



**PENINGKATAN KEMAMPUAN SERAPAN NITROGEN (N) TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa* L.) MELALUI MUTASI GEN DENGAN EMS**

**SKRIPSI**

Oleh

**Khoirotun Nikmah  
NIM 151510501180**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**PENINGKATAN KEMAMPUAN SERAPAN NITROGEN (N) TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa* L.) MELALUI MUTASI GEN DENGAN EMS**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

**Khoirotun Nikmah  
NIM 151510501180**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

**PERSEMBAHAN**

Dipersembahkan Karya Ilmiah ini untuk :

1. Kedua orang tua tercinta
2. Kakak dan Adikku
3. Guru-guruku sejak sekolah dasar hingga perguruan tinggi
4. Semua teman dan sahabat



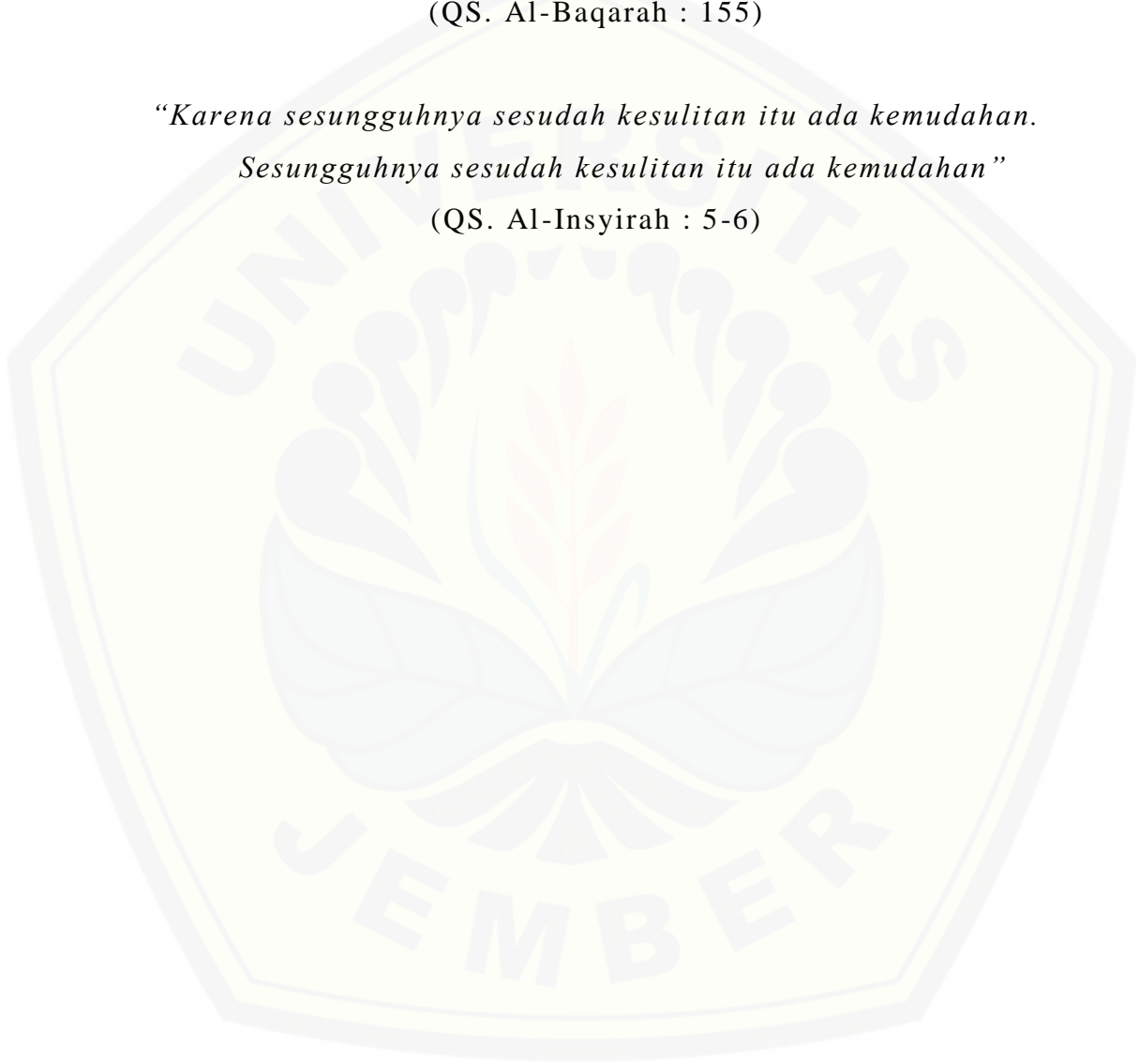
**MOTTO**

*“Dan sungguh akan kami berikan ujian kepadamu, dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa dan buah-buahan. Dan berikanlah berita gembira kepada orang-orang yang sabar”*

(QS. Al-Baqarah : 155)

*“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”*

(QS. Al-Insyirah : 5-6)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khoirotun Nikmah

NIM : 151510501180

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Peningkatan Kemampuan Serapan Nitrogen (N) Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Melalui Mutasi Gen dengan EMS”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 April 2019  
yang menyatakan.

Khoirotun Nikmah  
NIM. 151510501180

**SKRIPSI**

**PENINGKATAN KEMAMPUAN SERAPAN NITROGEN (N) TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa* L.) MELALUI MUTASI GEN DENGAN EMS**

Oleh :

Khoirotun Nikmah  
NIM. 151510501180

Pembimbing :

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, MSi.  
NIP. 196410191990021002

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “**Peningkatan Kemampuan Serapan Nitrogen (N) Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Melalui Mutasi Gen dengan EMS**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 16 Mei 2019

Tempat : Ruang Sidang 1 Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Utama,**

**Dr. Ir. Miswar, MSi.**  
NIP. 196410191990021002

**Dosen Penguji 1,**

**Dosen Penguji II,**

**Ir. Kacung Hariyono, M.S., Ph.D.**  
NIP. 196408141995121001

**Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, MP.**  
NIP. 196004091988022001

**Mengesahkan**

**Dekan,**

**Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D**  
NIP. 196005061987021001



## RINGKASAN

**Peningkatan Kemampuan Serapan Nitrogen (N) Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Melalui Mutasi Gen dengan EMS;** Khoirotun Nikmah; 151510501180; 101 halaman; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember

Pengembangan dan peningkatan produktivitas tanaman padi merupakan hal yang sangat penting. Tanaman padi merupakan salah satu tanaman pangan yang memiliki nilai penting, karena 90% dari keseluruhan penduduk Indonesia menjadikan beras sebagai makanan pokok sehari-hari dan beras menyediakan sekitar 21% dari total kalori pangan bagi penduduk dunia. Tanaman padi masih memerlukan penanganan serius, terutama dalam hal peningkatan kuantitas dan kualitas hasilnya. Salah satu bentuk upaya untuk meningkatkan produksi padi adalah melalui intensifikasi pertanian, yaitu pemberian pupuk N. Akan tetapi unsur N diserap oleh tanaman padi sangat sedikit, yaitu sekitar 30-50% dan sisanya akan hilang ke lingkungan. Salah satu upaya untuk mengatasi masalah tersebut adalah melalui kegiatan pemuliaan tanaman, yaitu mutasi gen secara kimiawi menggunakan EMS.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan mutan tanaman padi yang tinggi kemampuannya dalam menyerap unsur hara nitrogen. Penelitian ini menggunakan dua perlakuan, yaitu jenis benih yang digunakan dan kandungan N yang diberikan pada media tanam. Jenis benih yang digunakan adalah benih hasil mutasi dan benih yang tidak dimutasi, sedangkan N yang diberikan adalah N optimal dan N sub optimal. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif, sehingga data yang diperoleh akan diinterpretasikan dan didukung oleh publikasi ilmiah. Adapun parameter yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan, kandungan klorofil, serta serapan nitrat dan ammonium oleh tanaman. Kandungan nitrat dianalisis berdasarkan metode Cataldo *et al.*, (1975) dan kandungan amonium dianalisis berdasarkan metode Baethgen and Alley (1989).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan mutasi pada tanaman padi menghasilkan keragaman genetik dan menyebabkan terjadinya perubahan fenotipik pada masing-masing tanaman yang termutasi. Proses mutasi juga



menyebabkan terjadinya peningkatan serapan ammonium yang lebih tinggi dibandingkan serapan nitrat oleh tanaman padi baik pada kondisi N optimal maupun sub optimal. Mutasi menggunakan EMS menghasilkan 10 tanaman padi yang memiliki tingkat serapan ammonium yang tinggi, yaitu terdapat pada tanaman padi nomor 6, 7, 8, 17, 37, 42, 43, 47, 48, dan 49. Serapan ammonium tertinggi dapat mencapai  $10.3 \mu\text{g/ml/3 jam}$  dan terdapat pada tanaman nomor 37.



## SUMMARY

**Increased Capability of Nitrogen (N) Absorption in Rice Plants (*Oryza sativa* L.) Through Mutations by EMS;** Khoirotun Nikmah; 151510501180; 2019; 75 pages; Agrotechnology Study Program; Faculty of Agriculture; University of Jember.

The development and improvement of rice productivity is very important. Rice plants are one of the food crops that have important values, because 90% of the total population of Indonesia makes rice as a daily staple food. Rice plants still need serious handling, especially in terms of increasing the quantity and quality of the results. One form of effort to increase rice production is through agricultural intensification, namely the provision of N fertilizer. However, N elements are absorbed by rice plants very little, which is around 30-50% and the rest will be lost to the environment. One effort to overcome this problem is through plant breeding activities, namely chemical mutations using EMS.

This study aims to obtain rice plant mutants that have high ability to absorb nitrogen nutrients. This study uses two treatments, namely the type of seed used and the content of N given to the growing media. The type of seed used is the seed produced by mutations and seeds that are not mutated, while the given N is optimal N and sub optimal N. The data obtained were analyzed descriptively. The parameters observed included plant height, number of tillers, chlorophyll content, and uptake of nitrates and ammonium by plants. The nitrate content was analyzed based on the Cataldo et al. (1975) method and ammonium content was analyzed based on the Baethgen and Alley method (1989).

The results showed that mutation treatment in rice plants produced genetic diversity and caused phenotypic changes in each mutated plant. The mutation process also causes an increase in the uptake of ammonium which is higher than the nitrate uptake by rice plants both at optimal and sub optimal N conditions. Mutations using EMS produce 10 rice plants that have high levels of ammonium uptake, which are found in rice plants number 6, 7, 8, 17, 37, 42, 43, 47, 48, and 49. Ammonium uptake can reach 10.3  $\mu\text{g} / \text{ml} / 3$  hours and it is found in plant number 37.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Peningkatan Kemampuan Serapan Nitrogen (N) Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Melalui Mutasi Gen dengan EMS”** dengan baik.

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember;
3. Ir. Raden Soedradjad, MT. selaku Ketua Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember;
4. Dr. Ir. Miswar, MSi., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Akademik; Ir. Kacung Hariyono, M.S.,Ph.D. selaku Dosen Penguji Utama dan Dr. Ir. Denna Eriani Munandar, MP., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah membimbing, meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Orang tua saya Ayahanda Teman dan Ibunda Suwasi serta Kakak saya Uswatun Khasanah, Achmad Sumariyanto, dan Isa Ansori yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, motivasi dan dukungan hingga terselesaikannya skripsi ini;
6. Kakak ipar saya Achmad Subekti, Rochani Iswandari, Ayu Andini serta Adik keponakan saya Khakam, Irsya, Arkhan, Aya, Thifa, dan Alesha yang selalu memberikan doa, kasih sayang, motivasi dan dukungan dalam mengerjakan skripsi ini;
7. Viki, Handika, Aqiyas, Faqih, Sulis, Novita, Tamara yang selalu membantu dan memberikan semangat dari awal penelitian sampai penelitian ini dapat terselesaikan;

8. Sahabat saya yaitu Ama, Rinda, Anggita, Aik, Uus, Rena, Bunga, Alma, yang telah banyak membantu dalam proses penelitian dan setiap permasalahan dengan sabar serta tanpa adanya pamrih;
9. Reza Fauzi yang selalu memberi motivasi, dukungan, serta mendengarkan segala keluh kesah dalam mengerjakan skripsi ini dari awal sampai akhir;
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu namun telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca sekalian.

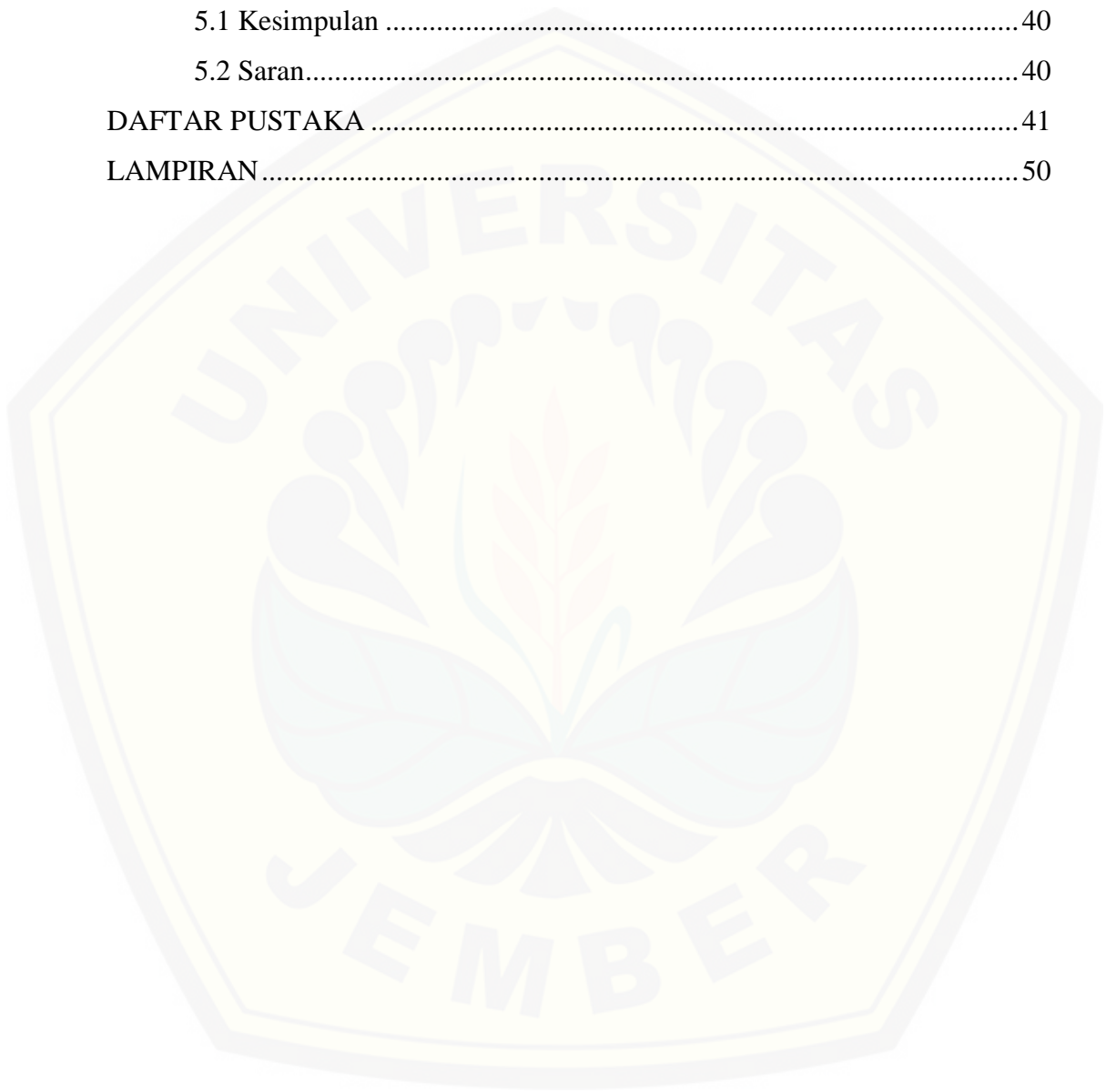
Jember, 14 April 2019

**Penulis**

**DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PEMBIMBING.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
SUMMARY .....	ix
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Klasifikasi dan Pertumbuhan Tanaman Padi .....	5
2.2 Mutasi Gen.....	6
2.3 Serapan Unsur N .....	8
2.4 Hipotesis.....	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Alat dan Bahan .....	12
3.3 Rancangan Penelitian.....	12
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.5 Variabel Pengamatan .....	17
3.6 Analisis Data.....	17

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Hasil .....	18
4.2 Pembahasan.....	23
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan .....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA .....	41
LAMPIRAN.....	50





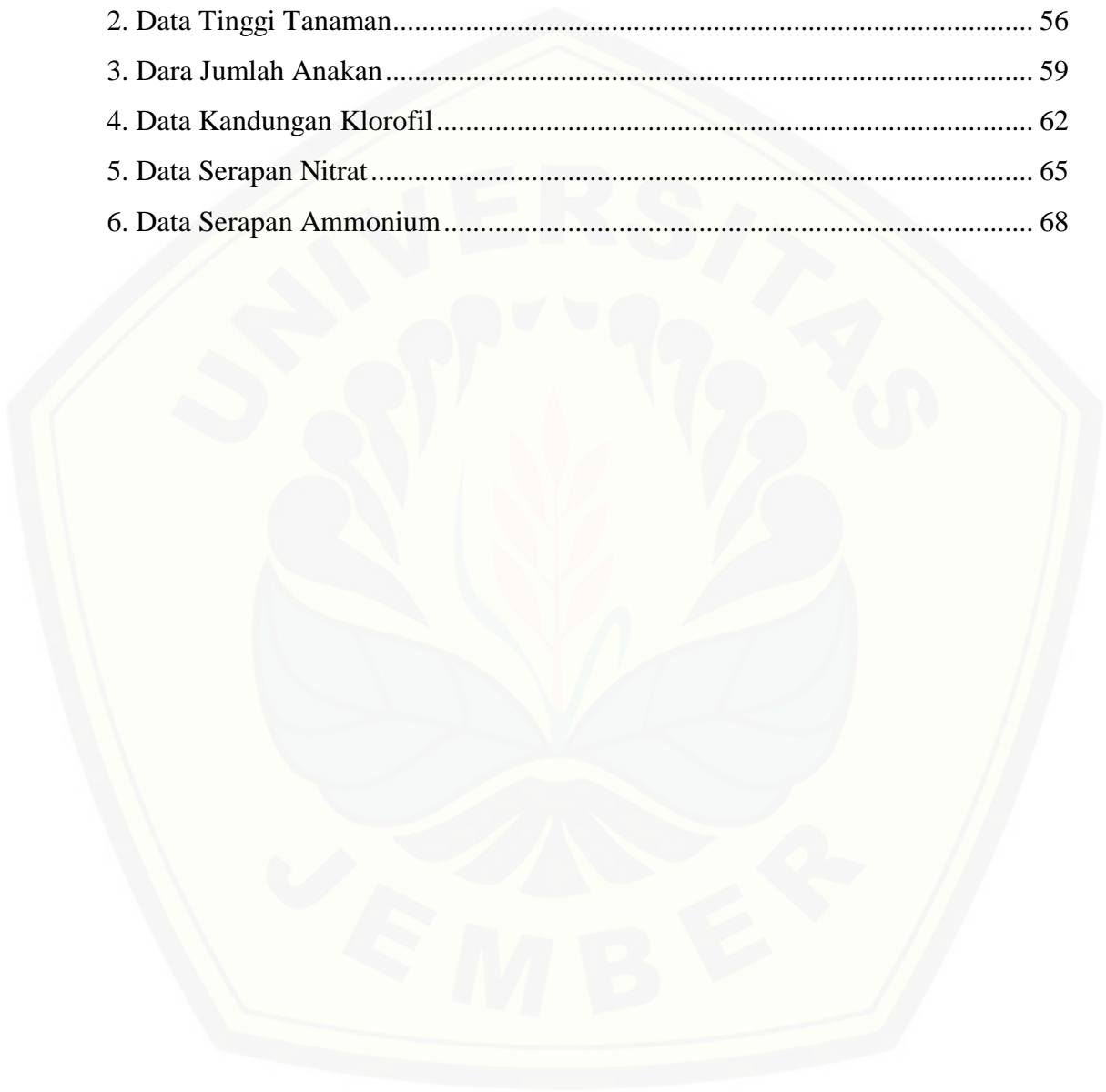
**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
2.1	Reaksi Induksi EMS.....	7
2.2	Skema Siklus Nitrogen di Alam.....	10
3.1	Posisi Pengambilan Dua Titik Sample Larutan Nutrisi pada Media Tanam	16
4.1	Tinggi Tanaman Padi Mutan dan Non Mutan pada Kondisi N Optimal dan Sub Optimal .....	18
4.2	Jumlah Anakan Tanaman Padi Mutan dan Non Mutan pada Kondisi N Optimal dan Sub Optimal.....	20
4.3	Kandungan Klorofil Tanaman Padi Mutan dan Non Mutan pada Kondisi N Optimal dan Sub Optimal.....	22
4.4	Serapan Nitrat Tanaman Padi Mutan dan Non Mutan pada Kondisi N Optimal dan Sub Optimal.....	24
4.5	Serapan Ammonium Tanaman Padi Mutan dan Non Mutan pada Kondisi N Optimal dan Sub Optimal.....	26
4.6	Tanaman <i>Azolla piñata</i> .....	30
4.7	Tanaman Lumut kerak .....	30
4.8	Reaksi Kimia dan Skema Penambatan Nitrogen .....	33
4.9	Skema Proses Nitrifikasi Nitrogen.....	34
4.10	Skema Proses Denitrifikasi .....	34
4.11	Skema Proses Immobilisasi Nitrogen .....	35
4.12	Skema Proses Mineralisasi N.....	39



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Dokumentasi Penelitian .....	50
2.	Data Tinggi Tanaman.....	56
3.	Dara Jumlah Anakan.....	59
4.	Data Kandungan Klorofil.....	62
5.	Data Serapan Nitrat.....	65
6.	Data Serapan Ammonium.....	68



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang

Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan yang memiliki nilai penting, karena 90% dari keseluruhan penduduk Indonesia menjadikan beras sebagai makanan pokok sehari-hari dan beras menyediakan sekitar 21% dari total kalori pangan bagi penduduk dunia, terutama penduduk Asia termasuk Indonesia (Saragih, 2001). Kebutuhan beras setiap tahunnya selalu mengalami peningkatan seiring bertambahnya jumlah penduduk, sehingga diharapkan produksi padi setiap tahunnya dapat meningkat. Berdasarkan data dari BPS tahun 2015 produksi padi nasional meningkat sebanyak 4,51 juta ton (6,37%) dibandingkan dengan produksi tahun 2014. Peningkatan produksi ini disebabkan oleh meningkatnya area luas panen dan produktivitas, dimana luas panen meningkat sebesar 0,32 juta hektar (2,31%) dan produktivitas meningkat sebesar 2,04 kuintal/hektar (3,97 persen).

Penggunaan pupuk nitrogen (N) dalam kegiatan budidaya tanaman padi setiap tahun mengalami peningkatan, tetapi kemampuan tanaman padi untuk menyerap unsur N masih rendah, yaitu sekitar 30%-50%, sisanya (50-70%) akan hilang ke lingkungan. Kehilangan unsur N yang tinggi dapat disebabkan oleh denitrifikasi, pelindian, volatilisasi, dan tercuci oleh aliran permukaan. Unsur hara nitrogen yang dapat diserap oleh akar tanaman berupa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan amonium ( $\text{NH}_4^+$ ), akan tetapi tanaman juga mampu menyerap unsur nitrogen dalam bentuk asam amino dan peptida, terutama di-peptida dan tri-peptida (Miller *et al.*, 2007). Nitrogen yang diserap tanaman dipengaruhi oleh sifat tanah, jenis tanaman dan tahapan dalam pertumbuhan tanaman.

Unsur hara nitrogen (N) berperan penting bagi tanaman, khususnya untuk pertumbuhan dan produksi tanaman. Unsur N juga berperan sebagai molekul signal yang mengatur proses-proses fisiologi dan perkembangan yang penting, selain sebagai nutrisi bagi tanaman (Bouguyon *et al.*, 2012). Akan tetapi unsur hara nitrogen ini juga dapat menjadi faktor pembatas, termasuk bagi tanaman padi. Tanaman dalam proses penyerapan unsur hara, terutama unsur N dari tanah

difasilitasi oleh protein transporter yang terdapat pada membran sel akar. Pengaturan metabolisme N pada tanaman merupakan proses yang bertautan dan dipengaruhi oleh beberapa proses fisiologi dan metabolit, seperti sintesis sukrosa, proses transport, N metabolit glutamin dan  $\text{NO}_3^-$  (López-Arredondo *et al.*, 2013).

Kemampuan penyerapan unsur N (nitrat dan amonium) oleh tanaman padi diatur secara kompleks, sehingga berpengaruh pada pertumbuhan dan produksi tanaman, oleh sebab itu pengaturan harus dilakukan secara komprehensif. Perbaikan genetik terhadap kemampuan menyerap N dan efisiensi penggunaan N oleh tanaman padi memberikan sumbangan besar, terutama untuk mengurangi penggunaan pupuk N dan kerusakan lingkungan akibat pencemaran nitrat (Matsunami *et al.*, 2013). Upaya yang dilakukan dalam kegiatan pemuliaan tanaman untuk perbaikan genetik dan menghasilkan keragaman genetik yang tinggi, salah satu diantaranya dapat dilakukan dengan induksi mutasi. Mutasi pada tanaman akan menimbulkan perubahan pada struktur dan komposisi materi genetik yang diwariskan pada generasi berikutnya.

Perbaikan genetik melalui mutasi dengan menggunakan senyawa kimia akan mengubah proses metabolisme pada keseimbangan yang baru yang mendukung metabolisme N, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi. Mutagen kimia yang digunakan untuk melakukan mutasi pada penelitian ini adalah ethyl methane sulfonate (EMS). Menurut Van Harten (1998) EMS paling banyak digunakan karena sering menghasilkan mutan yang bermanfaat dan tidak bersifat mutagenic setelah terhidrolisis. EMS juga mempunyai harga yang relative lebih murah dan mudah diperoleh serta terbukti efektif dalam menyebabkan mutasi titik pada berbagai tanaman dibandingkan dengan senyawa kimia lainnya.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa EMS dapat meningkatkan keanekaragaman dan menghasilkan mutan, misalnya dihasilkan mutan pisang yang resisten terhadap virus (Imelda dkk., 2000). Mutagen EMS juga menyebabkan peningkatan keragaman varian dari abaka atau pisang manila (*Musa textilis*) dan berhasil mendapatkan mutan yang tahan terhadap penyakit layu *Fusarium* (Purwati dkk., 2008). Penggunaan mutagen kimia EMS juga

berpengaruh terhadap perkecambahan benih tanaman. Hasil penelitian Jabeen and Mirza (2004) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,5% dengan lama perendaman selama 6 jam memiliki efek menurunkan perkecambahan benih. Demikian juga pada penelitian yang dilakukan oleh Talebi and Behzad (2012) yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan persentase perkecambahan pada benih padi seiring dengan meningkatnya konsentrasi EMS. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut telah membuktikan bahwa EMS sebagai senyawa mutagen mampu memberikan pengaruh keragaman fenotip terhadap tanaman budidaya.

Berdasarkan masalah di atas, perlu diketahui sejauh mana respon tanaman padi hasil mutasi terhadap kemampuan tanaman dalam menyerap unsur hara nitrogen serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman. Oleh karena itu perlu dilakukan sebuah penelitian yang tujuannya adalah untuk mengetahui respon tanaman padi hasil mutasi dengan menggunakan bahan kimia EMS terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga diharapkan hasil produksi padi akan meningkat seiring dengan meningkatnya kemampuan serapan unsur hara N tersebut.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu:

1. Apakah mutasi dengan EMS dapat meningkatkan kemampuan tanaman padi dalam menyerap unsur N pada kondisi sub optimal dan optimal kandungan N dalam media?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui pengaruh mutasi dengan menggunakan EMS terhadap kemampuan serapan nitrogen oleh tanaman padi.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi mengenai pengembangan padi varietas baru yang memiliki tingkat penyerapan unsur N lebih tinggi.

2. Meningkatkan pengetahuan mengenai pengaruh mutasi gen dengan EMS terhadap peningkatan serapan unsur N oleh tanaman padi, baik dalam kondisi N sub optimal maupun optimal.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Pola Pertumbuhan Tanaman Padi

Menurut Grist (1960), padi dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan kedalam :

Divisio	: Spermatophyta
Sub division	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae,
Ordo	: Poales,
Famili	: Graminae
Genus	: Oryza Linn
Species	: Oryza sativa L.

Padi memiliki tiga fase pertumbuhan, yaitu fase vegetatif (0-60 hari), fase generatif (60-90 hari), dan fase pemasakan (90-120 hari). Fase vegetatif merupakan fase awal pertumbuhan tanaman yang dimulai dari tahap perkecambahan benih sampai inisiasi primordia malai. Tahap perkecambahan benih ini, akar tanaman padi akan menyerap air dari lingkungan dan karena perbedaan kadar air antara benih dan lingkungan, maka masa dormansi akan pecah dengan ditandai kemunculan radikula dan plumula (Kaya dan Rehatta, 2013).

Tahap selanjutnya adalah tahap pertunasan, yang dimulai ketika benih berkecambah sampai menjelang anakan pertama muncul. Awal di persemaian, akar seminal mulai muncul sampai kemunculan akar sekunder membentuk sistem perakaran serabut permanen dengan cepat menggantikan radikula dan akar seminal sementara, disamping itu tunas terus tumbuh dan dua daun lagi terbentuk. Besarnya radiasi yang diserap tanaman sejalan dengan kecepatan pertumbuhan awal dan perkembangan luas daun (Manshuri, 2011). Daun terus berkembang dengan kecepatan 1 daun setiap 3-4 hari selama tahap awal pertumbuhan sampai terbentuknya 5 daun sempurna yang menandai akhir fase ini.

Tahap pembentukan anakan dimulai setelah kemunculan daun kelima bersamaan dengan berkembangnya tunas baru. Anakan muncul dari tunas aksial



pada buku batang dan menggantikan tempat daun serta tumbuh dan berkembang. Setelah tumbuh, anakan pertama memunculkan anakan sekunder, demikian seterusnya hingga anakan maksimal. Fase ini memiliki dua tahapan penting yaitu pembentukan anakan aktif dan disusul dengan perpanjangan batang. Pembentukan anakan dipengaruhi oleh sifat genetik dan keadaan lingkungan yang sesuai (Donggulo dkk., 2017).

Sistem perakaran padi sangat beragam berdasarkan genotipnya. Perakaran padi tumbuh sedikit kompak dan penyebaran akar horizontal lebih dominan daripada yang tegak lurus ke dalam tanah. Pertumbuhan akar selanjutnya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, tekstur, jenis tanah, air, udara, dan cara pengelolaan tanah. Pertumbuhan akar hanya akan terjadi secara aktif apabila kadar N dalam batang lebih dari 1%. Perakaran yang sehat, dalam dan tebal, mampu mencengkeram tanah lebih luas, serta mampu menahan kerebahan memungkinkan penyerapan air dan hara yang lebih efisien. (Suardi, 2002).

## **2.2 Mutasi Gen**

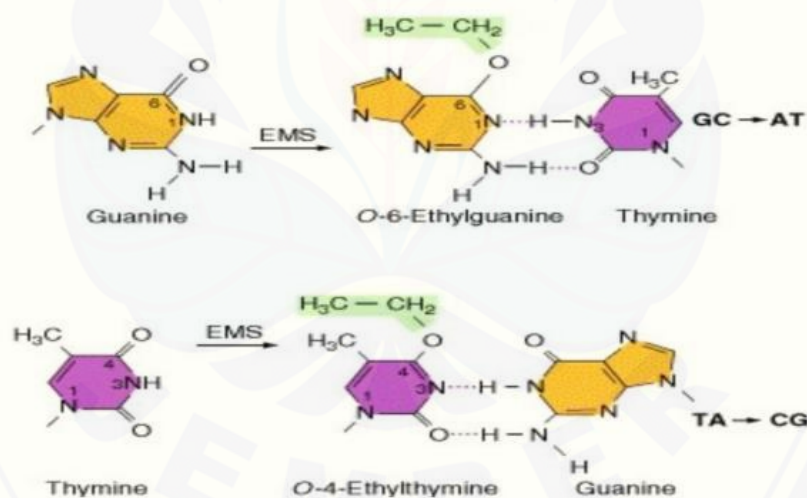
Mutasi merupakan suatu perubahan materi genetik (DNA) yang dapat diwariskan kepada keturunannya secara genetis. Induksi mutasi dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen fisik maupun mutagen kimiawi. Mutagen fisik yang sering digunakan adalah ionisasi sinar alpha, gamma, beta, fast neutron, berkas ion, dan berkas elektron, sedangkan mutagen kimia yang sering digunakan adalah mustar belerang, Colchisine, EMS, dan DES (Chopra, 2005). Agen kimia dapat bermanfaat karena mampu memberikan tingkat mutasi yang tinggi dalam menghasilkan varian untuk toleransi terhadap kondisi stres biotik maupun abiotik (Jain, 2010).

Mutagen kimia mudah digunakan, tidak memerlukan peralatan khusus, dan dapat memberikan frekuensi mutasi yang sangat tinggi. Mutagen kimia jika dibandingkan dengan metode radiologi, mutagen kimia ini cenderung menyebabkan perubahan basa tunggal (bp) atau polimorfisme nukleotida tunggal (SNP). EMS (Ethyl Methane Sulphonate) merupakan salah satu mutagen kimia yang paling banyak digunakan karena sering menghasilkan mutan yang bermanfaat serta tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Harten, 1998).



Mutasi gen secara kimiawi dengan menggunakan EMS menyebabkan terjadinya perubahan nukleotida C menjadi T, sehingga menyebabkan perubahan pasangan nukleotida dari GC menjadi pasangan AT (Serrat *et al.*, 2014).

EMS secara selektif mengalkilasi basis guanin yang menyebabkan DNA-polimerase menempatkan residu timin di atas residu sitosin, berlawanan dengan O-6-etil guanin selama replikasi DNA. Sebagian besar (70-99%) perubahan pada populasi yang bermutasi EMS adalah GC untuk transisi pasangan basa AT (Till *et al.*, 2007). Reaksi induksi EMS akan disajikan pada gambar 2.1. Mutasi di wilayah pengkodean bisa diam, *nonsense*, dan *missense*. EMS dapat menyebabkan mutasi *nonsense*, yaitu mengubah urutan nukleotida sehingga menyebabkan kodon berhenti dikodekan dan mutasi *missense*, yaitu mengubah urutan dari nukleotida sehingga asam amino yang diproduksi akan berbeda. Penyimpangan mRNA, perubahan stabilitas mRNA, dan perubahan dalam penerjemahan protein juga dapat terjadi sebagai akibat mutagenesis (Sikora *et al.*, 2011).



Gambar 2.1 Reaksi induksi EMS (Suzuki *et al.*, 2000).

EMS masuk ke dalam benih ketika proses perendaman, yaitu setelah benih mengalami proses imbibisi pada saat benih direndam terlebih dahulu ke dalam aquadest. Proses imbibisi akan menyebabkan kulit biji menjadi lunak dan retak, sehingga EMS dapat masuk ke dalam benih. Masuknya EMS ke dalam benih akan menyebabkan mutasi titik pada DNA sel embrio yang ada di dalam benih dan akan menyebabkan perubahan susunan asam amino (Putra dan Purwani, 2017).

Mangaiyarkarasi et al., (2014) menyatakan bahwa efektifitas akan menurun bersamaan dengan meningkatnya dosis atau konsentrasi EMS. Tingginya konsentrasi EMS dapat berpengaruh negatif, diantaranya yaitu dapat merusak promotor pertumbuhan, meningkatkan penghambat pertumbuhan dan metabolisme benih, serta dapat menyebabkan berbagai macam penyimpangan kromosom.

EMS merupakan senyawa yang bersifat racun, sehingga dapat menghambat pertumbuhan, akan tetapi pada akhirnya benih tetap dapat beradaptasi dan mampu muncul ke permukaan tanah (Rustini dan Pharmawati, 2014). Pemberian mutagen EMS dengan konsentrasi yang rendah dapat menjadikan benih tetap viabel, akan tetapi variasi genetik yang dihasilkan bisa saja rendah, hal ini dikarenakan sedikitnya mutagen yang masuk ke dalam benih. Sebaliknya, pemberian EMS dengan konsentrasi yang tinggi dapat memunculkan lebih banyak variasi genetik, meskipun benih tersebut memiliki daya berkecambah yang rendah dan tingkat kematian yang tinggi (Shah *et al.*, 2015). Variasi genetik yang dihasilkan lebih banyak ini disebabkan akibat banyaknya mutagen yang masuk ke dalam benih. Semakin tinggi konsentrasi EMS dapat menyebabkan semakin banyaknya EMS yang terserap, sehingga toksisitas EMS semakin bertambah. Hasil penelitian Wattoo *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa konsentrasi EMS 0,5 - 1,0% (v/v) merupakan konsentrasi yang tepat untuk melakukan mutasi pada biji padi. Mahapotra *et al.*, (2014) juga berpendapat bahwa konsentrasi yang efektif dan dianggap sebagai tingkat optimal dari dosis EMS untuk mutasi biji padi adalah 0.6 – 1.0 % (v/v).

### 2.3 Serapan Unsur N

Nitrogen merupakan anasir penting dalam pembentukan klorofil, protoplasma, protein, dan asam-asam nukleat (Albari dkk., 2018). Unsur ini mempunyai peranan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan semua jaringan hidup. Unsur N pada umumnya diserap tanaman dalam bentuk  $\text{NH}_4^+$  atau  $\text{NO}_3^-$  yang dipengaruhi oleh sifat tanah, jenis tanaman, dan tahapan dalam pertumbuhan tanaman. Unsur N yang masuk ke dalam sel tanaman akan di metabolisme dan dikatalisis oleh beberapa enzim, seperti Glutamine Synthetase (GS), Nitrate Reduktase (NR), dan Glutamate Dehidrogenase (GDH). Tanah

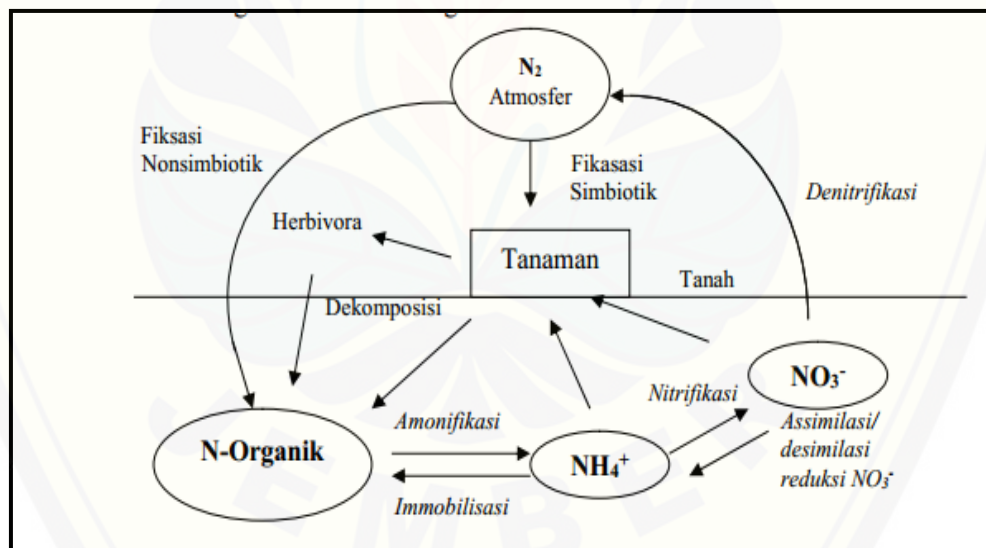
dengan pengatusan yang baik, maka unsur N diserap tanaman dalam bentuk ion nitrat, karena sudah terjadi perubahan bentuk  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NO}_3^-$ , sebaliknya pada tanah tergenang tanaman cenderung menyerap  $\text{NH}_4^+$  (Fahmi dkk., 2010).

Kemampuan tanaman padi dalam menyerap unsur N sangat terbatas dan jumlah N yang terdapat di dalam tanah juga sedikit, sedangkan kebutuhan tanaman serta kehilangan N pada tanah cukup besar. Kemampuan tanaman padi untuk menyerap unsur N hanya sekitar 30%-50%, sisanya (50-70%) akan hilang ke lingkungan. Sisa nitrogen yang tidak diserap oleh tanaman akan mengalami denitrifikasi, volatilisasi, serta mengalami leaching menuju zona air tanah. Kehilangan N dari tanah tersebut dapat berupa bentuk gas yang terjadi akibat kegiatan-kegiatan mikroba tanah dan reaksi-reaksi di dalam tanah (Barus dkk., 2013). Pemberian pupuk nitrogen yang semakin tinggi, maka juga akan menyebabkan semakin banyaknya nitrogen yang hilang.

Serapan nitrogen selama pertumbuhan tanaman tidak selalu sama dengan tingkat kesuburan yang sama. Banyaknya nitrogen yang diserap oleh tanaman setiap hari per satuan berat tanaman yaitu akan maksimum ketika tanaman masih muda dan semakin menurun seiring bertambahnya umur tanaman. Proses penyerapan unsur nitrogen pada akar tanaman dilakukan oleh suatu sistem transport yang difasilitasi oleh protein transporter yang terdapat pada membran sel akar. Sistem transport yang digunakan oleh tanaman untuk penyerapan unsur N ada dua, yaitu *low-affinity* dan *high-affinity transport systems* (LATS and HATS) (Glass *et al.*, 2002). Sistem HATS akan bekerja jika konsentrasi N dalam media kecil, sedangkan sistem LATS akan bekerja apabila konsentrasi N dalam media tinggi atau besar (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010). Rentang konsentrasi yang sering digunakan untuk LN (Low N) adalah 0-1 mM  $\text{NO}_3$  dan 0,05-50 mM  $\text{NO}_3$  untuk HN (High N) (Brien *et al.*, 2016).

Berbagai bentuk nitrogen dijumpai di lingkungan dan perubahan berkesinambungan berbagai bentuk nitrogen tersebut terjadi akibat proses fisika dan biologi yang biasa disebut daur nitrogen atau siklus nitrogen (Handayanto dan Hairiah, 2009). Siklus nitrogen adalah suatu proses konversi senyawa yang mengandung unsur nitrogen menjadi berbagai macam bentuk kimiawi yang lain.

Transformasi ini dapat terjadi secara biologis maupun non-biologis. Sumber nitrogen untuk tanaman adalah  $N_2$  yang terdapat bebas dalam udara dan bentuk  $N_2$  tersebut tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman dan harus terlebih dahulu dirubah menjadi nitrat maupun amonium melalui proses tertentu sehingga tersedia bagi tanaman dan dapat digunakan oleh tanaman. Nitrogen bebas dapat ditambat atau difiksasi terutama oleh tumbuhan yang berbintil akar (misalnya jenis polongan) dan beberapa jenis ganggang (Armiadi, 2009). Nitrogen bebas juga dapat bereaksi dengan hidrogen atau oksigen dengan bantuan kilat atau petir. Sebagian besar nitrogen yang terdapat di dalam organisme hidup berasal dari penambatan oleh mikroorganisme prokariot dan sebagian diantaranya terdapat di akar tumbuhan tertentu atau dari pupuk hasil penambatan secara industry. Nitrogen pindah dari atmosfer ke tanah sebagai  $NH_4^+$  dan  $NO_3^-$  juga bisa karena air hujan dan diserap oleh akar (Salisbury and Ross, 1995). Siklus nitrogen di alam secara singkat akan dijabarkan pada gambar 2.2 berikut ini:



Gambar 2.2 Skema siklus nitrogen di alam.

Perubahan nitrogen organik menjadi  $NH_4^+$  oleh bakteri dan fungi tanah disebut dengan proses amonifikasi yang dapat berlangsung oleh berbagai macam mikroorganisme pada suhu dingin dan pada berbagai nilai pH. Selanjutnya pada tanah yang hangat dan lembab serta pH sekitar netral,  $NH_4^+$  akan dioksidasi menjadi nitrit ( $NO_2$ ) dan  $NO_3^-$  (nitrat) dalam beberapa hari setelah pembentukannya atau penambahannya sebagai pupuk dan biasa disebut dengan



proses nitrifikasi (Hardjowigeno, 2010). Proses nitrifikasi ini berguna dalam menyediakan energi bagi kelangsungan hidup dan perkembangan mikroba tersebut. Selain itu terdapat pula denitrifikasi yaitu suatu proses pembentukan  $N_2$ , NO,  $N_2O$  dan  $NO_2$  dari  $NO_3^-$  oleh bakteri aneorobik yang berlangsung di dalam tanah yang penetrasi  $O_2^-$  nya terbatas, tergenang, padat, dan daerah dekat permukaan tanah yang konsentrasi  $O_2^-$  nya rendah (Hastuti, 2011).

Penyerapan nitrat dan ammonium dikode oleh gen yang berbeda. Penyerapan nitrat dilakukan oleh nitrat transporter protein yang dikode oleh gen NRT, sedangkan penyerapan amonium dikode oleh gen AMT. Proses metabolisme N pada tanaman sangat terkait dengan metabolisme karbon (C). Kerangka karbon (C) sangat diperlukan oleh asimilasi karbon yang telah disediakan dalam proses respirasi sukrosa yang didapat dari daun. Proses respirasi dalam tanaman, selain menyediakan kerangka karbon juga menyediakan energi dalam bentuk ATP yang penting fungsinya dalam asimilasi N. Fotosintesis memegang peranan penting dalam asimilasi nitrogen (N), baik secara langsung maupun tidak langsung (Nunes-Nesi *et al.*, 2010).

#### 2.4 Hipotesis

1. Mutasi secara kimia menggunakan EMS dapat meningkatkan kemampuan tanaman padi dalam menyerap unsur N pada kondisi sub optimal dan optimal kandungan N dalam media.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan kegiatan penelitian Peningkatan Kemampuan Serapan Nitrogen (N) Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Melalui Mutasi Gen Secara Kimiawi ini dilaksanakan di Green House Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada tanggal 1 Oktober 2018 sampai 28 Februari 2019.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, penggaris, spektrofotometer, bak pengecambah, sekop, pot, sprayer, inkubator, gelas beker, tabung reaksi, eppendorp, pipet volume, bulb, corong gelas, kaca pengaduk, dan neraca analitik.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan tanam yang berupa benih padi varietas ciherang, aquades, larutan EMS, pasir, dan larutan nutrisi, salicylic acid,  $H_2SO_4$ , NaOH, nitropruside, larutan buffer, dan larutan hipoklorid.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih padi varietas Ciherang. Mutasi tanaman padi varietas Ciherang dengan konsentrasi EMS 0.7% menggunakan dua macam faktor perlakuan, yaitu:

- a. Faktor pertama adalah bahan tanam yang digunakan, terdiri dari 2 taraf yaitu :
  - Benih padi mutasi menggunakan EMS 0.7%
  - Benih padi non mutasi
- b. Faktor kedua adalah kandungan N yang diberikan dalam larutan nutrisi, terdiri dari 2 taraf yaitu :
  - Kandungan N optimal sebesar 25 mM

- Kandungan N sub optimal sebesar 0.36 mM

Sehingga dalam penelitian ini terdapat 4 kombinasi perlakuan yang diberikan, yaitu :

1. 50 biji mutasi dengan menggunakan EMS 0.7%, kandungan N optimal 25 mM (Mutan, N optimal; tanaman nomor 1-50).
2. 10 biji non mutasi, kandungan N optimal 25 mM (Non mutan, N optimal; tanaman nomor 51-60).
3. 50 biji mutasi dengan menggunakan EMS 0.7%, kandungan N sub optimal 0.36 mM (Mutan, N sub optimal; tanaman nomor 61-110).
4. 10 biji non mutasi, kandungan N sub optimal 0.36 mM (Non mutan, N sub optimal; tanaman nomor 111-120).

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dimulai dari mutasi benih, perkecambahan benih, pembuatan larutan nutrisi, penanaman padi, perawatan padi, pengukuran tinggi tanaman, perhitungan jumlah anakan, pengukuran kandungan klorofil, serta pengambilan sample dan penentuan konsentrasi nitrat dan amonium.

#### **1. Mutasi Benih**

Pembuatan larutan stok EMS 0.7% dibuat terlebih dahulu dengan cara menyiapkan EMS kemudian diambil sebanyak 175 $\mu$ l menggunakan mikropipet lalu diencerkan dengan cara ditambah larutan aquadest sebanyak 25 ml. Sebelum dilakukan mutasi, benih padi disiapkan lalu direndam ke dalam 100 ml aquadest di dalam gelas beker pada suhu ruangan selama 24 jam. Benih yang telah direndam dikeringkan diatas kertas saring. Benih yang digunakan untuk kontrol hanya direndam dengan aquadest, sedangkan pada perlakuan menggunakan EMS benih direndam dalam larutan EMS konsentrasi 0,7%. Benih direndam selama 6 jam dan dilakukan pengocokan secara berkala setiap 1 jam. Benih yang telah direndam kemudian dibilas dengan air mengalir dan selanjutnya benih dikeringkan terlebih dahulu sebelum ditanam.



## 2. Perkecambahan Benih

Benih hasil mutasi dan kontrol (tidak dimutasi) dikecambahkan pada bak perkecambahan dengan media pasir selama 20 hari. Setelah 20 hari benih dipindahkan ke pot penanaman. Selama fase perkecambahan, setiap tiga hari sekali diberikan larutan nutrisi untuk menyuplai kebutuhan nutrisi tanaman.

## 3. Pembuatan Larutan Nutrisi

Penelitian ini menggunakan komposisi larutan nutrisi berdasarkan penelitian Yoshida *et al.* (1972), yaitu:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  91.4 g/l,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  71.4 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  23.1 g/l,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  4.3 g/l,  $\text{CaCl}_2$  443 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  324 g/l,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1.5 g/l,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.074 g/l,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0.93 g/l,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.035 g/l,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.03 g/l,  $\text{FeNaEDTA}$  10.5 g/l, dan  $\text{FeSO}_4$  2.5 g/l. Bahan-bahan kimia tersebut ditimbang menggunakan neraca analitik sesuai dengan komposisi yang telah ditentukan, kemudian masing-masing bahan dilarutkan dalam 1 liter air dan dimasukkan pada tempat yang berbeda-beda. Setiap bahan kimia yang telah dilarutkan, diambil sebanyak 12.5 ml untuk dicampur dengan 10 liter aquadest, kecuali yang  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Konsentrasi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dibedakan menjadi dua, yaitu sub optimal (0.36 mM) dan optimal (25 mM). Perbedaan konsentrasi tersebut merupakan perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini, yaitu besarnya kandungan N yang diberikan dalam larutan nutrisi pada media tanam. Kedua konsentrasi tersebut diperoleh dari hasil perhitungan molar dan persamaan stoikiometri  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , kemudian dihitung menggunakan rumus pengenceran untuk konsentrasi N yang sub optimal. Setelah larutan nutrisi dibuat, maka dilakukan pengukuran pH terhadap larutan tersebut sehingga pH larutan mencapai 6.5.

## 4. Penanaman Padi

Penanaman padi dilakukan secara hidroponik yaitu bibit padi ditanam pada pot yang telah berisi media pasir dan diberi larutan nutrisi secara rutin dan kondisi pertanaman harus tergenang. Larutan nutrisi yang diberikan juga berbeda kandungan unsur nitrogennya, yaitu sesuai dengan perlakuan yang diberikan (sub optimal dan optimal). Kegiatan penanaman padi dibedakan menjadi dua jenis bahan tanam yang digunakan dan diletakkan pada lajur yang berbeda, yaitu ada yang menggunakan bibit hasil benih mutasi sebanyak 100 bibit dan bibit hasil

benih kontrol sebanyak 20 bibit. Tanaman mutasi optimal dimulai nomor 1-50, sedangkan yang tidak dimutasi nomor 51-60. Tanaman mutasi sub optimal dimulai nomor 61-110, sedangkan yang tidak dimutasi mulai nomor 111-120. Penanaman padi dilakukan sampai fase vegetatif padi saja, tidak mencapai fase generatif.

#### 5. Perawatan Selama Masa Tumbuh

Salah satu perawatan yang harus dilakukan adalah perawatan terhadap tanaman liar atau gulma, yang dapat dilakukan dengan cara mengambil atau menyingkirkan tanaman yang mengganggu tanaman pokok. Perawatan ini dilakukan secara kondisional dan dikerjakan secara manual. Perawatan lain yaitu berupa pemberian larutan nutrisi secara rutin pada tanaman sampai kondisi pertanaman tergenang. Pemberian larutan nutrisi diberikan ketika kondisi daerah sekitar pertanaman tidak tergenang lagi atau hampir kering, yaitu sekitar 2-3 hari dilakukan pemberian larutan nutrisi.

#### 6. Pengukuran Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman padi diukur mulai dari pangkal batang di atas permukaan tanah hingga ujung daun tertinggi. Pengukuran dilakukan setiap 10 hari sekali, yaitu pada saat tanaman padi berumur 45, 55, dan 65 HST bersamaan dengan perhitungan jumlah anakan, pengukuran kandungan klorofil, dan pengambilan sample untuk analisis kandungan nitrat dan ammonium yang terdapat pada sample larutan nutrisi yang diambil dari media tanam.

#### 7. Perhitungan Jumlah Anakan

Anakan dihitung dengan cara menghitung jumlah anakan tanaman padi yang tumbuh dari batang padi utama. Apabila dalam rumpun tanaman padi tiap pot terdapat 10 batang, maka jumlah anakan tanaman padi adalah 9 batang, karena satu batang sisanya adalah tanaman padi induk. Jumlah anakan tanaman padi dihitung setiap 10 hari sekali, yaitu pada saat tanaman padi berumur 45, 55, dan 65 HST.

#### 8. Pengukuran Kandungan Klorofil

Kandungan klorofil diukur dengan menggunakan chlorophyll meter SPAD 502. Alat tersebut diaplikasikan pada bagian daun dan dipilih 2 daun untuk diukur

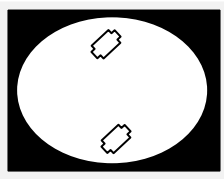
dari jumlah keseluruhan daun yang ada pada masing-masing tanaman. Pengukuran kandungan klorofil dilakukan bersamaan dengan pengukuran tinggi tanaman, jumlah anakan, dan pengambilan sample untuk analisis kandungan nitrat dan ammonium, yaitu setiap 10 hari sekali ketika padi berumur 45, 55, dan 65 HST.

#### 9. Pengambilan Sampel dan Penentuan Konsentrasi Nitrat dan Amonium

Pengambilan sampel larutan nutrisi dilakukan setiap 10 hari sekali, yaitu pada saat tanaman padi berumur 45, 55, dan 65 HST. Larutan nutrisi diambil dari media tumbuh sebanyak 5 ml untuk diketahui konsentrasi unsur nitrogennya (ammonium dan nitrat) dan diambil dari 2 titik pada masing-masing tanaman padi yang ditumbuhkan. Konsentrasi nitrat dianalisis dengan metode spektrofotometer berdasarkan prosedur Cataldo *et al.* (1976), sedangkan konsentrasi amonium dianalisis dengan metode Baethgen and Alley (1989).

Kandungan nitrat ditentukan berdasarkan metode Cataldo *et al.*, (1975). Sebanyak 50  $\mu\text{L}$  hasil sample larutan ditambah 200  $\mu\text{L}$  5% (w/v) salicylic acid dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit dan ditambah dengan 5 ml 2 N NaOH secara perlahan-lahan. Intensitas warna yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Kandungan nitrat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi kurva standart  $\text{NO}_3(\text{KNO}_3)$ .

Kandungan ammonium diukur berdasarkan metode Baethgen and Alley (1989). Satu mililiter larutan sampel dalam tabung reaksi ditambah dengan 5,5 ml larutan buffer, lalu dicampur. Campuran ditambah dengan 4 ml larutan salicylate/nitropruside dan 2 ml larutan hipoklorid, lalu dicampur dengan vortex. Campuran diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 15 menit, lalu diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm. Konsentrasi ammonium dihitung dengan menggunakan persamaan regresi kurna standar ammonium.



Gambar 3.1 Posisi pengambilan dua titik sample larutan nutrisi dalam media tanam.

#### 10. Perhitungan Serapan Nitrat dan Ammonium Oleh Tanaman

Serapan nitrat dan ammonium oleh tanaman dihitung berdasarkan rumus dibawah ini :

$$\text{Serapan N} : \text{Kandungan N pada } T_0 - \text{Kandungan N pada } T_{3\text{jam}}$$

Kandungan N pada  $T_0$  merupakan kandungan N pada awal pemberian larutan nutrisi, sedangkan kandungan N pada  $T_{3\text{jam}}$  merupakan kandungan N setelah larutan didalam media tanam dibiarkan selama 3 jam dari pemberian nutrisi awal. Semakin sedikit kandungan N pada  $T_{3\text{jam}}$  diasumsikan bahwa semakin banyak N yang diserap oleh tanaman, baik itu berupa nitrat maupun ammonium. Sebaliknya, apabila kandungan N pada  $T_{3\text{jam}}$  tinggi, maka diasumsikan bahwa serapan N oleh tanaman rendah.

#### 3.4 Variabel Pengamatan

- Tinggi tanaman (cm), (diukur setiap 10 hari sekali ketika tanaman padi berumur 45, 55, 65 HST dan diukur mulai dari pangkal batang yang berada di atas permukaan tanah sampai ujung daun yang tertinggi dengan menggunakan meteran atau penggaris).
- Jumlah anakan, (dihitung setiap 10 hari sekali ketika padi berumur 45, 55, 65 HST dan dilakukan dengan cara menghitung jumlah anakan tanaman padi yang tumbuh dari batang padi utama).
- Kandungan klorofil (diukur setiap 10 hari sekali ketika tanaman padi berumur 45, 55, dan 65 HST dengan menggunakan chlorophyll meter SPAD 502).
- Serapan nitrat dan ammonium, dimana kandungan  $\text{NO}_3^-$  pada media tanam dianalisis dengan metode spektrofotometer berdasarkan prosedur Cataldo *et al.* (1976), sedangkan kandungan  $\text{NH}_4^+$  dianalisis dengan metode cawan-conway (pengambilan sampling dilakukan setiap 10 hari sekali, yaitu ketika padi berumur 45, 55, dan 65 HST).

#### 3.5 Analisa Data

Analisis data dilakukan dengan cara deskriptif, yaitu dengan melakukan interpretasi terhadap data – data yang telah diperoleh melalui pengamatan dan

perhitungan yaitu mengenai hasil padi mutan maupun kontrol yang memiliki tingkat serapan unsur hara N yang paling tinggi, baik pada kondisi N sub optimal maupun kondisi N optimal.





## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Mutasi menggunakan EMS dapat meningkatkan serapan N, khususnya ammonium oleh tanaman padi, baik pada kondisi N optimal maupun sub optimal. Mutasi menggunakan EMS menghasilkan 10 tanaman padi yang memiliki tingkat serapan ammonium yang tinggi, yaitu terdapat pada tanaman padi nomor 6, 7, 8, 17, 37, 42, 43, 47, 48, dan 49.

### **5.2 Saran**

Supaya kondisi areal pertanaman secara hidroponik steril, sehingga tidak terjadi kontaminasi pada media tanam yang dapat mempengaruhi kandungan N dalam media, baik itu nitrat maupun ammonium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhikary, S.P. and B. Pattanaik. 2006. *Cyanobacterial Biofertilizers for Rice: Present Status and Future Prospects*. dalam: Rai, M. K. (ed.). *Handbook of Microbial Biofertilizers*. New York: Haworth Press.
- Adiwiganda, Y.T. and A. Wild. 1989. Measurement of N Loss from Soil in The Form of N<sub>2</sub>O Gas. *Crop Science*, 4(1): 45-50.
- Afandie. 2002. *Menuju Pemupukan Berimbang Guna Meningkatkan Jumlah dan Mutu Hasil Pertanian*. Jakarta: Dit. Penyuluhan Tanaman Pangan, Dir. Jen. Pert. Tan. Pangan, Deptan.
- Albari, J., Supijatno, dan Sudradjat. 2018. Peranan Pupuk Nitrogen dan Fosfor pada Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Belum Menghasilkan Umur Tiga Tahun. *Bul, Agrohorti*, 6(1): 42-49.
- Amir, L., A.P. Sari, St. F. Hiola, dan O. Jumadi. 2012. Ketersediaan Nitrogen Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) yang Diperlakukan dengan Pemberian Pupuk Kompos Azolla. *Sainsmat*, 1(2): 167-180.
- Argenta, G., P.R.F. Da Silva, and L. Sangoi. 2004. Leaf Relative Chlorophyll Content as Indicator Parameter to Predict Nitrogen Fertilization in Maize. *Ciencia Rural. Santa Maria*, 34(5): 1379-1387.
- Armiadi. 2009. Penambatan Nitrogen secara Biologis pada Tanaman Leguminosa. *Wartazoa*, 19(1): 23-28.
- Azis, A.A. dan N. Kurnia. 2015. Kandungan Amonium dan Nitrat Tanah pada Budidaya Bayam Putih dengan Menggunakan Pupuk Urin Manusia. *Bionature*, 16(2): 86-90.
- Baethgen, W.E. and M.M. Alley. 1989. A Manual Colorimetric Procedure for Measuring Ammonium Nitrogen in Soil and Plant Kjeldahl Digests. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 20 (9,10): 961-969.
- Barus, N., M.M.B. Damanik, dan Supriadi. 2013. Ketersediaan Nitrogen Akibat Pemberian Berbagai Jenis Kompos pada Tiga Jenis Tanah dan Efeknya terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Agroekoteknologi*, 1(3): 570-578.
- Bouguyon E., A. Gojon, and P. Nacry. 2012. Nitrate Sensing and Signaling in Plants. *Seminars in Cell Dev Biol*, 23: 648-654.



- Brien, J.A.O., A. Vega, E. Bouguyon, G. Krouk, A. Gojon, G. Coruzzi, and R.A. Gutierrez. 2016. Nitrate Transport, Sensing, and Responses in Plants. *Molecular Plant*, 9: 837–856.
- Cataldo, D.A., M. Haroon, L.E. Scharader, and U.L. Youngs. 1975. Rapid Calorimetric Determination of Nitrate in Plant Tissue by Nitration of Salicylic Acid. *Soil Science and Plant Analysis*, 6(1): 71–80.
- Chopra, V.L. 2005. Mutagenesis: Investigating The Process and Processing The Outcome for Crop Improvement. *Current Science*, 89 (2): 353-359.
- D'Haene, K., E. Moreels, S. De Neve, B.C. Daguilar, P. Boeckx, G. Hofman, and O.V. Cleemput. 2003. Soil Properties Influencing the Denitrification Potential of Flemish Agricultural Soils. *Biol Fertile Soils*, 38: 358–366.
- De Datta, S.K. 1981. *Principles and Practices of Rice Production*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- De Philippis, R., C. Faraloni, M.C. Margheri, C. Sili, M. Herdman, and M. Vincenzini. 2001. Morphological and Biochemical Characterization of The Extracellular Investment of Polysaccharide-Producing Nostoc Strains from The Pasteur Culture Collection. *Microbiology and Biotechnology*, 16: 655--661.
- Donggulo, C.V., I.M. Lapanjang, dan U. Made. 2017. Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) pada Berbagai Pola Jajar Legowo dan Jarak Tanam. *Agroland*, 24(1): 27-35.
- Engelstad, O.P. 1997. *Teknologi dan Penggunaan Pupuk*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Fahmi, A., Syamsudin, S.N.H. Utami, dan B. Radjagukguk. 2010. Pengaruh Interaksi Hara Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) pada Tanah Regosol dan Latosol. *Berita Biologi*, 10(3): 297-304.
- Foth. 1998. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Freire, J.R.J. and E.L. Saccol de Sá. 2006. *Sustainable Agriculture and The Rhizobial/Legumes Symbiosis. dalam: Rai, M. K. (ed.). Handbook of Microbial Biofertilizers*. New York: Haworth Press.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, and R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya. Terj. dari Physiology of Crop Plants, oleh Susilo, H.* Jakarta: UI-Press.

- Glass, A.D.M., D.T. Britto, B.N. Kaiser, J.R. Kinghorn, H.J. Kronzucker, A. Kumar, M. Okamoto, S. Rawat, M.Y. Siddiqi, S.E. Unkles, and J.J. Vidmar. 2002. The Regulation of Nitrate and Ammonium Transport Systems in Plants. *Experimental Botany*, 53(370): 855–864.
- Graham, L.E. and L.W. Wilcox. 2000. *Algae*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River.
- Grist, D.H. 1960. *Rice*. Formerly Agricultural Economist, Colonial Agricultural Service, Malaya. Longmans Green and Co Ltd. London.
- Halvin, J.L., S.M. Tisdale, W.L. Nelson, and J.D. Beaton. 1999. *Soil Fertility and Fertilizer. An Introduction to Nutrient Management*. Prentice Hall, Inc.
- Hardjowigeno, S. 2010. *Ilmu Tanah*. Jakarta: CV. Akademika Presindo.
- Harten, A.M.V. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. New York : Cambridge University Press.
- Hasanudindan, B.G.M. dan Y. Indriyani. 2006. Peran Pupuk N dan P Terhadap Serapan N, Efisiensi N, dan Hasil Tanaman Jahe di Bawah Tegakan Tanaman Karet. *Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 8(1): 61-68.
- Hasrizart, I. 2008. *Pertumbuhan dan Produksi Beberapa Varietas Padi Sawah (Oryza sativa L.) pada Persiapan Tanah dan Jumlah Bibit yang Berbeda*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Hastuti, Y.P. 2011. Nitrifikasi dan Denitrifikasi di Tambak. *Akuakultur Indonesia*, 10(1), 89–98.
- Hillel, D. 1980. *Fundamentals of Soil Physics*. Academic Press.
- Husana, Y. dan Ardian. 2010. Pengaruh Penggunaan Jarak Tanam terhadap Pertumbuhan dan Produksi Padi Sawah (*Oryza sativa L.*) Varietas IR 42 dengan Metode SRI (*System of Rice Intensification*). *SAGU*, 9(1): 21-27.
- Imelda, M., P. Deswina, S. Hartati, A. Estiati, and S. Atmowijoyo. 2000. Chemical Mutation by Ethyl Methane Sulfonate (EMS) for Bunchy Top. Virus Resistance in Banana. *Annales Bogorienses*, 38(3): 205-211.
- Irwan, A.W., A. Wahyudin, dan Farida. 2005. Pengaruh Dosis Kascing dan Bioaktivator terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Sawi (*Brassica juncea L.*) yang Dibudidayakan secara Organik. *Kultivasi*, 4(2): 136-140.

- Jabeen, N. and B. Mirza. 2004. Ethyl Methane Sulfonate Induces Morphological Mutations in *Capsicum annuum*. *Agriculture Biology*, 6(2): 340-345.
- Jain, S.M. 2010. Mutagenesis in Crop Improvement Under The Climate Change. *Romanian Biotechnological Letters*, 15 (2): 88-106.
- Jamilah dan N. Safridar. 2012. Pengaruh Dosis Urea, Arang Aktif dan Zeolit Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi Sawah (*Oryza sativa* L.). *Agrista*, 16(3): 153-159.
- Kaya, E. 2013. *Pengaruh Kompos Jerami dan Pupuk NPK Terhadap N-Tersedia Tanah, Serapan-N, Pertumbuhan, dan Hasil Padi Sawah (Oryza sativa L.)*. Prosiding FMIPA Universitas Pattimura.
- Kaya, M.E. dan H. Rehatta. 2013. Pengaruh Perlakuan Pencelupan dan Perendaman terhadap Perkecambahan Benih Sengon (*Paraserianthes falcataria* L.). *Agrologia*, 2(1): 10-16.
- Krock, T., J. Alkamper, and I. Watanabe. 1988. Effect of An Azolla Cover in The Condition of Flood Water. *Agriculture and Crop*, 161: 185-189.
- Kuncarawati, I.L., S. Husen, dan M. Rukhiyat. 2005. Plikasi Teknologi Pupuk Organik Azolla pada Budidaya Padi Sawah di Desa Mandesan Kecamatan Selopuro Kabupaten Blitar. *Dedikasi*, 3(1): 1-15.
- Leiwakabessy, F.M. dan A. Sutandi. 1998. Diktat Kuliah Pupuk dan Pemupukan. Bogor: IPB.
- Li, R., P. Guo, M. Baum, S. Grando, and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences*, 5(10): 751-757.
- Lintang, A., D. Indradewa, dan E. Ambarwati. 2012. *Pertumbuhan, Hasil dan Kualitas Pucuk Teh (Camellia sinensis (L.) Kuntze) di Berbagai Tinggi Tempat*. Yogyakarta: UGM.
- López-Arredondo, D.L., M.A. Leyva-González, F. Alatorre-Cobos, and L. Herrera-Estrella. 2013. Biotechnology of Nutrient Uptake and Assimilation in Plants. *Dev. Biol*, 57: 595-610.
- Mangaiyarkarasi, R., M. Giriya, and S. Gnanamurthy. 2014. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and Ethyl Methane Sulphonate in *Catharanthus roseus*. *Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(5): 881-889.

- Manshuri, A.G. 2011. Laju Pertumbuhan Vegetatif dan Generatif Genotipe Kedelai Berumur Genjah. *Pertanian Tanaman Pangan*, 30(3): 205-207.
- Mapegau. 2007. Pengaruh Pupuk Nitrogen Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kacang Hijau. *Agripura*, 3(2): 401-410.
- Masclaux-Daubresse, C., F. Daniel-Vedele, J. Dechorgnat, F. Chardon, L. Gaufichon, and A. Suzuki. 2010. Nitrogen Uptake, Assimilation and Remobilization in Plants: Challenges for Sustainable and Productive Agriculture. *Annals of Botany*, 105: 1141–1157.
- Matsunami, M., T. Matsunami, K. Kon, A. Ogawa, I. Kodama, and M. Kokubun. 2013. Genotypic Variation in Nitrogen Uptake During Early Growth among Rice Cultivars Under Different Soil Moisture Regimes. *Plant Production Science*, 16(3): 238-246.
- Meliala, J.H.S., N. Basuki, dan A. Seogianto. 2016. Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Perubahan Fenotipik Tanaman Padi Gogo (*Oryza sativa* L.). *Produksi Tanaman*, 4(7): 585-594.
- Mengel, K. and E.A. Kirkby. 1982. *Principles of Plant Nutrition 3rd Edition International Potash Institute*. Warblafen-Bern Switzerland.
- Miller, J.M., X. Fan, Q. Shen, and S.J. Smith. 2008. Amino Acids and Nitrate as Signals for The Regulation of Nitrogen Acquisition. *Exp Bot*, 59 (1): 111-119.
- Mohapatra, T., S. Robin, N. Sarla, M. Sheshashayee, A.K. Singh, K. Singh, N.K. Singh, S.V.A. Mithra, and R.P. Sharma. 2014. EMS Induced Mutants of Upland Rice Variety Nagina22: Generation and Characterization. *Proc Indian Natn Sci Acad*, 80(1): 163-172.
- Mukhlis dan Fauzi. 2003. *Pergerakan Unsur Hara N dalam Tanah*. Digital Library. Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Mulyanto, F.D., N.E. Suminarti, dan Sudiarso. 2018. Respon Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) pada Berbagai Aplikasi Pupuk N dan Kompos Azolla. *Produksi Tanaman*, 6(5): 791-800.
- Novizan. 2005. *Petunjuk Pemupukan yang Efektif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Nunes-Nesi, A., A.R. Fernie, and M. Stitt. 2010. Metabolic and Signaling Aspects Underpinning the Regulation of Plant Carbon Nitrogen Interactions. *Molecular Plant*, 3 (6): 973–996.



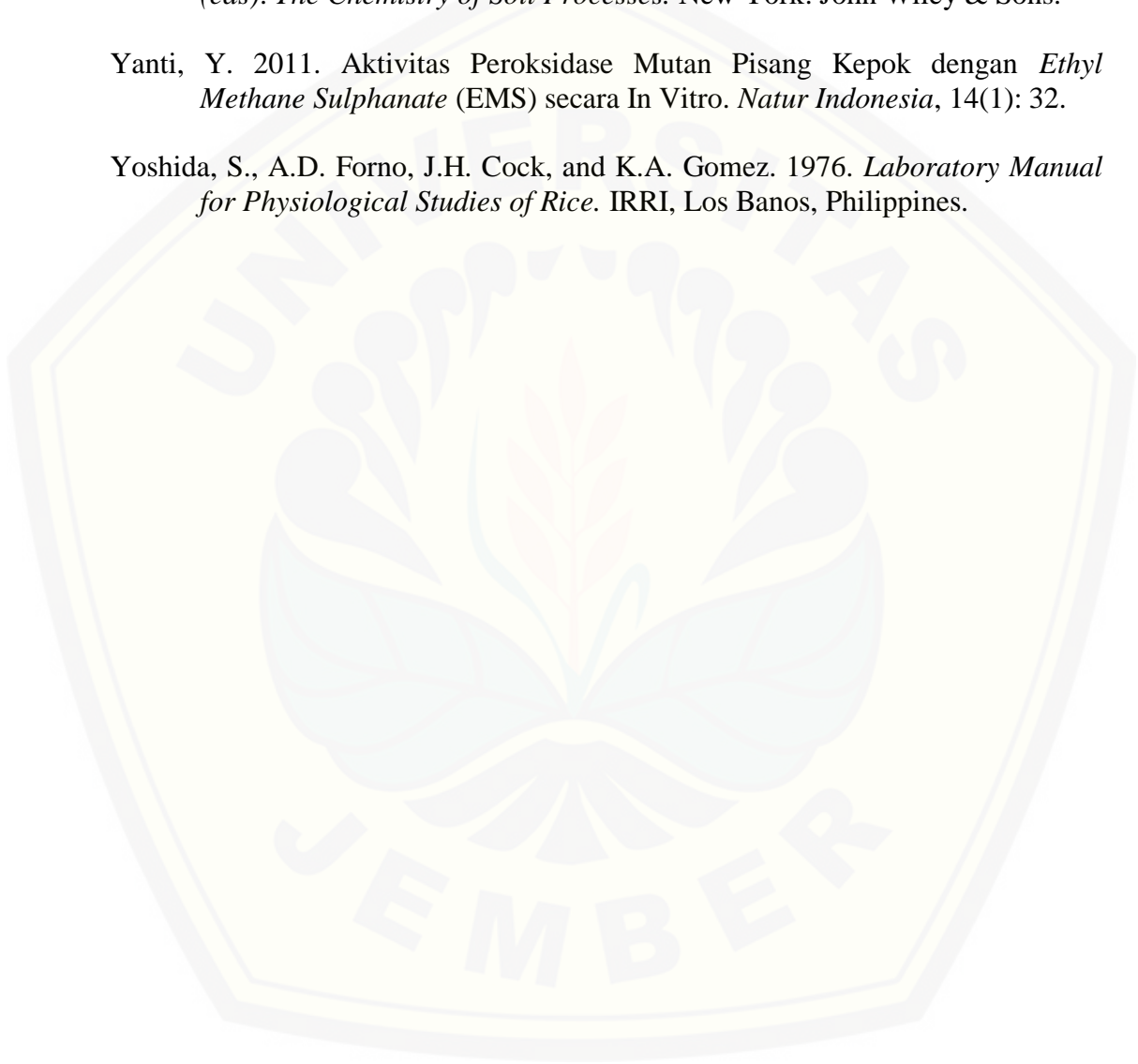
- Patti, P.S., E. Kaya, dan Ch. Silahooy. 2013. Analisis Status Nitrogen Tanah dalam Kaitannya dengan Serapan N oleh Tanaman Padi Sawah di Desa Waimital, Kecamatan Kairatu, Kabupaten Seram Bagian Barat. *Ilmu Budidaya Tanaman Agrologia*, 2(1), 51-58.
- Peterson, T.A., T.M. Blackmer, D.D. Francis, and J.S. Schepers. 1996. *Using Chlorophyll Meter to Improve N Management*. Lincoln: University of Nebraska.
- Pheng, S., G.S. Khush, P. Virk, Q. Tang, and Y. Zou. 2008. Progress in Ideotype Breeding to Increase Rice Yield Potential. *Field Crop Research*, 108(3): 32-38.
- Prihantini, N.B., W. Wardhana, D. Hendrayanti, A. Widyawan, Y. Ariyani, dan R. Rianto. 2008. Biodiversitas *Cyanobacteria* dari Beberapa Situ/Danau di Kawasan Jakarta-Depok-Bogor, Indonesia. *Makara Sains*, 12(1): 44-54.
- Purwanto, B, H. 2007. Recovery Rates of Nitrogen Fertilizer Applied of Peat Soils in Different Characteristics and Landuse. *Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 7(2), 117-121.
- Purwati, R.D., K.E. Sudjindro, dan S. Sudarsono. 2008. Keragaman Genetika Varian Abaka yang Diinduksi dengan Ethyl Methane Sulphonate (EMS). *Littri*, 15(4): 152-161.
- Putra, B.S. dan K.I. Purwani. 2017. Pengaruh Mutagen Kimia EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) terhadap Daya Berkecambah Benih Tanaman Tembakau var. Marakot. *Sains dan Seni Pomits*, 6 (2): 2337-3520.
- Putra, D.F., Soenaryo, dan S.Y. Tyasmoro. 2013. Pengaruh Pemberian Berbagai Bentuk Azolla dan Pupuk N terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung Manis (*Zea mays* Var. Saccharata). *Produksi Tanaman*, 1(4): 353-359.
- Riyono, S.H. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana*, 32(1): 23-31.
- Rustini, N.K. dan M. Pharmawati. 2014. Aksi *Ethyl Methane Sulphonate* terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Bioslogos*. 4(1): 1-8.
- Saadatnia, H. and H. Riahi. 2009. Cyanobacteria from Paddy Fields in Iran as a Biofertilizer in Rice Plants. *Plant Soil and Environment*, 55(5): 207-212.

- Salisbury, F.B. and Ros, Cleon W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Jilid 2*. Bandung: ITB.
- Santamaria, P. 2006. Nitrate in Vegetables: Toxicity, Content, Intake, and EC Regulation. *Food and Agriculture*, 86: 10-17.
- Saragih, B. 2001. Keynote Address Ministers of Agriculture Government of Indonesia. 2<sup>nd</sup> National Workshop On Strengthening The Development And Use Of Hibrid Rice In Indonesia. 1:10.
- Saraswati, R., E. Husen, dan R.D.M. Simanungkalit. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah. BBSDLP. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Bogor: Departemen Pertanian.
- Savitri, E.S. dan A. Fikriyah. 2016. Induksi Mutasi dengan Mutagen EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) pada Fase Perkecambahan dan Pertumbuhan Varietas Kedelai (*Glycine max*) Toleran Kekeringan. *Basic Science*, 1(3): 268-270.
- Schneider, G.W. and C.C. Scarborough. 1960. *Fruit Growing*. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Serrat, X., R. Esteban, N. Guibourt, L. Moysset, S. Nogués, and E. Lalanne. 2014. EMS Mutagenesis in Mature Seed-Derived Rice Calli as a New Method for Rapidly Obtaining TILLING Mutant Populations. *Plant Methods*. 10:5.
- Setyani, Y.H., S. Anwar, dan W. Slamet. 2013. Kataristik Fotosintetik dan Serapan Fosfor Hijauan Alfalia (*Medicago sativa*) pada Tinggi Pemotongan dan Pemupukan Nitrogen yang Berbeda. *Animal Agriculture*, 1(2): 86-96.
- Shah, S.N.M., Z.H. Gong, M.H. Arisha, A. Khan, and S.L. Tian. 2015. Effect of Ethyl Methyl Sulfonate Concentration and Different Treatment Conditions on Germination and Seedling Growth of The Cucumber Cultivar Chinese Long (9930). *Genetics and Molecular Research*, 14 (1): 2440-2449.
- Sikora, P., A. Chawade, M. Larsson, J. Olsson, and O. Olsson. 2011. Mutagenesis as a Tool in Plant Genetics, Functional Genomics, and Breeding. *Plant Genomics*: 2.
- Sobrizal. 2016. Potensi Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan Varietas Padi Lokal Indonesia. *Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 12(1): 23-31.
- Soepardi, G.1983. *Sifat dan Ciri Tanah*. Bogor: IPB Pers.



- Soeranto. 2011. *Aplikasi IPTEK Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman*. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) Jakarta.
- Suardi, D. 2002. Perakaran Padi dalam Hubungannya dengan Toleransi Tanaman Terhadap Kekeringan dan Hasil. *Litbang Pertanian*. 21(3): 101-102.
- Subramani, S.A., C. Narayan, S. Srinivasan, dan B. Chandrasekharam. 1980. *Proceedings of FAI Seminar on Fertilizers in India in Eighties*. India: Tamil Nadu Agriculture University.
- Sugimoto, H., K. Kusumi, Y. Tozawa, J. Yazaki, N. Kishimoto, S. Kikuchi, and K. Iba. 2004. The Virescent-2 Mutation Inhibition Translation of Plastid Transcripts for The Plastic Genetic System at An Early Stage of Chloroplast Differentiation. *Plant Cell Physiol*, 45(8): 185-210.
- Sumenda, L., H.L. Rampe, dan F.R. Mantiri. 2011. Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) pada Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. *Biologos*, 1(1): 20-24.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant physiology*. 3rd Ed. USA: Sinauer Associates.
- Talebi, A.B. and S. Behzad. 2012. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *Plant Sciences*, 3: 1661-1665.
- Till, B.J., J. Cooper, T. H. Tai, P. Colowit, E.A. Greene, S. Henikoff, and L. Comai. 2007. Discovery of Chemically Induced Mutations in Rice by TILLING. *BMC Plant Biology*, 7:19.
- Tillman, R.W. and D. R. Scotter. 1991. Movement of Solute Associated with Intermittent Soil Water Flow II. Nitrogen and Cation. *Soil Research*, 29(2): 185 -196.
- Vaishampayan, A., R.P. Sinha, D.P. Hader, T. Dey, A K. Gupta, U. Bhan, and A.L. Rao. 2001. Cyanobacterial Biofertilizers in Rice Agriculture. *Botanical Review*, 67(4): 453-516.
- Vermoesen, A., O. Van Cleemput, and G. Hofman. 1993. *Nitrogen Loss Processes: Mecanisms and Importance*. *Pedologie*. XLIII-3. Belgium: University of Ghent.
- Vitousek, P.M., K. Cassman, C. Cleveland, T. Crews, C.B. Field, N.B. Grimm, R.W. Howarth, R. Marino, L. Martinelli, E.B. Rastetter, and J.I. Sprent. 2002. Towards an Ecological Understanding of Biological Nitrogen Fixation. *Biogeochemistry*, 57/58: 1 – 45.

- Wattoo, J.L., K. Aslam, S.M. Shah, G. Shabir, M. Sabar, S. A. Naveed, R. Waheed, Samiullah, Q.H. Muqaddasi, and M. Arif. 2012. Ethyle Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenic Attempts to Create Genetic Variability in Basmati Rice. *Plant Breeding and Crop Science*, 1(3): 45-48.
- Wild, A. 1981. *Mass Flow and Diffusion in D.J. Grreenland and M.H.B. Hayes (eds). The Chemistry of Soil Processes*. New York: John Wiley & Sons.
- Yanti, Y. 2011. Aktivitas Peroksidase Mutan Pisang Kepok dengan *Ethyl Methane Sulphanate* (EMS) secara In Vitro. *Natur Indonesia*, 14(1): 32.
- Yoshida, S., A.D. Forno, J.H. Cock, and K.A. Gomez. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. IRRI, Los Banos, Philippines.



**LAMPIRAN****Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian****Lampiran 1.1 Mutasi Benih**

Gambar 1. Menyiapkan benih yang akan dimutasi.



Gambar 2. Merendam benih dalam EMS selama 6 jam.

**Lampiran 1.2 Perkecambahan Benih**

Gambar 1. Menyiapkan dan memasukkan pasir steril dalam bak.



Gambar 2. Mengecambahkan benih.



Gambar 3. Menyiram bibit.



Gambar 3. Bibit padi yang berumur 6 hari.



### Lampiran 1.3 Pembuatan Larutan Nutrisi



Gambar 1. Mencampurkan bahan-bahan kimia berdasarkan larutan Yoshida *et al.*



Gambar 2. Mengaduk sampai rata.



Gambar 3. Mengukur pH larutan.



Gambar 4. Larutan nutrisi yang siap dipakai.

### Lampiran 1.4 Penanaman Padi



Gambar 1. Mengisi pasir kedalam timba.



Gambar 2. Memindahkan bibit kedalam timba.

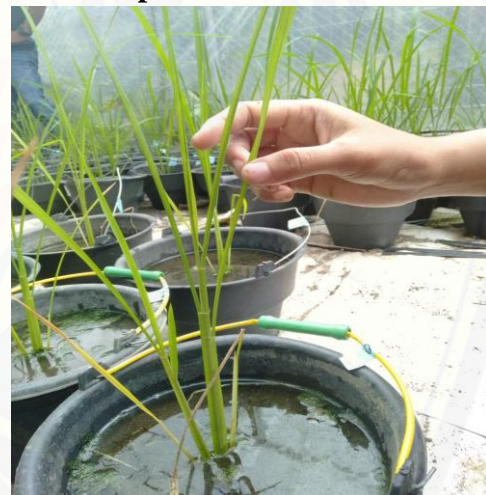


Gambar 3. Padi berumur 30 HST.

**Lampiran 1.5 Pengamatan dan Pengambilan Sample Percobaan**



Gambar 1. Mengukur tinggi tanaman.



Gambar 2. Menghitung jumlah anakan.



Gambar 3. Mengukur kadar klorofil daun.



Gambar 4. Mengambil sample.



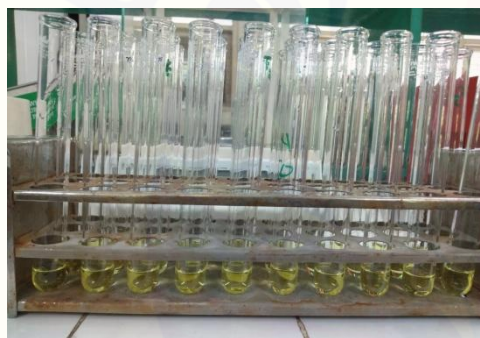
**Lampiran 1.6 Analisis Nitrat**



Gambar 1. Mengambil sample larutan.



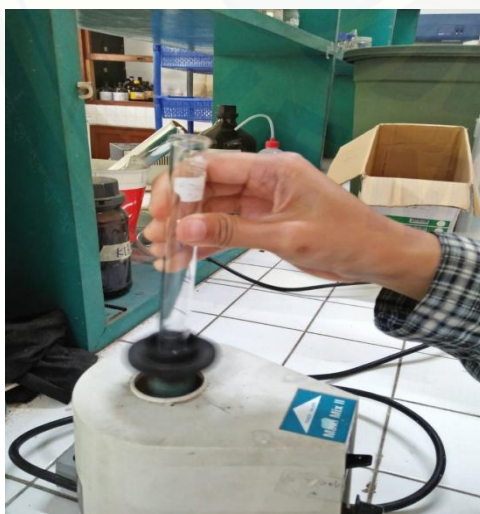
Gambar 2. Mencampur dengan bahan kimia.



Gambar 3. Larutan N optimal.



Gambar 4. Larutan N sub optimal.



Gambar 5. Memvortex larutan campuran.



Gambar 6. Mengukur dengan alat spektrofotometer.



**Lampiran 1.7 Analisis Ammonium**



Gambar 1, Mengambil larutan sample.



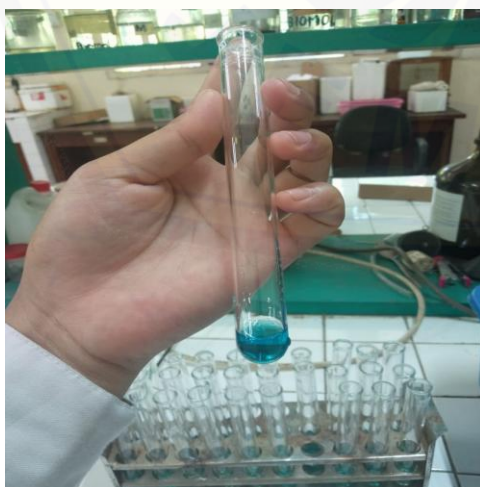
Gambar 2. Mencampur dengan bahan Kimia.



Gambar 3. Memvortex larutan campuran.



Gambar 4. Menginkubasi pada suhu 37°



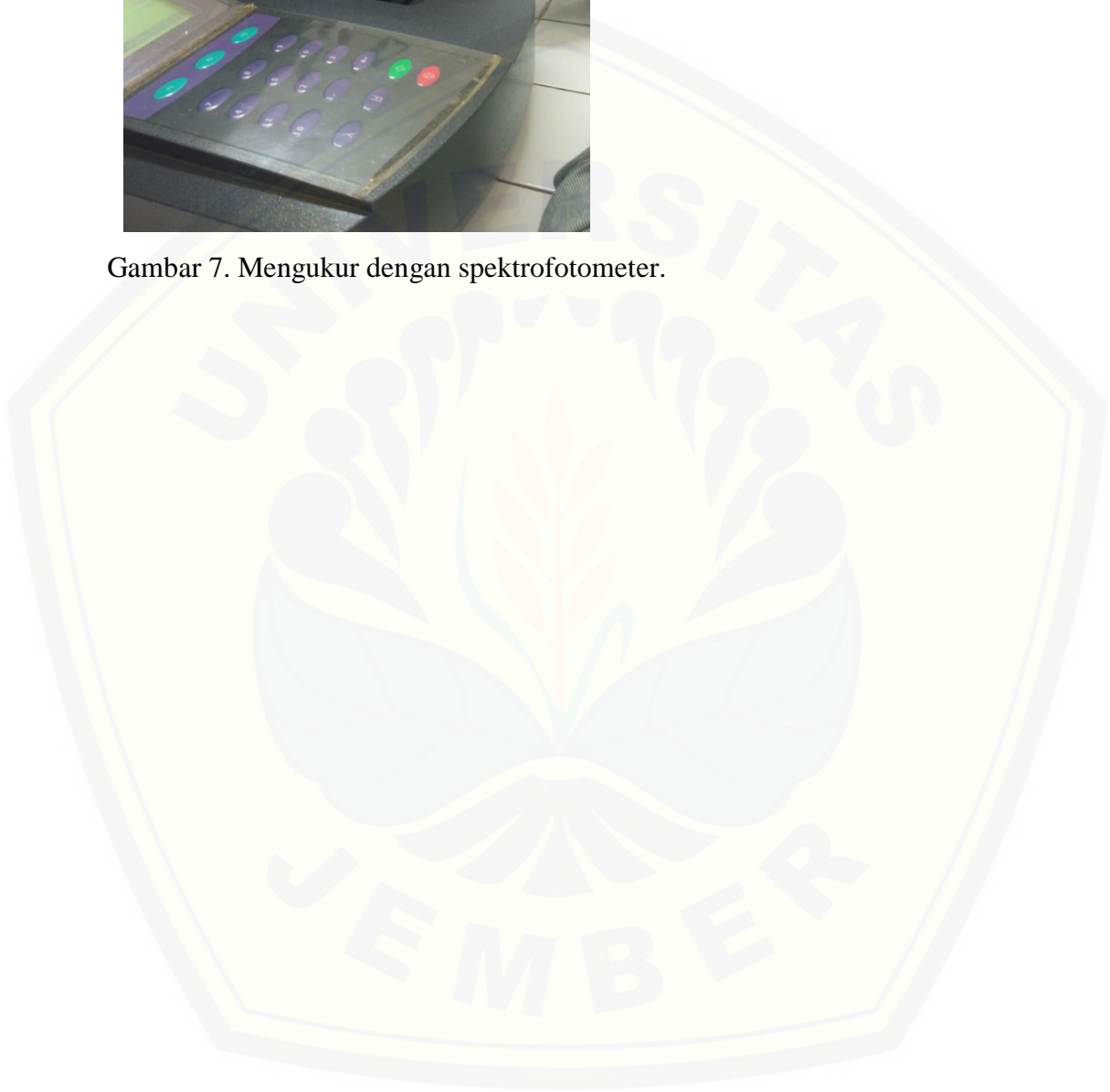
Gambar 5. Larutan N Optimal



Gambar 6. Larutan N sub optimal.



Gambar 7. Mengukur dengan spektrofotometer.



**Lampiran 2. Data Tinggi Tanaman**

No Tanaman	Tinggi Tanaman (cm)
1	101
2	90
3	91
4	94
5	97
6	89
7	94
8	93
9	106
10	100
11	99
12	82
13	99
14	92
15	97
16	100
17	88
18	95
19	92.5
20	89
21	104
22	98
23	83
24	99
25	97
26	99
27	99
28	95
29	101
30	103
31	97.5
32	98
33	100
34	86
35	97
36	93
37	85
38	92

39	91
40	98
41	97
42	85
43	102
44	88
45	92
46	95
47	97
48	78
49	95
50	96
51	96
52	95
53	96
54	102
55	95
56	90
57	93
58	93
59	94
60	88
61	70
62	72.5
63	72.5
64	70.5
65	69
66	63
67	71.5
68	77
69	71
70	64
71	68
72	73
73	65
74	66
75	68
76	66
77	60.5
78	71
79	78.5

80	69
81	75.5
82	73.5
83	66
84	77.5
85	60.5
86	63.5
87	60
88	71.5
89	65.5
90	69
91	77
92	65
93	69.5
94	70
95	78.3
96	71
97	63
98	69
99	71.5
100	70.5
101	64.5
102	64.5
103	80
104	67.5
105	67
106	76
107	67.5
108	71
109	62
110	57
111	70
112	74
113	70
114	70
115	67.5
116	71
117	75.5
118	62
119	68.5
120	66



**Lampiran 3. Data Jumlah Anakan**

No Tanaman	Jumlah Anakan
1	16
2	13
3	20
4	24
5	15
6	12
7	18
8	20
9	14
10	15
11	13
12	13
13	11
14	17
15	10
16	16
17	14
18	15
19	10
20	16
21	14
22	14
23	8
24	15
25	11
26	12
27	15
28	18
29	12
30	12
31	16
32	16
33	13
34	9
35	13
36	13
37	14
38	10



39	11
40	16
41	10
42	11
43	14
44	17
45	16
46	13
47	14
48	14
49	14
50	16
51	25
52	19
53	20
54	16
55	16
56	15
57	20
58	19
59	15
60	16
61	4
62	4
63	4
64	3
65	3
66	4
67	4
68	4
69	4
70	3
71	4
72	4
73	4
74	4
75	4
76	4
77	5
78	4
79	5

80	4
81	5
82	4
83	4
84	5
85	5
86	4
87	5
88	3
89	5
90	4
91	4
92	3
93	4
94	5
95	3
96	3
97	3
98	3
99	3
100	4
101	3
102	4
103	3
104	4
105	4
106	3
107	4
108	4
109	3
110	3
111	4
112	6
113	4
114	4
115	4
116	6
117	5
118	3
119	4
120	4

**Lampiran 4. Data Kandungan Klorofil**

No Tanaman	Kandungan Klorofil (unit)
1	37.8
2	39.0
3	38.5
4	35.9
5	36.9
6	36.5
7	39.3
8	38.5
9	36.1
10	36.8
11	37.0
12	36.5
13	38.1
14	37.3
15	35.3
16	37.3
17	38.2
18	35.8
19	35.7
20	37.7
21	37.6
22	37.3
23	36.4
24	37.9
25	39.2
26	38.3
27	37.7
28	37.3
29	38.1
30	37.2
31	35.6
32	36.9
33	37.5
34	36.0
35	37.9
36	38.0
37	34.9
38	38.0

39	38.2
40	37.3
41	39.5
42	36.9
43	37.1
44	38.4
45	39.4
46	37.8
47	37.6
48	38.9
49	38.2
50	38.6
51	39.7
52	40.8
53	39.4
54	40.0
55	38.4
56	37.8
57	39.9
58	40.7
59	40.3
60	39.1
61	29.4
62	28.3
63	29.6
64	27.8
65	30.0
66	27.8
67	28.3
68	28.9
69	28.0
70	29.0
71	31.2
72	29.5
73	26.7
74	26.6
75	26.8
76	24.8
77	28.4
78	26.5
79	26.6

80	31.6
81	31.2
82	28.3
83	27.0
84	27.8
85	24.0
86	22.8
87	24.8
88	27.3
89	24.8
90	27.9
91	26.5
92	24.2
93	28.9
94	28.9
95	27.9
96	27.9
97	25.1
98	26.8
99	28.3
100	28.3
101	26.3
102	23.2
103	27.5
104	29.2
105	26.1
106	26.7
107	27.3
108	27.3
109	26.7
110	24.7
111	30.3
112	28.2
113	31.4
114	27.9
115	28.8
116	29.0
117	30.0
118	29.2
119	31.4
120	31.3

**Lampiran 5. Data Serapan Nitrat**

No Tanaman	Serapan Nitrat ( $\mu\text{g}/\text{ml}/3$ jam)
1	-0.006373
2	-0.002233
3	-0.000207
4	0.000030
5	-0.012317
6	-0.008077
7	0.000143
8	0.000333
9	-0.008147
10	-0.006903
11	-0.010710
12	-0.005533
13	-0.011893
14	-0.007050
15	-0.006653
16	-0.000773
17	-0.012937
18	-0.000560
19	-0.014130
20	-0.001693
21	-0.001857
22	-0.000680
23	0.005940
24	-0.013183
25	-0.020903
26	-0.013497
27	-0.014173
28	-0.006160
29	-0.000303
30	-0.013110
31	-0.007037
32	-0.003520
33	-0.007223
34	-0.006157
35	-0.007323
36	-0.000917
37	-0.006520
38	0.000437



39	0.000583
40	-0.000633
41	-0.000717
42	0.006713
43	-0.000517
44	-0.005607
45	-0.007393
46	-0.006697
47	-0.005120
48	-0.005683
49	-0.001113
50	0.000460
51	0.012503333
52	-0.007436667
53	0.005663333
54	-0.01384
55	0.001256667
56	-0.00203
57	-0.005453333
58	0.000963333
59	-0.00681
60	-0.00546
61	-0.00004667
62	-0.00000667
63	0.00010667
64	0.00018667
65	0.00034667
66	0.00024667
67	-0.00011000
68	0.00008667
69	-0.00017333
70	-0.00004000
71	-0.00023333
72	0.00006667
73	0.00029667
74	0.00013333
75	0.00039000
76	0.00005667
77	0.00015667
78	0.00021667
79	0.00003667

80	0.00015333
81	0.00019667
82	0.00037000
83	0.00025333
84	0.00007667
85	0.00001000
86	0.00034000
87	-0.00000667
88	0.00032667
89	0.00025000
90	0.00029333
91	-0.00042333
92	0.00012667
93	0.00028000
94	-0.00003000
95	0.00001333
96	-0.00006000
97	0.00007000
98	-0.00008667
99	0.00002000
100	0.00006000
101	0.00039000
102	-0.00019000
103	0.00012333
104	0.00014000
105	0.00039667
106	0.00046000
107	0.00023667
108	0.00015667
109	0.00020000
110	0.00009667
111	0.00013
112	0.000336667
113	0.00006
114	0.000383333
115	-0.000163333
116	0.000486667
117	-0.000333333
118	-0.000037
119	0.00035
120	-0.000203333

**Lampiran 6. Data Serapan Ammonium**

No Tanaman	Serapan Ammonium ( $\mu\text{g/ml/3 jam}$ )
1	3.01725
2	1.7577
3	2.59605
4	-3.2643
5	1.782
6	3.888
7	3.47085
8	3.2076
9	2.15055
10	2.4624
11	-0.1377
12	-1.458
13	-0.4941
14	1.89135
15	-2.6082
16	-1.8306
17	8.39565
18	2.43
19	-1.46205
20	-2.2599
21	2.16675
22	3.00105
23	-3.402
24	0.4617
25	3.1833
26	1.0611
27	1.0935
28	0.01215
29	-1.9035
30	-0.162
31	1.10565
32	-1.50255
33	0.55485
34	0.9396
35	-3.7422
36	-0.14175
37	10.33155
38	-0.54675

39	1.85085
40	-8.4078
41	-1.81845
42	3.88395
43	6.8769
44	-1.0368
45	1.19475
46	-0.9639
47	4.08645
48	3.96495
49	5.49585
50	-3.5073
51	-0.2754
52	-3.6855
53	-2.997
54	-3.807
55	2.592
56	1.1502
57	2.6487
58	2.08575
59	-0.0891
60	1.22715
61	0.0000000000000000116
62	0.29565
63	1.01655
64	0.6642
65	0.91935
66	0.56295
67	0.75735
68	0.1215
69	-0.2997
70	1.22715
71	1.2312
72	0.6642
73	0.7128
74	0.45765
75	-0.31185
76	0.09315
77	0.31185
78	-0.23085
79	0.13365

80	0.7128
81	-0.38475
82	0.27135
83	0.51435
84	0.8343
85	0.5913
86	0.47385
87	0.36045
88	0.648
89	0.68445
90	1.1421
91	0.36045
92	0.5103
93	0.405
94	0.486
95	0.30375
96	0.14175
97	-0.00405
98	0.0081
99	-0.06075
100	0.45765
101	0.5346
102	-0.4212
103	0.06885
104	0.16605
105	0.5184
106	0.40095
107	0.31185
108	0.39285
109	0.2187
110	0.7776
111	-0.16605
112	0.43335
113	0.31185
114	1.1259
115	0.4293
116	0.324
117	0.37665
118	0.62775
119	0.2997
120	0.45765

