



**IDENTIFIKASI MUTAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN
GENANGAN**

SKRIPSI

Disusun Oleh:

**Eko Nur Suliswanto
NIM. 121510501137**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**IDENTIFIKASI MUTAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN
GENANGAN**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember

Disusun Oleh:

**Eko Nur Suliswanto
NIM. 121510501137**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Sutiasih, Ayahanda Sunoto dan Bibi Kurotin , terimakasih atas semua doa, pengorbanan, cinta, kasih sayang dan nasehat sepanjang masa, serta kepada Adikku Muhammad Afrizal Saputra dan Ayun yang senantiasa memberikan canda tawa, hiburan dan motivasi, semoga Allah senantiasa melindungi dan meridhoi kalian.
2. Seluruh keluarga besar serta sahabat-sahabat yang selalu menemani, membantu, memberi nasehat, saling mendoakan, dan saling berjuang dalam suka dan duka.
3. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

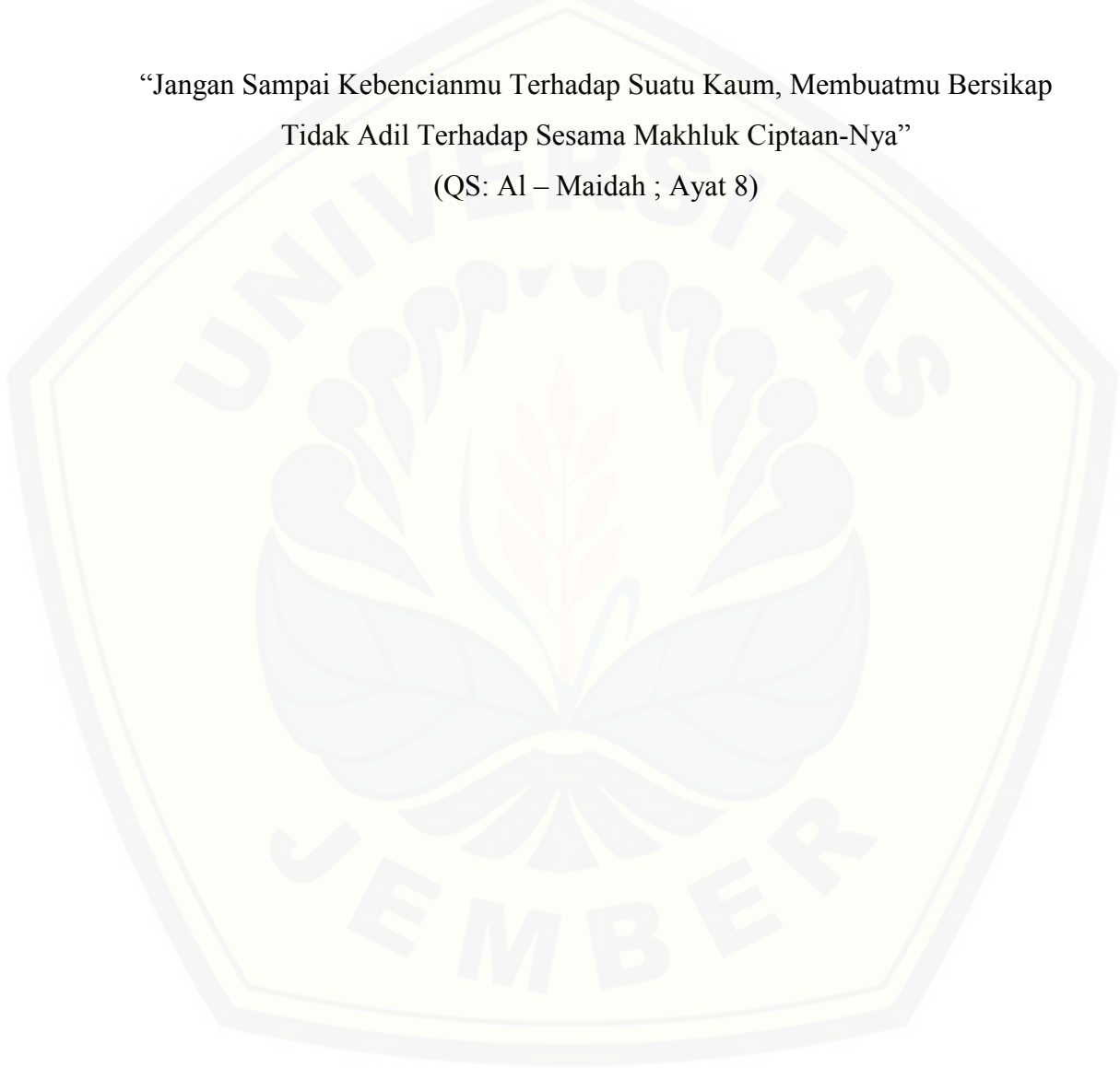
MOTTO

“Karena mata air selalu muncul pada tanah yang bergelontak, untuk diriku, untuk keluargaku dan untuk Indonesia”

(B.J. Habibie)

“Jangan Sampai Kebencianmu Terhadap Suatu Kaum, Membuatmu Bersikap Tidak Adil Terhadap Sesama MakhluK Ciptaan-Nya”

(QS: Al – Maidah ; Ayat 8)



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Eko Nur Suliswanto

NIM : 121510501137

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “**Identifikasi Mutan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Genangan**” adalah benar-benar hasil karya sendiri kecuali jika pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 03 Oktober 2016

Yang menyatakan,

Eko Nur Suliswanto
NIM. 121510501137

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI MUTAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN
GENANGAN**

Identification Flooding Tolerant Sugarcane Mutant (*Sacharum officinarum* L.)

Oleh:

Eko Nur Suliswanto
NIM. 121510501137

Pembimbing:

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si
NIP : 196907212000121002

Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S
NIP : 196003171983032001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Identifikasi Mutan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Genangan**”, telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 03 Oktober 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si
NIP: 196907212000121002

Dosen Penguji Utama,

Dr. Ir. Miswar, M.Si
NIP: 196410191990021002

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS.
NIP: 196003171983032001

Dosen Penguji Anggota,

Ir. Anang Syamsunihar, MP., Ph. D
NIP : 196606261991031002

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, MT
NIP: 19590102 198803 1 002

RINGKASAN

Identifikasi Mutan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Genangan; Eko Nur Suliswanto 121510501137, 2016: 70 Halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Peningkatan produksi gula dapat dilakukan dengan meningkatkan efektifitas tanaman tebu, salah satu cara yaitu menciptakan varietas tebu yang dapat dibudidayakan di lahan tergenang. Mutasi merupakan salah satu cara untuk menghasilkan varietas/klon tanaman tebu toleran genangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi karakteristik molekuler dan morfologi mutan tebu toleran genangan hasil mutasi EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*). Penelitian ini dilakukan di Agrotechnopark dan CDAST Universitas Jember mulai bulan Desember 2015 sampai dengan Juni 2016. Penelitian mengenai identifikasi toleransi mutan tebu (*Saccharum officinarum* L.) terhadap genangan ini menggunakan percobaan faktorial dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor pertama terdiri dari perlakuan tanpa penggenangan (T0) dan penggenangan (T1), faktor kedua terdiri dari mutan tebu (M1) dan non mutan (M0) dengan 5 ulangan yang terdiri dari 3 sampel tanaman pada setiap ulangan. Paramater pengamatan meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, berat batang, berat akar, diameter batang, aerenkim batang, volume akar, jumlah anakan, kandungan klorofil, sukrosa, brix dan perubahan genotipe berdasarkan metode RAPD menggunakan amplifikasi PCR (*Polymerase chain reaction*) pada mutan tebu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan genotipe mutan tebu berdasarkan metode PCR - RAPD berkisar antara 26,5% hingga 35,1% yang menghasilkan rata – rata pita polimorfik sebesar 35,1% dari 37 pita DNA yang muncul pada lima primer RAPD dan menghasilkan dua kluster utama pada dendrogram RAPD. Mutan tebu menunjukkan kemunculan aerenkim batang, akar adventif dan karakter toleran genangan berdasarkan parameter tinggi tanaman, jumlah ruas, berat segar batang, brix, volume akar, berat segar akar.

Kata kunci: Mutasi, Toleran, Genotipe, RAPD

SUMMARY

Identification Flooding Tolerant Sugarcane Mutants (*Sacharum officinarum* L.); Eko Nur Suliswanto 121510501137, 2016: 70 Pages; Agrotechnology Study Program. Faculty of Agriculture, Unniversity of Jember.

The increased production of sugarcane can be conducted by increase effectiveness of sugarcane, one way which is to create variety of tolerant in flooding fields. Mutation is one way to produce varieties/clone flooding tolerant sugarcane. This study was aimed to identify the DNA characteristics and morphological of flooding tolerant sugarcane mutants. We used EMS (Ethyl Methane Sulphonate) to get mutant sugarcane planlet. The research was conducted at Agrotechnopark and CDAST Jember University, started on December 2015 until June 2016. The study used completely randomized design (RAL) factorial, which consisted of two factors. The first factor were without flooding treatment (T0) and flooding treatment (T1). The second factor were sugarcane mutant (M1) and non mutant (M0) with 5 replicate. Each replication consisted 3 samples. The variables of observation were height of plant, number of leaves, weight of stem, weight of roots, diameter of stem, aerenchyma of stem, volume of roots, number of tillers, the content of chlorophyll, the sucrose content of stem, brix and genotype changes by RAPD methode using PCR amplification (Polymerase chain reaction). The changes of mutant genotypes of sugarcane by PCR ranged from 26.5% to 35.1%, which resulted on average polymorphic DNA by 35,1% of 37 DNA bands appear on five RAPD primer and produced two main clusters by UPGMA dendrogram. The sugarcane mutant showed the aerenchyma of stem, root adventitious, and the character of flooding tolerant plants based on variable of hight of plant, the number of segments, the weight of stem, brix, volume of root, weight of root.

Keywords: Mutation, Tolerant Genotipe, RAPD

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sholawat serta salam kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW., Keluarga, Sahabat, serta pengikut beliau hingga akhir zaman sehingga penyusunan skripsi dengan judul “Identifikasi Mutan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Genangan” dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan penelitian yang didanai oleh DIPA-BOPTN, disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) sebagai sarjana pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Beberapa pihak turut membantu penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Jani Januar. MT 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. Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan, dana penelitian (Project Grant kontrak no 187AE/UN25.3.1/LT/2016, 17 Februari 2016) serta masukan dalam penyelesaian skripsi ini;
4. Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dr. Ir. Miswar M. Si. selaku dosen Penguji Utama dan Ir. Anang Syamsunihar, MP., Ph.D selaku Dosen Penguji Anggota yang juga senantiasa meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Ir. Kacung Hariyono, MS. Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Ibunda Sutiasih, Ayahanda Sunoto, Bibi Kurotin serta kedua adikku M. Afrizal dan Ayun yang tidak pernah lelah untuk selalu membimbing, mendukung dan mendo'akan demi kelancaran penulis dalam berkarya, menuntut ilmu dan mewujudkan cita-cita;
7. Sahabat – sahabatku Deni, David, Wahyu, Bahari, Reza, Kipti, Winda, Rahmawati, Zayyan L., Vidda, Hikmah, teman terdekat Putri Kartika Ningsih

serta adik terbaik Aulia C. Nisa yang telah memberikan dukungan, semangat, dan bantuan dalam penulisan skripsi ini;

8. Jajaran teman seperjuangan D'Agroteknologi, jajaran Kepengurusan IMAGRO periode 2014 dan 2015, dan jajaran mahasiswa Agronomi 2012 yang telah memberikan semangat serta pandangan dalam penulisan skripsi ini;
9. Rekan-rekan Tim Flooding Tolerant of Sugarcane and Cassava, Rekan-rekan Laboratorium CDAST, Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Laboratorium Statistika dan Rancangan Percobaan yang telah memberikan bantuan dan dukungan untuk terselesaikannya skripsi ini;
10. Teman - teman program studi Agroteknologi 2012 yang memberikan semangat selama ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, 03 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Tebu	4
2.2 Pengaruh Cekaman Genangan Terhadap Tanaman	5
2.3 Toleransi Terhadap Cekaman Genangan	7
2.4 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	9
2.5 Hipotesis	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Bahan dan Alat	12

3.3 Rancangan Percobaan	12
3.4 Pelaksanaan	14
3.4.1 Pelaksanaan Percobaan	14
3.4.2 Identifikasi karakteristik DNA menggunakan metode PCR-RAPD	15
3.4.3 Analisis perubahan genotipe berdasarkan karakteristik DNA	18
3.4.4 Identifikasi karakter berdasarkan Parameter Pengamatan	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil Penelitian	23
4.1.1 Karakteristik DNA dan perubahan genotipe dengan PCR-RAPD	23
4.1.2 Analisis ragam	26
4.1.3 Tinggi tanaman	27
4.1.4 Jumlah ruas	28
4.1.5 Jumlah daun	29
4.1.6 Diameter batang	30
4.1.7 Jumlah anakan	31
4.1.8 Volume dan berat segar akar	32
4.1.9 Respon tanaman tebu menghadapi cekaman genangan ..	34
4.1.10 Berat segar batang	35
4.1.11 Kandungan klorofil	36
4.1.12 Brix	37
4.2 Pembahasan	38
BAB 5. PENUTUP	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1. Denah penelitian.....	14
Gambar 3.2 Metode penggenangan.....	15
Gambar 4.1 Hasil elektroforesis empat genotipe tanaman tebu.....	23
Gambar 4.2 Filogenetik empat genotipe tanaman tebu hasil mutasi dan tanpa mutasi berdasarkan penanda RAPD yang dianalisis dengan dendrogram UPGMA.....	25
Gambar 4.3 Rata-rata tinggi tanaman pada setiap kombinasi perlakuan	26
Gambar 4.4 Grafik pertumbuhan tinggi tanaman.....	28
Gambar 4.5 Rata-rata jumlah ruas pada setiap kombinasi perlakuan .	29
Gambar 4.6 Rata-rata jumlah daun pada setiap kombinasi perlakuan	30
Gambar 4.7. Rata-rata diameter batang pada setiap kombinasi perlakuan	31
Gambar 4.8 Rata-rata jumlah anakan pada setiap kombinasi perlakuan	32
Gambar 4.9 Hasil volume (a) dan berat akar (b) pada setiap kombinasi perlakuan	33
Gambar 4.10 Penampakan akar tanaman tebu pada setiap kombinasi perlakuan	33
Gambar 4.11 Penampakan respon akar dalam kondisi penggenangan ; dan penampakan kemunculan aerenkhim batang pada setiap kombinasi perlakuan	34
Gambar 4.12 Rata-rata berat segar batang pada setiap kombinasi perlakuan	35
Gambar 4.13 Rata-rata kandungan klorofil pada setiap kombinasi perlakuan	36
Gambar 4.14 Rata-rata nilai brix pada setiap kombinasi perlakuan.....	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Indikator toleransi tanaman terhadap penggenangan.....	8
Tabel 3.1. Primer yang digunakan untuk tanaman tebu.....	12
Tabel 4.1. Ukuran dan jumlah pita DNA 4 sampel tanaman tebu dengan lima primer RAPD	24
Tabel 4.2. Koefisien kemiripan genetik empat genotipe tanaman tebu.....	25
Tabel 4.3. Rangkuman hasil analisis ragam.....	26
Tabel 4.4. Rangkuman hasil rata-rata pengaruh faktor perlakuan tanaman.....	45
Tabel 4.5. Rangkuman hasil rata-rata pengaruh faktor perlakuan penggenangan	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambaran penelitian.....	54
Lampiran 2. Tabel analisis deskriptif terhadap sifat morfologi klon PS865 dan mutan PS865	56
Lampiran 3. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter tinggi tanaman	57
Lampiran 4. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah ruas	58
Lampiran 5. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah daun	59
Lampiran 6. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter diameter batang	60
Lampiran 7. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah anakan keseluruhan	62
Lampiran 8. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah anakan berdaya produksi	63
Lampiran 9. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter kandungan klorofil.....	64
Lampiran 10. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter kandungan brix	66
Lampiran 11. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter berat batang	66
Lampiran 12. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter berat daun	67
Lampiran 13. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter kandungan sukrosa	68
Lampiran 14. Hasil skorsing pola pita dna pada 5 primer rapd	69
Lampiran 15. Perhitungan persentase kandungan sukrosa nira tebu dalam batang tebu.....	70

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Upaya peningkatan produksi gula dapat dilakukan dengan meningkatkan efektifitas bahan baku gula yaitu tebu. Salah satu usaha yang dilakukan adalah memanfaatkan lahan marginal yang berpotensi digunakan sebagai lahan budidaya seperti lahan tergenang. Kondisi lahan tergenang mengakibatkan masalah pada pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Kumutha *et al.* 2008). Usaha yang dilakukan untuk mendukung permasalahan tersebut adalah perakitan varietas tebu yang dapat dibudidayakan di lahan – lahan marginal.

Salah satu cara untuk menghasilkan varietas/klon tanaman tebu toleran genangan adalah mutasi. Mutasi merupakan perubahan yang terjadi secara tiba-tiba dan acak pada materi genetik (genom, kromosom, gen). Mutagen dibagi menjadi dua macam yaitu mutagen fisik dan mutagen kimia (Lestari, 2012). Mutagen kimia pada umumnya berasal dari senyawa kimia yang memiliki gugus alkil seperti etil metan sulfonat (EMS), dietil sulfat (DES), metil metan sulfonat (MMS), hidroksil amina, dan *nitrous acid* (Asadi, 2013). Hasil perlakuan mutasi diharapkan mampu menghasilkan keragaman genetik dan minimal satu genotipe mutagen yang memiliki sifat toleran terhadap genangan.

Identifikasi keragaman genetik pada hasil mutasi (mutan) kimia dilakukan dengan memberikan perlakuan pada kondisi penggenangan. Pengujian dilakukan dengan mengidentifikasi besarnya perubahan genotipe yang terjadi pada perlakuan mutagen kimia. Upaya perakitan tanaman tebu toleran genangan dapat dimulai dengan mengidentifikasi karakter tebu yang tahan pada kondisi tergenang. Pada penelitian ini, bahan tanam tebu yang digunakan adalah mutan tebu yang telah termutasi dengan bahan kimia EMS dan telah diuji pada kondisi genangan tingkat *in vitro*. Hasil penelitian mutan tebu hasil mutasi EMS pada tingkat planlet (*in vitro*) yang dilakukan Arif (2015) menunjukkan bahwa mutan tebu PS 865 memiliki tingkat toleransi yang paling tinggi dibandingkan mutan PS863 dan PS864 berdasarkan pengamatan tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, dan presentase planlet hidup. Penelitian lebih lanjut terhadap

mutan tebu tersebut dilakukan dengan mengidentifikasi respon tanaman pada kondisi lahan genangan. Berdasarkan informasi Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (2012), varietas tebu PS865 sangat baik dikembangkan pada lahan tegalan dengan tingkat kesuburan yang terbatas, ketersediaan air terbatas dan jeluk tanah terbatas untuk perakaran. Hasil pengujian *in vitro* pada mutan PS865 yang toleran genangan mengindikasikan bahwa terjadi perubahan karakter akibat perlakuan mutasi dengan menggunakan senyawa kimia EMS.

Penentuan keragaman genetik tingkat molekuler menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan menggunakan primer RAPD (*Random Amplified Polymerase DNA*) dan diharapkan mampu menunjukkan perubahan genetik dari mutan tebu yang diuji. Kemudian, tahapan yang dilakukan untuk mendapatkan varietas toleran genangan antara lain dengan mengidentifikasi karakteristik morfologi. Tahapan penelitian ini dilakukan pada tahap identifikasi mutan tebu pada kondisi lahan genangan setelah didapatkan hasil percobaan tingkat planlet. Mutan tebu toleran genangan yang sudah diuji pada tingkat planlet diharapkan mampu toleran terhadap perlakuan genangan. Uji lanjutan mutan tebu toleran genangan diharapkan dapat menghasilkan mutan tebu tahan penggenangan setelah dilakukan pengujian pada tahap *in vitro*.

1.2 Rumusan masalah

Uji toleransi lanjutan mutan tebu toleran genangan pada tingkat planlet dilakukan pada kondisi tanaman yang mengalami cekaman genangan, dimana hasil tersebut diharapkan dapat menghasilkan klon tebu tahan genangan. Untuk mewujudkan upaya tersebut dengan menghasilkan mutan tebu toleran genangan dari penelitian ini. Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana perubahan genotipe mutan tebu toleran genangan dibandingkan berdasarkan penanda PCR- RAPD?
2. Bagaimana karakteristik mutan tebu toleran genangan terhadap kondisi penggenangan?
3. Apakah terdapat perbedaan respon terhadap genangan dari mutan yang diuji?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi perubahan genotipe mutan tebu toleran genangan dibandingkan non mutan berdasarkan penanda PCR – RAPD.
2. Mengidentifikasi karakter mutan tebu hasil mutasi kimia yang mampu tahan terhadap kondisi genangan.
3. Melihat kemungkinan perbedaan respon terhadap genangan dari mutan yang diuji.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu menjadi solusi dalam mendukung program ekstensifikasi lahan terhadap produksi gula nasional dan mampu memberikan informasi kepada petani tentang klon tebu yang dapat digunakan sebagai bahan tanam pada kondisi lahan tergenang seperti lahan pasang surut dan lahan rawa. Selain itu, penelitian ini diharapkan mampu mendukung kegiatan pemuliaan tanaman untuk merakit varietas tebu toleran genangan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tebu

Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman tropis atau subtropis yang berasal dari Papua Nugini, tanaman tersebut termasuk ke dalam golongan C4 dengan laju fotosintesis yang tinggi. Tanaman tebu dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang terletak pada 40° LU dan 38° LS. Tanaman tebu termasuk tanaman monokotil yang memiliki kemampuan dalam menyimpan cadangan makanan dalam bentuk sukrosa atau gula dengan konsentrasi yang cukup tinggi di bagian batang (Susila dan Sinaga, 2005). Tebu termasuk tanaman dalam golongan *Graminae* (Rumput – rumputan) yang dibudidayakan untuk produksi bahan baku utama pembuatan gula. Adapun klasifikasi ilmiah tanaman tebu adalah sebagai berikut (Ditjenbun, 2013):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermathophyta</i>
Sub Divisio	: <i>Angiospermae</i>
Class	: <i>Monocotyledone</i>
Ordo	: <i>Glumiflorae</i>
Famili	: <i>Graminae</i>
Genus	: <i>Saccharum</i>
Species	: <i>Saccharum officinarum</i> L.

Tebu termasuk tumbuhan ber biji tunggal. Tinggi tumbuhan tebu berkisar 2-4 meter. Batang pohon tebu terdiri dari banyak ruas yang setiap ruasnya dibatasi oleh buku-buku sebagai tempat duduknya daun. Bentuk daun tebu berwujud helaian dengan pelepah. Panjang daun dapat mencapai panjang 1-2 meter dan lebar 4-8cm dengan permukaan kasar dan berbulu. Bunga tebu berupa bunga majemuk yang berbentuk malai di puncak sebuah poros gelagah. Sedangkan akarnya berbentuk serabut. Batang tebu (*Saccharum officinarum* L.) mengandung air gula yang berkadar sampai 20% (Andaka, 2011).

Pertumbuhan tanaman membutuhkan banyak air pada umur 5 bulan, namun saat tebu berumur 6 sampai 8 bulan dan pada saat memasuki waktu

pemasakan yaitu 12 sampai 14 bulan tanaman tebu tidak memerlukan banyak air bahkan cenderung membutuhkan lingkungan yang kering (Yukamgo dan Yuwono, 2007). Perakaran tanaman tebu ditentukan oleh sifat fisik meliputi drainase, tekstur, konsistensi tanah dan kedalaman efektif. Secara Umum, tanaman memerlukan drainase yang baik dengan kondisi aerasi tanah baik dan oksigen yang tersedia, sehingga akar tanaman dapat berkembang dengan baik dan mampu menyerap nutrisi secara optimal (Hakim, 2010).

Daerah curah hujan tanaman tebu yang optimal adalah antara 1.500 - 2.200 mm/tahun. Curah hujan ini sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman tebu maupun rendemen, terutama dikaitkan dengan intensitas penyinaran matahari yang diterima oleh tanaman. Kondisi drainase yang sangat terhambat akan membuat ketersediaan air dalam tanah menjadi melebihi kebutuhan tanaman tebu (Mulyono, 2009).

2.2 Pengaruh Cekaman Genangan Terhadap Pertumbuhan Tanaman

Genangan merupakan salah satu kendala dalam berbudidaya di bidang pertanian. Hal ini mengakibatkan sebagian besar tanaman tidak mampu tumbuh dan berproduksi pada keadaan cekaman genangan. Ketersediaan air yang berlebih mengakibatkan ketersediaan oksigen dan karbondioksida pada daerah perakaran menjadi berkurang dan berpengaruh terhadap proses fotosintesis. Kondisi anaerob berpengaruh pada penghambatan proses metabolisme karena kurangnya penyediaan bahan – bahan dasar yang dibutuhkan tumbuhan, sehingga menghambat pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (Jackson, 2009).

Genangan dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu 1) kondisi jenuh air (*water logging*) dimana pada kondisi ini yang terendam air hanya akar tanaman, dan 2) kondisi dimana seluruh bagian tanaman mulai dari ujung daun hingga akar terendam air (*complete sub mergence*) (VanToai *et. al.*,2001). Pada penelitian ini digunakan kondisi jenuh air (*water logging*). Kurangnya pasokan oksigen pada kondisi tergenang mengakibatkan akar tanaman menjadi mati karena kebusukan. Kerusakan pada akar berdampak pada terganggunya fungsi serapan hara dan laju transpirasi tumbuhan yang terhambat (Susilawati, *et.al*, 2012).

Penggenangan berdampak negatif terhadap proses fotosintesis sehingga tumbuhan mengalami penurunan sistem metabolisme yang cukup signifikan. Terganggunya sistem metabolisme berdampak pada perubahan dalam proses pertumbuhannya baik secara morfologi maupun struktur akar yang terbentuk pada tanaman tebu (Tetsushi and Karim, 2007). Defisiensi oksigen dalam tanah akibat genangan merupakan faktor pembatas yang dapat menghambat pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Keadaan anaerob (tanpa oksigen) berdampak buruk terhadap serapan nutrisi dan air sehingga menunjukkan gejala kelayuan walaupun tersedia air yang cukup (Sairam *et al.*, 2009).

Pertumbuhan tanaman yang mengalami cekaman genangan mengalami penurunan pada parameter tanaman, indeks luas daun, jumlah daun berwarna hijau, dan kandungan klorofil pada semua perlakuan lama penggenangan. Jumlah stomata membuka dan kerapatan stomata pada tanaman yang mengalami genangan lebih tinggi apabila dibandingkan dengan tumbuhan yang tumbuh pada lingkungan normal (Widyasari *et al.*, 2011). Tanaman tebu dapat tumbuh baik di kondisi tanah yang optimal, artinya tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah. Penurunan di bawah tingkat optimal kadar oksigen, disebut dengan hipoksia. Secara umum, hipoksia merupakan bentuk umum dari cekaman genangan yang terjadi saat akar terendam di dalam air tetapi tajuk berada di atas atmosfer (Norsamsi, *et al.*, 2015).

Penggenangan berpengaruh nyata terhadap terhadap potensial redoks tanah, pH tanah, dan kandungan etilen dalam jaringan tanaman. Semakin tinggi penggenangan, dapat menurunkan potensial redoks (Eh) tanah dan meningkatkan pH tanah serta kandungan etilen dalam jaringan tanaman (Arsana *et al.*, 2003). Penurunan redoks tanah mengakibatkan menurunnya ketersediaan N, P, K dalam tanah (Gomathi *et al.*, 2014). Penurunan kandungan N di dalam tanah mengakibatkan penurunan kandungan klorofil pada daun tebu. Tanaman yang mendapat perlakuan penggenangan memiliki nilai klorofil lebih rendah dibandingkan tanaman tanpa digenangi, namun penurunan kandungan klorofil pada varietas tahan lebih rendah dibandingkan tanaman peka (Harsanti *et al.*, 2015).

2.3 Toleransi Terhadap Cekaman Genangan

Tanaman mempunyai respon terhadap cekaman baik secara morfologis, fisiologis maupun secara molekuler. Salah satu bentuk respon yaitu toleransi terhadap genangan dimana salah satu bentuk adaptasi metabolik anaerobiosis yang dapat memungkinkan sel untuk mempertahankan pertumbuhan sehingga tumbuhan dapat bertahan pada kondisi tercekam genangan dengan meminimalkan kerusakan yang terjadi. Respon tanaman pada kondisi tergenang diharapkan mampu beregenerasi secara cepat sehingga mampu memastikan proses pemulihan dan produksi biomassa untuk produktivitas optimal (Sarkar, *et.al*, 2006)

Toleransi tanaman pada lingkungan tergenang berhubungan dengan jaringan aerenkim pada tunas dan akar tanaman tebu yang dapat mengakibatkan oksigen untuk berdifusi dari daun ke sel – sel di akar. Tanaman tebu yang tahan terhadap kondisi genangan mampu membentuk banyak jaringan aerenkim baik pada akar adventif maupun pada *sett root* (Widyasari, *et.al*, 2011). Aerenkim merupakan jaringan pada tumbuhan yang terletak pada jaringan parenkim yang memiliki rongga besar antar sel yang memiliki fungsi sebagai penyimpan udara. Pada tumbuhan yang toleran genangan, pembentukan aerenkim tidak membutuhkan pengaruh eksternal misalnya perlakuan penggenangan (Hapsari dan Adie, 2010).

Mekanisme toleransi tanaman dapat dilihat dari perkembangan akar adventif pada kondisi lingkungan yang tergenang untuk meningkatkan aerasi akar dan memungkinkan tanaman untuk mempertahankan fungsi akar selama terjadi genangan. Pembentukan aerenkim pada akar banyak terjadi pada klon – klon yang toleran terhadap genangan. Hal ini terjadi pada pembentukan aerenkim pada akar adventif spesies rumput telah banyak terjadi baik pada lahan basah dan lahan kering (Gilbert, *et.al*, 2007).

Massa akar tanaman yang mengalami genangan selama proses pertumbuhannya lebih rendah apabila dibandingkan dengan massa akar tanaman yang ditanam pada lingkungan normal. Berdasarkan penelitian Widyasari, *et.al* (2011) pada 13 klon tebu hasil introduksi asal Australia, tebu yang toleran genangan akan memunculkan akar adventif, warna daun sedikit menguning dan

terbentuk jaringan aerenkim pada akar. Klon tebu yang tahan genangan juga menunjukkan respon jumlah rambut akar yang lebih banyak dibandingkan tebu yang tidak tahan (Begum *et al.*, 2013).

Kondisi lingkungan yang tergenang menyebabkan terjadinya pemecahan gula secara anaerob yang menghasilkan etanol yang secara terus menerus dapat menyebabkan tanaman mengalami keracunan dan mati. Keterlambatan pembentukan jaringan aerenkim mampu menurunkan laju fotosintesis sehingga menyebabkan berkurangnya jumlah daun hijau pada beberapa genotipe yang dipilih sebagai genotipe yang tidak toleran terhadap genangan (Begum, *et.al*, 2008).

Respon fisiologis tanaman terhadap kondisi cekaman genangan diantaranya yaitu mengurangi tingkat transpirasi yang terjadi karena penutupan stomata, laju fotosintesis berkurang, tingkat pertumbuhan berkurang selama terjadi cekaman genangan dan laju respirasi organ tanaman yang terendam lebih tinggi dibandingkan dengan laju respirasi pada daun. Perubahan proses metabolisme dari aerobik menjadi anaerobik sebagai dampak dari kekurangan oksigen (Islam, *et.al*, 2011). Rangkuman indikator toleransi tanaman terhadap penggenangan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Indikator toleransi tanaman terhadap penggenangan

Karakter morfologi dan fisiologi	Tanaman toleran	Tanaman peka	Sumber
Klorofil	Tinggi	Rendah	Gomathi and Chandra, 2012
Tinggi tanaman	Tinggi	Rendah	Gomathi and Chandra, 2012 Gomathi, <i>et. al.</i> , 2014
Aerenkim	Ada	Tidak	Widyasari, <i>et. al.</i> , 2011
Diameter batang	Tinggi	Rendah	Gomathi and Chandra, 2012
Jumlah anakan	Tinggi	Rendah	Gomathi and Chandra, 2012
Nilai Brix	Tinggi	Rendah	Gomathi, <i>et. al.</i> , 2014; Tetsushi and Karim, 2007

Sumber : Harsanti, 2015

Tabel 2.1 merupakan acuan untuk menentukan karakter toleransi tanaman tebu menghadapi kondisi penggenangan melalui informasi beberapa sumber yang dirangkum oleh Harsanti *et al.*, (2015). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, klon tebu PS 865 hasil mutasi memiliki tingkat toleransi yang paling tinggi dibandingkan klon lain hal ini didasarkan pada hasil pengamatan terhadap tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, dan presentase planlet hidup Arif *et al.*, (2015).

2.4 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Genotipe terseleksi berpotensi sebagai sumber daya genetik untuk merakit varietas baru yang memunyai sifat unggul. Salah satu metode seleksi yang dikembangkan sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan adalah seleksi tingkat molekuler (Sri Hartati dkk., 2012). Penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman. Seleksi dengan bantuan marka molekuler didasarkan pada sifat genetik tanaman tanpa dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sedangkan fenotipik dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan sehingga kegiatan pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, cepat, dan relatif lebih hemat biaya dan waktu. Salah satu penanda molekuler yang saat ini digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik pada tingkat DNA yaitu *polymerase chain reaction* (PCR) dengan menggunakan sekuen-sekuen nukleotida sebagai primer (Azrai, 2005).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA cetakan dengan bantuan enzim DNA Polymerase dan primer dalam suatu thermocycler. Terdapat empat komponen dalam melakukan proses PCR yaitu DNA template (cetakan), primer, DNA polymerase dan dNTPs. Apabila terdapat komplementasi urutan basa primer dengan urutan basa DNA cetakan, maka primer akan menempel pada kedua ujung 3'OH utas DNA cetakan. Jika kedua situs penempelan primer berada pada jarak yang dapat diamplifikasi, maka produk PCR akan diperoleh berupa fragmen atau pita DNA (Zulfahmi, 2013).

Tahap dalam melakukan proses PCR meliputi: 1) denaturasi DNA, pembukaan utas ganda DNA menjadi utas tunggal ($\pm 92-94^{\circ}\text{C}$), 2) *annealing*, penempelan primer pada DNA cetakan biasanya tergantung pada *Melting Temperature* primer yang digunakan), serta 3) *extension*, pemanjangan primer dengan melakukan reaksi polimerisasi nukleotida untuk membentuk rantai DNA (\pm suhu 72°C). Teknik penanda berdasarkan PCR dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu menggunakan primer acak atau tidak memerlukan sekuen spesifik dan menggunakan primer spesifik atau ada sekuen target tertentu (Susantidiana *et al.*, 2009).

PCR dapat diaplikasikan dengan menggunakan primer yang menggabungkan sekuen komplementer spesifik dalam DNA target. Metode PCR mampu memperoleh informasi yang lebih akurat dan waktu yang relatif singkat. Hasil dapat segera divisualisasi setelah proses amplifikasi DNA. Karakter yang muncul sangat banyak tergantung pada primer yang digunakan. Kelemahan metode ini adalah reproducibility yang rendah, namun kelemahan ini dapat diatasi dengan konsistensi kondisi PCR (Prana dan Hartati, 2003).

Faktor yang mempengaruhi PCR diantaranya (1) kondisi deoksiribonukleotida triphosphat (dNTP), (2) oligonukleotida primer, (3) DNA template (cetakan), (4) komposisi larutan buffer, (5) jumlah siklus reaksi, (6) enzim yang digunakan, dan (7) faktor teknis dan non-teknis lainnya, misalnya kontaminasi. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi oleh setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. DNA cetakan yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Black *et al.*, 1992). Analisis data perubahan genetik tanaman tebu yang diperoleh dari hasil elektroforesis pada PCR berdasarkan kemunculan pola pita DNA yang diamati melalui koefisien kemiripan genetik (*similarity coefficient*) atau jarak genetik (*genetic distance*) dengan menggunakan metode *Unweight Pair Group Method Arithmetic* (UPGMA) (Yasminingsih, 2009).

2.5 Hipotesis

1. Terjadi respon yang berbeda dari mutan tebu akibat perlakuan penggenangan.
2. Terjadi perbedaan karakter mutan tebu dan non mutan yang digunakan pada kondisi penggenangan dan tanpa penggenangan.
3. Terjadi perubahan genotipe mutan tebu toleran genangan dibandingkan non mutan berdasarkan penanda PCR – RAPD.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Percobaan ini dilaksanakan di *Agrotechnopark* Universitas Jember dan Laboratorium *Center for Development of Advance Sciences and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Desember 2015 sampai dengan Juni 2016.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan percobaan terdiri dari polybag, mutan tebu PS865 dan non mutan PS865, timba, bahan organik kotoran sapi, pasir, tanah, ZA. Alat percobaan terdiri atas *hand refractometer*, Chlorophyllmeter SPAD-502 Minolta dan peralatan untuk budidaya tebu. Sedangkan alat untuk analisis pola pita DNA yaitu seperangkat alat PCR dan elektroforesis. Adapun bahan berupa komponen primer untuk PCR yang sudah beberapa kali digunakan dalam mendeteksi genotipe tebu ditunjukkan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Primer yang digunakan untuk tanaman tebu

No.	Nama Primer	Sequence
1.	OPA-19	5'- CAA ACG TCG G - 3'
2.	OPC-19	5'- GTT GCC AGC C - 3'
3.	OPE-02	5'- GGT GCG GGA A - 3'
4.	OPF-04	5'- GGT GAT CAG G - 3'
5.	OPN-11	5' - TCG CCG CAA A - 3'

Sumber : Zhang *et al.* (2008)

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada setiap lingkungan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas dua faktor perlakuan dengan jumlah 5 ulangan. Dua faktor perlakuan yang diuji adalah faktor mutan (M) dan perlakuan penggenangan (T). Faktor pertama yang diuji yaitu genotipe mutan tebu (M) dan non mutan PS865 (M0), sedangkan faktor kedua yang terdiri dari dua taraf yaitu perlakuan genangan yang terdiri atas kondisi media tergenang (T1) dan tanpa

tergenang (T0). Penggenangan dilakukan pada saat tanaman berumur 3 bulan selama 12 minggu. Menurut Begum *et. al.*, (2013), fase perkecambahan dan pembibitan sekitar umur 1 – 5 bulan merupakan fase kritis tanaman tebu terhadap genangan. Semua tanaman baik mutan maupun non mutan (kontrol) ditanam pada media di dalam polybag, kemudian perlakuan penggenangan dilakukan dengan memasukkan tanaman tebu beserta media ke dalam timba yang berisi air (genangan).

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial Sub sampling, dimana model statistika yang berlaku untuk analisis dari RAL faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + T_j + (VT)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pengaruh genotipe ke-i, genangan ke-j, ulangan ke-k

μ : Nilai rata-rata populasi

M_i : Pengaruh genotipe ke-i (i = 1, 2)

T_j : Pengaruh genangan ke-j (j = 1,2)

k : ulangan 5

$(MT)_{ij}$: Pengaruh interaksi genotipe ke-i, genangan ke-j,

ϵ_{ijk} : Pengaruh galat percobaan genotipe ke-i, perlakuan genangan ke-j dan ulangan ke – k

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) dan apabila terjadi perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf kepercayaan sebesar 95 persen. Rancangan menggunakan ulangan sebanyak 5 kali dengan petak percobaan ialah 20 unit percobaan dengan tiap unit terdiri dari 3 sampel, dengan kombinasi dan denah rancangan acak lengkap (RAL) faktorial tersaji pada gambar 3.1 sebagai berikut:

1. M_0T_0
2. M_0T_1
3. M_1T_0
4. M_1T_1

$(M_0T_0) 3$	$(M_1T_0) 3$	$(M_1T_0) 4$	$(M_0T_1) 2$
$(M_0T_0) 3$	$(M_1T_0) 3$	$(M_1T_0) 4$	$(M_0T_1) 2$
$(M_0T_0) 3$	$(M_1T_0) 3$	$(M_1T_0) 4$	$(M_0T_1) 2$
$(M_1T_1) 4$	$(M_1T_0) 5$	$(M_0T_0) 5$	$(M_0T_0) 4$
$(M_1T_1) 4$	$(M_1T_0) 5$	$(M_0T_0) 5$	$(M_0T_0) 4$
$(M_1T_1) 4$	$(M_1T_0) 5$	$(M_0T_0) 5$	$(M_0T_0) 4$
$(M_0T_1) 4$	$(M_1T_1) 1$	$(M_1T_0) 1$	$(M_0T_1) 5$
$(M_0T_1) 4$	$(M_1T_1) 1$	$(M_1T_0) 1$	$(M_0T_1) 5$
$(M_0T_1) 4$	$(M_1T_1) 1$	$(M_1T_0) 1$	$(M_0T_1) 5$
$(M_1T_0) 2$	$(M_0T_0) 2$	$(M_0T_1) 1$	$(M_0T_0) 1$
$(M_1T_0) 2$	$(M_0T_0) 2$	$(M_0T_1) 1$	$(M_0T_0) 1$
$(M_1T_0) 2$	$(M_0T_0) 2$	$(M_0T_1) 1$	$(M_0T_0) 1$
$(M_1T_1) 2$	$(M_1T_1) 3$	$(M_1T_1) 5$	$(M_0T_1) 3$
$(M_1T_1) 2$	$(M_1T_1) 3$	$(M_1T_1) 5$	$(M_0T_1) 3$
$(M_1T_1) 2$	$(M_1T_1) 3$	$(M_1T_1) 5$	$(M_0T_1) 3$

Gambar 3.1 Denah Penelitian

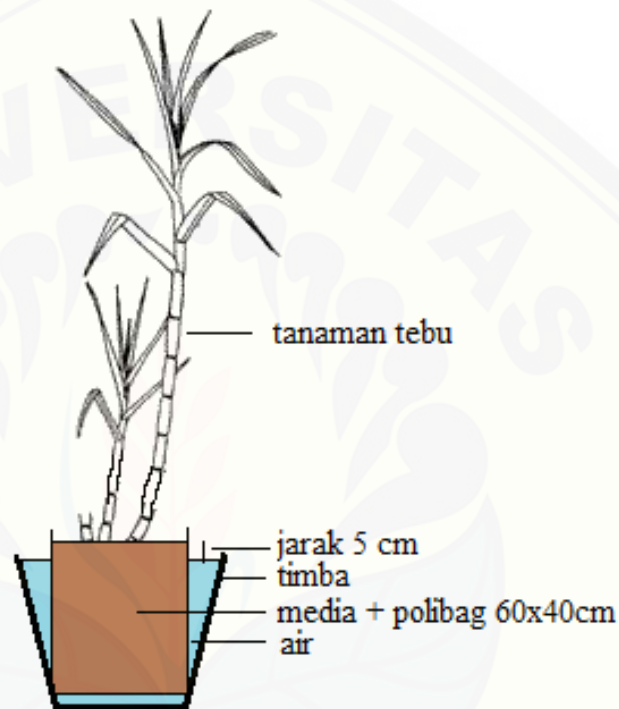
3.4 Pelaksanaan

Percobaan ini dilaksanakan melalui beberapa tahap sebagai berikut :

3.4.1 Pelaksanaan Percobaan

Percobaan ini dimulai dengan menyiapkan bahan tanaman berupa mutan tebu PS865 dari percobaan tingkat planlet sebelumnya. Kemudian menanam bahan tanam yang sudah disiapkan di polybag yang memiliki ukuran 40 x 50 dengan komposisi media yang terdiri dari tanah, pasir, dan kompos dengan

perbandingan 1 : 1 : 1. Tahapan pemeliharaan dengan cara melakukan penyiraman setiap hari, jika kelembapan media cukup maka tidak perlu melakukan penyiraman. Setelah bibit mencapai umur 3 bulan, hal yang perlu dilakukan adalah memindahkannya pada polybag yang berukuran lebih besar kemudian memberikan perlakuan sesuai dengan metode yang sudah dibuat. Metode penggenangan dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2 Metode penggenangan

3.4.2 Identifikasi karakteristik DNA menggunakan metode PCR - RAPD

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap analisis untuk mengidentifikasi kekerabatan varietas tebu hasil percobaan di lapangan. Identifikasi karakteristik pola pita DNA pada metode PCR (*Polymerase chain reaction*) menggunakan primer RAPD bertujuan untuk mendeteksi perubahan genotipe pada mutan tebu umur 5 bulan di lapang. Adapun tahapan identifikasi ini terdiri dari isolasi DNA, PCR amplifikasi dan elektroforesis. Adapun tahapan identifikasi DNA menggunakan metode RAPD sebagai berikut.

Tahap 1. Pemisahan Jaringan

Sebanyak 50 mg daun segar (maksimal 100) atau 10 mg daun kering (maksimal 25 mg) ditambahkan nitrogen cair dan digerus sampai halus. Hasil gerusan daun kemudian di masukkan ke tabung microcentrifuge 1,5 ml.

Tahap 2. Lysis (Pemecahan Sel)

Pencampuran bufer GP1 atau GPX1 dengan RnaseA sebaiknya dilakukan segera sesaat sebelum digunakan. Pada tahap ini, elusi buffer (200 μ l per sampel) mulai di panaskan pada suhu 60°C (elusi buffer ini akan digunakan pada tahap 5 saat tahap elusi DNA). Sampel dalam tabung microcentrifuge 1,5 ml di tambah 400 μ l buffer GP1 atau GPX1 dan 5 μ l RNase A, divortex, kemudian dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 menit. Setiap 5 menit tabung di bolak balik. Setelah itu di tambahkan 100 μ l buffer GP2, campuran divortex kemudian diletakkan di atas es selama 3 menit. Tahap berikutnya filter kolom di tempatkan pada tabung koleksi 2 ml, kemudian campuran di tuang ke dalam filter kolom. Kemudian di lakukan centrifuge selama 1 menit 1.000 x g dan filter kolom di buang. Semua supernatant dari tabung koleksi 2 ml di pindahkan ke tabung 1,5 ml microcentrifuge baru.

Tahap 3. DNA Binding (Pengikatan DNA Genom)

Buffer GP3 (yang sudah ditambah isopropanol) di tambahkan pada sampel sebanyak 1,5x volume sample, kemudian di vortex selama 5 detik (contohnya: pada sampel sebanyak 500 μ l ditambahkan 750 μ l buffer GP3). Bila endapan muncul, segera kocok dengan pipet agar endapan bisa ikut di pindahkan ke tahap berikutnya. Pindahkan campuran sampel sebanyak 700 μ l (dan semua endapan tersisa) ke dalam kolom GD yang sudah di letakkan pada tabung koleksi 2 ml dan di centrifuge pada 14-16.000xg selama 2 menit. Cairan yang melalui tabung di buang, kemudian tempatkan kolom GD kembali ke tabung koleksi 2 ml. Campuran sample yang tersisa di tambahkan kembali ke kolom GD lalu di centrifuge pada 14 - 16.000 x g selama 2 menit. Cairannya di buang, kemudian tempatkan kembali kolom GD pada tabung koleksi 2 ml.

Tahap 4. Pencucian

Sebanyak 400 μ l buffer W1 di tambahkan ke kolom GD lalu di centrifuge pada 14-16,000 x g selama 30 detik. Cairannya kembali dibuang, kemudian kolom GD di tempatkan kembali ke dalam tabung koleksi 2 ml. Sebanyak 600 μ l wash buffer di tambahkan (pastikan elusi buffer sudah sudah ditambahkan etanol) ke kolom GD, lalu di centrifuge pada 14 -16.000 x g selama 30 detik. Cairannya kemudian di buang dan tempatkan kolom GD kembali kedalam tabung koleksi 2 ml dan di centrifuge selama 3 menit dengan 14-16,000 x g untuk mengeringkan matriks kolom.

Tahap Opsional (boleh di lakukan boleh tidak)

Penghilangan residu pigment (jika pigmen masih tersisa pada kolom, sebaiknya dilakukan langkah opsional berikut. Tambahkan 400 μ l etanol absolut pada kolom GD, lalu di centrifuge pada 14-16,000 x g selama 30 detik. Buang cairan yang melalui tabung kemudian kembali kolom GD di tempatkan dalam 2 ml tabung koleksi. Kemudian di centrifuge selama 3 menit di 14-16,000 x g untuk mengeringkan matriks kolom.

Tahap 5. DNA elution (Pelepasan DNA)

Volume elution standar adalah 100 μ l. Jika sampel terlihat sedikit, kurangi volume elution hingga 30-50 μ l saja untuk meningkatkan konsentrasi DNA. Jika di perlukan konsentrasi DNA yang lebih tinggi, maka perlu di ulangi tahap DNA elution untuk meningkatkan konsentrasi DNA dengan total volume 200 μ l. Kolom GD yang sudah kering di tempatkan pada tabung microcentrifuge 1,5 ml. Elution Buffer sebanyak 100 μ l yang tadi sudah dipanaskan atau TE di tambahkan ke pusat matriks kolom GD. Inkubasikan selama 3-5 menit untuk memastikan buffer elution atau TE benar-benar diserap. Kemudian di centrifuge selama 30 detik dengan 14-16,000 x g untuk melepas DNA yang ada di matriks kolom. Cairan DNA yang terkumpul pada tabung di simpan untuk di gunakan pada tahap selanjutnya (PCR).

Prosedur kerja PCR – DNA

Untuk membuat campuran koktail 12 reaksi, yang terdiri dari campuran primer RAPD, enzim Taq Polimerase, dnTP's, buffer penyangga dan air di lakukan sebagai berikut. Tabung eppendof 1,5 ml di tambahkan masing-masing sebanyak satu primer ditambahkan 12,5 µl KAPA dan H₂O setiap sampel. Bahan koktail yang tercampur kemudian dipindahkan kedalam tabung PCR sebanyak 19 µl masing-masing pada 20 tabung PCR untuk empat genotipe pada setiap primer yang digunakan, kemudian pada masing-masing tabung PCR ditambahkan 1 µl DNA sampel DNA yang di uji. Suhu PCR yang diatur sebagai berikut. Suhu denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit diikuti oleh 40 siklus amplifikasi. Masing-masing siklus amplifikasi diawali dengan suhu 94°C selama 15 detik diikuti oleh suhu annealing (Ta) 36°C selama 30 detik dan kemudian 72°C selama 1 menit. Tahapan ekstensi akhir di lakukan pada suhu 72°C selama 10 menit. Produk kemudian disimpan pada 4°C.

Tahap elektroforesis

Sebanyak 0,6 gram agarose, ditambah dengan 50 ml 1 kali TBE buffer (5 ml 10 x TBE dan 45 ml DD aquades), kemudian di tambah 0,5 µg/µL ETBR. Setelah itu plate dan cetakannya di siapkan sesuai dengan jumlah sampel, lalu campuran TBE dan agarose dipanaskan di microwafe selama 1 menit dan dituang ke dalam cetakan. Produk PCR sebanyak 7 µl dipisahkan dengan gel agarose yang sudah tercetak tersebut dengan voltase 100 volt. Gambar diambil di bawah sinar UV untuk studi lebih lanjut.

3.4.3 Analisis perubahan genotipe berdasarkan karakteristik DNA

Ukuran derajat jarak kemiripan genetik tanaman tebu yang diamati berdasarkan koefisien kemiripan atau jarak genetik (*genetic distance*) dengan menggunakan metode *Unweight Pair Group Method Arithmetic* (UPGMA). Fragmen yang dihasilkan pada analisis PCR yang tampak sebagai pita - pita DNA diterjemahkan menjadi data biner berdasarkan ada atau tidaknya pita yang dimiliki secara bersama oleh individu tanaman yang dianalisis (Yasminingsih, 2009).

Pita DNA memiliki ukuran pasangan basa (bp) tertentu. Setiap pita dianggap sebagai satu lokus sehingga pita yang sama dari contoh tanaman diinterpretasikan sebagai satu lokus yang homolog. Lokus tersebut diubah ke dalam bentuk data biner dengan memberi nilai satu (1) untuk yang memiliki pita dan nilai nol (0) untuk yang tidak memiliki pita. Estimasi kemiripan genetik diperoleh berdasarkan jumlah pita yang dimiliki bersama. Data matriks kemiripan genetik dihitung dengan rumus dari koefisien Dice (S) (Yasminingsih, 2009).

$$S = (\text{Irisan } n_a + n_b) / (\text{gabungan } n_a + n_b)$$

Keterangan:

S	= Koefisien kemiripan;
a dan b	= genotipe tanaman
n_{ab}	= jumlah pita yang posisinya sama
n_a	= jumlah pita genotipe tanaman a
n_b	= jumlah pita genotipe tanaman b

Hasil koefisien kemiripan genetik akan dilakukan analisis pengelompokan filogenetik menggunakan dendrogram. Kemunculan pita DNA pada setiap primer yang muncul diberikan data biner skorsing “1” dan “0” untuk yang tidak memunculkan pita DNA dengan format horizontal pada software microsoft excel. Data biner kemudian disalin untuk digunakan pada halaman kerja penentuan dendrogram. Pengelompokan dendrogram pada empat genotype tanaman tebu dapat diaplikasikan menggunakan software Dendrogram UPGMA Filogenetik secara online dengan alamat <http://usuaris.tinet.cat>. Data biner hasil salinan dari microsoft excel kemudian dimasukkan ke dalam kolom kerja software dengan format “ > (nama genotype) (enter) (skoring) (spasi) (skoring) (dan seterusnya)” kemudian klik tombol submit dan akan muncul cluster Dendrogram beserta nilai koefisien kemiripan dan jarak genetik.

3.4.4 Identifikasi karakter berdasarkan parameter pengamatan

Sifat toleransi tanaman tebu didasarkan pada karakter pengamatan yang diamati. Karakter yang diamati pada percobaan ini terdiri dari :

1. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman, diukur dari permukaan tanah hingga ke bagian tanaman tertinggi dengan menarik daun dan ditangkupkan ke atas kemudian diukur pada ujung daun kedua. Pengukuran menggunakan meteran. Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu sejak ditanam.

2. Jumlah ruas

Jumlah ruas dihitung setiap 2 minggu setelah ditanam.

3. Diameter batang

Diameter batang dihitung diatas 10 cm pangkal batang dengan menggunakan jangka sorong.

4. Jumlah Daun

Jumlah daun diperoleh dihitung dengan cara menghitung daun segar yang terdapat pada batang yang tumbuh pertama kali pada saat pembibitan.

5. Jumlah anakan keseluruhan (sogolan+produktif) dan produktif

Jumlah anakan keseluruhan dapat dihitung berdasarkan jumlah semua anakan yang tumbuh dalam satu pot tanaman percobaan dari ukuran anakan yang kerdil atau sogolan sampai yang besar. Jumlah anakan produktif merupakan jumlah anakan yang mempunyai ukuran hampir setara dengan ukuran anakan yang paling besar.

6. Berat segar batang

Berat segar batang dilakukan dengan cara batang tanaman tebu dipotong dan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

7. Berat Segar Daun

Berat segar daun dilakukan dengan cara daun tanaman tebu dalam satu tanaman dikumpulkan dan ditimbang dengan menggunakan timbangan.

8. Volume Akar (ml)

Pengukuran volume akar dilakukan pada akhir pengamatan. Pengamatan ini dilakukan dengan cara memisahkan bagian akar yang telah dibersihkan

kemudian memasukkan akar kedalam wadah yang penuh dengan air. Setelah akar dimasukkan maka air akan keluar, selanjutnya mencatat volume air yang keluar sebagai volume akar.

9. Berat Segar Akar

Berat segar akar dilakukan dengan cara akar tanaman tebu (kecuali yang busuk) di potong dan ditimbang dengan menggunakan timbangan.

10. Aerenkhim batang

Pengamatan aerenchyma batang tanaman tebu, dilakukan setelah pengamatan berat basah batang dilakukan dengan cara, batang tebu dipotong horisontal, dan selanjutnya dilakukan pengambilan foto.

11. Kandungan Klorofil

Pengukuran kandungan klorofil dilakukan dengan menggunakan alat SPAD-502. Cara pengukurannya yaitu ukur daun tebu dengan SPAD-502, letakkan pada daun, kemudian data terbaca dan disimpang. Data yang terbaca kemudian dimasukkan ke dalam rumus $10^{(M^{0,265})}$ dan menggunakan satuan $\mu\text{mol m}^{-2}$, apabila data yang dibaca pada alat tersebut lebih dari 50, maka lebih baik dilakukan ekstraksi untuk menentukan kandungan klorofil (Markwell *et al.*, 1995).

12. Nilai brix

Diukur diakhir penelitian dengan cara mengambil sampel nira dari tanaman tebu, kemudian mengamati menggunakan digital refractometer lalu dilihat skala yang tertulis.

13. Kandungan sukrosa

Perasan sampel nira diencerkan sebanyak 25 kali, kemudian diambil sampel 10 μl dari pengenceran tersebut dan ditambah 70 μl NaOH 0,5 N, di panaskan selama 10 menit, kemudian di dinginkan lalu ditambahkan 250 μl Resorcinol 0,1 % dan ditambah 750 μl HCl 30 %. Setelah itu campuran dipanaskan pada suhu 80 °C selama 8 menit dan diukur nilai absorbansi dengan spektrofometer pada panjang gelombang 520 nm. Pengukuran kandungan sukrosa dengan satuan μg dapat dilakukan dengan standart sukrosa berdasarkan persamaan regresi menggunakan sukrosa masing-masing sebanyak 0 μg , 5 μg , 10

μg , 15 μg , 20 μg , 25 μg sehingga didapatkan absorbansi dari kandungan sukrosa tersebut. Setelah mendapatkan kandungan sukrosa, kemudian dilakukan persentase berat sukrosa nira tebu (g) dari berat batang tebu.



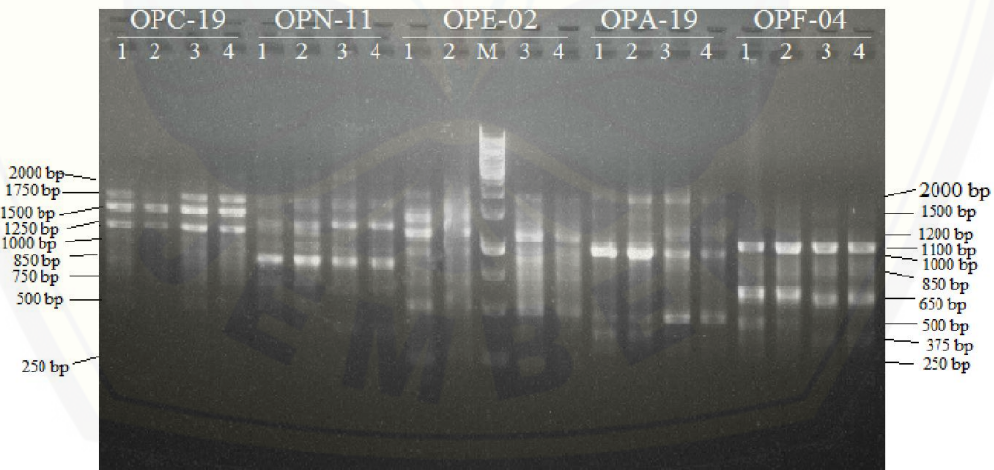
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil percobaan ditunjukkan pada hasil perubahan genotipe berdasarkan identifikasi karakteristik DNA dengan penanda PCR-RAPD dan identifikasi karakter toleransi berdasarkan beberapa parameter seperti tinggi tanaman, jumlah ruas, jumlah daun, jumlah anakan, diameter batang, berat segar daun, berat segar batang, kandungan klorofil, brix, kandungan sukrosa, volume akar, berat segar akar, kemunculan akar adventif dan aerenkim batang.

4.1.1 Karakteristik DNA dan perubahan genotipe dengan PCR-RAPD

Analisis karakteristik keragaman genotipe dengan penanda DNA dimulai dengan mengambil daun segar dari empat sampel tanaman tebu dari setiap kombinasi perlakuan yang diambil sebanyak 0,05 gram untuk isolasi DNA. Isolasi DNA menggunakan mini KIT DNA dan dilanjutkan dengan melakukan PCR untuk penggunaan template DNA. Kemudian didapatkan hasil pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Hasil elektroforesis genotipe mutan dan non mutan pada lima primer RAPD. M=Marker 1kb DNA Ladder; 1= mutan tebu + penggenangan (MIT1); 2=mutan tebu + tanpa penggenangan (MIT0); 3=non mutan +tanpa penggenangan (MOT0);4=non mutan+penggenangan (MIT0).

Berdasarkan Gambar 4.1, hasil elektroforesis menghasilkan beberapa pita polimorfik empat primer RAPD (OPN 11, OPE 02, OPA 19, OPF 04). Analisis keragaman genotipe telah dilaksanakan pada empat genotipe tanaman tebu dari sampel setiap kombinasi perlakuan dengan menggunakan lima primer RAPD yang masing-masing berukuran 10 basa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penampakan pita DNA pada empat genotipe tanaman tebu menggunakan lima primer RAPD menghasilkan pita polimorfik pada empat primer (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Ukuran dan jumlah pita DNA empat genotipe tanaman tebu

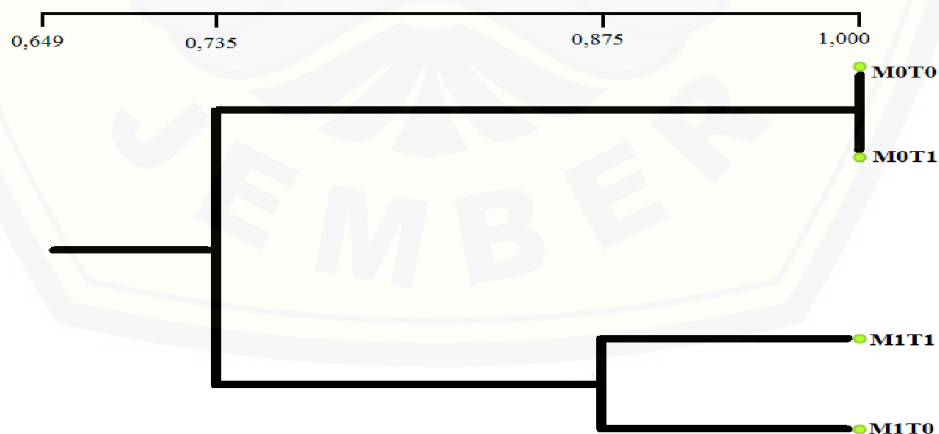
No.	Kode Primer	Urutan Basa (5' – 3')	Pita DNA	Pita DNA Polimorfik	Persentase polimorfisme	Ukuran (bp)
1.	OPC 19	GTTGCCAGCC	3	0	0	1250-1750
2.	OPN 11	TCGCCGCAAA	8	2	25	375 – 1750
3.	OPA 19	CAAACGTCGG	8	5	62,5	250 – 2000
4.	OPE 02	GGTGCGGGAA	10	4	40	300 – 2000
5.	OPF 04	GGTGATCAGG	8	2	25	375 – 1200
Jumlah			37	13	152,5	
Rata – Rata			7,4	2,8	35,1	

Berdasarkan Tabel 4.1, hasil penelitian memperoleh pita DNA berukuran 250 - 2000 pasang basa. Jumlah ukuran pita yang diperoleh serupa dengan hasil penelitian Zhang *et al.*, (2008) yang berkisar antara 250 – 2000 bp. Hasil amplifikasi di skoring “1” jika ada pita dan skorsing “0” jika tidak ada pita yang teramplifikasi. Jumlah pita DNA genotipe tanaman tebu hasil mutasi (M1) dan tanpa mutasi (M0) yang berhasil diamplifikasi oleh setiap primer berkisar dari 3 pita sampai 10 pita atau rata-rata menghasilkan 7,4 pita per primer. Polimorfisme pita yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 35,1% (13 pita) dari 37 total pita DNA yang diperoleh. Dari hasil skoring pita polimorfik selanjutnya digunakan untuk menganalisis tingkat perubahan genotipe dari 4 genotipe tanaman tebu hasil mutasi dan tanpa mutasi berdasarkan nilai dari koefisien kemiripan empat genotipe tanaman tebu. Hasil koefisien kemiripan genetik empat genotipe tanaman tebu dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Koefisien kemiripan genetik empat genotipe tanaman tebu

Genotipe	M1T1	M1T0	M0T0	M0T1
M1T1	0			
M1T0	0,875	0		
M0T0	0,735	0,649	0	
M0T1	0,735	0,649	1,000	0

Berdasarkan Tabel 4.2, hasil matriks koefisien kemiripan penanda RAPD antara empat genotipe tanaman tebu berdasarkan 37 lokus yang teramplifikasi menghasilkan rentang nilai berkisar 0.649 hingga 1.00. Untuk melihat tingkat perubahan genotipe pada genotipe mutan (M1T1 dan M1T0), dilakukan dengan membandingkan dengan genotipe non mutan (M0T0 dan M0T1), dimana koefisien kemiripan antara M0T0 dan M0T1 sebesar 100%. Besarnya perubahan genotipe yang terjadi dapat diperoleh dari besarnya koefisien kemiripan genotipe (r) tanaman mutan dengan kedua tanaman non mutan, dimana nilai perubahan genotipe (t) diperoleh dari hasil perhitungan ($t = 1 - r \times 100$). Hasil analisis perubahan genotipe menunjukkan bahwa perubahan genotipe M1T1 dengan pembanding M0T1 dan M0T0 menghasilkan perubahan sebesar 26,5%. Sedangkan perubahan genotipe M1T0 dengan pembanding M0T1 dan M0T0 juga menghasilkan perubahan yang sama yaitu 35,1%. Pilogenik empat genotipe tanaman tebu dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Filogenetik empat genotipe tanaman tebu hasil mutasi dan tanpa mutasi berdasarkan penanda RAPD yang dianalisis dengan Dendrogram UPGMA.

Berdasarkan Gambar 4.2, filogenik empat genotipe tanaman tebu berdasarkan pita DNA hasil analisis dengan metode UPGMA menghasilkan 37 lokus yang teramplifikasi dengan membentuk nilai koefisien kemiripan berkisar 0,649 - 1 atau terdapat kemiripan 64,9% -100%. Empat genotipe tanaman tebu dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok utama. Filogenetik yang dibentuk berdasarkan kemiripan genetik digambarkan dalam dua kluster utama. Kelompok I terdiri dari tanaman non mutan (M0T0 dan M0T1) dan kelompok kedua terdiri dari tanaman mutan (M1T1 dan M1T0). Genotipe M1T0 dengan M1T1 mempunyai kemiripan genetik yang tinggi sebesar 87,5% atau mempunyai jarak genetik yang relatif rendah (0,125) sehingga memiliki kluster yang sama dengan M1T1.

4.1.2 Analisis Ragam

Pengaruh perlakuan tanaman, penggenangan dan kombinasi perlakuan tanaman dan penggenangan dirangkum dalam tabel hasil analisis ragam yang disajikan dari semua parameter pegamatan. Hasil Analisis Ragam terhadap semua parameter pengamatan disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rangkuman hasil analisis ragam

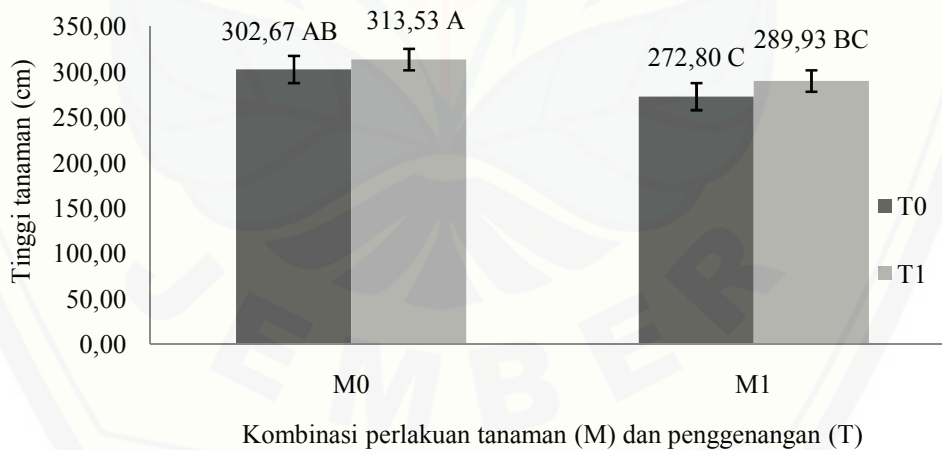
No.	Parameter	Kuadrat Tengah			Galat
		M	T	M x T	
1	Tinggi tanaman (cm)	10720,07**	2940**	147,27 ^{ns}	354,5
2	Jumlah ruas	0,87**	0,2*	0,004 ^{ns}	1,23
3	Jumlah daun (helai)	1,072**	0,02 ^{ns}	0,16 ^{ns}	2,16
4	Jumlah seluruh anakan	248,07**	1,07 ^{ns}	0,6 ^{ns}	5,31
5	Jumlah anakan produktif	8,77**	0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,17
6	Diameter batang (cm)	2,44**	0,04 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,03
7	Berat segar daun (g)	393962 ^{ns}	349801 ^{ns}	478951 ^{ns}	108190
8	Berat segar batang (g)	317268 ^{ns}	200200 ^{ns}	652688*	112954
9	Kandungan sukrosa nira (%)	2,38 ^{ns}	1,22 ^{ns}	13,01 ^{ns}	8,83
10	Kandungan klorofil ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)	97478,9**	85389,4**	1171,6 ^{ns}	2772,5
11	Nilai brix (%)	0,02 ^{ns}	10,66*	2,45 ^{ns}	1,46

Keterangan: M= tanaman, T= genangan, MxT= interaksi, ns= berbeda tidak nyata, *= berbeda nyata, **= berbeda sangat nyata

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan tanaman dan penggenangan menghasilkan pengaruh berbeda tidak nyata pada semua parameter kecuali pada parameter berat batang yang menghasilkan pengaruh berbeda nyata. Perlakuan penggenangan (T) menghasilkan pengaruh berbeda sangat nyata pada parameter tinggi tanaman dan kandungan klorofil, berbeda nyata pada jumlah ruas dan nilai brix sedangkan parameter yang lain menghasilkan pengaruh berbeda tidak nyata. Perlakuan tanaman (M) menghasilkan pengaruh berbeda sangat nyata pada semua parameter pengamatan kecuali parameter berat segar daun, berat segar batang, kandungan sukrosa nira tebu dan nilai brix.

4.1.3 Tinggi tanaman

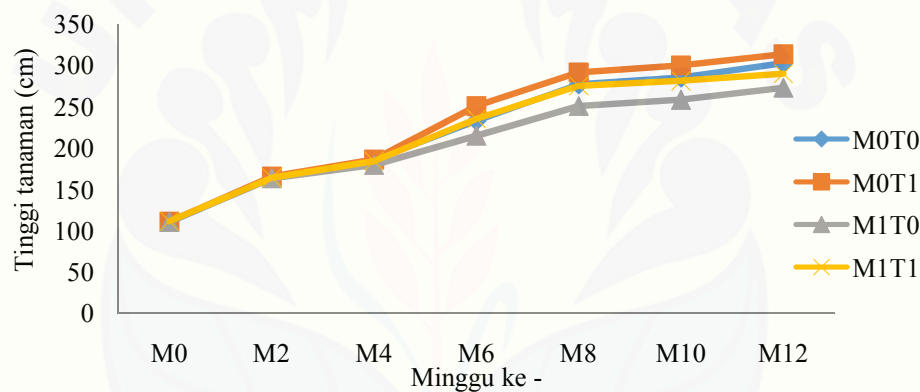
Tinggi tanaman merupakan parameter yang menjadi acuan terhadap pertumbuhan tanaman dan dapat dijadikan indikator ketahanan tanaman dalam kondisi genangan. Semakin tinggi tanaman dalam kondisi genangan, maka dapat disimpulkan memiliki ketahanan terhadap cekaman genangan. Hasil rata-rata tinggi tanaman dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Rata-rata tinggi tanaman pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.3, tinggi tanaman tebu menunjukkan hasil berbeda nyata pada perlakuan mutasi dan penggenangan. Hasil menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata antara tebu tanpa mutasi (M0) dan hasil mutasi (M1). Perlakuan tanaman tebu hasil mutasi (M1) menunjukkan rata – rata

hasil yang lebih rendah dengan nilai 281,365 cm dibandingkan tanaman tebu tanpa mutasi (M0) dengan nilai 308,1 cm. Perlakuan penggenangan baik pada mutan (M1) maupun non mutan (M0) menunjukkan bahwa penggenangan (T1) menghasilkan rata – rata pertumbuhan tinggi tanaman lebih tinggi dengan nilai 301,7 cm dibandingkan perlakuan tanpa penggenangan (T0) dengan nilai 287,7 cm. Tinggi tanaman dapat dijadikan sebagai acuan parameter pertumbuhan dalam merespon kondisi genangan berdasarkan lama waktu yang ditentukan untuk mengetahui masa kritis tanaman dalam menghadapi kondisi genangan. Pertumbuhan tinggi tanaman selama perlakuan penggenangan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



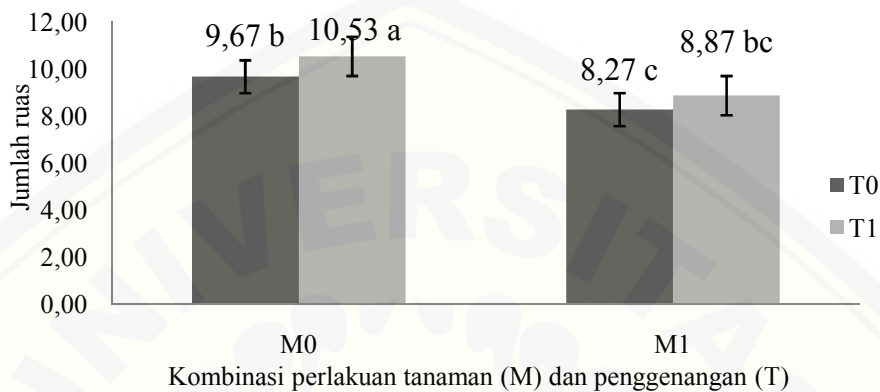
Gambar 4.4. Grafik pertumbuhan tinggi tanaman

Berdasarkan Gambar 4.4, perbedaan respon tinggi tanaman di setiap kombinasi perlakuan terjadi pada minggu ke – 6 setelah awal perlakuan. Perbedaan yang terjadi menunjukkan bahwa tinggi tanaman pada tanaman non mutan (M0) lebih tinggi dibandingkan tanaman mutan (M1). Kondisi penggenangan mengakibatkan tanaman tinggi menjadi lebih dibandingkan kondisi tanpa penggenangan, baik pada mutan maupun non mutan.

4.1.4 Jumlah ruas

Jumlah ruas merupakan parameter yang penting bagi pertumbuhan tanaman tebu, karena pada tanaman tebu yang menjadi hasil panen berasal dari batang. Jumlah ruas dapat juga dapat dijadikan indikator ketahanan dalam

menggambarkan karakteristik morfologi tanaman tebu dalam menghadapi cekaman genangan. Hasil penelitian pada beberapa kasus juga menunjukkan jumlah ruas berkorelasi positif dengan tinggi tanaman. Hasil rata-rata jumlah ruas dapat dilihat pada Gambar 4.5.

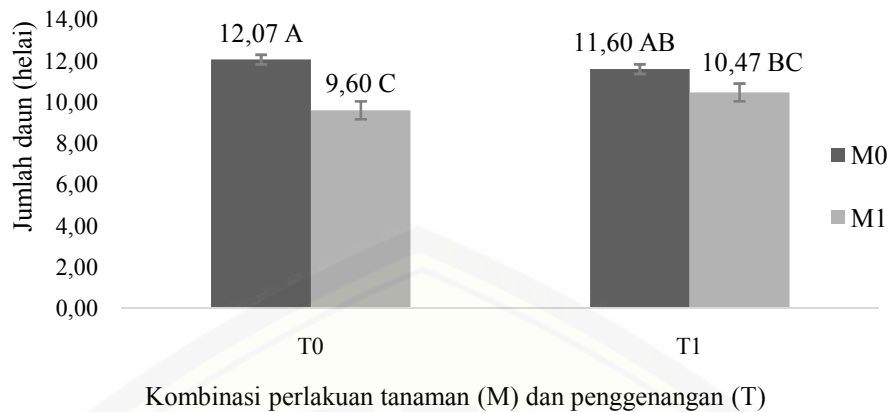


Gambar 4.5. Rata – rata jumlah ruas pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.5, jumlah ruas menunjukkan hasil berbeda nyata pada perlakuan mutasi dan penggenangan. Perlakuan tanaman tebu (M0) menunjukkan rata – rata hasil yang lebih tinggi dengan nilai 10,1 dibandingkan tanaman hasil mutasi (M1) dengan nilai 8,57, sedangkan perlakuan penggenangan baik pada mutan (M1) maupun non mutan (M0) menunjukkan bahwa perlakuan penggenangan (T1) menghasilkan rata – rata pertumbuhan jumlah ruas lebih tinggi dengan nilai 9,7 dibandingkan perlakuan tanpa penggenangan (T0) dengan nilai 8,97.

4.1.5 Jumlah daun

Jumlah daun merupakan salah satu parameter pengamatan yang akan berkaitan dengan jumlah fotosintat yang dihasilkan. Peningkatan jumlah daun akan mengakibatkan peningkatan aktivitas fotosintesis. Semakin banyak jumlah daun maka hasil fotosintesis fotosintat akan berpengaruh terhadap hasil panen tebu yaitu gula. Hasil rata-rata jumlah daun dapat dilihat pada Gambar 4.6.

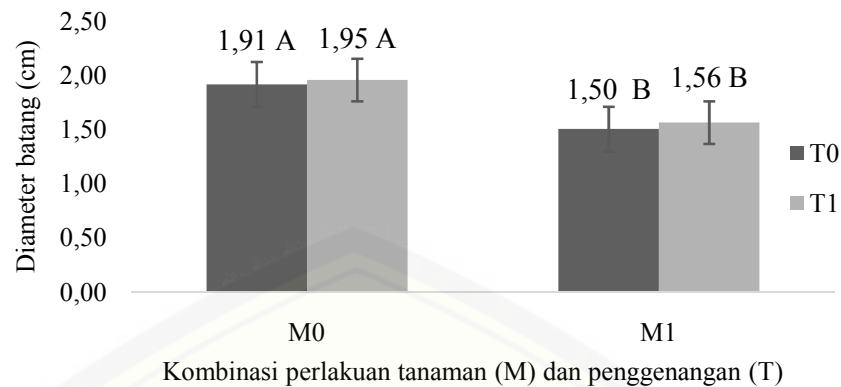


Gambar 4.6. Rata-rata jumlah daun pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.6, jumlah daun menunjukkan hasil berbeda nyata pada perlakuan tanaman. Tanaman tebu hasil mutasi (M1) menunjukkan rata-rata hasil yang lebih rendah dibandingkan tanaman tanpa mutasi (M0), sedangkan perlakuan penggenangan baik pada mutan (M1) maupun non mutan (M0) menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata. Rata – rata jumlah daun pada perlakuan tanaman tebu tanpa mutasi (M0) menunjukkan hasil lebih tinggi dengan nilai 11,83 dibandingkan dengan tanaman tebu hasil mutasi (M1) dengan nilai rata-rata jumlah daun 10,03.

4.1.6 Diameter batang

Diameter batang merupakan parameter pengamatan yang berkaitan dengan satuan berat batang yang sama. Diameter batang tanaman tebu yang menunjukkan hasil tertinggi dianggap akan diikuti dengan kuantitas nira dengan jumlah yang tinggi, sehingga gula yang akan dihasilkan dari proses giling diharapkan akan semakin tinggi jumlahnya. Data hasil rata-rata diameter batang dapat dilihat pada Gambar 4.7.

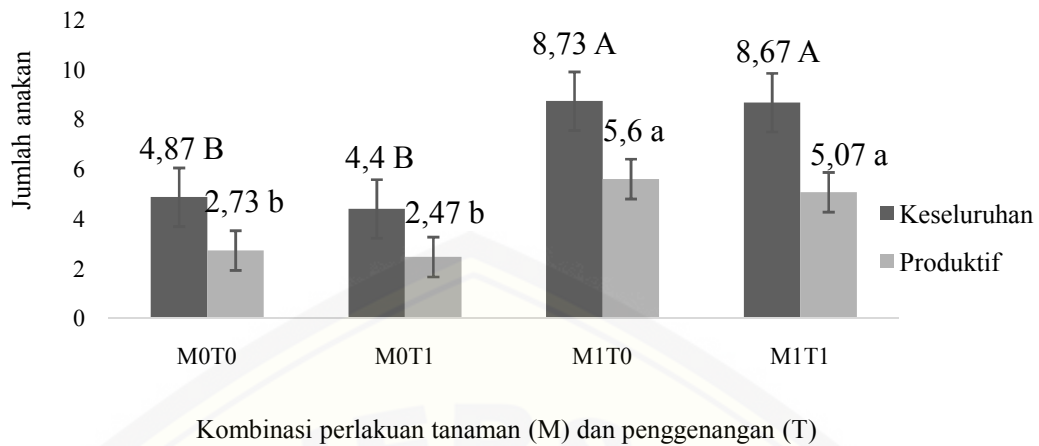


Gambar 4.7. Rata – rata diameter batang pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.7, diameter batang menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan tanaman tebu baik pada perlakuan penggenangan maupun tanpa penggenangan. Perlakuan tanaman tebu tanpa mutasi (M0) menunjukkan rata – rata nilai diameter batang lebih besar dengan nilai 1,93 cm dibandingkan tanaman tebu hasil mutasi (M1) dengan nilai 1,53 cm dalam setiap satu pot yang digunakan sebagai bahan percobaan setiap sampelnya.

4.1.7 Jumlah anakan

Jumlah anakan merupakan parameter yang digunakan untuk melihat besaran produksi tanaman tebu untuk satu tanaman. Jumlah anakan keseluruhan dapat dihitung berdasarkan jumlah semua anakan yang tumbuh dalam satu pot tanaman percobaan dari ukuran anakan yang kerdil (sogolan) sampai yang paling besar. Jumlah anakan produktif merupakan jumlah anakan yang mempunyai ukuran hampir setara dengan ukuran anakan yang paling besar. Parameter jumlah anakan yang digunakan sebagai acuan hasil penelitian ini adalah jumlah anakan produktif karena memiliki potensi lebih besar untuk dijadikan hasil produksi batang tebu dalam satuan pot tanaman. Khalid dan Hamida (2013) menambahkan bahwa anakan tebu yang dapat dijadikan produksi akan tumbuh dimulai sejak tanaman berumur 3 - 5 bulan, kemudian jumlah anakan yang tumbuh kerdil sampai minggu ke – 20 memiliki potensi untuk mati. Hasil rata – rata jumlah anakan keseluruhan dan jumlah anakan produktif dapat dilihat pada Gambar 4.8.

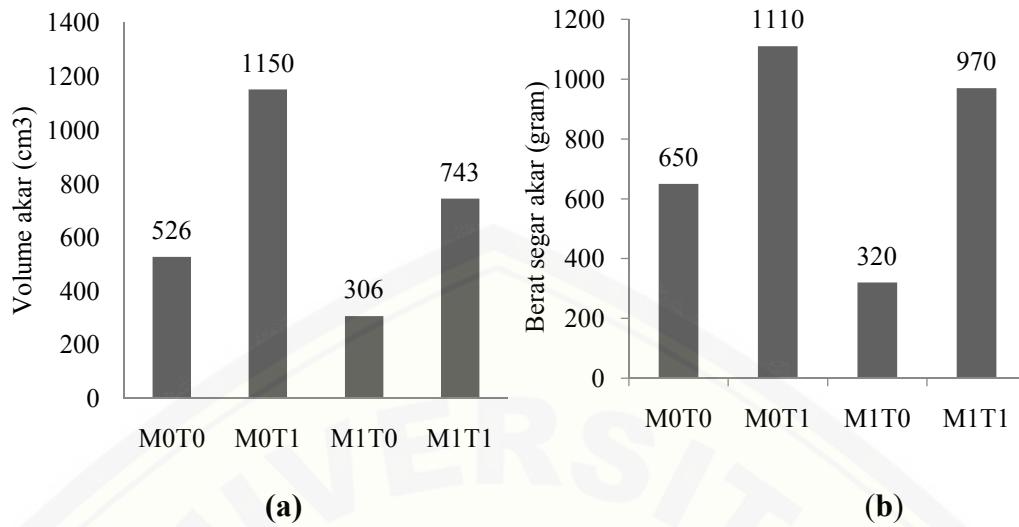


Gambar 4.8. Rata – rata jumlah anakan pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.8, jumlah anakan tanaman tebu pada perlakuan penggenangan dan tanpa penggenangan menghasilkan nilai berbeda nyata, baik pada jumlah anakan keseluruhan maupun anakan produktif. Perlakuan tanaman tebu hasil mutasi (M1) menunjukkan rata – rata jumlah anakan keseluruhan yang lebih tinggi dengan nilai 8,7 dibandingkan tanaman tanpa mutasi (M0) dengan nilai 4,63/pot. Parameter jumlah anakan produktif juga menunjukkan respon yang sama terhadap jumlah anakan secara keseluruhan namun dengan jumlah yang lebih rendah, perlakuan tanaman hasil mutasi (M1) menghasilkan rata – rata jumlah anakan produktif lebih tinggi dengan nilai 5,33 dibandingkan perlakuan tanaman tanpa mutasi (M0) dengan nilai 2,6.

4.1.8 Volume dan berat segar akar

Hasil volume akar dan berat segar akar dapat dijadikan acuan dalam melihat respon tanaman tebu pada kondisi genangan. grafik kecenderungan hasil volume akar dan berat segar tanaman tebu pada setiap kombinasi perlakuan. Perhitungan volume dan berat tidak menggunakan uji statistik kuantitatif karena hanya satu sampel yang diambil pada setiap kombinasi perlakuan. Hasil volume dan berat segar akar dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Hasil volume (a) dan berat akar pada setiap kombinasi perlakuan (b)

Berdasarkan Gambar 4.9, parameter pengamatan volume akar tanaman tebu menunjukkan hasil berbanding lurus dengan berat segar akar. Berat akar tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan non mutan dan penggenangan (M0T1) dengan masing – masing sebesar 1150 cm³ dan 1110 gram. Volume dan berat akar tanaman tebu terendah terdapat pada kombinasi perlakuan tanaman mutan dan tanpa penggenangan (M1T0) dengan masing – masing sebesar 306 cm³ dan 320 gram. Hasil penampakan akar tanaman setiap pot pada setiap kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.10.

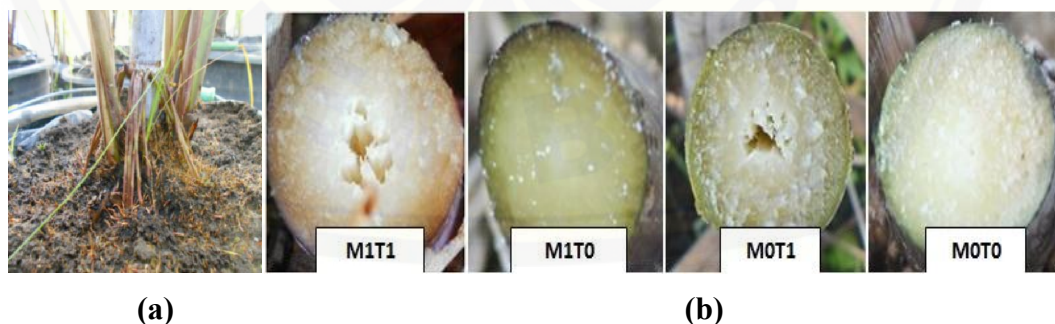


Gambar 4.10. Penampakan akar tanaman tebu pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.10, kondisi penggenangan baik pada tanaman mutan (M1) maupun non mutan (M0) menunjukkan penampakan akar dengan volume dan jumlah yang lebih besar dibandingkan tanaman pada kondisi tanpa penggenangan. Penambahan volume akar dan jumlah akar pada kondisi genangan yang lebih tinggi menunjukkan respon ketahanan tanaman tebu pada kondisi genangan baik pada mutan maupun non mutan.

4.1.9 Respon tanaman tebu menghadapi cekaman genangan

Kondisi genangan mengakibatkan tanaman mengalami cekaman sehingga pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Pertumbuhan tanaman yang tidak tahan (peka) akan berhenti apabila dilakukan pada perlakuan penggenangan, sedangkan tanaman yang tahan justru akan tumbuh lebih cepat dalam menghindari kondisi cekaman genangan dan dapat merespon dengan penampakan tertentu, biasanya terdapat pada tumbuhnya akar adventif dan munculnya aerenkhim baik pada batang maupun pada akar adventif. Beberapa kasus penelitian pada tanaman tebu pada kondisi genangan juga menunjukkan adanya respon terhadap munculnya akar adventif diatas permukaan tanah dan air (genangan) serta kemunculan aerenkhim pada batang tanaman tebu dan akar adventif. Respon tanaman tebu pada setiap kombinasi perlakuan dalam kondisi genangan dapat dilihat pada Gambar 4.11.

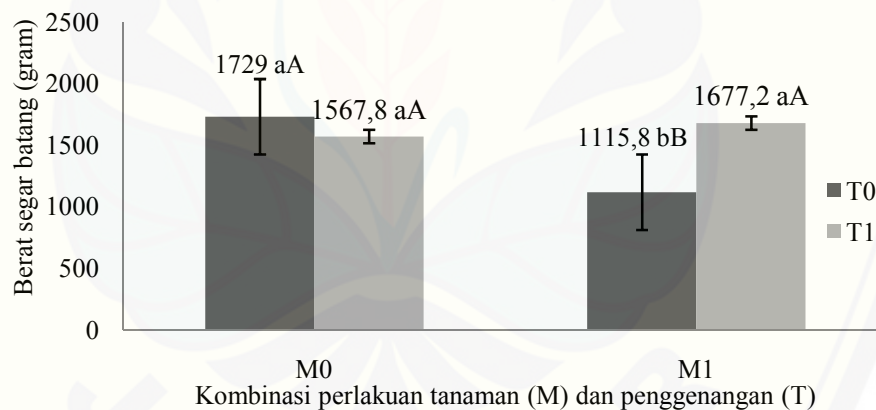


Gambar 4.11. Penampakan respon akar dalam kondisi penggenangan (a), penampakan kemunculan aerenkhim batang pada setiap kombinasi perlakuan (b).

Berdasarkan Gambar 4.11, terdapat kemunculan akar adventif pada permukaan media tanaman tebu terhadap di kondisi genangan dan terdapat kemunculan aerenkhim pada pada kondisi penggenangan sedangkan tanaman pada kondisi tanpa penggenangan tidak muncul. Hasil menunjukkan bahwa kemunculan aerenkhim terdapat pada tanaman yang mengalami kondisi penggenangan baik pada tanaman mutan maupun non mutan.

4.1.10 Berat segar batang

Batang merupakan bagian tanaman tebu yang berhubungan langsung dengan sistem produksi utama. Batang juga dapat digunakan sebagai acuan parameter pertumbuhan dan perkembangan tanaman, selain parameter tinggi tanaman, jumlah ruas dan diameter batang. Hasil rata-rata berat segar batang dapat dilihat pada Gambar 4.12.



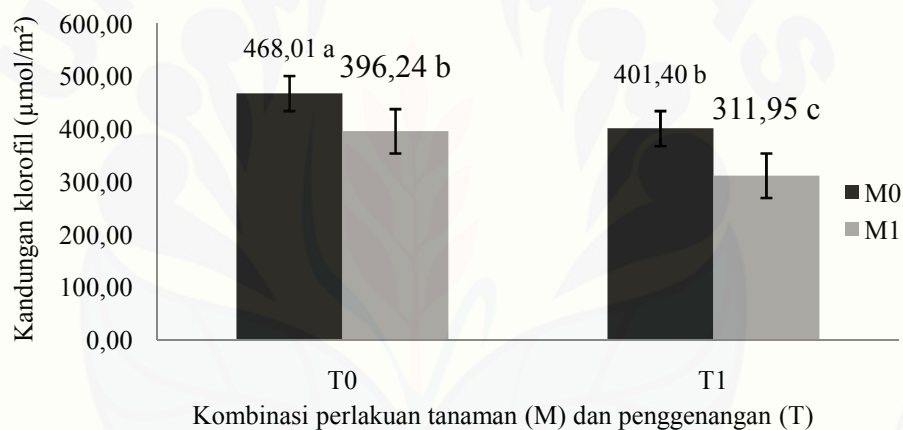
Gambar 4.12. Rata – rata berat segar batang pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.12, interaksi perlakuan tanaman dan penggenangan menghasilkan nilai berbeda nyata. Interaksi perlakuan tanaman hasil mutasi (M1) dengan perlakuan tanpa penggenangan (T0) menghasilkan rata-rata paling rendah diantara ketiga interaksi perlakuan yang lain. Perlakuan tanaman tanpa mutasi menunjukkan hasil berbeda tidak nyata pada perlakuan penggenangan dan tanpa penggenangan masing –masing dengan berat 1729 gram dan 1567,8 gram, sedangkan perlakuan tanaman hasil mutasi (M1) menunjukkan hasil berbeda nyata

pada perlakuan penggenangan. Berdasarkan hasil tersebut, tanaman mutan lebih sesuai pada kondisi genangan dibandingkan pada kondisi tanpa penggenangan.

4.1.11 Kandungan klorofil ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)

Klorofil atau yang biasa dikenal dengan zat hijau daun merupakan kandungan yang menyebabkan warna hijau pada tanaman. Klorofil ini akan menyerap energi dari matahari untuk berlangsungnya proses fotosintesis pada tumbuhan. Banyaknya kandungan klorofil tanaman akan berpengaruh terhadap hasil fotosintesis pada tanaman tebu. Hasil rata-rata kandungan klorofil pada setiap kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.13.



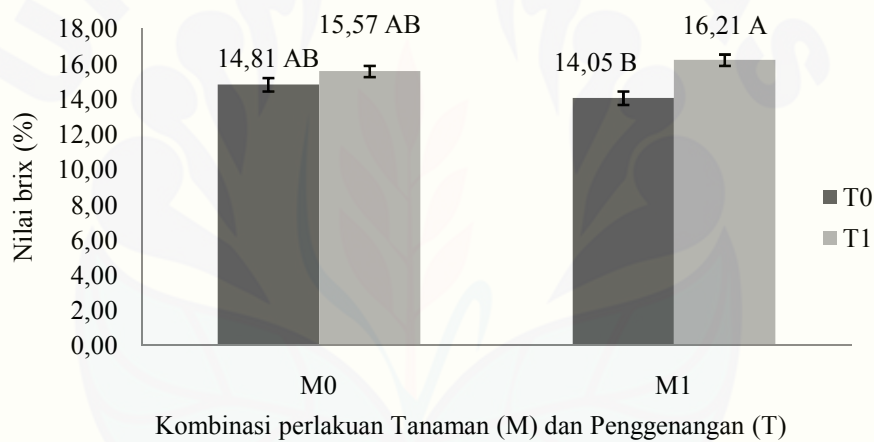
Gambar 4.13. Rata – rata kandungan klorofil pada setiap kombinasi perlakuan

Berdasarkan Gambar 4.13, rata-rata kandungan klorofil pada perlakuan tanaman mutan lebih tinggi dibandingkan tanaman non mutan dan menunjukkan rata-rata kandungan klorofil yang lebih tinggi pada kondisi tanpa penggenangan dibandingkan perlakuan penggenangan. Rata – rata nilai kandungan klorofil pada perlakuan tanaman tebu tanpa mutasi (M0) lebih tinggi dengan nilai $434,71 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ dibandingkan rata – rata hasil perlakuan tanaman tebu hasil mutasi dengan nilai $354,09 \mu\text{mol}/\text{m}^2$. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan nilai kandungan klorofil pada mutan tanaman tebu. Perlakuan penggenangan baik pada tebu hasil mutasi maupun tanpa mutasi menunjukkan bahwa rata – rata nilai

kandungan klorofil pada perlakuan tanpa penggenangan (T0) lebih tinggi dibandingkan rata – rata hasil perlakuan penggenangan.

4.1.12 Brix (%)

Brix merupakan jumlah zat padat (gram) dalam setiap 100 gram larutan, jadi apabila nira memiliki brix 16% berarti dalam dalam 100 gram nira, 16 gram merupakan zat padat terlarut dan 84 gram adalah air. Brix secara umum digunakan untuk menentukan kualitas nira tebu pada beberapa pabrik gula sehingga berpengaruh terhadap hasil gula pada batang tanaman tebu. Hasil rata-rata nilai brix pada setiap kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14. Rata – rata nilai brix pada setiap kombinasi perlakuan

Gambar 4.14 menunjukkan bahwa rata-rata kandungan brix tanaman tebu tanpa mutasi (M0) menunjukkan hasil berbeda tidak nyata pada kondisi penggenangan dan tanpa penggenangan. Tanaman tebu hasil mutasi (M1) menunjukkan hasil berbeda nyata pada kondisi penggenangan dan tanpa penggenangan. Hasil rata – rata nilai brix mutan tebu hasil mutasi pada kondisi genangan lebih tinggi (16,21%) dibandingkan tanpa penggenangan (14,05%).

4.2 Pembahasan

Tanaman tebu merupakan tanaman yang tidak termasuk kedalam spesies tanaman yang toleran terhadap penggenangan. Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman tebu yang mampu tumbuh dengan baik pada kondisi genangan tanpa menurunkan produksi tanaman tebu. Penelitian menggunakan perlakuan genangan yang dilakukan selama 3 bulan terhitung sejak tanaman berumur 3 bulan. Menurut Begum *et. al.*, (2013), fase perkecambahan dan pembibitan sekitar umur 1 – 5 bulan merupakan fase kritis tanaman tebu terhadap genangan. Pengamatan karakter morfologi dan molekuler dilakukan untuk mengetahui respon genangan yang terjadi pada tanaman tebu PS865 dan tebu PS865 hasil mutasi. Secara umum mutasi menggunakan bahan kimia EMS mengakibatkan mutasi titik dan hanya sedikit kerusakan yang ditimbulkan pada kromosom (Greene *et al.* 2003), dengan demikian penggunaan EMS pada pemuliaan tanaman sangat menguntungkan karena dapat mengubah lokus tertentu tanpa menginduksi sejumlah besar mutasi yang terpaut dekat dengan lokus tersebut.

Data marka molekuler berfungsi dalam menetapkan tingkat perbedaan dan kemiripan antar setiap genotipe, dalam hal ini dijadikan sebagai tolak ukur perubahan genotipe akibat adanya mutasi kimia sehingga semakin tinggi kekerabatan bisa diartikan sebagai pengaruh mutasi yang semakin rendah. Pita DNA hasil amplifikasi RAPD diasumsikan sebagai satu lokus. Polimorfisme pita yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 35,1% (14 pita) dari 37 total pita DNA yang diperoleh. Persentase pita polimorfisme yang diperoleh lebih sedikit dibandingkan hasil penelitian Zhang *et al.*, (2008) pada tanaman tebu hybrid di China yang menghasilkan 100% pita polimorfisme pada 5 primer yang digunakan pada penelitian genotipe hybrid tebu yaitu OPC -19, OPN – 11, OPE -02, OPA – 19 dan OPF – 04. Banyaknya pita polimorfisme yang terjadi pada penelitian ini diakibatkan adanya pengaruh mutasi kimia yang terjadi sehingga mengubah struktur basa dari sebelumnya. Talebi *et. al.*, (2012) menambahkan bahwa mutagen kimia EMS menyebabkan Guanin diubah menjadi Timin bukan Sianin, sehingga mengakibatkan transisi yang terjadi G / C ke - A / T. Hasil analisis

perubahan genotipe menunjukkan bahwa perubahan genotipe mutan tebu dibandingkan non mutan tebu menghasilkan perubahan berkisar 26,5%-35,1%. Perubahan genotipe mutan pada setiap kombinasi perlakuan menghasilkan hasil yang rendah (<50%) yang berarti bahwa pengaruh mutasi pada setiap kombinasi perlakuan rendah.

Hasil analisis dendrogram berdasarkan data RAPD membentuk dendrogram dengan koefisien kemiripan berkisar 0,649 - 1 atau terdapat kemiripan 64,9% -100% (Gambar 4.2). Dendrogram yang dibentuk berdasarkan kemiripan genetik digambarkan dalam dua kluster utama. Genotipe MIT0 dengan MIT1 mempunyai kemiripan genetik yang tinggi sebesar 87,5% atau mempunyai jarak genetik yang relatif rendah (0,125) sehingga memiliki kluster yang sama dengan MIT1. Pembuatan kluster filogenetik dapat dilakukan dengan cara menghitung kesamaan hasil perhitungan berdasarkan koefisien kemiripan masing-masing sampel atau genotipe. Dendrogram berdasarkan skema filogenetik yang dibangun sesuai dengan hasil perhitungan yang kemudian ditarik garis hubung untuk melihat hubungan kekerabatan masing-masing genotipe (Tasma *et al.*, 2011).

Berdasarkan Gambar 4.3, hasil rata – rata tinggi tanaman perlakuan hasil mutasi yang lebih rendah dibandingkan perlakuan tanpa mutasi kemungkinan disebabkan adanya penghambatan pertumbuhan akibat peran dari perlakuan mutasi sebagai mutagen yang menyebabkan perubahan struktur DNA dan menunjukkan pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Keragaman sifat morfologi dan visualisasi tanaman seperti penurunan dan peningkatan sifat secara kuantitatif kemungkinan diakibatkan oleh mutasi titik secara acak akibat aksi mutagen. Chopra (2005) menyatakan bahwa mutasi titik melalui transisi DNA menyebabkan perubahan pasangan basa nukleotida yang berakibat pada pengaktifan protein hasil aksi mutagen dan menurunkan aktifitas protein. Parameter tinggi tanaman pada perlakuan penggenangan juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Gambar 4.3). Varietas tebu yang mempertahankan tinggi tanaman dan panjang ruas pada kondisi tergenang akan memiliki hasil yang lebih baik (Gomathi *et al.*, 2014).

Perlakuan penggenangan (T1) menghasilkan rata – rata tinggi tanaman lebih tinggi dibandingkan perlakuan tanpa penggenangan (T0). Adanya respon tanaman terhadap cekaman genangan yang diberikan (*escape*) menyebabkan tanaman tebu menghasilkan tinggi tanaman yang lebih tinggi. Hasil tersebut didukung oleh penelitian Tetsuhi dan Karim (2007) yang menunjukkan bahwa tinggi tanaman tebu pada perlakuan genangan lebih tinggi dibandingkan pada tanaman tebu tanpa perlakuan genangan. Vriezen *et al.* (2003) menambahkan bahwa peningkatan tinggi tanaman pada kondisi cekaman disebabkan mekanisme toleransi terhadap penggenangan pada tanaman tahan. Elongasi terjadi di daerah akar sehingga tanaman merespon kondisi genangan dengan mempercepat masa vegetatif pada batang. Kondisi hipoksia (kekurangan oksigen di daerah perakaran) mengakibatkan tanaman merespon kondisi tersebut dengan pembentukan akar adventif untuk menyuplai oksigen dan nutrisi lingkungan. Tinggi tanaman dapat digunakan sebagai parameter untuk mengetahui pengaruh kondisi lingkungan yang tercekam (Gomathi *et al.*, 2014). Berdasarkan Gambar 4.4, perbedaan respon tinggi tanaman pada setiap kombinasi perlakuan terjadi pada minggu ke – 6 setelah perlakuan penggenangan.

Pertumbuhan jumlah ruas pada tanaman tebu akan berbanding lurus dengan pertumbuhan tinggi tanaman (Gambar 4.5). Hasil tersebut tidak berbeda dengan penelitian Ningtias (2015) dimana tanaman tebu yang menunjukkan tinggi tanaman tertinggi akan diikuti dengan pertumbuhan jumlah ruas yang semakin banyak, sehingga berdasarkan hal tersebut maka jumlah ruas tanaman tebu akan berkorelasi positif dengan tinggi tanaman tebu. Jumlah ruas dan tinggi tanaman tebu sangat berhubungan langsung dengan indikator pertumbuhan tanaman tebu sehingga faktor – faktor yang berpengaruh terhadap tinggi tanaman tebu kemungkinan juga akan berdampak pada respon ruas tanaman tebu.

Hasil rata-rata jumlah daun pada perlakuan tanaman tebu tanpa mutasi menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman tebu hasil mutasi (Gambar 4.6). Banyaknya jumlah daun pada tanaman tebu tanpa mutasi (M0) diikuti dengan tingginya jumlah ruas dan tinggi tanaman dibandingkan dengan tanaman tebu hasil mutasi (M1). Jumlah daun yang lebih banyak pada perlakuan

penggenangan berbanding lurus dengan peningkatan tinggi tanaman. Jumlah daun yang semakin banyak mengakibatkan peningkatan hasil fotosintesis yang semakin tinggi sehingga sistem metabolisme tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman juga semakin meningkat. Tanaman tebu tanpa mutasi menunjukkan rata – rata nilai diameter batang lebih besar dibandingkan tanaman tebu hasil mutasi (Gambar 4.7). Hasil tersebut juga didukung dengan penelitian Pratiwi *et al.* (2013) dan Hakim and Laras (2014) yang menyebutkan terjadi penurunan nilai diameter batang pada tanaman hasil mutasi dan menunjukkan penurunan pada sebagian besar pengamatan kuantitatif yang diamati. Parameter jumlah anakan hasil mutasi pada tanaman tebu menunjukkan respon yang berbeda dibandingkan parameter morfologi lainnya. Perlakuan tanaman mutan menunjukkan rata – rata jumlah anakan produktif lebih tinggi dibandingkan perlakuan tanaman non mutan (Gambar 4.8). Hasil tersebut juga didukung penelitian Ningtias (2015) tentang mutasi tanaman tebu hasil mutasi EMS yang menyebutkan bahwa tanaman tebu hasil mutas EMS pada varietas Bululawang menghasilkan pengaruh terhadap penambahan jumlah anakan tanaman tebu.

Berdasarkan hasil pengukuran volume akar dan berat segar akar (Gambar 4.9), perlakuan penggenangan mengakibatkan respon tanaman yang lebih banyak dibandingkan perlakuan tanpa penggenangan dan secara keseluruhan perlakuan mutasi menghasilkan berat dan volume lebih rendah dibandingkan tanaman tanpa mutasi. Pengamatan volume akar dan berat pada perlakuan tanaman baik pada kondisi genangan maupun tidak digenangi menunjukkan bahwa perlakuan mutasi memberikan hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman tebu tanpa mutasi.

Penambahan volume dan berat akar kemungkinan diakibatkan adanya pembentukan akar adventif bentuk respon tanaman terhadap kondisi genangan dibandingkan dengan kondisi tanpa penggenangan. Kekurangan oksigen pada kondisi genangan memungkinkan terjadinya respon akar tanaman dalam proses mencari oksigen sehingga terjadi pemanjangan dan penambahan volume akar. Begum *et. al.*, (2013) juga menambahkan bahwa akar-akar adventif yang memiliki porositas tinggi akan membantu tanaman dalam melanjutkan serapan air dan

mineral serta oksigen dalam kondisi tergenang, untuk menggantikan fungsi sistem akar utama sebagai bentuk respon menghadapi cekaman genangan. Widyasari *et al.*, (2011) menambahkan bahwa tanaman toleran akan semakin tahan terhadap cekaman genangan apabila membentuk banyak jaringan aerenkim pada akar adventif. Akar adventif merupakan akar yang tumbuh tidak pada tempatnya dan dapat muncul dari daun, batang, batang dibawah tanah dan keluar dari akar primer atau sebagai akar aerial (Haissig, 1973). Tanaman tebu yang tidak toleran terhadap kondisi hipoksia akan menunjukkan penurunan panjang dan volume akar dibandingkan kondisi normal karena tidak tersedianya oksigen sehingga cenderung pada kondisi tanah yang dangkal dan masih tersedia oksigen meskipun dalam jumlah sedikit. Tanaman tebu memiliki sistem perakaran yaitu akar serabut dengan panjang dapat mencapai hingga 1 meter (Andaka, 2011).

Tanaman tebu pada perlakuan penggenangan baik mutan maupun non mutan menunjukkan kemunculan aerenkim pada batang (Gambar 11). Aerenkim batang terbentuk pada tanaman sebagai respon tanaman terhadap kondisi perubahan lingkungan untuk menyediakan pasokan oksigen terhadap sistem perakaran pada saat kondisi genangan. Secara umum, tanaman akan membentuk aerenkim dalam mengadaptasi kondisi genangan (Tetsushi and Karim, 2007). Sistem perakaran pada tanaman toleran genangan akan merespon lebih baik karena adanya pembentukan aerenkim untuk memperlancar pergerakan oksigen (Zhou *et al.* 2007; Colmer, 2003). Proses penggilingan hasil nira tebu pada hasil panen tebu kondisi genangan sebaiknya dilakukan lebih cepat atau minimal satu hari. Pembentukan aerenkim pada batang memiliki potensi dalam aktivitas inversi saat pasca panen oleh bakteri apabila batang tebu hasil keprasan dibiarkan dalam beberapa hari. *Leuconostoc mesenteroides* merupakan bakteri heterofermentatif yang memfermentasi larutan gula yang dapat mendegradasi sukrosa dengan sangat cepat selama 6 jam sekitar 27%-59% pada suhu 25 °C - 40 °C (Untara, 2011). Kondisi tersebut memberikan peluang penelitian lanjutan untuk peningkatan produksi gula pada tanaman yang toleran genangan.

Berdasarkan Gambar 4.12, tanaman tebu hasil mutasi menghasilkan berat lebih tinggi pada perlakuan tanaman penggenangan dibandingkan tanpa

penggenangan dan berbeda tidak nyata dengan tanaman non mutan baik pada kondisi genangan maupun tanpa penggenangan. Hasil ini menunjukkan bahwa tanaman mutan lebih sesuai pada kondisi penggenangan dibandingkan pada kondisi tanpa penggenangan. Peningkatan pembelahan sel menghasilkan jumlah sel yang lebih banyak pada tanaman mutan mengakibatkan pemanjangan sel sebagai respon toleransi tanaman tahan menghadapi cekaman genangan. Soedradjad dan Avivi (2005) menyatakan bahwa jumlah sel yang meningkat memungkinkan terjadinya peningkatan fotosintesis penghasil karbohidrat yang dapat mempengaruhi bobot tanaman.

Perlakuan penggenangan baik pada tebu hasil mutasi maupun tanpa mutasi menunjukkan bahwa rata – rata nilai kandungan klorofil pada perlakuan tanpa penggenangan (T0) lebih tinggi dibandingkan rata – rata hasil perlakuan penggenangan (Gambar 4.13). Harsanti *et al.* (2015) menambahkan bahwa tanaman yang mendapat perlakuan penggenangan memiliki nilai klorofil lebih rendah dibandingkan tanaman tanpa digenangi, namun penurunan kandungan klorofil pada varietas tahan lebih rendah dibandingkan tanaman peka. Gomathi *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa penurunan redoks tanah (tergenang) mengakibatkan menurunnya ketersediaan N, P, K dalam tanah dan penurunan kandungan N di dalam tanah berakibat pada penurunan kandungan klorofil pada daun.

Berdasarkan hasil rata – rata setiap perlakuan penggenangan menunjukkan rata – rata nilai brix pada kondisi genangan lebih tinggi dibandingkan pada kondisi tanpa penggenangan pada tanaman tebu hasil mutasi (Gambar 4.12). Hasil ini sesuai dengan penelitian Begum *et al.*, (2013) dimana nilai brix kondisi genangan menghasilkan persentase lebih tinggi dibandingkan pada kondisi tanpa penggenangan. Tingginya persentase brix pada kondisi genangan diikuti pertumbuhan jumlah ruas dan tinggi tanaman yang lebih cepat. Tetsushi dan Karim (2007) menyebutkan bahwa tanaman tebu tahan genangan mampu menghasilkan sukrosa, glukosa dan fruktosa yang lebih tinggi meskipun tidak menjelaskan keterkaitannya dengan kondisi genangan dan persentase pengaruhnya terhadap kandungan brix. Adi (2014) menyatakan bahwa komposisi nira terdiri

dari air dan zat padat terlarut (brix), dimana zat padat terlarut (brix) terdiri dari gula (sukrosa, fruktosa, glukosa) dan bukan gula. Komponen nira tebu terdiri dari sukrosa, air, gula reduksi (fruktosa dan glukosa), zat organik bukan sukrosa dan gula reduksi, dan zat bukan organik. Komponen zat padat terlarut dalam nira tebu terdiri dari gula (sukrosa, fruktosa, glukosa), garam, asam organik, protein, pati, zat lilin, dan zat warna. Sukrosa merupakan komponen terbesar pada zat yang terlarut dalam nira sekitar 70-88% (Marches, 1980).

Peningkatan brix pada kondisi genangan kemungkinan diakibatkan peningkatan padatan terlarut dalam nira tebu berupa sukrosa, glukosa dan fruktosa. Dari hasil penelitian ini, kandungan sukrosa nira tebu pada batang tanaman mutan tebu yang digenangi menghasilkan persentase lebih baik dibandingkan kondisi tanpa penggenangan sehingga tanaman mutan tebu memiliki potensi berproduksi tinggi dalam kondisi genangan. Peningkatan rata-rata persentase brix pada kondisi genangan berbanding lurus dengan kemunculan akar adventif yang mengakibatkan penambahan volume akar. Akar adventif membantu dalam penyerapan oksigen, air dan nutrisi tanaman selama penggenangan, kemudian mengakibatkan perubahan morfologi pada tanaman (Sauter, 2015). Pada kondisi genangan terjadi penurunan kandungan klorofil, namun fotosintesis dan transpirasi pada tanaman toleran yang tergenang tidak berubah karena kontribusi akar adventif untuk kelangsungan hidup tanaman terutama dalam hal penyimpanan energi untuk metabolisme tanaman, sehingga penyimpanan fotosintat untuk penyimpanan dan pelepasan energi tersedia dalam jumlah yang lebih besar (Gravatt and Kirby, 1998).

Hasil rangkuman rata-rata karakter dari empat kombinasi perlakuan terhadap pengaruh faktor tanaman mutan dan non mutan baik pada kondisi genangan dan tidak digenangi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Rangkuman hasil rata-rata pengaruh faktor perlakuan tanaman

	M0		M1	
	T0	T1	T0	T1
Tinggi tanaman (cm)	302,67±4,7 ab	313,53±2,12 a	272,8 ±3,47 c	289,9±4,34bc
Jumlah ruas	9,6 ±0,29 b	10,5±0,36 a	8,27±0,18 c	8,87±0,26c
Jumlah daun (helai)	12,07±0,25 a	11,6±0,34 ab	9,6±0,3 c	10,47±0,24bc
Jumlah seluruh anakan	4,87±0,37 b	4,40±0,36 b	8,73±0,52 a	8,67±0,63a
Jumlah anakan produktif	2,73±0,3 b	2,47±0,24 b	5,60±0,29 a	5,07±0,38a
Diameter batang (cm)	1,91±0,03 a	1,95±0,04 a	1,50±0,03 b	1,56±0,05b
Klorofil (µmol/m ²)	468,014±9,9 a	401,40±9,1 b	396,24±11,3b	311,95±5,3c
Berat segar daun (gram)	1309±247,95 a	735±112,61 b	718,8±85,18b	763,8±72,68b
Berat segar batang (gram)	1729±150,83aA	1567,8±170,01aA	1115,8±163,36bB	1677,2±109,6aA
Brix (%)	14,81 ± 0,33 ab	15,57 ± 0,4 ab	14,05 ± 0,64 b	16,21 ± 0,71 a
Sukrosa nira tebu(%)	9,63 ± 1,69 a	8,51 ± 1,72a	8,71 ± 0,54 a	10,82 ± 0,98 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap kolom menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 4.4, mutan tebu menghasilkan rata – rata nilai yang lebih rendah pada pengamatan tinggi tanaman, jumlah ruas, jumlah daun, kandungan klorofil dan diameter batang dibandingkan dengan tanaman non mutan, kecuali pada parameter jumlah anakan keseluruhan dan produktif. Ningtyas (2015) menyatakan di dalam penelitiannya bahwa mutan tebu Bululawang hasil mutasi menggunakan senyawa kimia mengakibatkan penambahan jumlah anakan tetapi tidak diikuti dengan peningkatan karakter morfologi yang lain. Pratiwi *et. al.* (2013) dan Hakim and Laras (2014) juga menyebutkan bahwa tanaman mutan yang berasal dari perlakuan senyawa kimia menunjukkan penurunan kuantitatif pada sebagian besar pengamatan morfologi yang diamati. Hasil rangkuman rata-rata karakter tanaman tebu pada kondisi penggeangan dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Rangkuman hasil rata-rata pengaruh faktor perlakuan penggenangan

	T0	T1
Tinggi tanaman (cm)	287,74 ± 3,99 b	301,73 ± 3,23 a
Jumlah ruas	8,97 ± 0,21 b	9,7 ± 0,27 a
Jumlah daun (helai)	10,03 ± 0,31 a	11,83 ± 0,23 a
Jumlah seluruh anakan	6,8 ± 0,48 a	6,535 ± 0,53 a
Jumlah anakan produktif	4,165 ± 0,34 a	3,77 ± 0,33 a
Diameter batang (cm)	1,705 ± 0,24 a	1,755 ± 0,26 a
Klorofil (µmol/ m ²)	432,126 ± 9,94 a	356,677 ± 9,79 b
Berat segar daun (gram)	1013,9 ± 157,95 a	749,4 ± 63,11 a
Berat segar batang (gram)	1422,4 ± 146,39 a	1622,5 ± 97,09 a
Brix (%)	14,43 ± 0,36 b	15,89 ± 0,39 a
Sukrosa nira tebu (%)	9,17 ± 0,85 a	9,66 ± 1,01 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap kolom menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji t 5%.

Berdasarkan Tabel 4.5, perlakuan penggenangan memberikan hasil lebih tinggi pada parameter tinggi tanaman, jumlah ruas, kandungan klorofil dan persentase brix. Tinggi tanaman dan jumlah ruas memiliki korelasi positif dan menghasilkan nilai yang lebih tinggi pada perlakuan penggenangan dibandingkan perlakuan tanpa penggenangan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan kondisi penggenangan memacu *elongasi* batang sebagai salah satu respon ketahanan dengan cara penghindaran (*escape strategy*) dalam upaya mencukupi kebutuhan oksigen untuk mendukung respirasi aerob. Persentase brix pada kondisi genangan juga mengalami peningkatan dibandingkan pada kondisi tanpa digenangi baik pada mutan maupun non mutan, hal tersebut kemungkinan berkaitan dengan peningkatan ketahanan tanaman dengan pertumbuhan dan perkembangan yang lebih cepat. Tanaman mutan tebu menunjukkan persentase brix lebih tinggi dibandingkan tanaman non mutan, namun kondisi penggenangan juga berpengaruh dalam penurunan kandungan klorofil baik mutan maupun non mutan.

Berdasarkan hasil pengamatan, karakteristik tanaman mutan yang diuji pada kondisi genangan menunjukkan sifat ketahanan tanaman yang ditandai dengan karakter tinggi tanaman (cm), jumlah ruas, berat batang (g), volume akar (cm³), berat segar akar (g), dan nilai brix (%) yang lebih baik dibandingkan kondisi yang tidak digenangi, sedangkan karakteristik tanaman non mutan menunjukkan sifat ketahanan yang ditandai dengan karakter tinggi tanaman dan

jumlah ruas. Kondisi genangan mengakibatkan munculnya aerenkhim batang dan akar adventif pada tanaman mutan dan non mutan. Mickelbart *et. al.* (2015) menyatakan bahwa tanaman toleran pada kondisi genangan menunjukkan karakter ketahanan dengan ditandai pertumbuhan lebih cepat sebagai mekanisme toleransi dan menunjukkan kemunculan aerenkhim, sedangkan pada tanaman yang tidak toleran mengakibatkan pertumbuhan berhenti atau pertumbuhannya tidak lebih baik dibandingkan pada kondisi tanpa penggenangan. Hasil serupa juga telah diperoleh Gomathi and Chandra, 2012; Gomathi, *et. al.*, 2014; Widyasari *et. al.*, 2011; Tetsushi and Karim, 2007 bahwa karakter tanaman tebu toleran dalam menghadapi cekaman genangan ditandai dengan peningkatan tinggi tanaman, diameter batang, jumlah anakan, kandungan klorofil, dan nilai brix serta kemunculan aerenkhim.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan tujuan dan hasil penelitian yang diperoleh, maka kesimpulan yang dapat dibuat adalah sebagai berikut :

1. Perubahan genotipe mutan tebu dari non mutan berdasarkan metode PCR - RAPD berkisar antara 26,5% hingga 35,1% yang menghasilkan rata – rata pita polimorfik sebesar 35,1% dari 37 pita DNA yang muncul pada lima primer RAPD dan membuktikan bahwa mutasi terjadi pada tingkat DNA.
2. Karakteristik tanaman mutan yang diuji pada kondisi genangan menunjukkan respon kemunculan aerenkhim batang dan akar adventif serta menunjukkan sifat ketahanan tanaman secara nyata yang ditandai dengan karakter tinggi tanaman, jumlah ruas, berat segar batang (g), volume akar (cm^3), berat segar akar (g), dan nilai brix (%) yang lebih baik dibandingkan kondisi yang tidak digenangi.
3. Hasil rata-rata mutan tebu menunjukkan hasil lebih baik pada kondisi penggenangan dibandingkan kondisi tanpa penggenangan.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang seleksi mutan tebu toleran genangan generasi ke dua dan menganalisis perubahan genotipe dari generasi F1 ke generasi F2 berdasarkan penanda PCR – RAPD.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, S.T..2014. Analisa Optimasi Rendemen Tebu. *Buletin PTPN 12*, hal 10.
- Andaka, G. 2011. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Furfural dengan Katalisator Asam Sulfat. *Jurnal Teknologi*, 4(2): 180-188.
- Ardiana, D. W.. 2009. Teknik Isolasi DNA Genom Tanaman Pepaya dan Jeruk dengan Menggunakan Modifikasi Bufer CTAB. *Teknik Pertanian*, 14(1): 12-16.
- Arif, P.A., S. Avivi, S. Hartatik, K. Hariyono. 2015. Seleksi Toleransi Planlet Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi Kimia Terhadap Genangan. *Berkala Ilmiah Pertanian*, x, ix:xx.
- Arsana, I.G.K.D., S. Yahya, A.P. Lontoh, H. pane. 2003. Hubungan Antara Penggenangan Dini dan Potensi Redoks, Produksi Etilen dan Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi (*Oryza sativa*) Sistem Tabela. *Buletin Agronomi*, 31(2): 37 – 41.
- Asadi. 2013. Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan terhadap Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *AgroBiogen*, 9(3): 135 – 142.
- Azrai M. 2005. Pemanfaatan marka molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *AgroBiogen*, 1(1):26-37.
- Begum, M.K., M.A.S. Miah, M.S. Islam, M.A. Hossain and M.R.Alam. 2008. Studies on morphological Characters for Selectiong Flood Stress Tolerant Clones. *Pakistan Sugar Journal XXIII* (1) : 2 – 9.
- Begum, M. K., M. R. Alam and M. S. Islam. 2013. Adaptive Mechanism of Sugarcane Genotypes Under Flood Stress Condition. *worl. J. Agric. Sci*, 1(2): 56 – 64.
- Black, C.W., N.M. DeTeau, G.J. Puterka, J.R. Nechols, J.M. Pettorini, Use of the Random Amplified Polymerase DNA Polymerase Chain Reaction (RAPD PCR) to Detect DNA Polymorphisms in Aphids (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 82: 151 – 159.
- Botha, E.C., B.J.B. Sawyer, and R.G. Birch. 2001. Sucrose Metabolism in The Culm of Transgenic Sugarcane with Reduced Soluble Acid Invertase Activity. *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol*, 24 : 588-591.
- Chopra, V.L. 2005. Mutagenesis : Investigating The Process and Processing The Outcame for Crop Improvement. *Curr Sci*, 89 : 353 – 359.

- Direktorat Jenderal Perkebunan Kementrian Pertanian. 2013. Peningkatan Produksi, Produktivitas dan Mutu Tanaman Semusim. Ditjen Pertanian, Jakarta.
- Gaul, H. 1997. Mutagen Effects in the First Generation After Seed Treatment, Cytological Effects in Manual On Mutation Breeding. *IAEA*, 91 – 95.
- Gilbert, R.A., Curtis R.R, Dolen R.M, and Andrew C. Bennett. Morphological Responses of sugarcane to Long-term Flooding. *Journal Agronomy* 99 : 1622 – 1628.
- Gomathi, R., and K. Chandra. 2012. Physiological Markers for Screening Waterlogging Resitance in Sugarcane. *Sugar Tech*.
- Gomathi, R., P. N. G. Rao, K. Chandran, and A. Selvi. 2014. Adaptive Responses of Sugarcane to Waterlogging Stress : An Overview. *Sugar Tech*.
- Gravatt, D.A. and Kirby. 1998. Patterns of Photosynthesis and Starch Allocation in Seedling of Four Bottom Land Harwood Tree Species Subjected to Flooding. *Tree Physiology*, 18: 411 – 417.
- Green, E.A. Codomo, C.A. Taylor, N.E. Henikoff, J.G. Tiil, B.J, Reynolds, S.H. Enns, L.C. Burtner, C. Johson, J.E. Odden, A.R. Cornai, and S. Henikoff. 2003. Spectrum of Chemically Induced Mutations from A Large Scale Reverse Genetics Screen in Arabidopsis. *Genetics*, 164 : 731 – 740.
- Haissig, B. E.. 1973. Origins of Adventitious Roots. *North Central Forest Experiment Station*, 4(2) : 299 – 310.
- Hakim, M. 2010. Potensi Sumber Daya Lahan Tanaman Tebu di Indonesia. *Jurnal Agrikultura*, 21(1): 5 – 12.
- Hakim, R. dan E. Laras. 2014. Keragaman Morfologi Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) KR 11 Mutan EMS (Ethyl Methane sulfonate) berdasarkan Panduan Karakterisasi Kenaf. *Biotropika*, 2(1) : 8 – 13.
- Hapsari, R.T. dan M. M. Adie. 2010. Peluang Perakitan dan Pengembangan Kedelai Toleran Genangan. *Jurnal Litbang Pertanian* 29(2): 50 – 57.
- Harsanti, R. S. 2015. Uji Toleransi Beberapa Varietas Tebu Pada Berbagai Tingkat Penggenangan. *Tesis Progam Studi Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember*.
- Islam, M.S., M.A.S. Miah, M.K. Begum, M.R. Alam and M. S. Arefin. 2011. Growth, Yield and Juice Quality of Some Selected Sugarcane Clones

- Under, Water Logging Stress Condition. *World Journal of Agricultural Sciences* 7(4) : 504 – 509.
- Jackson, M. B., K. I. and O. Ito. 2009. Evolution and Mechanisms of Plant Tolerance to Flooding Stress. *Annals of Botany*, 103 : 137 – 142.
- Kawano, N., Ito, O., & Sakagami, J. 2009. Morphological and physiological responses of rice seedlings to complete submergence (flash flooding). *Annals of Botany*. 103: 161-169.
- Kumutha, D., R. K. Sairam., K. Ezhilmathi., V. Chinnusamy, R. C. Meena. 2008. Effect of Waterlogging on carbohydrate metabolism in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.): Upregulation of sucrose synthase and alcohol dehydrogenase. *Plant Science*, 175 (706-716).
- Lestari, E.G. 2012. Combination Of Somaclonal Variation And Mutagenesis For Crop Improvement. *AgroBiogen*, 8(1):38-44.
- Marches, J.. 1980. Clarification of Cane Juices by Means The Sulphitation Process. *Bibliography*, p. 653 – 654.
- Markwell, J., J.C. Osterman, J.R. Mitchell. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46: 467-472.
- Mickelbart, M.V., P.M. Hasegawa, J.B. Serres. 2015. Genetic mechanism of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nature Reviews Genetics*, 10(1038) : 1 – 15.
- Mulyono, D. 2009. Evaluasi Kesesuaian Lahan Dan Arah Pemupukan N, P, Dan K Dalam Budidaya Tebu Untuk Pengembangan Daerah Kabupaten Tulungagung. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 11(1): 47 – 53,
- Norsamsi, S. Fatonah, D. Iriani. 2015. The Growth Ability of Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) Seedling to Various of Flooding Levels. *Biospecies*, 8(1): 20-28.
- Ningtias, F. 2015. Analisis Pertumbuhan dan Kandungan Karbohidrat Tanaman Tebu Hasil Mutasi dengan *Ethyle Methane Sulphonate* (EMS). *Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Jember*.
- Prana, K.D., N.S. Hartati. 2003. Identifikasi sidik jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Skrining primer dan optimalisasi kondisi PCR. *Natur Indonesia*, 5(2): 107-112.

- Pratiwi, N.M.D, M. Pharmawati, I.A. Astarini. Pengaruh *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) Terhadap Pertumbuhan dan Variasi Tanaman Marigold (*Tagetes* sp.). *Agrotrop*, 3(1) : 23 – 28.
- Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. 2012. Deskripsi Varietas Tebu. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan.
- Soedradjad, R. dan S. Avivi. 2005. Efek Aplikasi *Synechococcus* sp. pada Daun dan Pupuk NPK terhadap Parameter Agronomis Kedelai. *Buletin Agronomi*, 33(2): 17 – 23.
- Sairam, R.K., D. Kumutha, and K. Ezhilmathi. 2009. Waterlogging tolerance: nonsymbiotic haemoglobin-nitric oxide homeostatis and antioxidants. *Curr. Sci.* 96(5): 674–682.
- Sarkar, R. K., J. N. Reddy, S. G. Sharma and A. M. Ismail. 2006. Physiological basis of Submergence tolerance in rice and implications for crop improvement. *Current Science*, 91 (7): 899 – 906.
- Sauter, M. 2013. Root Response to Flooding. *Current Opinion in Plant Biology*, 16 : 282-286.
- Susantidiana, A. Wijaya, B. Lakitan, dan M. Surahman. 2009. Identifikasi Beberapa Aksesori Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Melalui Analisis RAPD dan Morfologi. *Agron. Indonesia*, 37(2): 167-173.
- Susila W.R dan B.M. Sinaga. 2005. Analisis Kebijakan Gula Indonesia. *Agro Ekonomi*, 23(1): 30-53.
- Susilawati, R.A. Suwignyo, Munandar, M. Hasmeda. 2012. Karakter Agronomi dan Fisiologi Varietas Cabai Merah pada Kondisi Cekaman Genangan. *Agronomi Indonesia*, 40(3): 196 – 203.
- Sri Hartatik, N., H. Fitriani, Supatmi, E. Sudarmonowati. 2012. Karakter Umbi Dan Nutrisi Tujuh Genotip Ubi Kayu (*Manihot esculenta*). *Agricola*, 2(2): 101 – 110.
- Talebi, A.B., A.B. Telebi, B. Shahrokhifar. 2012. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *Plant Sciences*, 3 : 1661- 1665.
- Tasma, I.M., D. Setyawan, A. Warsun, M. Yunus, B. Santosa. 2011. Phylogenetic and Maturity Analyses of Sixty Soybean Genotypes Used for DNA Marker Development of Early Maturity Quantitative Trait Loci in Soybean. *AgroBiogen*, 7(1): 37-46.

- Tetsushi, H. and M. A. karim. 2007. Flooding Tolerance of Sugarcane in Realtion to Growth, Physiology and Root Structure. *South Pacific Studies*, 28 (1): 9 – 12.
- Untara, B. 2011. Pengaruh Carboxyl Benzene dan Monounsaturated Fatty Acid terhadap Jumlah Mikroorganisme dan Aktivitas Enzim Invertase Selama Penyimpanan Tebu Pasca Panen (Kajian Lama Penundaan Dan Konsentrasi Buffer Sucrose). SKRIPSI. Universitas Brawijaya. Malang.
- Van Toai, T.T., S.K. St. Martin, K. Chase, G. Boru, V. Schnipke, A.F. Schmitthenner, and K.G. Lark. 2001. Identification of a QTL associated with tolerance of soybean to soil. waterlogging. *Crop Sci.* 41: 1247–1252.
- Vriezen, W. H., Z. Zhou and D.V.D. Straeten. 2003. Regulation of Submergence-induced Enhanced Shoot Elongation in *Oryza sativa* L. *Annals of Botany.* 91: 263-270.
- Wibowo, W. A. 2015. Pengertian Derajat POL dan BRIX dalam Analisis Gula (online). <https://multimeter-digital.com>. (diakses tanggal 10 Desember 2015).
- Widyasari, W. B., Damanhuri, dan H. Budhisantosa. 2011. Respon 13 Klon Tebu introduksi Asal Australia terhadap Cekaman Genangan. *MPG* 47 (1) : 10 – 27.
- Yukamgo, E dan N. W. Yuwono 2007. Peran Silikon sebagai Unsur Bermanfaat pada Tanaman Tebu. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan* 7 (2) : 103 – 106.
- Yasminingsih, N.A. 2009. Analisis Keragaman Genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta*.
- Zhang, H. Y., F.S. Li, I. L. He, H.Q. Zhong, Q. H. Yang, and S.C. He.. 2008. Identification of Sugarcane Interspecies Hybrids with RAPDs. *Biotechnology*, 7(8): 1072 – 1074.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Agroteknologi*, 3(2) : 41 – 52.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambaran penelitian



Penampakan penelitian di Lahan



Pengambilan data berat pada batang dan daun



Pengambilan sampel akar dan pengukuran volume akar



Pengambilan data Klorofil menggunakan Chlorophyllmeter



Pengambilan data diameter menggunakan jangka sorong da data tinggi tanaman menggunakan meteran



Lampiran 2. Tabel analisis deskriptif terhadap sifat morfologi klon ps865 dan mutan PS865

No	Parameter morfologi	Deskripsi Tanaman	
		PS865 (M0)	Mutan PS865 (M1)
1.	Batang		
	a. Bentuk ruas	Silinder, penampang bulat	Silinder, penampang bulat
	b. Warna Batang	Hijau kuning keunguan	Coklat kemerahan
	c. Lapisan lilin	Ada, kuat di sepanjang ruas	Sedang
	d. Retakan batang	Tidak ada	Tidak ada
	e. Cincin tumbuh	melingkar menyinggung pucuk mata	melingkar menyinggung pucuk mata
	f. Warna cincin tumbuh	Kekuningan	Kemerahan
2.	Daun		
	a. Warna daun	Hijau	Hijau kekuningan
	b. Ukuran lebar daun	Sedang (4 - 6 cm)	kecil (<4 cm)
	c. Lengkung daun	Tegak	Tegak
	d. Bulu punggung	Ada	Ada
	e. Telinga daun	Tidak ada	Tidak ada
3.	Mata		
	a. Letak mata	Bekas pangkal pelepah daun	Bekas pangkal pelepah daun

Lampiran 3. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter tinggi tanaman

	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	1	292	326	250	309	1177	294,25
	2	305	318	281	300	1204	301
	3	267	292	272	314	1145	286,25
2	1	324	310	281	274	1189	297,25
	2	328	309	262	318	1217	304,25
	3	312	313	287	294	1206	301,5
3	1	276	327	273	267	1143	285,75
	2	298	316	280	270	1164	291
	3	280	316	290	304	1190	297,5
4	1	295	312	275	282	1164	291
	2	315	310	245	276	1146	286,5
	3	323	313	260	283	1179	294,75
5	1	300	311	278	301	1190	297,5
	2	312	320	288	274	1194	298,5
	3	313	310	270	283	1176	294
jumlah		4540	4703	4092	4349	17684	4421

294,733

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	864	936	803	923	3526	881,5
2	964	932	830	886	3612	903
3	854	959	843	841	3497	874,25
4	933	935	780	841	3489	872,25
5	925	941	836	858	3560	890
jumlah	4540	4703	4092	4349	17684	884,2

Mutan	genangan		jumlah
	T0	T1	
M0	4540	4703	9243
M1	4092	4349	8441
jumlah	8632	9052	17684

FK = 5212064,27

SUMBER VARIASI	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	13807,33	4602,44444	12,98048	3,24	5,29	**
M	1	10720,7	10720,0667	30,23428	4,49	8,53	**
T	1	2940	2940	8,291812	4,49	8,53	*
M x T	1	147,67	147,266667	0,415343	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	5673,667	354,566667	2,216965	1,9	2,48	*
galat sampling	40	6397,333	159,933333				
Total	59	25877,7	438,60565				

cv = 6,38880594

Perlakuan	Rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m0t1	313,33						a	A
m0t0	302,67	14,586	20,079	3	4,13	2	ab	Ab
m1t1	289,9	15,349	21,149	3,15	4,34	3	ac	Bc
m1t0	272,8	15,738	21,62	3,23	4,45	4	c	C
m0t1	0							
m0t0	10,8667	0						
m1t1	23,6	12,333	0					
m1t0	40,733	29,867	17,133	0				
5%	15,73	15,3	14,585					
1%	21,635	21,1	20,079					

Lampiran 4. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah ruas

ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	1	8	11	8	10	37	9,25
	2	9	12	9	11	41	10,25
	3	8	8	7	8	31	7,75
2	1	11	8	9	8	36	9
	2	10	11	8	10	39	9,75
	3	11	11	9	10	41	10,25
3	1	9	11	8	8	36	9
	2	11	12	9	8	40	10
	3	9	10	9	9	37	9,25
4	1	9	11	8	9	37	9,25
	2	11	8	8	9	36	9
	3	9	11	7	8	35	8,75
5	1	9	11	8	9	37	9,25
	2	10	12	8	8	38	9,5
	3	11	11	9	8	39	9,75
jumlah		145	158	124	133	560	140
					rerata	9,33333	#DIV/0!

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T0	jumlah	Rerata
1	25	31	24	29	109	27,25
2	32	30	26	28	116	29
3	29	33	26	25	113	28,25
4	29	30	23	26	108	27
5	30	34	25	25	114	28,5
jumlah	145	158	124	133	560	28

FK = 5226,67

SUMBER VARIASI	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	43,6	14,53	11,78	3,24	5,29	**
M	1	35,266	35,26	28,59	4,49	8,53	**
T	1	8,066	8,06	6,54	4,49	8,53	*
M x T	1	0,2666	0,2666	0,216	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	19,7333	1,233	1,07	1,9	2,48	Ns
galat sampling	40	46	1,15				
Total	59	109,3333333	1,85				

cv = 11,898808

Mutan	genangan		jumlah
	T0	T1	
M0	145	158	303
M1	124	133	257
jumlah	269	291	560

perlakuan	rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m0t1	10,53						a	A
m0t0	9,66	0,86	1,18	3	4,13	2	b	Ab
m1t1	8,86	0,90	1,24447	3,15	4,34	3	bc	Bc
m1t0	8,26	0,92	1,276	3,23	4,45	4	c	C
m0t1	0							
m0t0	0,86	0						
m1t1	1,66	0,8	0					
m1t0	2,26	1,4	0,6	0				
5%	0,92	0,90	0,863					
1%	1,27	1,24	1,18					

Lampiran 5. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter jumlah daun

Ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	1	11	11	11	12	45	11,25
	2	11	12	11	11	45	11,25
	3	10	9	10	12	41	10,25
2	1	13	11	11	9	44	11
	2	12	11	11	11	45	11,25
	3	13	11	9	10	43	10,75
3	1	12	12	8	10	42	10,5
	2	12	13	10	10	47	11,25
	3	13	10	11	10	44	11
4	1	12	13	9	11	45	11,25
	2	13	10	7	10	40	10
	3	12	12	9	9	42	10,5
5	1	11	13	8	11	43	10,75
	2	13	13	10	11	47	11,75
	3	13	13	9	10	45	11,25
jumlah		181	174	144	157	656	164
					Rerata	10,9333	#DIV/0!

FK = 7172,27

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	rerata
1	32	32	32	35	131	32,75
2	38	33	31	30	132	33
3	37	35	29	30	131	32,75
4	37	35	25	30	127	31,75
5	37	39	27	32	135	33,75
jumlah	181	174	144	157	656	32,8

SUMBER VARIASI	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	55,866	18,62	8,63	3,24	5,29	**
M	1	48,6	48,6	22,5	4,49	8,53	**
T	1	0,6	0,6	0,277	4,49	8,53	Ns
M x T	1	6,666	6,666	3,08	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	34,533	2,15	2,3	1,9	2,48	**
galat sampling	40	37,33	0,933				
Total	59	127,733	2,16497175				

cv = 13,4371347

perlakuan	rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m0t0	12,07						a	a
m0t1	11,60	1,13	1,56	3	4,13	2	ab	a
m1t1	10,47	1,198	1,6463	3,15	4,34	3	bc	ab
m1t0	9,60	1,23	1,688	3,23	4,45	4	c	b
m0t0	0							
m0t1	0,47	0						
m1t1	1,60	1,13	0					
m1t0	2,47	2,00	0,87	0				
5%	1,23	1,19	1,14					
1%	1,69	1,65	1,57					

Lampiran 6. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada diameter batang

ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	1	1,8	2,1	1,6	1,5	7	1,75
	2	1,8	2	1,5	1,5	6,8	1,7
	3	2	2,2	1,6	1,8	7,6	1,9
2	1	2	1,7	1,5	1,3	6,5	1,625
	2	2	1,8	1,4	1,6	6,8	1,7
	3	1,9	1,9	1,5	1,5	6,8	1,7
3	1	2,1	2,1	1,5	1,4	7,1	1,775
	2	1,9	2,1	1,5	1,4	6,9	1,725
	3	1,7	2	1,7	1,6	7	1,75
4	1	1,8	2,1	1,5	1,7	7,1	1,775
	2	1,9	1,8	1,3	1,6	6,6	1,65
	3	2	1,8	1,5	1,3	6,6	1,65
5	1	2	1,9	1,3	1,9	7,1	1,775
	2	2	1,9	1,7	1,5	7,1	1,775
	3	1,8	1,9	1,4	1,8	6,9	1,725
jumlah		28,7	29,3	22,5	23,4	103,9	25,975
					rerata	1,73167	#DIV/0!
					FK =	179,92	

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T0	jumlah	rerata
1	5,6	6,3	4,7	4,8	21,4	5,35
2	5,9	5,4	4,4	4,4	20,1	5,025
3	5,7	6,2	4,7	4,4	21	5,25
4	5,7	5,7	4,3	4,6	20,3	5,075
5	5,8	5,7	4,4	5,2	21,1	5,275
jumlah	28,7	29,3	22,5	23,4	103,9	5,195

Mutan	genangan		jumlah
	T0	T1	
M0	28,7	29,3	58
M1	22,5	23,4	45,9
jumlah	51,2	52,7	103,9

SUMBER VARIASI	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	2,4791666	0,82638889	32,7283	3,24	5,29	**
M	1	2,440166667	2,44016667	96,6403	4,49	8,53	**
T	1	0,0375	0,0375	1,48515	4,49	8,53	Ns
M x T	1	0,0015	0,0015	0,05941	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	0,404	0,02525	1,38991	1,9	2,48	Ns
galat sampling	40	0,726666667	0,01816667				
Total	59	3,609833333	0,06118362				

cv = 9,17627445

perlakuan	Rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m0t1	1,95						A	A
m0t0	1,91	0,12	0,169	3	4,13	2	A	A
m1t1	1,56	0,129	0,178	3,15	4,34	3	B	B
m1t0	1,50	0,132	0,183	3,23	4,45	4	B	B

m0t1	0,00			
m0t0	0,04	0,00		
m1t1	0,39	0,35	0,00	
m1t0	0,45	0,41	0,06	0,00
5%	0,13	0,13	0,12	
1%	0,18	0,18	0,17	

Lampiran 7. Hasil pengolahan data pada jumlah anakan keseluruhan

ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T0	jumlah	Rerata
1	1	7	4	9	6	26	6,5
	2	4	3	8	5	20	5
	3	3	3	11	6	23	5,75
2	1	4	7	6	12	29	7,25
	2	4	5	9	9	27	6,75
	3	5	4	6	10	25	6,25
3	1	3	5	10	9	27	6,75
	2	6	3	6	10	25	6,25
	3	4	3	12	6	25	6,25
4	1	6	3	7	13	29	7,25
	2	8	7	7	9	31	7,75
	3	5	5	11	11	32	8
5	1	4	4	9	8	25	6,25
	2	5	6	9	10	30	7,5
	3	5	4	11	6	26	6,5
jumlah		73	66	131	130	400	100
						rerata	6,66667 #DIV/0!

FK = 2666,67

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	14	10	28	17	69	17,25
2	13	16	21	31	81	20,25
3	13	11	28	25	77	19,25
4	19	15	25	33	92	23
5	14	14	29	24	81	20,25
jumlah	73	66	131	130	400	20

genangan

Mutan	T0	T1	jumlah
M0	73	66	139
M1	131	130	261
jumlah	204	196	400

SUMBER VARIASI	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	249,7333333	83,2444444	15,6818	3,24	5,29	**
M	1	248,0666667	248,0666667	46,7316	4,49	8,53	**
T	1	1,066666667	1,066666667	0,20094	4,49	8,53	Ns
M x T	1	0,6	0,6	0,11303	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	84,93333333	5,30833333	1,91867	1,9	2,48	**
galat sampling	40	110,6666667	2,76666667				
Total	59	445,3333333	7,5480226				
cv =			34,5597309				

perlakuan	Rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m1t0	8,7333						a	A
m1t1	8,6667	1,78466	2,456877569	3	4,13	2	a	A
m0t0	4,8667	1,87389	2,581803547	3,15	4,34	3	b	B
m0t1	4,4	1,92148	2,647240964	3,23	4,45	4	b	B
m1t0	0							
m1t1	0,0667	0						
m0t0	3,8667	3,8	0					
m0t1	4,3333	4,26667	0,466666667	0				
5%	1,9215	1,87389	1,78465683					
1%	2,6472	2,5818	2,456877569					

Lampiran 8. Hasil pengolahan data pada jumlah anakan produktif

ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T0	jumlah	Rerata
1	1	2,74	2,12	3,08	2,55	10,49	2,6225
	2	2,12	1,87	2,92	2,35	9,26	2,315
	3	1,87	1,87	3,39	2,55	9,68	2,42
2	1	2,12	2,74	2,55	3,54	10,95	2,7375
	2	2,12	2,35	3,08	3,08	10,63	2,6575
	3	2,35	2,12	2,55	3,24	10,26	2,565
3	1	1,87	2,35	3,24	3,08	10,54	2,635
	2	2,55	1,87	2,55	3,24	10,21	2,5525
	3	2,12	1,87	3,54	2,55	10,08	2,52
4	1	2,55	1,87	2,74	3,67	10,83	2,7075
	2	2,92	2,74	2,74	3,08	11,48	2,87
	3	2,35	2,35	3,39	3,39	11,48	2,87
5	1	2,12	2,12	3,08	2,92	10,24	2,56
	2	2,35	2,55	3,08	3,24	11,22	2,805
	3	2,35	2,12	3,39	2,55	10,41	2,6025
jumlah		34,5	32,91	45,32	45,03	157,76	39,44
		FK =	414,804		Rerata	2,62933	414,804

ulangan	M0T0	M0T1	M1T0	M1T0	jumlah	Rerata
1	6,73	5,86	9,39	7,45	29,43	7,3575
2	6,59	7,21	8,18	9,86	31,84	7,96
3	6,54	6,09	9,33	8,87	30,83	7,7075
4	7,82	6,96	8,87	10,14	33,79	8,4475
5	6,82	6,79	9,55	8,71	31,87	7,9675
jumlah	34,5	32,91	45,32	45,03	157,76	7,888

genangan

Mutan	T0	T1	jumlah
M0	34,5	32,91	67,41
M1	45,32	45,03	90,35
jumlah	79,82	77,94	157,76

SUMBER VARIASI	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	8,8578	2,9526	17,2286	3,24	5,29	**
M	1	8,770726667	8,77072667	51,1778	4,49	8,53	**
T	1	0,058906667	0,05890667	0,34372	4,49	8,53	Ns
M x T	1	0,028166667	0,02816667	0,16435	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	2,74204	0,1713775	1,83177	1,9	2,48	Ns
galat sampling	40	3,742333333	0,09355833				
Total	59	15,34217333	0,26003684				

Perlakuan	rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
M1T0	3,02133						a	A
M1T1	3,002	0,32067	0,44145	3	4,13	2	a	A
M0T0	2,3	0,3367	0,4639	3,15	4,34	3	b	B
M0T1	2,194	0,34525	0,47565	3,23	4,45	4	b	B
M1T0	0							
M1T1	0,01933	0						
M0T0	0,72133	0,702	0					
M0T1	0,82733	0,808	0,106	0				

cv = 15,7445863

Lampiran 9. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter klorofil

ulangan	sub sampling	M0T0	M0T1	M1T0	M1T1	jumlah	Rerata
1	1	445,75811	418,8516	436,688	340,335	1641,63	410,408
	2	381,01888	397,9773	484,969	324,737	1588,7	397,175
	3	424,16023	456,7765	442,118	345,089	1668,14	417,036
2	1	498,44406	361,1875	394,554	280,21	1534,4	383,599
	2	462,34083	335,6156	314,045	315,561	1427,56	356,891
	3	456,77645	394,554	318,604	314,045	1483,98	370,995
3	1	425,93783	424,1602	384,379	348,278	1582,76	395,689
	2	471,69695	396,2636	392,848	309,519	1570,33	392,582
	3	483,06041	433,0885	410,084	309,519	1635,75	408,938
4	1	471,69695	415,3326	420,617	305,027	1612,67	403,169
	2	494,57316	346,6818	379,345	302,052	1522,65	380,663
	3	506,23602	387,7548	411,83	312,532	1618,35	404,588
5	1	492,64397	451,2489	394,554	290,299	1628,75	407,186
	2	536,05539	418,8516	366,093	293,215	1614,21	403,554
	3	469,81749	382,697	392,848	288,847	1534,21	383,552
jumlah		7020,2167	6021,041	5943,58	4679,27	23664,1	5916,02
		FK =	9333160		rerata	394,402	9333160

ulangan	MOT0	MOT1	MIT0	MIT0	jumlah	Rerata
1	1250,94	1273,605	1363,774883	1010,1615	4898,48	1224,62
2	1417,56	1091,357	1027,203126	909,816092	4445,94	1111,48
3	1380,7	1253,512	1187,311304	967,316404	4788,84	1197,21
4	1472,51	1149,769	1211,791426	919,611735	4753,68	1188,42
5	1498,52	1252,797	1153,494836	872,360016	4777,17	1194,29
jumlah	7020,22	6021,041	5943,575577	4679,26575	23664,1	1183,2

genangan			
Mutan	T0	T1	jumlah
M0	7020,216744	6021,0414	13041,25816
M1	5943,575577	4679,2657	10622,84133
jumlah	12963,79232	10700,307	23664,09949

SUMBER VARIASI	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	notasi
Perlakuan	3	184040,0222	61346,6741	22,1268	3,24	5,29	**
M	1	97478,99964	97478,9996	35,1592	4,49	8,53	**
T	1	85389,41755	85389,4175	30,7986	4,49	8,53	**
M x T	1	1171,605033	1171,60503	0,42258	4,49	8,53	Ns
galat percobaan	16	44360,09205	2772,50575	4,21826	1,9	2,48	**
galat sampling	40	26290,53101	657,263275				
Total	59	254690,6453	4316,7906				

$$cv = 13,3504989$$

Perlakuan	Rerata	ujd 5%	ujd 1%	ssr 5%	ssr 1%	jarak p	notasi 5%	notasi 1%
m0t0	468,0144						a	a
m0t1	401,4028	40,7861	56,1488	3	4,13	2	b	b
m1t0	396,2384	42,8254	59,0038	3,15	4,34	3	b	bc
m1t1	311,951	43,913	60,4993	3,23	4,45	4	c	c

m0t0	0			
m0t1	66,61169	0		
m1t0	71,77608	5,16439	0	
m1t1	156,0634	89,4517	84,2873	0
5%	43,913	42,8254	40,7861	
1%	60,49934	59,0038	56,1488	

Lampiran 10. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter nilai brix

	1	2	3	4	5	Total	Rata
M0T0	13,77	15,43	14,87	15,57	14,43	74,07	14,814
M0T1	15,4	15,03	16,97	14,8	15,67	77,87	15,574
M1T0	11,6	14,63	14	14,87	15,17	70,27	14,054
M1T1	13,97	15,43	16,87	16,63	18,17	81,07	16,214
Total	54,74	60,52	62,71	61,87	63,44	303,28	15,164

2 arah	T0	T1	total
M0	74,07	77,87	151,94
M1	70,27	81,07	151,34
Total	144,34	158,94	303,28

perlakuan	Rerata	UJD 5%	UJD 1%	SSR 5%	SSr 1%	jarak	notasi 5%	notasi1 %
M1T1	16,214						a	A
M0T1	15,574	1,62328	2,23471	3	4,13	2	ab	A
M0T0	14,814	1,70444	2,34834	3,15	4,34	3	ab	A
M1T0	14,054	1,74773	2,40786	3,23	4,45	4	b	A

Lampiran 11. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada berat segar batang

	1	2	3	4	5	total	Rata
M0T0	1958	1939	1330	2024	1394	8645	1729
M0T1	2136	1441	1088	1523	1651	7839	1567,8
M1T0	988	649	1102	1181	1659	5579	1115,8
M1T1	1376	1511	1990	1833	1676	8386	1677,2
Total	6458	5540	5510	6561	6380	30449	1522,45

SK	db	JK	KT	Fhit	5%	1%	
perlakuan	3	1170157	390052	3,45319	3,24	5,29	*
M	1	317268	317268	2,80882	4,49	8,53	Ns
T	1	200200	200200	1,7724	4,49	8,53	Ns
M x T	1	652688	652688	5,77835	4,49	8,53	*
Error	16	1807264	112954				
Total	19	2977421					
		cv	0,22075				

Perlakuan	rerata	UJD 5%	UJD 1%	SSR 5%	SSr 1%	jarak	notasi 5%	notasi1%
M0T0	1729						a	A
M1T1	1677,2	450,907	620,749	3	4,13	2	a	A
M0T1	1567,8	473,452	652,312	3,15	4,34	3	a	A
M1T0	1115,8	485,477	668,846	3,23	4,45	4	b	A

2 arah	T0	T1	total	Rata - rata M x T	T0	T1	UJD M	selisih M
M0	8645	7839	16484	M0	1729	1567,8	450,907	161,2
M1	5579	8386	13965	M1	1115,8	1677,2		561,4
total	14224	16225	30449	UJD T	450,9071357			
				selisih T	613,2	109,4		
				huruf kecil = M	aA	aA		
				huruf besar = T	bB	aA		

Lampiran 12. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada parameter berat segar daun

	1	2	3	4	5	total	Rata
M0T0	1502	1798	670	1809	766	6545	1309
M0T1	1149	761	627	483	655	3675	735
M1T0	591	512	798	693	1000	3594	718,8
M1T1	770	569	679	800	1001	3819	763,8
Total	4012	3640	2774	3785	3422	17633	881,65
			Fk	15546134			
SK	Db	JK	KT	Fhit	5%	1%	
Perlakuan	3	1222715	407572	3,767181	3,24	5,29	*
M	1	393962	393962	3,641391	4,49	8,53	Ns
T	1	349801	349801	3,233209	4,49	8,53	Ns
M x T	1	478951	478951	4,426942	4,49	8,53	Ns
Error	16	1731042	108190				
Total	19	2953757					
		Cv	37,3076				

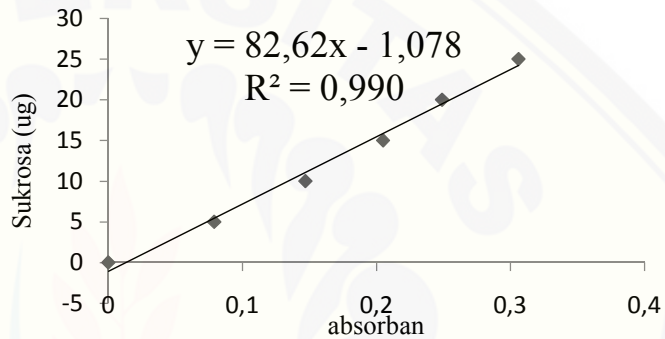
Perlakuan	rerata	UJD 5%	UJD 1%	SSR 5%	SSr 1%	jarak	notasi 5%	notasi1%
M0T0	1309						a	A
M1T1	763,8	441,296	607,518	3	4,13	2	a	A
M0T1	735	463,361	638,408	3,15	4,34	3	a	A
M1T0	718,8	475,129	654,589	3,23	4,45	4	a	A

2 arah	T0	T1	Total	Rata - rata M x T	T0	T1	UJD M	selisih M
M0	6545	3675	10220	M0	1309	735	441,296	574
M1	3594	3819	7413	M1	718,8	763,8		45
Total	10139	7494	17633	UJD T	441,2960231			
				selisih T	590,2	28,8		
				huruf kecil = M	aA	bA		
				huruf besar = T	aB	aA		

Lampiran 13. Hasil pengamatan dan pengolahan data pada kandungan sukrosa

Standart sukrosa

Abs	standart (ug)
0	0
0,079	5
0,147	10
0,205	15
0,249	20
0,306	25



	1	2	3	4	5	total	rata
M0T0	9,395	14,475	12,256	6,382	5,633	48,141	9,6282
M0T1	4,813	6,083	10,242	7,018	14,394	42,55	8,51
M1T0	8,019	10,762	8,77	8,114	7,859	43,524	8,7048
M1T1	11,674	10,203	9,654	8,419	14,114	54,064	10,8128
Total	33,901	41,523	40,922	29,933	42	188,279	9,41395
			Fk	1772			
SK	db	JK	KT	Fhit	5%	1%	
perlakuan	3	16,6135	5,53784	0,627465	3,24	5,29	ns
M	1	2,37843	2,37843	0,269488	4,49	8,53	ns
T	1	1,22463	1,22463	0,138757	4,49	8,53	ns
M x T	1	13,0105	13,0105	1,474151	4,49	8,53	ns
Error	16	141,212	8,82573				
Total	19	157,825					
		cv	0,31558				
2 arah	T0	T1	total				
M0	48,141	42,55	90,691				
M1	43,524	54,064	97,588				
Total	91,665	96,614	188,279				

Perlakuan	rerata	UJD 5%	UJD 1%	SSR 5%	SSr 1%	jarak	notasi 5%	notasi 1%
M1T1	10,8128						a	a
M0T0	9,6282	3,98576	5,48707	3	4,13	2	a	a
M1T0	8,7048	4,18505	5,76607	3,15	4,34	3	a	a
M0T1	8,51	4,29134	5,91222	3,23	4,45	4	a	a

M0T0	0			
M1T1	1,1846	0		
M0T1	2,108	0,9234	0	
M1T0	2,3028	1,1182	0,1948	0

Lampiran 14. Hasil skorsing pola pita DNA pada lima Primer RAPD

		M1T1	M1T0	M0T0	M0T1
OPC 19	band 1	1	1	1	1
	band 2	1	1	1	1
	band 3	1	1	1	1
OPN 11	band 4	1	1	1	1
	band 5	1	1	1	1
	band 6	1	1	1	1
	band 7	1	1	0	0
	band 8	1	1	1	1
	band 9	1	1	1	1
	band 10	1	1	1	1
	band 11	0	0	1	1
	band 12	1	1	1	1
OPE 02	band 13	0	1	0	0
	band 14	1	1	1	1
	band 15	1	1	1	1
	band 16	1	1	1	1
	band 17	0	0	1	1
	band 18	1	1	1	1
	band 19	0	0	1	1
	band 20	1	0	1	1
	band 21	1	1	1	1
	band 22	1	1	1	1
OPA 19	band 23	0	1	0	0
	band 24	0	0	1	1
	band 25	0	0	1	1
	band 26	1	1	1	1
	band 27	0	1	0	0
	band 28	1	1	1	1
	band 29	1	1	0	0
	band 30	1	1	1	1
OPF 04	band 31	1	1	1	1
	band 32	1	1	1	1
	band 33	1	1	1	1
	band 34	1	1	0	0
	band 35	1	1	1	1
	band 36	1	1	0	0
	band 37	1	1	1	1
	Jumlah		29	31	30

Lampiran 15. Perhitungan persentase kandungan sukrosa nira tebu dalam berat batang tebu

	ber.batang (gr)	Vol (ml)	Vol (µl)	absorban			µg/25µl (25x encer)			µg			% (g/100 g berat batang)			% rerata	
				1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
	1	98,7	44,85	44850	1,015	1,014	1,013	82,78	82,70	82,62	9281853,26	9272589,50	9263325,73	9,40	9,39	9,39	9,39
	2	81,3	45,1	45100	1,284	1,269	1,276	105,01	103,77	104,35	11839435,52	11699704,45	11764912,28	14,56	14,39	14,47	14,47
MOT0	3	71,4	38,5	38500	1,136	1,091	1,1135	92,78	89,06	90,92	8929913,30	8572065,43	8750989,36	12,51	12,01	12,26	12,26
	4	98	41,5	41500	0,743	0,734	0,751	60,31	59,57	60,97	6257023,48	6179877,05	6325598,08	6,38	6,31	6,45	6,38
	5	93,7	37	37000	0,693	0,698	0,72	56,18	56,59	58,41	5196433,55	5234645,30	5402777,00	5,55	5,59	5,77	5,63
	1	91,2	38,5	38500	0,565	0,57	0,56	45,60	46,02	45,19	4389221,38	4428982,25	4349460,50	4,81	4,86	4,77	4,81
	2	98,8	43,15	43150	0,687	0,684	0,691	55,68	55,43	56,01	6006689,28	5979951,38	6042339,81	6,08	6,05	6,12	6,08
MOT1	3	64	38,8	38800	0,829	0,831	0,833	67,41	67,58	67,74	6539156,06	6555184,34	6571212,62	10,22	10,24	10,27	10,24
	4	98,1	51,8	51800	0,63	0,6565	0,683	50,97	53,16	55,35	6600951,70	6884482,89	7168014,07	6,73	7,02	7,31	7,02
	5	93,3	46,9	46900	1,382	1,415	1,401	113,10	115,83	114,67	13261307,99	13580985,43	13445364,70	14,21	14,56	14,41	14,39
	1	38,2	30,9	30900	0,493	0,492	0,494	39,65	39,57	39,74	3063245,24	3056862,84	3069627,63	8,02	8,00	8,04	8,02
	2	21,5	19	19000	0,594	0,614	0,6	48,00	49,65	48,49	2279918,30	2358407,30	2303465,00	10,60	10,97	10,71	10,76
MIT0	3	39,1	35,2	35200	0,488	0,481	0,485	39,24	38,66	38,99	3453169,28	3402275,36	3431357,60	8,83	8,70	8,78	8,77
	4	50	33,75	33750	0,592	0,595	0,598	47,83	48,08	48,33	4035912,75	4056825,94	4077739,13	8,07	8,11	8,16	8,11
	5	49	29,55	29550	0,587	0,685	0,66	47,42	55,52	53,45	3503148,07	4101296,21	3948707,40	7,15	8,37	8,06	7,86
	1	25	23,5	23500	0,615	0,624	0,604	49,73	50,48	48,82	2921831,38	2965516,70	2868438,20	11,69	11,86	11,47	11,67
	2	31,1	21,7	21700	0,649	0,793	0,721	52,54	64,44	58,49	2850424,12	3495851,56	3173137,84	9,17	11,24	10,20	10,20
MIT1	3	40	25,3	25300	0,752	0,764	0,74	61,05	62,04	60,06	3861554,18	3924262,76	3798845,60	9,65	9,81	9,50	9,65
	4	38,9	22,75	22750	0,706	0,714	0,71	57,25	57,91	57,58	3256191,58	3293783,68	3274987,63	8,37	8,47	8,42	8,42
	5	31,3	23,3	23300	0,931	0,872	0,99	75,84	70,97	80,72	4417751,07	4133806,78	4701695,35	14,11	13,21	15,02	14,11