresi gen jalur biosintesis asam asetat yang menyebabkan tanaman lebih tahan terhadap cekaman kekeringan. Jalur biosintesis asetat dimediasi oleh piruvat dekarboksilase (*PDC1*) dan asetaldehid dehidrogenase (*ALDH2B7*), yang berkorelasi dengan anoksia pada Arabidopsis.

Table 4.4 Regulasi berbagai gen yang terlibat dalam cekaman kekeringan dengan perlakuan asam asetat

Gen	Spesies	Regulasi	Referensi
<i>AOCs</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	up	Kim <i>et al.</i> , 2018
<i>COII</i>			
<i>JAZ</i>			
<i>ALDH</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	up	Rasheed <i>et al.</i> , 2018
<i>PDC</i>			
<i>TSPO</i>			
<i>MYB</i>			
<i>HSP21</i>	<i>Manihot esculenta</i>	up	Utsumi <i>et al.</i> , 2019
<i>ABI2</i>			
<i>OST1</i>			

Berdasarkan perannya gen-gen tersebut dapat dikelompokkan sebagai berikut :

a. Antioksidan Enzimatik

Untuk mencegah kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh ROS, diperlukan antioksidan untuk mendetoksifikasi ROS. Berdasarkan Tabel 4.3 dan 4.4 gen yang termasuk kedalam antioksidan enzimatik yaitu SOD (*Superoxide dismutase*), CAT (*Catalase*), dan APX (*Ascorbate peroxidase*). Enzim SOD, CAT dan APX membentuk sistem antioksidan penting dan SOD mengkatalisis pemutusan O_2 menjadi H_2O_2 dan O_2 , sementara katalase dan peroksidase mengurangi H_2O_2 (Ahmad *et al.*, 2014).

b. Fungsional dan Protein regulator

Aplikasi asam asetat meningkatkan berbagai ekspresi gen seperti, *heat shock family protein (HSP)* dan outer membrane tryptophan-rich sensory protein (*TSPO*). *HSP* berfungsi sebagai molecular chaperones dan membantu tanaman untuk adaptasi terhadap stress lingkungan (Muthusamy *et al.*, 2017). *HSP21* melindungi dari cekaman oksidatif (Zhong *et al.*, 2013). Sedangkan *TSPO* sebagai promotor yang digunakan dalam rekayasa genetic untuk toleransi kekeringan, *TSPO* mengalami up regulasi pada kondisi kekeringan ditemukan di bagian akar dan batang (Rasheed *et al.*, 2018)

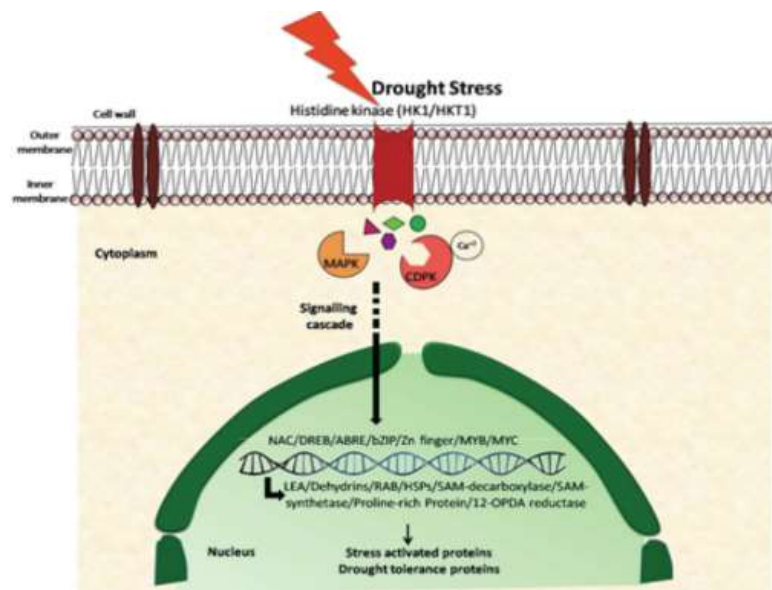
c. Gen responsif terhadap ABA

Berdasarkan analisa microarray perlakuan yang diberi asam asetat meningkatkan ekspresi gen *ABI2* dan *OST1* yang dapat mengakumulasikan ABA, sehingga menyebabkan kerapatan stomata menurun dan dapat mengurangi laju transpirasi (Utsumi *et al.*, 2019)

Mekanisme Pertahanan Tanaman Secara Molekular Terhadap Cekaman

Abiotik

Jalur pensinyalan cekaman kekeringan dimulai dengan adanya stress abiotic dari lingkungan ditangkap oleh reseptor membran plasma sebagai contoh transmembran histidin kinase yang berikatan dengan pensinyalan molekul atau ligan (Gambar 4.9). Di *Arabidopsis thaliana*, *AtHTK1*, memiliki domain histidine kinase yang mengandung protein telah dilaporkan memicu pensinyalan downstream menghasilkan ekspresi gen yang diinduksi dehidrasi (Kuromori *et al.*, 2014). Sinyal ditransduksi secara downstream sehingga menghasilkan pembentukan *second messenger* seperti inositol fosfat dan spesies oksigen reaktif (ROS) (Lata *et al.*, 2015). Hal ini menyebabkan gangguan pada kadar kalsium intraseluler, selanjutnya gangguan ditangkap oleh kalsium sensor yang bertanggung jawab untuk memicu terjadinya fosforilasi dan defosforilasi yang akan dimediasi oleh beberapa protein kinase dan fosfatase dan akhirnya menargetkan beberapa downstream gen yang bisa terlibat langsung dalam regulasi ekspresi gen. Protein kinase yang terlibat dalam pensinyalan tegangan adalah Ca dependent (*CDPK*) dan diaktifkan mitogen (*MAPKs*) yang mentransduksi sinyal tekanan air ke nukleus dengan melibatkan berbagai regulator TF seperti *DREB*, *NAC*, *MYB / MYC*, *ABRE* dll. selanjutnya mengatur ekspresi downstream gen seperti *LEA*, *ERD*, *DHN*, *RD (RD19, RD22 dan RD29)* (Golldack *et al.*, 2014).



Gambar 4.9 Representasi skematik signaling pada metabolisme tanaman terhadap cekaman kekeringan (Tiwari *et al.*, 2017)

Eksresi gen yang terlibat dalam respon cekaman abiotik diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu gen pengatur dan gen fungsional. Kelompok gen pengatur termasuk gen yang mengkodekan berbagai faktor transkripsi, mengatur berbagai gen yang dapat diinduksi stres. Gen fungsional mengkodekan komponen metabolisme seperti gula dan amina yang memainkan peran penting dalam toleransi stress (Taylor *et al.*, 2010). Secara umum, faktor transkripsi berisi domain pengikatan DNA dan wilayah regulasi transkripsi yang dapat berfungsi untuk menginduksi (aktivator) atau menekan (represor) aktivitas RNA polimerase, mengatur ekspresi gen. Interaksi faktor transkripsi dengan elemen cis di daerah promotor dari berbagai gen yang berkaitan dengan stres meningkatkan regulasi downstream gen. Sekelompok gen yang dikendalikan oleh jenis faktor transkripsi tertentu dikenal sebagai regulator (Mizoi *et al.*, 2012). Dalam merespon tekanan abiotik, empat regulator berbeda telah diidentifikasi sebagai berikut (i) *CBF/DREB* (pengikat faktor pengurangan C / pengikatan elemen responsif dehidrasi) regulator, (ii) *NAC* (*NAM*, *ATAF*, dan *CUC*) / *ZF-HD* (regulator zinc finger homeodomain), (iii) *AREB / ABF* (protein pengikat elemen responsif ABA / faktor pengikat ABA)), dan (iv) *MYC* (myelocytomatosis oncogene)/*MYB*(myeloblastosis oncogene) regulon. Dua regulator pertama adalah ABA

independen dan dua yang terakhir ABA dependen (Saibo *et al.*, 2009). Hal ini menunjukkan keberadaan jalur transduksi sinyal ABA-independen dan dependen yang mengubah sinyal stres awal menjadi respons seluler. ABA diproduksi di bawah kondisi kekurangan air, dan memainkan peran penting dalam toleransi stres tanaman terhadap kekeringan dan salinitas. Fitohormon ini terlibat tidak hanya dalam mengatur pembukaan stomata, pertumbuhan, dan perkembangan, tetapi juga dalam mengkoordinasikan berbagai jalur transduksi sinyal stres pada tanaman selama tekanan abiotik (Yadav *et al.*, 2013). Saat ini ada sembilan kelas utama yang diketahui dari fitohormon yang terjadi secara alami (yaitu, auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat (ABA), etilen (ET), brassinosteroid, asam jasmonat (JA), asam salisilat (SA), dan strigolakton) yang semuanya memberikan respon yang berbeda pada tiap kondisi cekaman baik biotik ataupun abiotik (Ali & Kwang-Hyun Baek, 2020)

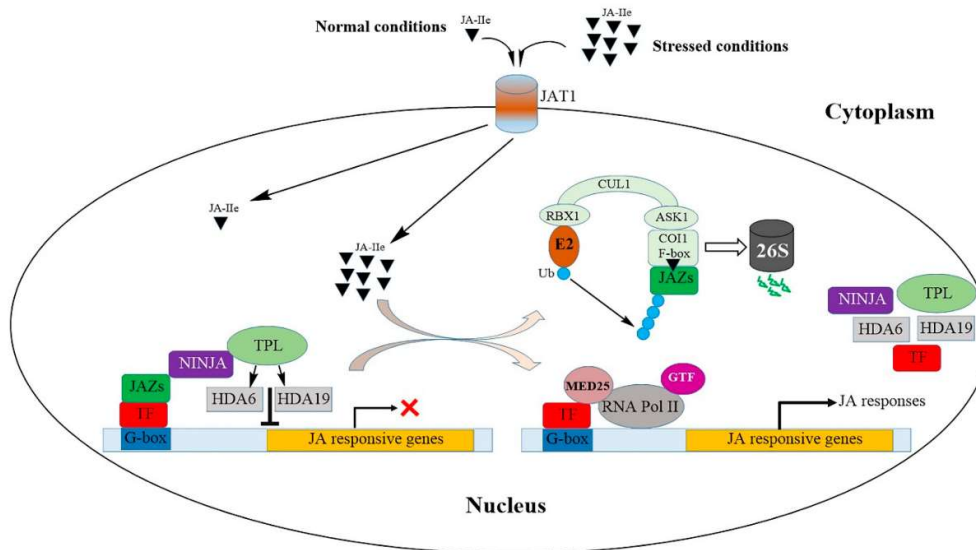
Tabel 4.5. Interaksi factor transkripsi dengan protein Jasmonate-ZIM domain dan respon tanaman terhadap regulasi JA (adaptasi dari Ali & Kwang-Hyun Baek, 2020)

JA domain	Faktor transkripsi	Fungsi fisiologis
<i>JAZs</i>	<i>MYC2/3/4/5</i>	Perpanjangan akar, respon luka, pertahanan, metabolisme
<i>JAZ1/8/10/11</i>	<i>MYB21/24</i>	Perkembangan benang sari dan fertilitas
<i>JAZ1/2/5/6/8/9/10/11</i>	<i>TT8/GL3/EGL3 /MYB75/GL1</i>	Perkembangan trikoma dan sintesis antosianin
<i>JAZ1/3/4/9</i>	<i>FIL/YAB1</i>	Degradasi klorofil dan akumulasi antosianin
<i>JAZ9/11</i>	<i>OsRSS3/OsbHLH148</i>	Respon kekeringan dan salinitas
<i>JAZ4/8</i>	<i>WRKY57</i>	Inisiasi penuaan daun
<i>JAZ1/3/9</i>	<i>EIN3/EIL1</i>	Pemanjangan akar, dan perkembangan rambut akar
<i>JAZ1/3/4/9</i>	<i>TOE1/2</i>	Menekan pembungaan selama awal fase vegetatif

JA, jasmonic acid; JAZ, jasmonate ZIM domain.

Dalam kondisi normal, promotor gen responsif jasmonat tidak diaktifkan oleh berbagai jenis faktor transkripsi (TF) karena rendahnya tingkat *JA-Ile* (Gambar 4.10). berbagai TF ditekan oleh serangkaian jasmonate-zinc finger

inflorescence meristem (*ZIM*) domain (*JAZ*) proteins yang bertindak sebagai represor transkripsi (Tabel 4.5). Represor *JAZ* merekrut protein topless (*TPL*) dan interkonektor/adaptor protein novel interactor of *JAZ* (*NINJA*), bersama-sama, membentuk kompleks represi transkripsi yang efektif yang bertindak untuk menghambat ekspresi gen jasmonate-responsif dengan mengubah kompleks terbuka menjadi yang tertutup melalui perekrutan lebih lanjut histone deacetylase 6 (*HDA6*) dan *HDA19*.



Gambar 4.10 Persepsi asam jasmonat dan transduksi sinyal selama stres abiotik. JA, jasmonic acid; JA-Ile, jasmonyl isoleucine; JAT1, jasmonic acid transfer protein 1; TF, transcription factor; JAZ, jasmonate ZIM domain; NINJA, novel interactor of JAZ; TPL, topless; HDA6, HDA19, histone deacetylase 6, 19; Ub, ubiquitin; E2, ubiquitin-conjugating enzymes; RBX1, ring box 1; CUL1, cullin 1; ASK1, Arabidopsis SKP1 homolog 1; COI1, coronatine insensitive 1; MED25, mediator 25; RNA Pol II, RNA polymerase II; GTF, general transcription factor (Ali & Kwang-Hyun Baek, 2020)

Dengan tidak adanya rangsangan abiotik atau pada tingkat *JA-Ile* yang rendah, faktor transkripsi ditekan oleh protein *JAZ*, sehingga mencegah aktivasi mereka terhadap promotor gen responsif jasmonat. Protein *JAZ* merekrut *TPL* dan protein adaptor *NINJA* untuk membentuk kompleks represi transkripsi aktif yang menghambat respons JA dengan mengubah kompleks terbuka menjadi yang tertutup melalui rekrutmen lebih lanjut dari *HDA6* dan *HDA19*. Tekanan abiotik meningkatkan sintesis JA, yang siap di-epimerisasi menjadi *JA-Ile*. Yang terakhir ini kemudian diangkut ke nukleus oleh transporter *JAT1*. *JA-Ile* memfasilitasi

interaksi *JAZ* dengan protein F-box *COII* dalam kompleks SCF, yang mengarah ke degradasi proteasomal *JAZ*. TF yang terdepresi mengikat elemen G-box, dimana *MED25*, RNA Pol II, dan GTF direkrut, menghasilkan ekspresi gen responsif jasmonat.

“halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pra perlakuan AA pada kondisi kekeringan memberikan pengaruh secara nyata pada parameter morfologi yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, dan panjang akar. Semakin tinggi konsentrasi asam asetat menyebabkan penurunan pada panjang akar dan tinggi tanaman.
2. Pra perlakuan AA pada kondisi kekeringan tidak berpengaruh pada parameter fisiologi yaitu KAR daun, total klorofil, dan karotenoid. Namun demikian, terlihat perbedaan pada tanaman jiwawut yang diberi pra perlakuan AA 30 mM mampu mempertahankan KAR daun lebih baik sebagai respon terhadap kekeringan. Sedangkan hasil analisa pada bobot kering malai dan bobot kering tanaman memberikan pengaruh nyata terlihat pada pra perlakuan AA konsentrasi 45 mM.
3. Pemberian pra perlakuan AA eksogen pada tanaman jiwawut diduga dapat mengaktifkan gen promotor sehingga mampu meningkatkan ekspresi gen jalur biosintesis asam asetat yang menyebabkan tanaman lebih tahan terhadap cekaman kekeringan. Beberapa gen yang terlibat dalam kondisi tercekam kekeringan yaitu *AOCs*, *COII*, *JAZ*, *ALDH*, *PDC*, *TSPO*, *MYB*, *HSP21*, *ABI2*, dan *OST1*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai respon morfo-fisiologis lainnya, biokimia dan molekular pada gen-gen responsif yang terlibat dalam biosintesis asam asetat.
2. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan tanaman jiwawut pada aksesori lainnya sehingga dapat membandingkan tingkat sensitivitas antar aksesori.

“halaman sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Abayomi, Y. A. (2008). Comparative Growth and Grain Yield Responses of Early and Late Soybean Maturity Groups to Induced Soil Moisture Stress at Different Growth Stages. *World Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 4, pp. 71–78.
- Ahanger, M. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., & Ahmad, P. (2017). Plant responses to environmental stresses-From gene to biotechnology. *AoB PLANTS*, 9(4). <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx025>
- Ahmad, P., Jamsheed, S., Hameed, A., Rasool, S., Sharma, I., Azooz, M. M., & Hasanuzzaman, M. (2014). Drought Stress Induced Oxidative Damage and Antioxidants in Plants. In *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00011-3>
- Akram, H. M., Ali, A., Sattar, A., Rehman, H. S. U., & Bibi, A. (2013). Impact of water deficit stress on various physiological and agronomic traits of three Basmati rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(5), 1415–1423.
- Alet, A. I., Sanchez, D. H., Cuevas, J. C., Valle, S., Altabella, T., Tiburcio, A. F., ... Ruiz, O. A. (2011). Putrescine accumulation in *Arabidopsis thaliana* transgenic lines enhances tolerance to dehydration and freezing stress. 6(2), 278–286. <https://doi.org/10.4161/psb.6.2.14702>
- Ali, S., & Kwang-Hyun Baek. (2020). Jasmonic Acid Signaling Pathway in Response to Abiotic Stresses in Plants. *International Journal of Molecular Science*, 21(621).
- Almaski, A., Thondre, S., Lightowler, H., & Coe, S. (2017). Determination of the polyphenol and antioxidant activity of different types and forms of millet. 76(December 2016), 2017. <https://doi.org/10.1017/S0029665117000052>
- Amadou, I., Gounga, M. E., & Le, G. (2013). Millets : Nutritional composition , some health benefits and processing - A Review. 25(7), 501–508. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i7.12045>
- Amadou, I., & Moussa, S. M. A. (2018). Processing and sensory evaluation of germinated millets varieties grains flours. 6(Figure 1), 151–153. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00158>
- Araújo, W. L., Nunes-nesi, A., Nikoloski, Z., Sweetlove, L. E. E. J., & Fernie, A. R. (2012). Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues. 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02332.x>
- Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141(2), 391–396.

<https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>

- Banyo, Y. E., Nio, A. S., Siahaan, P., & Tangapo, A. M. (2013). Konsentrasi Klorofil Daun Padi Pada Saat Kekurangan Air Yang Diinduksi Dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.35799/jis.13.1.2013.1615>
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). *Plant adaptation to drought stress [version 1 ; referees : 3 approved] Referee Status : 5(0)*, 1–10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Begum, F., Sultana, R., & Nessa, A. (2013). *Screening of drought tolerant foxtail millet (Setaria italica beauv) germplasm*. 48(4), 265–270.
- Beyene, A., Hussien, S., Pangirayi, T., & Mark, L. (2015). Physiological mechanisms of drought tolerance in sorghum, genetic basis and breeding methods: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 10(31), 3029–3040. <https://doi.org/10.5897/ajar2015.9595>
- Brink, M., Belay, G., Edje, O. T., & Westphal, E. (2006). *Plant Resources of Tropical Africa 1 Cereals and pulses*.
- Carlsson, J., Leino, M., Sohlberg, J., Sundström, J. F., & Glimelius, K. (2008). Mitochondrial regulation of flower development. *Mitochondrion*, 8(1), 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.09.006>
- Comas, L. H., Becker, S. R., Cruz, V. M. V., Byrne, P. F., & Dierig, D. A. (2013). Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, 4(NOV), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442>
- Do, P. T., Degenkolbe, T., Erban, A., G. Heyer, A., Kopka, J., Kohl, K. I., ... Zuther, E. (2013). Dissecting Rice Polyamine Metabolism under Controlled Long-Term Drought Stress. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060325>
- Fang, Y., & Xiong, L. (2015). *General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants*. 673–689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>
- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D., Cheema, S. A., & Aziz, T. (2010). *Comparative Time Course Action of the Foliar Applied Glycinebetaine , Salicylic Acid , Nitrous Oxide , Brassinosteroids and Spermine in Improving Drought Resistance of Rice*. 196, 336–345. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00422.x>
- Fernie, A. R., Carrari, F., & Sweetlove, L. J. (2004). Respiratory metabolism: Glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(3), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.03.007>

- Fischer, E. K. S., Lafitte, R., Fukai, S., Atlin, G., & Hardy, B. (2003). *Breeding Rice for Environments*.
- Guo, R., Hao, W., & Gong, D. (2012). Effects of Water Stress on Germination and Growth of Linseed Seedlings (*Linum usitatissimum* L), Photosynthetic Efficiency and Accumulation of Metabolites. *Journal of Agricultural Science*, 4(10), 253–265. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n10p253>
- Hapsoh, Yahya, S., Oelim, T. M. H., & Purwoko, B. S. (2006). Respons Fisiologi Beberapa Genotipe Kedelai yang Bersimbiosis dengan MVA terhadap Berbagai Tingkat Cekaman Kekeringan. *Hayati Journal of Biosciences*, 13(2), 43–48. [https://doi.org/10.1016/S1978-3019\(16\)30379-5](https://doi.org/10.1016/S1978-3019(16)30379-5)
- Heuzé V., Tran G., Sauvant D., Bastianelli D., L. F. (2015). Feedipedia. *Feedipedia, a Programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO*. Retrieved from <http://www.feedipedia.org/node/725>
- Ibrahim, K. M., & Peterson, P. M. (2014). *Grasses of Washington*, D. C. Washington D.C.: Smithsonian Institution Scholarly Press.
- Jali, M. V, Kamatar, M. Y., Jali, S. M., Hiremath, M. B., & Naik, R. K. (2012). *Efficacy of value added foxtail millet therapeutic food in the management of diabetes and dyslipidamea in type 2 diabetic patients*. 4(7), 3–4.
- Karyudi, & Fletcher, R. J. (2003). Osmoregulation in birdseed millet under conditions of water stress II. Variation in F3 lines of *Setaria italica* and its relationship to plant morphology and yield. *Euphytica*, 132(2), 191–197. <https://doi.org/10.1023/A:1024620413781>
- Kempa, S., Krasensky, J., Dal Santo, S., Kopka, J., & Jonak, C. (2008). A central role of abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism. *PLoS ONE*, 3(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003935>
- Kim, J.-M., To, T. K., Matsui, A., Tanoi, K., & Natsuko I, K. (2018). Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants. *Nature Plants*, 17097(June), 3–5. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.97>
- Knipfer, T., & Fricke, W. (2011). Water uptake by seminal and adventitious roots in relation to whole-plant water flow in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Experimental Botany*, 62(2), 717–733. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq312>
- Kondoh, S., Yahata, H., Nakashizuka, T., & Kondoh, M. (2006). Interspecific variation in vessel size, growth and drought tolerance of broad-leaved trees in semi-arid regions of Kenya. *Tree Physiology*, 26(7), 899–904. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.7.899>

- Kotchoni, S. O., Kuhns, C., Ditzer, A., Kirch, H. H., & Bartels, D. (2006). Over-expression of different aldehyde dehydrogenase genes in *Arabidopsis thaliana* confers tolerance to abiotic stress and protects plants against lipid peroxidation and oxidative stress. *Plant, Cell and Environment*, 29(6), 1033–1048. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01458.x>
- Kumari, R., Dikshit, N., & Sharma, D. (2011). *Analysis of molecular genetic diversity in a representative collection of foxtail millet [Setaria italica (L .) P . Beauv .] from different agro-ecological regions of India*. 17(December), 363–374. <https://doi.org/10.1007/s12298-011-0085-3>
- Lata, C., Gupta, S., & Prasad, M. (2013). *Foxtail millet : a model crop for genetic and genomic studies in bioenergy grasses*. 33(July 2012), 328–343. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.716809>
- Lata, C., Sahu, P. P., & Prasad, M. (2010). Biochemical and Biophysical Research Communications Comparative transcriptome analysis of differentially expressed genes in foxtail millet (*Setaria italica* L .) during dehydration stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(4), 720–727. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.068>
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>
- Logan, D. C. (2008). Having a swell time - Mitochondrial morphology and plant cell death programmes. *Journal of Microscopy*, 231(2), 215–224. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2008.02037.x>
- Lugan, R., Leport, L., Gue, J., Kopka, J., Bouchereau, A., & Ve, B. (2010). *Metabolome and water homeostasis analysis of Thellungiella salsuginea suggests that dehydration tolerance is a key response to osmotic stress in this halophyte*. 215–229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04323.x>
- Luo, L. J. (2010). *Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China*. 61(13), 3509–3517. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq185>
- Macherel, D., Benamar, A., Avelange-Macherel, M. H., & Tolleter, D. (2007). Function and stress tolerance of seed mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 129(1), 233–241. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00807.x>
- Miguel, M. De, Guevara, M. Á., Sánchez-gómez, D., María, N. De, Díaz, M., Mancha, J. A., ... Cadahía, E. (2016). Organ-specific metabolic responses to drought in *Pinus pinaster* Ait. *Plant Physiology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.013>
- Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-shinozaki, K., & Crt, D. R. E. (2012). Biochimica et Biophysica Acta AP2 / ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses ☆. *BBA - Gene Regulatory Mechanisms*, 1819(2), 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.bbagrm.2011.08.004>

- Mostajeran, A., & Rahimi-Eichi, V. (2009). Effects of Drought Stress on Growth and Yield of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars and Accumulation of Proline and Soluble Sugars in Sheath and Blades of Their Different Ages Leaves. & *Environ. Sci*, 5(2), 264–272.
- Muscolo, A., Junker, A., Klukas, C., Riewe, D., & Altmann, T. (2015). *Phenotypic and metabolic responses to drought and salinity of four contrasting lentil accessions*. 66(18), 5467–5480. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv208>
- Nemat Alla, M. M., Khedr, A. A. A., & Nada, R. M. (2012). *Regulation of metabolomics in Atriplex halimus growth under salt and drought stress*. 281–304. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9687-1>
- Noctor, G., De Paepe, R., & Foyer, C. H. (2007). Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. *Trends in Plant Science*, 12(3), 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.01.005>
- Nunes-Nesi, A., & Fernie, A. R. (2007). Mitochondrial Metabolism. *Plant Mitochondria*, 212–277. <https://doi.org/10.1002/9780470986592.ch8>
- Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., ... Frolov, A. (2018). *Methodology of Drought Stress Research : Experimental Setup and Physiological Characterization*. <https://doi.org/10.3390/ijms19124089>
- Oukarroum, A., Madidi, S. El, Schansker, G., & Strasser, R. J. (2007). Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.01.002>
- Pan, J., Li, Z., Wang, Q., Garrell, A. K., Liu, M., Guan, Y., & Zhou, W. (2018). *Comparative proteomic investigation of drought responses in foxtail millet*. 1–19.
- Paul Ajithkumar, I., & Panneerselvam, R. (2013). Osmolyte accumulation , photosynthetic pigment and growth of *Setaria italica* (L.) P. Beauv. under drought stress. *Elsivier*, 2(3), 220–224. [https://doi.org/10.1016/S2305-0500\(13\)60151-7](https://doi.org/10.1016/S2305-0500(13)60151-7)
- Perez-Martin, A., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Bota, J., Tomás, M., Infante, J. M., & Diaz-Espejo, A. (2009). Interactive effects of soil water deficit and air vapour pressure deficit on mesophyll conductance to CO₂ in *Vitis vinifera* and *Olea europaea*. *Journal of Experimental Botany*, 60(8), 2391–2405. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp145>
- Rahman, M., Mostofa, M. G., & Rahman, A. (2019). *Acetic acid : a cost-effective agent for mitigation of seawater-induced salt toxicity in mung bean*. 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51178-w>

- Rajput, R. D., & Patil, R. P. (2017). *The Comparative Study on Spectrophotometric Analysis of Chlorophyll and Carotenoids Pigments from Non-Leguminous Fodder Crops*. 4(7), 140–148.
- Rasheed, S., Bashir, K., Kim, J. M., Ando, M., Tanaka, M., & Seki, M. (2018). The modulation of acetic acid pathway genes in Arabidopsis improves survival under drought stress. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26103-2>
- Saibo, N. J. M., Lourenc, T., & Oliveira, M. M. (2009). *Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses*. 609–623. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn227>
- Shi, W., Cheng, J., Wen, X., Wang, J., & Shi, G. (2018). *Transcriptomic studies reveal a key metabolic pathway contributing to a well-maintained photosynthetic system under drought stress in foxtail millet (Setaria italica L.)*. <https://doi.org/10.7717/peerj.4752>
- Sikuku, P., & Onyango, J. (2012). Physiological and biochemical responses of five nerica rice varieties (*Oryza sativa* L.) to water deficit at vegetative and reproductive stage. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(3), 93–104. <https://doi.org/10.5251/abjna.2012.3.3.93.104>
- Sulistiyowati, E. (2015). KARAKTERISASI SEPULUH AKSESI HOTONG (*Setaria italica* (L) Beauv) DI RUMAH KACA. *Skripsi. Institut Pertanian Bogor*, (L).
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2003). Plant Physiology's Best Paper award 2002. In *Plant Physiology* (Vol. 132). <https://doi.org/10.1104/pp.900074>
- Tanaka, Y., Sano, T., Tamaoki, M., Nakajima, N., Kondo, N., & Hasezawa, S. (2005). Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 138(4), 2337–2343. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063503>
- Tang, S., Li, L., Wang, Y., Chen, Q., Zhang, W., & Jia, G. (2017). Genotype-specific physiological and transcriptomic responses to drought stress in *Setaria italica* (an emerging model for Panicoideae grasses). *Scientific Reports*, (July), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08854-6>
- Taylor, P., Tran, L. P., Nishiyama, R., Yamaguchi-shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2010). *Potential utilization of NAC transcription factors to enhance abiotic stress tolerance in plants by biotechnological approach*. (February 2015), 37–41. <https://doi.org/10.4161/gmcr.1.1.10569>
- Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P. S., Prasad, V., & Prasad, M. (2017). *A Functional Genomic Perspective on Drought Signalling and its Crosstalk with Phytohormone-mediated Signalling Pathways in Plants*. 469–482. <https://doi.org/10.2174/1389202918666170605083319>

- Utsumi, Y., Utsumi, C., Tanaka, M., Ha, C. Van, Takahashi, S., Matsui, A., ... Seki, M. (2019). Acetic acid treatment enhances drought avoidance in cassava (*Manihot esculenta* crantz). *Frontiers in Plant Science*, *10*(April), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00521>
- Veeranagamallaiah, G., Chandraobulreddy, P., Jyothsnakumari, G., & Sudhakar, C. (2007). Glutamine synthetase expression and pyrroline-5-carboxylate reductase activity influence proline accumulation in two cultivars of foxtail millet (*Setaria italica* L.) with differential salt sensitivity. *Environmental and Experimental Botany*, *60*(2), 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.10.012>
- Wise, R., & Naylor, A. (1987). Chilling-Enhanced Photooxidation: Evidence for the Role of Singlet Oxygen and Superoxide in the Breakdown of Pigments and Endogenous Antioxidants. *Plant Physiology*, *83*(2), 278–282. <https://doi.org/10.1104/pp.83.2.278>
- XU, B. qin, GAO, X. li, GAO, J. feng, LI, J., YANG, P., & FENG, B. li. (2019). Transcriptome profiling using RNA-seq to provide insights into foxtail millet seedling tolerance to short-term water deficit stress induced by PEG-6000. *Journal of Integrative Agriculture*, *18*(11), 2457–2471. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62576-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62576-1)
- Yadav, N. R., Taunk, J., Rani, A., Aneja, B., & Yadav, R. C. (n.d.). *Role of Transcription Factors in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants*.
- Yui, R., Iketani, S., Mikami, T., & Kubo, T. (2003). Antisense inhibition of mitochondrial pyruvate dehydrogenase E1 α subunit in anther tapetum causes male sterility. *Plant Journal*, *34*(1), 57–66. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01704.x>
- Yuwariah, Y., Dewi, S. M., Qosim, W. A., & Nuraini, A. (2019). Respons fisiologi pertumbuhan dan hasil tiga genotip jawawut terhadap cekaman kekeringan. *Jurnal Agro*, *6*(1), 35–48. <https://doi.org/10.15575/4590>
- Zhengli Liu, Guihua Bai, Dadong Zhang, Chengsong Zhu, Xueyan Xia, Ruhong Cheng, Z. S. (2011). Genetic Diversity and Population Structure of Elite Foxtail Millet [*Setaria itálica* (L.) P. Beauv.] Germplasm in China Zhengli. *Crop Science Society of America*, *51*(August), 1655–1664. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.11.0643>
- Zhu, C., Ming, C., Zhao-Shi, X., Lian-Cheng, L., Xue-Ping, C., & You-Zhi, M. (2014). Characteristics and expression patterns of the Aldehyde Dehydrogenase (ALDH) gene superfamily of foxtail millet (*Setaria italica* L.). *PLoS ONE*, *9*(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101136>
- Zlatev, Z. S., & Yordanov, I. T. (2005). Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology Plant Physiology*, *30*(3–4), 3–18.

Zubaer, M. A., Chowdhury, A. K. M. M. B., Islam, M. Z., Hasan, M. A., & Ahmed, T. (2007). Effects of Water Stress on Growth and Yield Attributes of Aman Rice Genotypes. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 2(6), 25–30.

Lampiran 1

General Linear Model: Klorofil versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.000274	0.000274	0.16	0.692
Asam Asetat	4	0.006155	0.001539	0.91	0.479
AKSESI	1	0.013265	0.013265	7.83	0.011
AKSESI*Asam Asetat	4	0.006500	0.001625	0.96	0.452
Error	19	0.032186	0.001694		
Total	29	0.058378			

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

AKSESI	N	Mean	Grouping
GM	15	0.209784	A
PK	15	0.167729	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Karotenoid versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.000034	0.000034	0.14	0.714
Asam Asetat	4	0.000713	0.000178	0.73	0.583
AKSESI	1	0.001333	0.001333	5.46	0.031
AKSESI*Asam Asetat	4	0.000644	0.000161	0.66	0.627
Error	19	0.004638	0.000244		
Total	29	0.007361			

Tukey Pairwise Comparisons: AKSESI

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

AKSESI	N	Mean	Grouping
GM	15	0.0724973	A
PK	15	0.0591673	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 2

General Linear Model: KAR daun versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	221.8	221.83	4.33	0.051
Asam Asetat	4	2341.0	585.25	11.42	0.000
AKSESI	1	351.8	351.85	6.87	0.017
AKSESI*Asam Asetat	4	432.2	108.04	2.11	0.120
Error	19	973.5	51.24		
Total	29	4320.3			

Tukey Pairwise Comparisons: Asam Asetat

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
Control air	6	78.7917	A
15	6	65.9673	B
0	6	64.6546	B
30	6	64.2897	B
45	6	50.9136	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

AKSESI	N	Mean	Grouping
GM	15	68.3480	A
PK	15	61.4987	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 3

General Linear Model: TINGGI TANAMAN versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	16.2	16.2	1.11	0.305
Asam Asetat	4	6184.2	1546.1	106.00	0.000
AKSESI	1	17280.0	17280.0	1184.70	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	2601.7	650.4	44.59	0.000
Error	19	277.1	14.6		
Total	29	26359.2			

Tukey Pairwise Comparisons: Asam Asetat

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
Control air	6	150.0	A
15	6	139.5	B
0	6	126.0	C
30	6	123.5	C
45	6	108.0	D

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI	N	Mean	Grouping
PK	15	153.4	A
GM	15	105.4	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI*Asam Asetat	N	Mean	Grouping
PK 15	3	180.667	A
PK Control air	3	168.333	B
PK 30	3	149.000	C
PK 0	3	146.667	C
GM Control air	3	131.667	D
PK 45	3	122.333	D
GM 0	3	105.333	E
GM 15	3	98.333	E F
GM 30	3	98.000	E F
GM 45	3	93.667	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 4

General Linear Model: JUMLAH DAUN versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.200	0.2000	0.36	0.554
Asam Asetat	4	68.200	17.0500	30.95	0.000
AKSESI	1	17.633	17.6333	32.01	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	44.867	11.2167	20.36	0.000
Error	19	10.467	0.5509		
Total	29	141.367			

Tukey Pairwise Comparisons: Asam Asetat

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
Control air	6	14.1667	A
0	6	12.3333	B
15	6	10.8333	C
45	6	10.3333	C
30	6	10.1667	C

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI	N	Mean	Grouping
GM	15	12.3333	A
PK	15	10.8000	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI*Asam Asetat	N	Mean	Grouping
GM Control air	3	17.0000	A
GM 0	3	13.6667	B
PK Control air	3	11.3333	C
PK 15	3	11.3333	C
PK 0	3	11.0000	C
GM 30	3	10.6667	C
PK 45	3	10.6667	C
GM 15	3	10.3333	C
GM 45	3	10.0000	C
PK 30	3	9.6667	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 5

General Linear Model: ANAKAN PER RUMPUN versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.0000	0.00000	0.00	1.000
Asam Asetat	4	1.8000	0.45000	1.60	0.214
AKSESI	1	8.5333	8.53333	30.40	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	1.8000	0.45000	1.60	0.214
Error	19	5.3333	0.28070		
Total	29	17.4667			

Tukey Pairwise Comparisons: AKSESI

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

AKSESI	N	Mean	Grouping
PK	15	1.06667	A
GM	15	0.00000	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 6

General Linear Model: PANJANG AKAR versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	2.45	2.450	1.78	0.198
Asam Asetat	4	1390.47	347.617	251.93	0.000
AKSESI	1	80.03	80.033	58.00	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	87.80	21.950	15.91	0.000
Error	19	26.22	1.380		
Total	29	1586.97			

Tukey Pairwise Comparisons

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
0	6	43.3333	A
15	6	38.1667	B
Control air	6	33.0000	C
30	6	27.8333	D
45	6	24.5000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI	N	Mean	Grouping
GM	15	35.0000	A
PK	15	31.7333	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI*Asam Asetat	N	Mean	Grouping
GM 0	3	46.6667	A
PK 0	3	40.0000	B
PK 15	3	39.3333	B C
GM 15	3	37.0000	B C
GM Control air	3	36.0000	C
GM 30	3	30.3333	D
PK Control air	3	30.0000	D
PK 30	3	25.3333	E
GM 45	3	25.0000	E
PK 45	3	24.0000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 7

General Linear Model: BOBOT KERING MALAI versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.1008	0.1008	0.61	0.446
Asam Asetat	4	2.9976	0.7494	4.50	0.010
AKSESI	1	80.3276	80.3276	482.07	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	4.5514	1.1378	6.83	0.001
Error	19	3.1660	0.1666		
Total	29	91.1434			

Tukey Pairwise Comparisons

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
Control air	6	3.44833	A
30	6	2.83333	A B
45	6	2.82000	A B
15	6	2.65167	B
0	6	2.53167	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI	N	Mean	Grouping
PK	15	4.49333	A
GM	15	1.22067	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI*Asam Asetat	N	Mean	Grouping
PK Control air	3	5.51000	A
PK 45	3	4.65667	A B
PK 30	3	4.61000	A B C
PK 15	3	4.24000	B C
PK 0	3	3.45000	C
GM 0	3	1.61333	D
GM Control air	3	1.38667	D
GM 15	3	1.06333	D
GM 30	3	1.05667	D
GM 45	3	0.98333	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 8

General Linear Model: BOBOT KERING TANAMAN versus ULANGAN, AKSESI, Asam Asetat

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ULANGAN	1	0.595	0.5951	0.32	0.576
Asam Asetat	4	58.318	14.5795	7.94	0.001
AKSESI	1	58.716	58.7160	31.99	0.000
AKSESI*Asam Asetat	4	195.242	48.8105	26.59	0.000
Error	19	34.874	1.8355		
Total	29	347.745			

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Asam Asetat	N	Mean	Grouping
30	6	18.1033	A
45	6	17.5667	A
0	6	16.8833	A B
Control air	6	15.1883	B C
15	6	14.4600	C

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI	N	Mean	Grouping
PK	15	17.8393	A
GM	15	15.0413	B

Means that do not share a letter are significantly different.

AKSESI*Asam Asetat	N	Mean	Grouping
PK 30	3	23.8967	A
PK 45	3	20.0467	A B
GM 0	3	17.0367	B C
GM Control air	3	16.7400	B C
PK 0	3	16.7300	B C
GM 45	3	15.0867	C D
PK 15	3	14.8867	C D
GM 15	3	14.0333	C D
PK Control air	3	13.6367	C D
GM 30	3	12.3100	D

Means that do not share a letter are significantly different.

BIOGRAFI PENULIS



Penulis dilahirkan di Surabaya, 1 Agustus 1994. Riwayat pendidikan penulis sebagai berikut : MI Nurul Yaqin 2001-2007, SMP Wachid Hasyim 1 Surabaya (2007-2010), SMA Negeri 19 Surabaya (2010-2013), S1 Biologi ITS (2013-2017), S2 Biologi ITS (2018-sekarang). Penulis pernah melakukan Kerja Praktek di PT. Perkebunan Nusantara XI Surabaya. Pengalaman organisasi yang pernah diperoleh penulis selama menempuh pendidikan di Biologi ITS adalah sebagai staff pendamping keilmiah (PEKIL). Penulis pernah menjadi asisten Struktur Perkembangan Tumbuhan dan Biologi Umum sebelum melanjutkan S2 serta sempat bekerja sebagai pembina Ekstrakurikuler ECONEXIX di SMAN 19 Surabaya, dan penulis saat ini bekerja di Yayasan Alkhairiyah sebagai Guru IPA.

