



**PENENTUAN DOSIS OPTIMUM NITROGEN PADA
TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum*)
HASIL MUTASI**

TESIS

Oleh

**Tirto Wahyu Widodo, S.P
NIM 151520101006**

**PROGRAM STUDI MAGISTER AGRONOMI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENENTUAN DOSIS OPTIMUM NITROGEN PADA
TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum*)
HASIL MUTASI**

TESIS

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan program (S2) pada Program Studi Magister Agronomi
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Tirto Wahyu Widodo, S.P
NIM 111510501099**

**PROGRAM STUDI MAGISTER AGRONOMI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Tesis ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Djatim (alm) dan Ibunda Samina yang tercinta;
2. Kakak-kakakku tersayang beserta keluarga besarku;
3. Guru dan dosenku yang tak terbalas betapa besar jasanya;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia”.

(Terjemahan QS. Ar-Ra’du :11)

“Sesungguhnya setelah kesulitan ada kemudahan, maka apabila telah selesai dengan suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain”.

(Terjemahan QS. Al-Insyirah : 6 - 7)

“Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja. Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi”.

(Martin Vanbee)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tирто Wahyu Widodo, S.P

NIM : 151520101006

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Penentuan Dosis Optimum Nitrogen pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 25 Juli 2017
Yang menyatakan,

Tирто Wahyu Widodo, S.P
NIM 151520101006

TESIS

**PENENTUAN DOSIS OPTIMUM NITROGEN PADA
TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum*)
HASIL MUTASI**

Oleh

**Tirto Wahyu Widodo, S.P
NIM 151520101006**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP. 19641019 199002 1 002

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S
NIP. 19600317 198303 2 001

PENGESAHAN

Tesis berjudul **“Penentuan Dosis Optimum Nitrogen pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi”** telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Selasa, 25 Juli 2017

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP. 19641019 199002 1 002

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S
NIP. 19600317 198303 2 001

Dosen Penguji 1,

Dosen Penguji 2,

Ir. Sigit Soeparjono, M.S, Ph.D
NIP. 19600506 198702 1 001

Ir. Anang Svamsunihar, M.P, Ph.D
NIP. 19660626 199103 1 002

Mengesahkan
Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, M.S, Ph.D
NIP. 19600506 198702 1 001

RINGKASAN

Penentuan Dosis Optimum Nitrogen pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi; Tirto Wahyu Widodo, S.P, 151520101006; Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Kebutuhan gula tahun 2015 sebesar 5,7 juta ton, sedangkan produksinya hanya 2,49 juta ton. Kekurangan kebutuhan gula tersebut dipenuhi pemerintah melalui impor yang nilainya mendekati US\$ 2 miliar. Rendahnya produksi gula Indonesia disebabkan oleh rendahnya rendemen tebu, yakni sebesar 8,28 persen pada tahun 2015. Apabila tebu Indonesia memiliki rendemen di atas 10 persen, maka impor gula dapat ditekan karena sebagian besar kebutuhan gula nasional dapat dipenuhi sendiri. Besarnya rendemen berkaitan dengan kapasitas biosintesis sukrosa pada tebu. Peningkatan rendemen dapat dilakukan dengan menanam tebu yang memiliki rendemen tinggi, salah satunya adalah tanaman hasil mutasi. Hasil penelitian sebelumnya didapatkan tanaman tebu baru yang diduga mengalami perubahan genetik. Hal ini diketahui dari besarnya rendemen yang berkisar antara 15,5 - 18,5 persen. Perubahan genetik pada tanaman tebu tersebut diduga mengakibatkan kebutuhan nutrisi tanaman berbeda, khususnya nitrogen (N). N merupakan unsur hara esensial yang menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi sintesis suksosa. Unsur tersebut merupakan penyusun klorofil dan asam-asam amino dimana kedua molekul ini berperan dalam biosintesis dan akumulasi sukrosa dari *source* ke *sink*. Oleh karena itu, diperlukan pengujian beberapa dosis N untuk mendapatkan dosis optimum N pada masing-masing tebu mutan. Percobaan ini bertujuan untuk mendapatkan dosis optimum N dalam mencapai rendemen tertinggi pada setiap mutan tebu. Percobaan dilaksanakan di Desa Sumberjeruk, Kecamatan Kalisat, Kabupaten Jember pada bulan Agustus 2016 sampai Juni 2017. Analisis fisiologis tanaman dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Percobaan disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 4x5 dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah genotipe tebu (3 bululawang mutan dan 1 bululawang asli), sedangkan faktor kedua adalah dosis N yang terdiri dari 5 taraf

sehingga terdapat 20 kombinasi perlakuan dan diulang 3 kali yaitu 350 kg N/ha (N0), 385 kg N/ha (N1), 420 kg N/ha (N2), 455 kg N/ha (N3) dan 495 kg N/ha (N4). Variabel pengamatan terdiri atas: 1) rendemen tebu, 2) kandungan sukrosa daun, 3) kandungan gula reduksi batang dan daun, 4) aktivitas *acid invertase*, 5) *neutral invertase*, dan 6) *alkaline invertase*, 7) kandungan klorofil daun, 8) diameter batang, 9) panjang ruas, 10) jumlah ruas, dan 11) jumlah anakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis optimum N untuk mencapai rendemen tertinggi pada tebu bululawang mutan M2 (16,93%), M3 (15,73%), dan M4 (14,83%) masing-masing sebesar 403,79 kg N/ha, 392,5 kg N/ha, dan 301,3 kg N/ha, sedangkan tebu bululawang non mutan (10,73%) sebesar 414,18 kg N/ha. Kandungan sukrosa daun, gula reduksi daun, gula reduksi batang, klorofil daun, dan akvititas enzim invertase cenderung lebih tinggi pada tebu mutan dibandingkan non mutan. Peningkatan dosis N berkorelasi negatif terhadap kandungan sukrosa daun, gula reduksi daun, gula reduksi batang, klorofil daun, dan aktivitas enzim invertase, namun berkorelasi positif terhadap diameter batang, panjang ruas, jumlah ruas, dan jumlah anakan tebu.

SUMMARY

Determining of Optimum Nitrogen Dose on Sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) Mutant; Tirto Wahyu Widodo, S.P., 151520101006; Study Program of Agronomy; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Indonesian sugar consumption in 2015 reached 5.7 million tons, while the production was only 2.49 million tons. The deficiency of sugar consumption could be completed by importing amount US\$ 2 milliard. Sugar content average in 2015 was only 8,28%. When sugar content was higher than 10%, sugar import could be suppressed because sugar consumption could be completed. The large amount of sugar content related to sucrose biosynthesis capacity. Mutant of sugarcane that had high sugar content was planted to increase sugar content. The previous research reported that mutant of sugarcanes cv. Bululawang had 15.5-18.5% sugar content but non-mutant ones had only 7.51% sugar content. Amount of sugar content in field was different because of environmental effect of metabolism sucrose biosynthesis. Furthermore, genetic mutation of sugarcane caused the difference of plant nutrition needed, especially nitrogen (N). N was essential nutrient that influenced sucrose biosynthesis. N was part of chlorophyll and amino acid that played a role for sucrose biosynthesis and accumulation in source to sink tissues. Therefore, research for several dose of N was needed to obtain the optimum dose of N in mutant of sugarcanes. The aimed of research was obtaining the optimum dose of N that reached highest sugar content in every mutant of sugarcanes. Research was conducted in Sumberjeruk, Kalisat, Jember from August, 2016 until June, 2017. Physiological analyze was conducted in Laboratory of Agriculture Faculty, Jember University. Experiment was arranged in Completely Randomized Design with two factors and three replications. First factor was composed of non-mutant of sugarcane cv. Bululawang (M1) and three mutant of sugarcane (M2, M3, M4), while second factor was five levels of nitrogen i.e 350 kg N/ha (N0), 385 kg N/ha (N1), 420 kg N/ha (N2), 455 kg N/ha (N3) and 495 kg N/ha (N4). Variable measured include : 1) sugar content, 2) leaf sucrose content, 3) stalk and leaf reducing sugar, 4) acid invertase activity, 5)

neutral invertase activity, 6) *alkaline invertase* activity, 7) leaf chlorophyll content, 8) stalk diameter, 9) internode length, 10) number of internode, and 11) number of tiller. The result showed that optimum dose of N for obtaining high cane sucrose content in mutant of sugarcane cv. Bululawang M2 (16,93%), M3 (15,73%), and M4 (14,83%) were 403,79 kg N/ha, 392,5 kg N/ha, and 301,3 kg N/ha, respectively. Optimum N dose for non-mutant of sugarcane cv. Bululawang (10,73%) was 414,18 kg N/ha. Leaf sucrose content, stalk and leaf reducing sugar, leaf chlorophyll content, and invertase enzyme activity were higher in mutant of sugarcane than non-mutant ones. Increasing of N dose had negative correlation with leaf sucrose content, stalk and leaf reducing sugar, leaf chlorophyll content, and invertase enzyme activity, but had positive correlation with stalk diameter, internode length, number of internode, and number of tiller.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, serta hidayah-Nya. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah menuntun kita pada jalan yang benar. Penulis bersyukur atas terselesaikan dan tersusunnya tesis yang berjudul "**Penentuan Dosis Optimum Nitrogen pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Hasil Mutasi**". Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan magister (S2) pada Program Studi Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan tesis ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ir. Sigit Soeparjono, M.S, Ph.D selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember;
2. Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S selaku Ketua Program Studi Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember;
3. Dr. Ir. Miswar, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S selaku Dosen Pembimbing Anggota, Ir. Sigit Soeparjono, M.S, Ph.D selaku Dosen Penguji 1, dan Ir. Anang Syamsunihar, M.P, Ph.D selaku Dosen Penguji 2 yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan tesis ini;
4. Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Semua dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah senantiasa berbagi ilmu dan memberikan dorongan, semangat, serta do'a kepada penulis untuk menyelesaikan tesis ini;
6. Orangtuaku tercinta, Ayahanda Djatim (alm) dan Ibunda Samina yang tak henti-hentinya memberikan dorongan, semangat, serta do'a demi terselesaiannya tesis ini;
7. Teman-teman Magister Agronomi angkatan 2015 dan Ferdiana Revitasari yang selalu membantu dan memberikan semangat;

8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang memberikan bantuan dan dorongan selama mengikuti studi dan penulisan tesis ini.

Penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga diharapkan adanya saran dan kritik untuk perbaikan selanjutnya. Harapan penulis semoga tesis ini bermanfaat bagi pembaca sebagai sumber informasi.

Jember, Juli 2017

Penulis



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| SUMMARY | x |
| PRAKATA | xii |
| DAFTAR ISI | xiv |
| DAFTAR TABEL | xvi |
| DAFTAR GAMBAR | xvii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xix |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan dan Manfaat | 4 |
| 1.3.1 Tujuan | 4 |
| 1.3.2 Manfaat | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i>) | 6 |
| 2.2 Tanaman Tebu Hasil Mutasi | 6 |
| 2.3 Fungsi Unsur Hara Nitrogen | 8 |
| 2.4 Pemupukan Nitrogen Pada Tanaman Tebu | 10 |
| 2.5 Biosintesis Sukrosa Daun | 12 |
| 2.6 Hipotesis | 13 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN | 14 |
| 3.1 Waktu dan Tempat | 14 |

| | |
|--|----|
| 3.2 Bahan dan Alat | 14 |
| 3.3 Rancangan Percobaan | 14 |
| 3.4 Pelaksanaan Percobaan | 16 |
| 3.5 Variabel Pengamatan | 17 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 23 |
| 4.1 Kondisi Umum Percobaan | 23 |
| 4.2 Hasil Percobaan | 25 |
| 4.2.1 Rendemen Tebu | 26 |
| 4.2.2 Kandungan Sukrosa Daun..... | 28 |
| 4.2.3 Kandungan Gula Reduksi Daun..... | 29 |
| 4.2.4 Kandungan Gula Reduksi Batang..... | 30 |
| 4.2.5 Kandungan Klorofil Daun..... | 31 |
| 4.2.6 Aktivitas Enzim Invertase..... | 33 |
| 4.2.7 Diameter Batang | 34 |
| 4.2.8 Panjang Ruas..... | 35 |
| 4.2.9 Jumlah Ruas | 36 |
| 4.2.10 Jumlah Anakan..... | 37 |
| 4.3 Pembahasan..... | 38 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 48 |
| 5.1 Kesimpulan | 48 |
| 5.2 Saran | 48 |
| DAFTAR PUSTAKA | 49 |
| LAMPIRAN | 55 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 3.1. Penentuan Sumber Keragaman dan Rumus Ekspektasi Kuadrat Tengah Model Campuran | 17 |
| Tabel 4.1. Rangkuman F-hitung semua variabel pengamatan | 27 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 2.1 Jalur nitrogen dalam pembentukan protein dan klorofil.. | 8 |
| Gambar 2.2 Nitrogen sebagai unsur penyusun klorofil (A) dan auksin (B) | 9 |
| Gambar 2.3 Hubungan antara fotosintesis dan biosintesis sukrosa pada tanaman C4 | 10 |
| Gambar 2.4 Laju penyerapan N oleh tebu..... | 11 |
| Gambar 2.5 Jalur sintesis sukrosa yang dikatalisis oleh enzim SPS ... | 12 |
| Gambar 4.1 Kondisi pH tanah selama percobaan | 23 |
| Gambar 4.2 Kondisi kelembapan tanah selama percobaan | 23 |
| Gambar 4.3 Suhu dan kelembapan udara selama percobaan | 24 |
| Gambar 4.4 Intensitas cahaya matahari selama percobaan | 25 |
| Gambar 4.5 Analisis regresi pada variabel rendemen tebu | 27 |
| Gambar 4.6 Rata-rata rendemen tebu non mutan dan mutan | 27 |
| Gambar 4.7 Rata-rata kandungan sukrosa daun tebu non mutan dan mutan | 28 |
| Gambar 4.8 Rata-rata kandungan sukrosa daun pada berbagai dosis N | 29 |
| Gambar 4.9 Rata-rata kandungan gula reduksi daun tebu non mutan dan mutan | 29 |
| Gambar 4.10 Rata-rata kandungan gula reduksi daun pada berbagai dosis N | 30 |
| Gambar 4.11 Rata-rata kandungan gula reduksi batang tebu non mutan dan mutan | 30 |
| Gambar 4.12 Rata-rata kandungan gula reduksi batang pada berbagai dosis N | 31 |
| Gambar 4.13 Rata-rata kandungan klorofil daun tebu non mutan dan mutan | 32 |
| Gambar 4.14 Rata-rata kandungan klorofil daun tebu pada berbagai dosis N | 32 |
| Gambar 4.15 Aktivitas enzim invertase pada tebu non mutan dan Mutan..... | 33 |
| Gambar 4.16 Aktivitas enzim invertase pada berbagai dosis N | 34 |

| | |
|--|----|
| Gambar 4.17 Rata-rata diameter batang tebu non mutan dan mutan.... | 34 |
| Gambar 4.18 Rata-rata diameter batang tebu pada berbagai dosis N ... | 35 |
| Gambar 4.19 Rata-rata panjang ruas tebu non mutan dan mutan | 36 |
| Gambar 4.20 Rata-rata panjang ruas tebu pada berbagai dosis N..... | 36 |
| Gambar 4.21 Rata-rata jumlah ruas tebu non mutan dan mutan | 37 |
| Gambar 4.22 Rata-rata jumlah ruas tebu pada berbagai dosis N | 37 |
| Gambar 4.23 Rata-rata jumlah anakan tebu pada berbagai dosis N..... | 38 |
| Gambar 4.24 Rata-rata jumlah anakan tebu non mutan dan mutan | 38 |
| Gambar 4.25 Anatomi jaringan daun dan batang tebu sebagai tempat biosintesis dan akumulasi sukrosa (A) dan proses pengangkutan sukrosa dari <i>source</i> ke <i>sink tissue</i> (B)..... | 40 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Karakteristik Tebu Varietas Bululawang | 55 |
| Lampiran 2. Hasil analisis ragam seluruh variabel percobaan..... | 55 |
| Lampiran 3. Hasil analisis Uji Dunnett 5% | 58 |
| Lampiran 4. Dokumentasi pelaksanaan penelitian | 59 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permintaan gula di Indonesia selalu meningkat setiap tahunnya seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, perbaikan perekonomian, serta berkembangnya industri makanan dan minuman. Permintaan gula cenderung meningkat karena gula menjadi salah satu kebutuhan pokok masyarakat sebagai sumber kalori. Perhatian pemerintah terhadap gula yang semakin intensif bukan karena gula merupakan komoditas strategis Indonesia, tetapi juga dikarenakan industri berbasis gula menjadi salah satu sumber pendapatan rakyat dari sektor perkebunan. Di sisi lain, peningkatan permintaan gula tersebut justru dihadapkan pada penurunan produksi gula nasional. Kondisi ini menjadi suatu permasalahan yang telah berlangsung lama, sehingga Indonesia menjadi salah satu negara importir gula.

Kebutuhan gula nasional pada tahun 2015 mencapai 5,7 juta ton (meningkat 3,5 persen dibandingkan tahun 2013). Di sisi lain, produksi gula Indonesia masih belum mampu mencukupi kebutuhan gula nasional. Pada tahun 2015 produksi gula nasional sebesar 2,49 juta ton (turun 2,4 persen dibandingkan tahun 2013). Kekurangan kebutuhan konsumsi gula nasional dipenuhi pemerintah melalui impor. Nilai impor gula pada tahun 2015 mendekati US\$ 2 miliar (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2016).

Berdasarkan data di atas, impor gula justru meningkat walaupun ekstensifikasi lahan untuk perkebunan tebu terus dilakukan. Pada tahun 2015, luas lahan yang digunakan untuk perkebunan tebu sebesar 446.060 hektar. Luas lahan tersebut mampu menghasilkan tebu sebanyak 30,1 juta ton, dengan produksi hablur mencapai 5,6 ton per ha, bobot tebu 67,6 ton per ha dan tingkat rendemen 8,28 persen (Asosiasi Gula Indonesia dalam Liputan 6, 2016). Namun hingga saat ini peningkatan luas areal perkebunan tebu di Indonesia ternyata masih belum mampu mencukupi kebutuhan gula nasional, walaupun pemerintah telah melakukan berbagai cara untuk mendongkrak produksi gula dalam negeri.

Produksi gula salah satunya sangat bergantung pada besarnya rendemen tebu. Data Direktorat Jenderal Perkebunan (2016) menunjukkan bahwa rata-rata rendemen tebu Indonesia pada tahun 2015 sebesar 8,28 persen dengan produksi gula sebesar 2,49 juta ton. Produksi gula tersebut masih jauh untuk memenuhi kebutuhan gula nasional yang mencapai 5,7 juta ton. Apabila tebu Indonesia memiliki rendemen di atas 10 persen, maka impor gula dapat ditekan karena sebagian besar kebutuhan gula nasional dapat dipenuhi sendiri.

Rendemen tebu sangat ditentukan oleh banyak faktor, seperti bahan tanam, teknik budidaya dan lingkungan. Penggunaan bahan tanam dan kondisi lingkungan yang sama akan memberikan besarnya rendemen yang sama, sehingga pengaruh kedua faktor ini dapat diminimalkan. Akan tetapi, perbedaan teknik budidaya sangat mempengaruhi besarnya rendemen tebu, salah satunya adalah pemupukan. Pemupukan menjadi bagian penting dalam penyediaan hara bagi tanaman, khususnya nitrogen.

Unsur hara nitrogen menjadi salah satu faktor penting yang sangat berperan dalam jalur biosintesis sukrosa, dimana besarnya rendemen tebu bergantung pada kadar sukrosa. Sukrosa merupakan hasil utama dari reaksi fotosintesis yang melibatkan radiasi matahari, karbondioksida, dan air yang selanjutnya ditranslokasikan dari jaringan asal (*source*) melalui floem menuju jaringan penyimpanan (*sink*), terutama di jaringan batang tebu. Tanaman tebu di Indonesia rata-rata hanya memiliki rendemen sebesar 8,28 persen yang disebabkan oleh kemampuan mensintesis sukrosa cukup rendah. Oleh karena itu, peningkatan rendemen tebu dapat dilakukan dengan menanam tanaman tebu yang memiliki rendemen tinggi, salah satunya adalah tanaman hasil mutasi.

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Miswar dkk. (2016) didapatkan tanaman tebu baru hasil mutasi dengan potensi rendemen sebesar 15,5-18,5 persen. Sedangkan tanaman tebu varietas bululawang non mutasi hanya memiliki rendemen 7,51 persen. Berdasarkan rekomendasi PG, rendemen sebesar 7,51 persen didapatkan jika tanaman tersebut dipupuk N sebesar 207 kg N/ha (Naruputro dan Purwono, 2009).

Mutasi yang terjadi pada tanaman tebu tersebut sifatnya acak, namun diduga telah terjadi perubahan genetik. Tebu hasil mutasi kemudian diseleksi untuk mendapatkan tebu yang memiliki rendemen tinggi. Besarnya rendemen bergantung pada kapasitas biosintesis sukrosa. Kemampuan tanaman mensintesis sukrosa juga bergantung pada kapasitas fotosintesis tanaman. Kondisi tersebut secara langsung mempengaruhi kebutuhan tanaman terhadap nutrisi, khususnya nitrogen. Oleh karena itu, kebutuhan nutrisi tanaman hasil mutasi berbeda dibandingkan tanaman non mutasi.

Kapasitas fotosintesis tanaman salah satunya dipengaruhi oleh kandungan klorofil daun. Klorofil merupakan pigmen yang dapat mengubah energi cahaya menjadi energi kimia (ATP dan NADPH) yang sangat diperlukan dalam reaksi fotosintesis. Peningkatan kandungan klorofil daun dapat meningkatkan kapasitas fotosintesis tanaman selama faktor-faktor lain tidak menjadi pembatas, seperti cahaya matahari, karbondioksida, dan air.

Kandungan klorofil daun sangat bergantung pada nitrogen yang diserap tanaman, karena unsur ini menjadi salah satu penyusun klorofil. Nitrogen yang diserap tanaman akan diubah menjadi asam amino glutamat di sel-sel akar, kemudian akan ditransportasikan ke sel-sel pucuk terutama daun. Asam amino glutamat merupakan prekursor dalam biosintesis klorofil di dalam kloroplas. Oleh karena itu, peningkatan unsur hara nitrogen yang diserap tanaman secara langsung dapat meningkatkan biosintesis klorofil.

Selain sebagai penyusun klorofil, nitrogen juga menjadi unsur penyusun protein. Enzim merupakan senyawa protein yang berperan dalam memicu metabolisme di dalam tubuh tanaman, seperti enzim SPS dan invertase. Kedua enzim tersebut merupakan enzim kunci dalam biosintesis sukrosa. Besarnya akumulasi sukrosa pada bagian batang tebu sangat bergantung pada aktivitas enzim SPS dan invertase. Kandungan sukrosa batang tebu sangat terkait dengan besarnya perbedaan antara aktivitas enzim SPS dan enzim *acid invertase* (Zhu *et al.*, 1997).

Nitrogen juga berperan sebagai unsur penyusun hormon auksin. Auksin berperan dalam pemanjangan sel melalui mekanisme kemiosmosis. Peningkatan

hormon auksin sampai batas tertentu dapat meningkatkan pemanjangan sel, terutama sel-sel di batang sehingga memperbesar tempat penyimpanan (*sink*) bagi sukrosa.

Berdasarkan penjelasan di atas, diketahui bahwa unsur hara nitrogen sangat berperan dalam metabolisme sukrosa hingga penyimpanannya di dalam jaringan batang. Akumulasi sukrosa pada setiap tanaman hasil mutasi akan berbeda dikarenakan perbedaan genetik dan kebutuhan nutrinya. Semakin besar akumulasi sukrosa pada batang tebu secara langsung dapat meningkatkan rendemen tebu. Oleh karena itu, pemupukan N perlu dilakukan untuk mendapatkan dosis optimum N pada masing-masing tebu hasil mutasi dalam mencapai rendemen tertinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Tanaman tebu varietas bululawang non mutan memiliki rendemen sebesar 7,51 persen. Untuk mendapatkan rendemen tersebut, tebu membutuhkan suplai N sebesar 350 kg N/ha dengan serapan N sebesar 210 kg N/ha (Wijaya, 2016). Hasil penelitian Miswar dkk. (2016) didapatkan tanaman tebu baru hasil mutasi yang memiliki potensi rendemen tinggi, yakni sebesar 15-18,5 persen (pengukuran rendemen skala lab). Tanaman tebu baru hasil mutasi tersebut diduga telah mengalami perubahan genetik dan diduga membutuhkan nutrisi yang berbeda, khususnya nitrogen. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian beberapa dosis N untuk mendapatkan dosis optimum pada masing-masing tebu hasil mutasi dalam mencapai rendemen tertinggi.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

Pemupukan nitrogen menjadi salah satu teknik budidaya yang esensial dan harus sesuai anjuran. Pelepasan varietas baru harus bersama dengan teknik budidayanya yang tepat. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis optimum N dari setiap mutan tebu sebelum tanaman tersebut dilepas.

1.3.2 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna dalam mendapatkan rendemen tertinggi pada tebu hasil mutasi melalui efisiensi pemupukan nitrogen.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*)

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman monokotil dari famili *Gramineae* (rumput-rumputan) yang hanya dapat ditanam di daerah beriklim tropis (Andaka, 2011; Suwarto dkk., 2014). Saat ini, budidaya tebu telah dilakukan di lebih dari 70 negara di dunia, salah satunya Indonesia. Selain *Saccharum officinarum* L. masih terdapat empat spesies tebu yang lain dalam genus *Saccharum*, yaitu: *Saccharum sinense*, *Saccharum barberi*, *Saccharum spontaneum*, dan *Saccharum robustum*. Diantara kelima spesies tersebut, *Saccharum officinarum* L. digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula (Andaka, 2011) karena memiliki kandungan sukrosa terbesar dan kandungan serat terendah.

Tanaman tebu yang saat ini banyak dikembangkan terdiri dari berbagai varietas dengan sifat-sifat yang berbeda. Varietas tebu bululawang (BL) adalah salah satu varietas yang banyak dikembangkan baik oleh perkebunan milik negara, swasta maupun rakyat sejak tahun 2004. Varietas bululawang memiliki potensi rendemen sebesar 7,51 persen dan hasil tebu 94,3 ton/ha (Keputusan Menteri Pertanian, 2004).

Selain varietas bululawang, varietas tebu lain yang juga banyak dikembangkan adalah PS 881, PS 862, dan PSDK 923. Varietas PS 881 memiliki rendemen sebesar 10,22 persen dan hasil tebu sebesar 94,9 ton/ha sedangkan varietas PS 862 memiliki rendemen sebesar 10,87 persen dan hasil tebu sebesar 83,3 ton/ha. Varietas PSDK 923 termasuk varietas yang baru karena dilepas pada tahun 2013. Varietas ini memiliki rendemen dan hasil tebu masing-masing sebesar 10,93 persen dan 124,8 ton/ha (P3GI, 2016).

2.2 Tanaman Tebu Hasil Mutasi

Perbaikan sifat genetik dan agronomik suatu tanaman dapat dilakukan melalui pemuliaan secara konvensional, misalnya persilangan pada tanaman yang berbunga dan berbiji. Akan tetapi bagi tanaman yang tidak dapat dilakukan

persilangan, maka perbaikannya dilakukan melalui pemuliaan non konvensional, misalnya mutasi induksi atau mutasi buatan (Soedjono, 2003). Mutasi induksi merupakan salah satu program pemuliaan tanaman non konvensional yang bertujuan meningkatkan dan memperbaiki keragaman genetik tanaman.

Secara luas, mutasi adalah perubahan pada sekuen DNA (perubahan genetik) yang mengakibatkan perubahan fenotipe yang diturunkan, termasuk keragaman kromosom maupun mutasi gen (Elrod dan Stansfield, 2006). Mutasi dapat disebut sebagai perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom dan DNA atau gen sehingga menyebabkan terjadinya keragaman genetik. Perubahan tersebut terjadi dalam satu gen pada satu lokus kromosom atau disebut mutasi titik (Suzuki *et al.*, 1993).

Tebu merupakan tanaman yang memiliki ploidi tinggi, fertilitas rendah, dan genom yang besar serta dianggap sebagai tanaman yang sulit dikembangkan dalam pemuliaan tanaman (Khan *et al.*, 2007; Miswar dkk., 2007). Hibridisasi umumnya dilakukan pada kondisi lingkungan terkendali yang merupakan faktor pembatas dalam perbaikan genetik tebu. Cara lain untuk mendapatkan keragaman genetik tanaman tebu dapat dilakukan dengan mutasi spontan maupun induksi (Khan *et al.*, 2007).

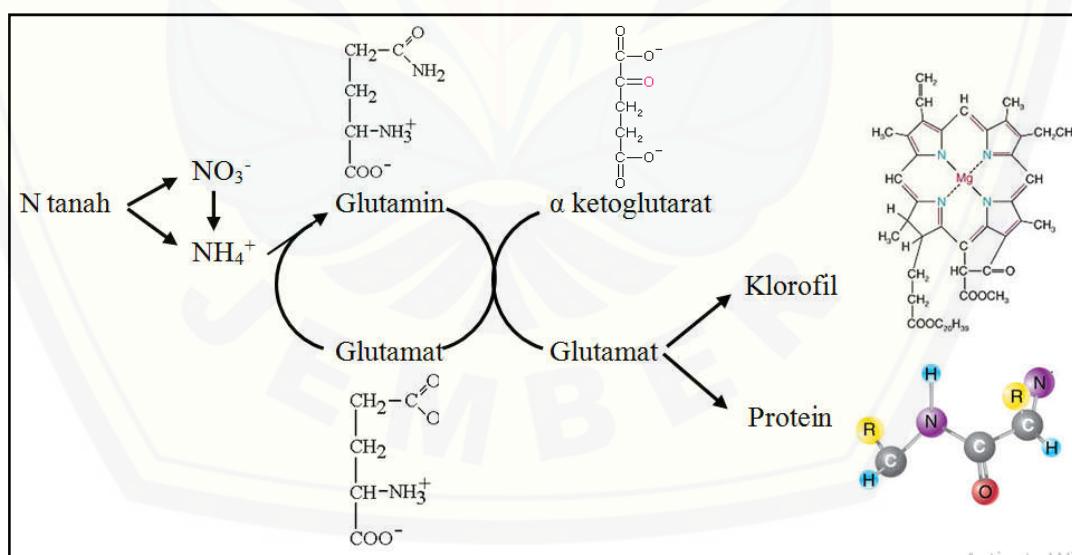
Tanaman tebu dapat mengalami mutasi secara spontan di alam dan dapat juga terjadi melalui induksi. Secara mendasar tidak terdapat perbedaan antara mutasi yang terjadi secara alami dengan mutasi hasil induksi. Mutasi yang terjadi secara spontan di alam memiliki peluang kejadian sangat kecil, yaitu sekitar 10^{-6} - 10^{-7} perubahan gen dalam satu sel tunggal (Soedjono, 2003) dimana lajunya per genom pada suatu kelompok tanaman yang sama berbeda dengan kelompok tanaman lain (Drake *et al.*, 1998). Maka dari itu, dalam bidang pemuliaan tanaman umumnya lebih banyak dilakukan mutasi induksi.

Mutasi induksi pada tanaman tebu bertujuan untuk mengubah susunan genetik tanaman, sehingga didapatkan tanaman baru yang memiliki sifat berbeda dibandingkan tanaman aslinya. Tanaman-tanaman tebu hasil mutasi tersebut kemudian diseleksi untuk mendapatkan tanaman unggul, misalnya tanaman tebu yang memiliki rendemen tinggi. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh

Miswar dk. (2016) telah diperoleh tanaman tebu varietas bululawang hasil mutasi yang memiliki potensi rendemen sekitar 15 - 18,5 persen, sedangkan varietas bululawang asli hanya memiliki rendemen 7,51 persen. Tanaman tebu hasil mutasi tersebut dapat dilepas apabila teknik budidayanya telah dikembangkan.

2.3 Fungsi Unsur Hara Nitrogen

Nitrogen adalah salah satu unsur hara esensial bagi semua tanaman. Dikatakan unsur hara esensial karena perannya tidak dapat tergantikan oleh unsur hara lain dan kekurangan unsur hara tersebut mengakibatkan tanaman tidak dapat menyelesaikan siklus hidupnya secara normal. Tanaman menyerap nitrogen dari tanah dalam bentuk ion amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-). Tanaman di lahan kering umumnya menyerap ion nitrat relatif lebih besar dibandingkan amonium (Rosmarkam dan Yuwono, 2002). Ion nitrat akan diubah menjadi amonium oleh tanaman, kemudian amonium akan bergabung dengan asam amino glutamin guna membentuk asam amino glutamat (Gambar 2.1). Asam glutamat merupakan prekursor pembentukan klorofil dan protein.

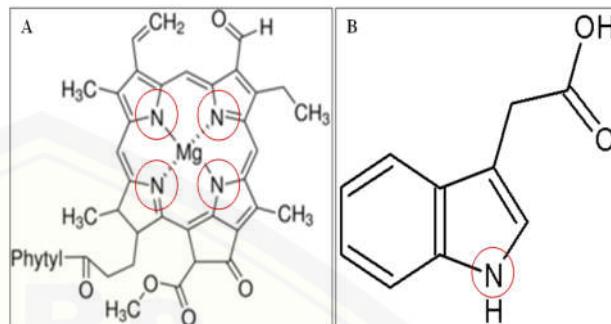


Gambar 2.1 Jalur nitrogen dalam pembentukan protein dan klorofil

Kadar nitrogen rata-rata di dalam jaringan tanaman sebesar 2 – 4 persen berat kering. Bagian tanaman yang berwarna hijau mengandung N protein tertinggi dan meliputi 70 persen – 80 persen dari total N tanaman (Rosmarkam dan Yuwono, 2002). Kandungan N yang tinggi di dalam jaringan tanaman

menandakan bahwa unsur hara tersebut sangat penting karena secara langsung mempengaruhi berbagai metabolisme di dalam tanaman.

Nitrogen merupakan unsur penyusun auksin dan klorofil (Lakitan, 1993). Auksin berperan dalam pemanjangan sel-sel tanaman melalui mekanisme kemiosmosis. Nitrogen berperan dalam memicu terbentuknya klorofil yang berguna bagi proses



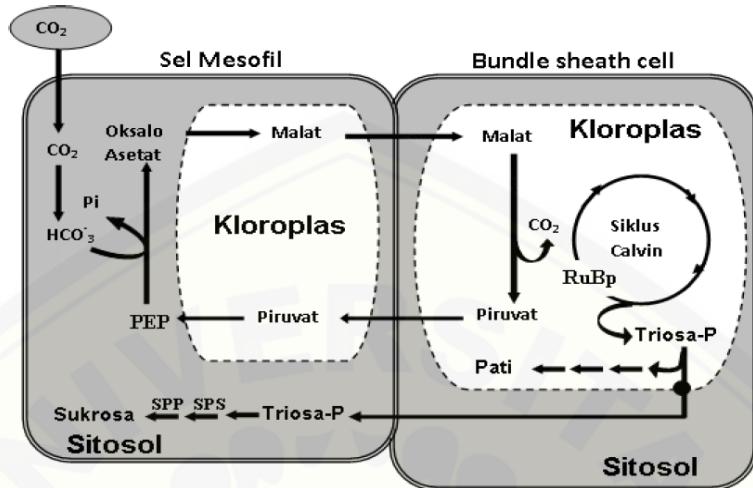
Gambar 2.2 Nitrogen sebagai unsur penyusun klorofil (A) dan auksin (B)

fotosintesis. Hasil penelitian Sonbai dkk. (2013) menunjukkan bahwa pemupukan nitrogen pada tanaman jagung dapat meningkatkan kandungan klorofil a dan b secara signifikan, serta dapat meningkatkan laju fotosintesis walaupun tidak signifikan dibandingkan kontrol, namun terdapat kecenderungan peningkatan laju fotosintesis sesuai peningkatan dosis pupuk nitrogen.

Hasil penelitian Bojovic and Markovic (2009) menunjukkan bahwa kandungan nitrogen pada tanaman gandum berhubungan erat dengan kadar klorofil daun. Peningkatan level nitrogen secara signifikan dapat meningkatkan kandungan klorofil daun pada tanaman jagung (Hokmalipour and Darbandi, 2011). Peningkatan kandungan klorofil daun dikarenakan nitrogen merupakan elemen penyusun molekul klorofil dan protein, sehingga mempengaruhi pembentukan kloroplas dan akumulasi klorofil di dalamnya.

Kapasitas fotosintesis daun terkait dengan kandungan nitrogen dikarenakan protein dari siklus Calvin dan tilakoid mewakili mayoritas nitrogen daun (Evans, 1989). Hasil penelitian Zhao *et al.* (2005) menunjukkan bahwa penurunan laju fotosintesis pada tanaman sorgum sebagai dampak dari defisiensi nitrogen. Peningkatan kandungan klorofil daun berkorelasi positif dengan kapasitas fotosintesis tanaman selama faktor-faktor lain yang mempengaruhi fotosintesis tidak menjadi pembatas. Semakin besar kapasitas fotosintesis tanaman, maka semakin besar pula sukrosa yang dapat ditranslokasikan dan disimpan pada organ-organ tanaman, khususnya organ batang pada tanaman tebu. Gambar 2.3

menunjukkan hubungan proses fotosintesis dan biosintesis sukrosa pada tanaman C4.



Gambar 2.3 Hubungan antara fotosintesis dan biosintesis sukrosa pada tanaman C4.

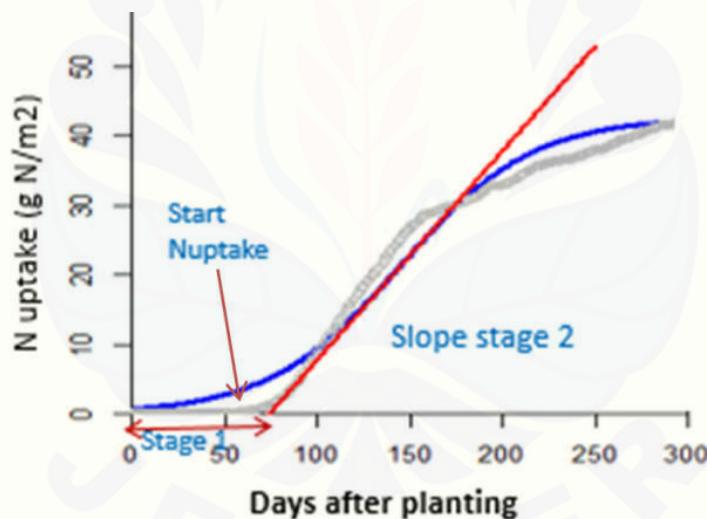
Setiap tanaman membutuhkan nitrogen dalam jumlah cukup. Kekurangan nitrogen mengakibatkan tanaman tumbuh kerdil, daun mengalami klorosis dan mudah rontok, sedangkan kelebihan nitrogen mengakibatkan tanaman mudah rebah dan terserang penyakit. Demikian pula pada tanaman tebu, kelebihan dan kekurangan pupuk N mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan, produktivitas dan kualitas tebu. Tebu menumpuk sebagian besar nitrogen dari fase awal pertumbuhan hingga kanopi bagian atas (Miphokasap *et al.*, 2012), sehingga kebutuhan nitrogen pada fase tersebut harus terpenuhi.

2.4 Pemupukan Nitrogen Pada Tanaman Tebu

Pemupukan menjadi komponen penting dalam budidaya tebu. Pemupukan bertujuan untuk menambahkan hara ke dalam tanah guna memenuhi kebutuhan nutrisi tanaman. Efisiensi penyerapan hara sangat ditentukan oleh dosis, frekuensi, cara, dan waktu aplikasi pemupukan (Hardjowigeno, 1987). Tebu membutuhkan suplai N sebesar 350 kg N/ha dengan serapan N sebesar 210 kg N/ha (Wijaya, 2016), sehingga besarnya N yang diserap oleh tebu adalah 60 persen dari suplai N. Hasil penelitian Muchow and Robertson (1994) menunjukkan bahwa tebu varietas H109P dan Q117 P juga menyerap N sebesar 60 persen dari suplai N.

Dosis pupuk yang dianjurkan oleh PG di Indonesia adalah sebesar 7 ku/ha ZA (21 persen N) dan 4 ku/ha Ponska (15:15:15) (Naruputro dan Purwono, 2009). Menurut Indrawanto dkk. (2010), dosis pemupukan tebu harus disesuaikan dengan jenis lahan dimana kisaran dosis pupuk urea 5-8 ku/ha, KCl 1-2 ku/ha dan SP-36 1-2 ku/ha. Aplikasi pupuk dilakukan 2 kali, yakni pemupukan pertama dilakukan saat tanam dengan 1/3 dosis urea, 1 dosis SP-36 dan 1/3 dosis KCl, sedangkan pemupukan kedua diberikan 1-1,5 bulan setelah pemupukan pertama dengan sisa dosis yang ada.

Pemupukan kedua yang paling tepat sebaiknya didasarkan pada kurva penyerapan N oleh tebu (Gambar 2.4). Berdasarkan kurva tersebut, aplikasi pemupukan kedua sebaiknya dilakukan ketika tanaman berumur 60-75 hari setelah tanam. Rata-rata laju penyerapan N oleh tanaman tebu sebesar 0,59 kg/ha/hari (Duong, 2007).



Gambar 2.4 Laju penyerapan N oleh tebu (Zhao and Verburg, 2015)

Nurhidayati dkk. (2013) melaporkan bahwa aplikasi 140 kg N/ha, 168 kg S/ha, dan biokompos 2.750 kg/ha pada tanaman tebu di tanah inceptisol (N total 0,14% dan pH 6,4) memberikan rendemen tertinggi (9,23%). Suplai N optimal untuk menghasilkan nilai brix tertinggi (26,85%) adalah 315 kg/ha (Nikmah dkk., 2015). Hasil tebu dan gula tertinggi (12,8 ton/ha) didapatkan pada aplikasi pupuk N sebesar 252 kg/ha (setara 1200 kg ZA) yang diberikan 2 kali pada tanah betekstur geluh dengan pH sedikit basa (Saleem *et al.*, 2012).

2.5 Biosintesis Sukrosa Daun

Organ tanaman yang sangat berperan penting dalam biosintesis sukrosa adalah daun. Biosintesis sukrosa dilakukan oleh enzim *Sucrose phosphate synthase* (SPS) yang mengkatalisis reaksi pembentukan *sucrose-6-phosphat* (S-6-P) dari *fructose-6-phosphate* (F-6-P) dan *uridin-5-diphospo glucose* (UDP-glucose). Selanjutnya phospat pada S-6-P dihidrolisis oleh enzim *sucrose phosphate phosphatase* (SPP) sehingga menghasilkan sukrosa dan fosfat anorganik (Pi) (Chandra *et al.*, 2012; Miswar dkk., 2007). Sukrosa yang dihasilkan kemudian ditranslokasikan dari jaringan asal (*source tissues*) melalui floem menuju berbagai macam jaringan penyimpan (*sink tissues*) untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Truernit, 2001). Pada tanaman tebu, sebagian besar sukrosa ditranslokasikan ke jaringan batang.



Gambar 2.5 Jalur sintesis sukrosa yang dikatalisis oleh enzim SPS

Sukrosa merupakan produk akhir asimilasi karbon pada proses fotosintesis yang terjadi di kloroplas daun (Kim *et al.*, 2000) dan merupakan bentuk karbohidrat yang mudah ditransportasikan dari jaringan asal (*source tissue*) ke jaringan simpan (*sink tissues*) (Cheng *et al.*, 1996). Sukrosa merupakan komponen penting yang dihasilkan dari tanaman tebu. Kualitas nira tebu saat panen ditentukan oleh konsentrasi sukrosa yang tinggi dan konsentrasi non-sukrosa yang rendah. Sukrosa mulai terakumulasi pada zona pemanjangan atau elongasi yaitu pada ruas-ruas tebu dan terus berlanjut hingga proses pemanjangan terhenti (Chandra *et al.*, 2012).

Akumulasi sukrosa dimulai pada internoda tebu yang sedang mengalami *elongasi* sampai pada internoda yang elongasinya berhenti. Kandungan sukrosa terendah yakni pada bagian yang sedang mengalami elongasi karena aktivitas SPS rendah sedangkan *acid invertase* tinggi (Lingle, 1997). Besarnya akumulasi sukrosa di jaringan batang tebu sangat ditentukan oleh selisih antara proses

sintesis dan degradasi sukrosa yang terjadi di daun, sehingga kandungan sukrosa batang tebu sangat terkait dengan besarnya perbedaan antara aktivitas enzim SPS dan *soluble acid invertase* (SAI) (Zhu *et al.*, 1997). Kandungan sukrosa pada internoda batang tebu yang mengalami proses elongasi khususnya pada jaringan muda sangat rendah, sedangkan aktivitas enzim *acid invertase* tinggi (Zhu *et al.*, 1997), kemudian semakin dewasa internoda batang maka semakin rendah aktivitas enzim *acid invertase* dan kandungan sukrosa meningkat. Oleh karena itu, enzim *acid invertase* menjadi kunci utama dalam pengaturan akumulasi sukrosa pada jaringan batang tebu (Gayler and Glasziou, 1972).

Sukrosa akan mengalami proses metabolisme lebih lanjut yaitu hidrolisis dan resintesis pada jaringan batang tebu (Zhu *et al.*, 1997). Hasil penelitian Miswar dkk. (2007) menunjukkan bahwa kandungan sukrosa pada internoda batang yang masih muda sangat kecil. Hal tersebut dikarenakan pada batang yang masih muda, jumlah energi dan kerangka karbon diperlukan dalam jumlah besar, sehingga jumlah sukrosa yang dihidrolisis juga semakin besar yang mengakibatkan kandungan sukrosa batang menjadi kecil.

2.6 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang permasalahan dan tujuan penelitian, maka dapat diambil hipotesis bahwa :

1. Tebu bululawang mutan memiliki rendemen yang lebih tinggi dibandingkan tebu bululawang asli.
2. Tebu bululawang mutan membutuhkan suplai N yang lebih tinggi dibandingkan tebu bululawang asli.
3. Setiap tebu bululawang mutan memiliki dosis optimum N yang berbeda dalam mencapai rendemen tertinggi.

BAB 3. METODE PERCOBAAN

3.1 Waktu dan Tempat

Percobaan ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2016 sampai Juni 2017 bertempat di Desa Sumberjeruk, Kecamatan Kalisat, Kabupaten Jember. Percobaan dilakukan pada polibag dimana tempat percobaan berada pada ketinggian 265 m dpl. Analisis fisiologis tanaman akan dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: tanaman tebu varietas Bulu Lawang yang terdiri atas M1= tanaman kontrol (rendemen 7,51 persen) dan tanaman mutan yakni M2 (rendemen 18,5 persen), M3 (rendemen 16,8 persen), dan M4 (rendemen 15,5 persen), tanah, nitrogen cair, buffer ekstraksi enzim, buffer reaksi *invertase* (*acid*, *neutral*, dan *alkaline*), buffer ekstraksi protein terlarut, reagen Bradford, 0,5 N NaOH, Resolsinol, DNS, etanol, H₃BO₃, HCl 30 persen, dan aquades.

Alat-alat yang digunakan antara lain: spektrofotometer, sentifus, inkubator, timbangan analitik, polibag 75 cm x 50 cm, vortek, penggaris, dan jangka sorong.

3.3 Rancangan Percobaan

Percobaan disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 faktor dengan faktor pertama genotipe tebu (3 mutan dan 1 kontrol) dan faktor kedua dosis pemupukan N (5 taraf), sehingga terdapat 20 kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan.

Faktor pertama adalah genotipe tebu yang diberi simbol M terdiri atas 3 mutan dan 1 kontrol, yakni :

- a. M1 : Bulu Lawang asli (kontrol)
- b. M2 : Bulu Lawang Mutan 18.5
- c. M3 : Bulu Lawang Mutan 16.8
- d. M4 : Bululawang Mutan 15.5

Faktor kedua adalah dosis pemupukan nitrogen menggunakan pupuk ZA (21% NH₄⁺) yang diberi simbol N. Penentuan dosis pupuk N didasarkan pada suplai kebutuhan tebu yakni sebesar 350 kg N/ha dengan serapan N sebesar 210 kg N/ha (Wijaya, 2016). Suplai N yang diaplikasikan dikoreksi/dikurangi dengan kandungan N tersedia yang sudah ada di tanah. Dosis 350 kg N/ha menjadi standar/kontrol dalam penelitian ini, sedangkan dosis lain ditingkatkan 10 persen dari besarnya suplai N pada kontrol. Berdasarkan hal tersebut, maka dalam penelitian ini pupuk N diberikan dalam 5 dosis, yaitu :

- a. N0 (kontrol) : Pemupukan 350 kg N/ha (6,74 g N/polibag)
- b. N1 : Pemupukan 385 kg N/ha (7,41 g N/polibag)
- c. N2 : Pemupukan 420 kg N/ha (8,10 g N/polibag)
- d. N3 : Pemupukan 455 kg N/ha (8,76 g N/polibag)
- e. N4 : Pemupukan 490 kg N/ha (9,43 g N/polibag)

Berdasarkan kombinasi perlakuan antara tanaman tebu (M) dan dosis pemupukan nitrogen (N), didapatkan denah percobaan sebagai berikut :

| | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| M2N2 (2) | M1N1 (2) | M3N3 (2) | M3N2 (1) | M2N2 (1) | M3N1 (1) |
| M1N3 (1) | M3N4 (2) | M2N1 (3) | M4N1 (1) | M4N4 (1) | M4N0 (1) |
| M4N3 (2) | M1N0 (1) | M3N1 (2) | M1N3 (2) | M1N4 (2) | M1N2 (1) |
| M2N3 (3) | M4N0 (3) | M2N4 (2) | M4N3 (1) | M4N1 (3) | M4N2 (3) |
| M3N0 (1) | M2N2 (3) | M1N3 (3) | M2N0 (3) | M1N0 (3) | M2N1 (2) |
| M1N1 (1) | M3N4 (3) | M4N2 (2) | M1N2 (2) | M3N3 (1) | M2N4 (1) |
| M3N2 (2) | M4N3 (3) | M1N4 (1) | M3N4 (1) | M3N0 (2) | M1N4 (3) |
| M4N4 (3) | M1N2 (3) | M3N0 (3) | M2N4 (3) | M1N1 (3) | M4N4 (2) |
| M2N0 (2) | M2N3 (2) | M3N2 (3) | M1N0 (2) | M3N1 (3) | M2N0 (1) |
| M3N3 (3) | M4N2 (1) | M2N1 (1) | M4N0 (2) | M2N3 (1) | M4N1 (2) |

Percobaan ini menggunakan RAL faktorial dengan model campuran.

Rumus persamaan RAL faktorial adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ij} : nilai pengamatan pada satuan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan taraf ke-i dari faktor genotipe tebu dan taraf ke-j dari faktor dosis N

- μ : nilai rata-rata populasi
 α_i : pengaruh taraf ke- i genotipe tebu
 β_j : pengaruh taraf ke- j dosis N
 $(\alpha\beta)_{ij}$: pengaruh taraf ke- i genotipe tebu dan taraf ke- j dosis N
 ϵ_{ijk} : pengaruh acak dari satuan percobaan ke- k yang memperoleh kombinasi perlakuan genotipe tebu ke- i dan dosis N ke- k .
 ijk : 1,2,....

Model yang digunakan dalam rancangan percobaan ini adalah model campuran (M tetap dan N acak). Model tersebut akan menentukan sumber keragaman dan nilai harapan kuadrat tengah seperti yang terlihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Penentuan sumber keragaman dan rumus ekspektasi kuadrat tengah model campuran

| Sumber Keragaman | db | E (KT) |
|------------------|------------|--|
| Perlakuan | (ab-1) | $\sigma_\epsilon^2 + r \sigma_T^2$ |
| A (Genotipe) | (a-1) | $\sigma_\epsilon^2 + r \sum (\alpha\beta)^2 / (a-1)(b-1) + br \sum \alpha^2 / (a-1)$ |
| B (Nitrogen) | (b-1) | $\sigma_\epsilon^2 + a r \sigma_B^2$ |
| AB | (a-1)(b-1) | $\sigma_\epsilon^2 + r \sum (\alpha\beta)^2 / (a-1)(b-1)$ |
| Error | ab(r-1) | σ_ϵ^2 |

Data yang diperoleh dari hasil percobaan dianalisis menggunakan analisis varian (anova). Apabila terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan genotipe (M), maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menggunakan uji Dunnett 5%, sedangkan untuk mengetahui dosis optimum N dalam mencapai rendemen tertinggi pada masing-masing genotipe tebu dilakukan dengan analisis regresi polinomial kuadratik.

3.4 Pelaksanaan Percobaan

Pelaksanaan percobaan terdiri atas: penyiapan bahan tanam dan media tanam, penanaman, pemeliharaan (penyiraman, pemupukan, dan pengendalian OPT), dan pengambilan sampel tanaman. Bahan tanam yang digunakan dalam percobaan ini adalah mata tunas tunggal (*single bud*) dengan ukuran panjang 4 cm. Varietas tebu yang digunakan adalah varietas Bulu Lawang (BL) asli dan

yang telah mengalami mutasi. Media tanam yang digunakan adalah tanah *top soil* yang dimasukkan ke dalam polibag 75 cm x 50 cm, kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan. Media tanam yang digunakan telah dilakukan analisis kandungan N tersedia (NH_4^+ dan NO_3^-).

Penanaman dilakukan pada polibag ukuran 75cm x 50 cm dengan menanam bibit tebu (mutan dan kontrol) yang berumur 2,5 bulan. Pemeliharaan yang cukup penting adalah penyiraman, pemupukan, dan pengendalian OPT. Penyiraman dilakukan ketika tanah cukup kering. Penyiraman tersebut hingga mencapai kondisi kapasitas lapang. Pemupukan merupakan salah satu perlakuan pada percobaan ini. Pupuk yang diberikan berupa ZA (21% N) dan dosisnya sesuai dengan perlakuan, sedangkan dosis pupuk KCl dan SP-36 sebesar 1,5 kg/ha. Pemupukan dilakukan 2 kali, yakni pada awal pindah tanam (1/3 dosis ZA, 1 dosis SP-36 dan 1/3 dosis KCl) dan pemupukan kedua dilakukan pada 2bulan setelah pindah tanam dengan sisa dosis masing-masing pupuk. Pengendalian OPT diutamakan secara preventif dengan melakukan pembersihan gulma secara berkala yakni setiap seminggu sekali. Pengendalian hama penyakit dilakukan secara kimiawi menggunakan pestisida.

Pengambilan sampel bertujuan untuk analisis di laboratorium. Sampel yang digunakan untuk analisis fisiologis adalah daun dan batang. Analisis fisiologis tanaman terdiri atas kandungan sukrosa batang (rendemen tebu), kandungan sukrosa daun, kandungan gula reduksi daun dan batang, kandungan klorofil daun, aktivitas enzim acid invertase, neutral invertase, dan alkaline invertase. Pengambilan sampel dilakukan setelah 9 bulan perlakuan. Sampel dimasukkan ke dalam plastik, kemudian dimasukkan ke dalam box es yang telah berisi es. Sampel disimpan dalam *freezer* -20°C sampai dilakukan ekstraksi.

3.5 Variabel Pengamatan

1. Ekstraksi Sukrosa dan Gula Reduksi Daun

Sukrosa dan gula reduksi daun diekstraksi menggunakan aquades. 0,5 gram sampel daun tebu digerus menggunakan *mortar-stamper* hingga menjadi tepung. Tepung sampel disuspensikan dengan 1,5 ml aquades, lalu direbus selama 10

menit. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit hingga terpisah antara supernatan dan pelet, kemudian supernatan diambil, sedangkan pelet yang tersisa disuspensikan kembali menggunakan aquades sebanyak 1,5 ml. Langkah kerja tersebut dilakukan hingga 3 kali. Supernatan ditampung dalam satu tempat, lalu digunakan untuk analisis kandungan sukrosa dan gula reduksi daun.

2. Ekstraksi Sukrosa dan Gula Reduksi Batang

Sukrosa dan gula reduksi batang diekstraksi menggunakan aquades. 0,5 gram sampel batang tebu digerus menggunakan *mortar-stamper* hingga menjadi tepung. Tepung sampel disuspensikan dengan 2 ml aquades, lalu direbus selama 10 menit. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit hingga terpisah antara supernatan dan pelet, kemudian supernatan diambil, sedangkan pelet yang tersisa disuspensikan kembali menggunakan aquades sebanyak 2 ml dan 1 ml. Langkah kerja tersebut dilakukan hingga 3 kali. Supernatan ditampung dalam satu tempat, kemudian digunakan untuk analisis kandungan sukrosa dan gula reduksi batang.

3. Kandungan Sukrosa Batang

Pengukuran kandungan sukrosa batang tebu menggunakan resolsinol (Miswar, 2001). Supernatan sebanyak 10 μ l ditambah 70 μ l NaOH 0,5 N dan divortek, kemudian dipanaskan 100°C selama 10 menit lalu didinginkan dalam air. Setelah dingin, supernatan dilakukan pewarnaan dengan menambahkan 250 μ l resolsinol dan 750 μ l HCl 30% (dikerjakan dalam lemari asam). Supernatan diinkubasi selama 8 menit pada suhu 80°C. Setelah dingin, absorbansi diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm. Total kandungan sukrosa pada batang tebu dapat digunakan sebagai dasar pengukuran rendemen tebu.

Rendemen tebu = kandungan sukrosa (mg) / sampel batang tebu yang digerus (g)

4. Kandungan Sukrosa Daun

Pengukuran kandungan sukrosa daun tebu menggunakan metode resolsinol. Supernatan sebanyak 50 μl ditambah 70 μl NaOH 0,5 N dan divortek, kemudian dipanaskan 100°C selama 10 menit lalu didinginkan dalam air. Setelah dingin, supernatan dilakukan pewarnaan dengan menambahkan 250 μl resolsinol dan 750 μl HCl 30% (dikerjakan dalam lemari asam). Supernatan diinkubasi selama 8 menit pada suhu 80°C. Setelah dingin, absorbansi diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm.

5. Kandungan Gula Reduksi Daun dan Batang

Kandungan gula reduksi daun dan batang diukur dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Miswar (2001) menggunakan reagen DNS. Supernatan sebanyak 200 μL ditambah 300 μL aquades, lalu ditambahkan 500 μL reagen DNS ke dalam campuran tersebut, kemudian dipanaskan 100°C selama 10 menit. Setelah dingin, absorbansi diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm. Kandungan gula reduksi daun maupun batang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi kurva standar glukosa.

6. Ekstraksi Enzim

Sampel daun tebu sebanyak 2 gram digerus menggunakan *mortar-stamper* dingin dengan nitrogen cair sampai menjadi tepung. Sampel tepung ditambah buffer ekstraksi sebanyak 3 kali berat sampel yaitu sebanyak 6 ml dan dicampur sampai menjadi homogenat, kemudian dimasukkan dalam *eppendorf* dan segera disimpan pada box es yang berisi es batu. Homogenat disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C, kemudian supernatan diambil dan disimpan pada suhu -20°C.

7. Aktivitas Acid Invertase

Pengukuran aktivitas enzim *acid invertase* bertujuan untuk mengetahui besarnya sukrosa yang dihidrolisis menjadi gula reduksi. Aktivitas *acid invertase* diukur berdasarkan jumlah gula reduksi yang dihasilkan dari pemecahan sukrosa

selama reaksi berdasarkan metode Arai *et al.* (1991) menggunakan buffer reaksi yang mengandung 25 mM Mops-NaOH (pH 5,5) dan 100 mM sukrosa. 350 μ l diinkubasi pada suhu 30°C selama 10 menit. Setelah 10 menit, ditambah 150 μ l sampel enzim lalu divortek. Kemudian diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 0 dan 15 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 500 μ l DNS kemudian direbus pada air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 560 nm. Aktifitas *acid invertase* didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang menghasilkan gula reduksi dari sukrosa per menit pada suhu 30°C.

8. Aktivitas *Neutral Invertase*

Aktivitas *neutral invertase* diukur berdasarkan jumlah gula reduksi yang dihasilkan dari pemecahan sukrosa selama reaksi berdasarkan metode Arai *et al.* (1991) menggunakan buffer reaksi yang mengandung 25 mM Mops-NaOH (pH 7) dan 100 mM sukrosa. 350 μ l diinkubasi pada suhu 30°C selama 10 menit. Setelah 10 menit, ditambah 150 μ l sampel enzim lalu divortek. Kemudian diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 0 dan 15 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 500 μ l DNS kemudian direbus pada air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 560 nm. Aktifitas *neutral invertase* didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang menghasilkan gula reduksi dari sukrosa per menit pada suhu 30°C.

9. Aktivitas Alkaline Invertase

Aktivitas *alkaline invertase* diukur berdasarkan jumlah gula reduksi yang dihasilkan dari pemecahan sukrosa selama reaksi berdasarkan metode Arai *et al.* (1991) menggunakan buffer reaksi yang mengandung 25 mM Mops-NaOH (pH 8,5) dan 100 mM sukrosa. 350 μ l diinkubasi pada suhu 30°C selama 10 menit. Setelah 10 menit, ditambah 150 μ l sampel enzim lalu divortek. Kemudian diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 0 dan 15 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 500 μ l DNS kemudian direbus pada air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 560 nm.

Aktifitas *alkaline invertase* didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang menghasilkan gula reduksi dari sukrosa per menit pada suhu 30°C.

10. Kandungan Klorofil Daun

Pengukuran kandungan klorofil menggunakan metode yang dilakukan oleh Wintermans and De Mots (1965) dengan pelarut etanol. Sampel yang digunakan berdasarkan luas daun. Sebanyak 12 potongan daun tebu (diameter 5,5 mm) digerus menggunakan *mortal-stamper* setelah dibekukan dengan nitrogen cair sampai menjadi tepung. Tepung sampel disuspensikan dengan 0,5 ml 10 mM H₃BO₃. Suspensi sebanyak 20 µl ditambahkan etanol sebanyak 980 µl, lalu divortek hingga homogen dan inkubasi di dalam kulkas (4°C selama 30 menit). Setelah itu, suspensi disentrifugasi pada 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 10°C. Supernatan diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 649 nm dan λ 665 nm. Konsentrasi klorofil a dan b dapat dihitung berdasarkan rumus berikut :

- a. Klorofil a = $(13,7 \times \text{Abs}665) - (5,76 \times \text{Abs}649) = \mu\text{g klorofil / cm}^2$
- b. Klorofil b = $(25,8 \times \text{Abs}649) - (7,60 \times \text{Abs}665) = \mu\text{g klorofil / cm}^2$
- c. Klorofil total = Klorofil a + Klorofil b = $\mu\text{g klorofil / cm}^2$

11. Diameter Batang

Pengukuran diameter batang bertujuan untuk mengetahui besarnya diameter batang tebu. Diameter batang juga menetukan besarnya sukrosa yang dapat diakumulasikan di dalam jaringan. Pengukuran diameter batang dilakukan pada tebu yang telah berumur 9 bulan. Pengukuran diameter batang dilakukan pada ruas pertama dari pangkal batang dengan menggunakan jangka sorong.

12. Panjang Ruas

Pengukuran panjang ruas dilakukan pada tebu yang berumur 9 bulan menggunakan penggaris. Pengukuran dilakukan pada 3 ruas terbawah, kemudian nilainya di rata-rata.

13. Jumlah Ruas

Pengukuran jumlah ruas bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak ruas yang terbentuk selama fase pertumbuhan. Jumlah ruas sangat menentukan besarnya kandungan sukrosa karena akumulasi sukrosa dimulai pada ruas-ruas yang masih muda. Pengamatan dan perhitungan jumlah ruas dilakukan ketika tebu berumur 9 bulan.

14. Jumlah Anakan

Perhitungan jumlah anakan bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak anakan yang terbentuk selama fase pertumbuhan tanaman. Setiap anakan yang tumbuh pada tanaman tebu yang telah berumur 3 bulan dihitung jumlahnya.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

1. Dosis optimum N untuk mencapai rendemen tertinggi pada tebu bululawang mutan M2 (16,93%), M3 (15,73%), dan M4 (14,83%) masing-masing 403,79 kg N/ha, 392,5 kg N/ha, dan 301,3 kg N/ha, sedangkan tebu bululawang non mutan (10,73%) sebesar 414,18 kg N/ha.
2. Kandungan sukrosa daun, gula reduksi daun, gula reduksi batang, klorofil daun, dan aktivitas enzim invertase cenderung lebih tinggi pada tebu bululawang mutan dibandingkan non mutan.
3. Peningkatan dosis N berkorelasi negatif terhadap kandungan sukrosa daun, gula reduksi daun, gula reduksi batang, klorofil daun, dan aktivitas enzim invertase, namun berkorelasi positif terhadap diameter batang, panjang ruas, jumlah ruas, dan jumlah anakan tebu.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan pengamatan lanjutan secara molekuler untuk memastikan pengaruh mutasi terhadap taraf gen pada tanaman tebu hasil mutasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Almaliotis, D., I. Therios, and M. Karatissiou. 1997. Effect of N fertilization on growth, leaf nutrient concentration and photosynthesis in three peach cultivars. *Acta Horticulturae*, 449(2): 529-534.
- Andaka, G. 2011. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Furfural Dengan Katalisator Asam Sulfat. *Teknologi*, 4(2): 180-188.
- Arai, M, H. Mori and H. Imaseki. 1991. Roles of Sucrose 4- Metabolizing Enzymes in Growth Seedlings, Purification of Acid Invertase from Growing Hipocotyls of Mung Bean Seedlings. *Plant Cell Physiol*, 32: 1292–1298.
- Bacon, P.E. 1995. N fertilization in the environment. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Batta, S.K., B. Kaur, J.S. Sital, S.K. Sandhu, and S.K. Uppal. 2011. Sucrose accumulation and internodal soluble invertase isoenzymes in plant and ratoon crops of sugarcane. *Sugar Tech.*, 13(1): 51–59.
- Bojovic, B. and A. Markovic. 2009. Correlation between N and Chlorophyll Content in Wheat (*Triticum aestivum L.*). *Kragujevac J. Sci.*, 31: 69-74.
- Bosch S., C.P.L. Grof, and F.C. Botha. 2004. Expression of neutral invertase in sugarcane. *Plant Science*, 166: 1125-1133.
- Chandra, A., R. Jain, and S. Solomon. 2012. Complexities of invertases controlling sucrose accumulation and retention in sugarcane. *Current Science*, 102(6): 857-866.
- Cheng, W.H., K.H. Im, and P.S. Chourey. 1996. Sucrose phosphate synthase expression at the cell and tissue level is coordinated with sucrose sink-to source transitions in maize leaf. *Plant Physiol*, 111: 1021-1029.
- Claussen, W., B.R. Loveys, and J.S. Hawker. 1985. Comparative investigations on the distribution of sucrose synthase activity and invertase activity within growing, mature and old leaves of some C3 and C4 plant species. *Physiol. Plant*, 65: 27S-280.
- Daughtry, C.S.T., C.I. Walthall, M.S. Kim., E.B. de Colstoun, and J.E. McMurtrey. 2000. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Rem. Sens. of Environment*, 74: 229-239.

Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. Upaya Pencapaian Target Peningkatan Produktivitas Tebu dan Rendemen Gula Nasional [serial online] <http://ditjenbun.pertanian.go.id/setditjenbun/berita-272-upaya-pencapaian-target-peningkatan-produktivitas-tebu-dan-rendemen-gula-nasional.html> (diakses 20 Juli 2016).

Drake, J.W., B. Charlesworth, D. Charlesworth, and J. F. Crow. 1998. Rates of Spontaneous Mutation. *Genetics*, 148: 1667–1686.

Duong, C.A. 2007. *Sugarcane Crop*. Binh Duong, Vietnam.

Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and Nitrogen Relationship in Leaves of C₃ Plant. *Oecologia*, 78: 9-19.

Elrod, S. and W.D. Stansfield. 2006. *Genetika: edisi keempat*. Erlangga, Jakarta.

Gayler, K.R. and K.T. Glasziou. 1972. Physiological function of acid and neutral invertase in growth and sugar storage in sugarcane. *Plant Physiol.* 27 : 25-31.

Gomathi, R. P.N.G. Rao, P. Rakkiyappan, B.P. Sundara, and S. Shiyamala. 2013. Physiological Studies on Ratoonability of Sugarcane Varieties under Tropical Indian Condition. *American Journal of Plant Sciences*, 4: 274-281.

Guscho, G.J, D.L. Anderson, and I.Y. Uzaki. 1986. Cultivar dependent sugarcane response to N. *Agron. J.*, 78: 963-970.

Hardjowigeno, S. 1987. *Ilmu Tanah*. Akademika Pressindo, Jakarta.

Hatch, M.D. and K.T. Glasziou. 1963. Sugar accumulation cycle in sugarcane. II. Relationship of invertase activity to sugar content and growth rate in storage tissue of plants grown in controlled environments. *Plant Physiol.*, 38: 344-348.

Hemalatha, S. 2015. Impact of Nitrogen Fertilization on Quality of Sugarcane under Fertigation. *IJRSL*, 2(3): 37-39.

Hokmalipour, S. and M.H. Darbandi. 2011. Effects of Nitrogen Fertilizer on Chlorophyll Content and Other Leaf Indicate in Three Cultivars of Maize (*Zea mays L.*). *World Applied Sciences Journal*, 15(12): 1780-1785.

Indrawanto, C., Purwono, Siswanto, M. Syakir, dan W. Rumini. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. ESKA Media, Jakarta.

Keputusan Menteri Pertanian. 2004. Pelepasan Tebu Varietas Bululawang sebagai Varietas Unggul. Ditetapkan di Jakarta 12 Mei 2004.

- Khan, I.A., H.U. Dahot, and A. Khatri. 2007. Study of Genetic Variability in Sugarcane Induced Mutation Breeding. *Pak. J. Bot.*, 39(5): 1489-1501.
- Kim, J.Y., A. Mahe, J. Brangeon, and J.L. Prioul. 2000. A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by water stress. Organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. *Plant Physiol.*, 124: 71-84.
- Klann, E.M., R.T. Chetelat, and A.B. Bennett. 1993. Expression of acid invertase gene controls sugar composition in tomato (*Lycopersicon*) fruit. *Plant Physiol.*, 103: 863–870.
- Kumara, A.D.S. and D.C. Bandara. 2002. Effect of N Fertilizer on Yield and Quality Parameters of Three Sugarcane Varieties. *Tropical Agricultural Research*, 14:117-127.
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lingle, S.E. 1997. Seasonal Internode Development and Sugar Metabolism in Sugarcane. *Crop Sci.*, 37 : 1222-1227.
- Liputan 6. 2016. Produksi Gula Nasional 2015 Meleset dari Target [serial online <http://bisnis.liputan6.com/read/2410780/produksi-gula-nasional-2015-meleset-dari-target>] (diakses 17 Juli 2016).
- Ma, H., H.H. Albert, R. Paull, and P.H. Moore. 2000. Metabolic engineering of invertase activities in different subcellular compartments affects sucrose accumulation in sugarcane cells. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 1021–1030.
- Mao, L., F. Que, and G. Wang. 2006. Sugar metabolism and involvement of enzymes in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) stems during storage. *Food Chemistry*, 98: 338–342.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, New York.
- Meinzer, F.C. and J. Zhu. 1998. N stress reduces the efficiency of the C4 CO₂ concentrating system, and therefore quantum yield, in *Saccharum* (sugarcane) species. *Journal of Experimental Botany*, 49 (324): 1227-1234.
- Miceli, F.A.G., M.A.R. Mendiola, N.O. Alejo, R.M. Salas, L. Dendooven, and C.A. Castro. 2002. Relationship between sucrose accumulation and activities of sucrose-phosphatase, sucrose synthase, neutral invertase and soluble acid invertase in micropropagated sugarcane plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 24(4): 441-446.

- Miphokasap, P., K. Honda, C. Vaiphasa, M. Souris, and M. Nagai. 2012. Estimating Canopy Nitrogen Concentration in Sugarcane Using Field Imaging Spectroscopy. *Remote Sens.*, 4: 1651-1670.
- Miron, D. and A.A. Schaffer. 1990. Sucrose phosphate synthase, sucrose synthase and invertase activities in developing fruit of *Lycopersicum esculentum* Mill and sucrose accumulating *Lycopersicum hirsutum*. *Plant Physiol.*, 95: 623-627.
- Miswar. 2001. Aktifitas Enzim Metabolisme Sukrosa dan Perubahan Sintesis Protein Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Pada Kondisi Cekaman Garam (NaCl) Tinggi. *Laporan Penelitian*. Universitas Jember.
- Miswar. 2007. Peningkatan Biosintesis Sukrosa Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Melalui Over Ekspresi Gen *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS). *Disertasi*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Miswar, D.E. Munandar, dan U. Solikhah. 2016. Perakitan tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) rendemen tinggi melalui mutasi dna secara kimiawi untuk mendukung program swasembada gula pemerintah. *Laporan Akhir Penelitian Strategis Nasional*. Jember: Universitas Jember.
- Moore, P.H. 1995. Temporal and spatial regulation of sucrose accumulation in the sugarcane stem. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22: 661–679.
- Muchow, R.C. and M.J. Robertson. 1994. Relating crop nitrogen uptake to sugarcane yield. *Proceedings of Australian Society of Sugarcane Technologists*.
- Naruputro, A. dan Purwono. 2009. Pengelolaan Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) di Pabrik Gula Krebet Baru, PT. PG. Rajawali I, Malang, Jawa Timur; dengan Aspek Khusus Mempelajari Produktivitas pada Tiap Kategori Tanaman. Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura. Intsitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nikmah, N.L., K.A . Wijaya, dan Setiyono. 2015. Respon Pertumbuhan vegetatif dan Kadar Gula Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) terhadap Suplai Nitrogen. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1-3.
- Nurhidayati, A. Basit, dan Sunawan. 2013. Hasil Tebu Pertama dan Keprasan serta Efisiensi Penggunaan Hara N dan S akibat Substitusi Amonium Sulfat. *J. Agron. Indonesia*, 41(1) : 54-61.
- Pan, Y.Q., H.L. Luo, and Y.R. Li. 2009. Soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase: Key enzymes in regulating sucrose accumulation in sugarcane stalk. *Sugar Tech*, 11: 28–33.

- Permentan. 2015. Pedoman Budidaya Tebu Giling yang Baik. Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- P3GI. 2016. Diskripsi Varietas Tebu [serial online] <http://p3gi.co.id> (diakses tanggal 20 Juli 2016).
- Rosmarkam, A. dan N.W. Yuwono. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Kanisius, Yogyakarta.
- Sachdeva, M., A.P.S. Mann, and S.K. Batta. 2003. Multiple forms of soluble invertases in sugarcane juice: Kinetic and thermodynamic analysis. *Sugar Tech*, 5: 31–35.
- Sacher, J.A., M.D. Hatch, and K.T. Glasziou. 1963. Sugar accumulation cycle in sugar cane III. Physical and metabolic aspects of cycle in immature storage tissues. *Plant Physiol.*, 38: 348-359.
- Saleem, M.F., A. Ghaffar, S.A. Anjum, M. Akhtar, Cheema, and M.F. Bilal. 2012. Effect of N on Growth and Yield of Sugarcane. *Journal American Society of Sugar Cane Technologists*, 32: 75-93.
- Shiratake, K. 2007. Genetics of sucrose transporter in plants. Global Science Books. *Genomes and Genomic* 1: 73-80.
- Siswoyo, T.A., I. Oktavianawati, U. Murdiyanto, dan B. Sugiharto. 2007. Changes of sucrose content and invertase activity during sugarcane stem storage. *Indonesia Journal of Agricultural Science*, 8(2): 75-81.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal dalam Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*, 22(2): 70-77.
- Sonbai, J.H.H, D. Prajitno, A. Syukur. 2013. Pertumbuhan dan Hasil Jagung pada berbagai Pemberian Pupuk Nitrogen di Lahan Kering Regosol. *Ilmu Pertanian*, 16(1): 77-89.
- Sturm, A. 1999. Invertases: primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol.*, 121: 1-8.
- Suwarto, Y. Octavianty, dan S. Hermawati. 2014. *Top 15 Tanaman Perkebunan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Suzuki, D.T., A.J.F. Griffiths, J.H. Miller, and R.C. Lewontin. 1993. *An Introduction to Genetic Analysis*. W.H. Freeman and Co., New York.
- Truernit, E. 2001. Plant physiology: The importance of sucrose transporters. *Current Biology*, 11:169–171.

- Uys, L., F.C. Botha, S.J.H. Hofmeyr, and J.M. Rohwer. 2007. Kinetic model of sucrose accumulation in maturing sugarcane culm tissue. *Phytochemistry*, 68: 2375-2392.
- Vorster, D.J. and F.C. Botha. 1999. Sugarcane internodal invertases and tissue maturity. *Journal of Plant Physiology*, 155: 470–476.
- Whittaker, A. and F.C. Botha. 1997. Carbon partitioning during sucrose accumulation in sugarcane internodal tissue. *Plant Physiology*, 115: 1651-1659.
- Wijaya, K.A. 2016. Effects of Si-Fertilizer Application through the Leaves on Yield and Sugar Content of Sugarcane Grown in Soil Containing Abundant N. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9: 158-162.
- Wintermans, J.F.G.H. and A. De Mots. 1965. Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll and Their Pheophytins in Ethanol. *Biochim. Biophys. Acta*, 109: 448-453.
- Wyse, R.E., E. Zamski, and A.D. Tomos. 1986. Turgor regulation of sucrose transport in sugar beet taproot tissue. *Plant Physiol.*, 81: 478-481.
- Zhao, D., K.R. Reddy, V.G. Kakania, and V.R. Reddy. 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. *Europ. J. Agronomy*, 22: 391-403.
- Zhao, Z. and K. Verburg. 2015. Modelling nitrogen uptake by sugarcane crops to inform synchrony of N supply from controlled release fertiliser. 21st International Congress on Modelling and Simulation, Gold Coast, Australia.
- Zhu, Y.J., E. Komor, and P.H. Moore. 1997. Sucrose Accumulation in the Sugarcane Stem Is Regulated by the Difference between the Activities of Soluble Acid Invertase and Sucrose Phosphate Synthase. *Plant Physiol.*, 111 (5): 609-616.
- Zhu, Y.J., H.H. Albert, and P.H. Moore. 2000. Differential expression of soluble acid invertase genes in the shoots of high-sucrose and low-sucrose species of *Saccharum* and their hybrids. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 193-199.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Karakteristik Tebu Varietas Bululawang

Varietas Bululawang (BL) adalah hasil pemutihan varietas yang ditemukan pertama kali di Kecamatan Bululawang, Malang. BL lebih cocok pada lahan-lahan ringan (geluh /lat berpasir) dengan drainase baik dan pemupukan N yang cukup. Sementara itu, pada lahan berat dengan drainase terganggu tampak keragaan pertumbuhan tanaman sangat tertekan. BL memerlukan lahan dengan kondisi kecukupan air dengan drainase baik. BL merupakan varietas yang selalu tumbuh dengan munculnya tunas-tunas baru atau disebut sogolan. Oleh karena itu, potensi bobot tebu akan sangat tinggi karena apabila sogolan ikut dipanen akan menambah bobot tebu secara nyata. Hasil tebu, rendemen dan hablur gula varietas BL masing-masing 94,3 ton/ha, 7,51%, dan 6,90 ton/ha (P3GI, 2016).

Lampiran 2. Hasil analisis ragam seluruh variabel percobaan

Kandungan Sukrosa Batang

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 351,08 | | | | |
| M | 3 | 325,58 | 108,53 | 164,43 ^{**} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 17,58 | 4,40 | 2,28 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 7,92 | 0,66 | 0,34 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 77,22 | 1,93 | | | |
| Total | 59 | 428,29 | | | | |

Kandungan Sukrosa Daun

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 16,54 | | | | |
| M | 3 | 15,71 | 5,24 | 130,46 ^{**} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 0,35 | 0,09 | 0,69 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 0,48 | 0,04 | 0,31 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 5,16 | 0,13 | | | |
| Total | 59 | 21,70 | | | | |

Kandungan Gula Reduksi Daun

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 18,81 | | | | |
| M | 3 | 3,57 | 1,19 | 2,31 ^{tn} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 9,08 | 2,27 | 1,45 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 6,16 | 0,51 | 0,33 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 62,63 | 1,57 | | | |
| Total | 59 | 81,44 | | | | |

Kandungan Gula Reduksi Batang

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 16,49 | | | | |
| M | 3 | 3,95 | 1,32 | 1,66 ^{tn} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 3,00 | 0,75 | 0,85 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 9,53 | 0,79 | 0,90 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 35,44 | 0,89 | | | |
| Total | 59 | 51,93 | | | | |

Kandungan Klorofil a

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 1071,46 | | | | |
| M | 3 | 542,66 | 180,89 | 7,80 ^{**} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 250,53 | 62,63 | 1,90 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 278,26 | 23,19 | 0,70 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 1321,91 | 33,05 | | | |
| Total | 59 | 2393,37 | | | | |

Kandungan Klorofil b

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 626,06 | | | | |
| M | 3 | 194,27 | 64,76 | 2,88 ^{tn} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 161,61 | 40,40 | 0,25 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 270,17 | 22,51 | 0,14 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 6427,03 | 160,68 | | | |
| Total | 59 | 7053,09 | | | | |

Kandungan Klorofil Total

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 2100,10 | | | | |
| M | 3 | 1068,18 | 356,06 | 14,48 ** | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 736,84 | 184,21 | 0,76 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 295,08 | 24,59 | 0,10 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 9701,97 | 242,55 | | | |
| Total | 59 | 11802,07 | | | | |

Diameter Batang

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 0,57 | | | | |
| M | 3 | 0,32 | 0,11 | 6,34 ** | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 0,04 | 0,01 | 0,67 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 0,20 | 0,02 | 1,12 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 0,61 | 0,02 | | | |
| Total | 59 | 1,17 | | | | |

Panjang Ruas

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 15,22 | | | | |
| M | 3 | 5,35 | 1,78 | 3,55 * | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 3,85 | 0,96 | 1,03 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 6,02 | 0,50 | 0,54 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 37,29 | 0,93 | | | |
| Total | 59 | 52,52 | | | | |

Jumlah Ruas

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 2,38 | | | | |
| M | 3 | 0,48 | 0,16 | 1,55 ^{tn} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 0,66 | 0,16 | 0,99 ^{tn} | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 1,24 | 0,10 | 0,63 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 6,59 | 0,16 | | | |
| Total | 59 | 8,97 | | | | |

Jumlah Anakan

| SK | db | JK | KT | FH | FT 5% | FT 1% |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|--------------|--------------|
| Perlakuan | 19 | 28,03 | | | | |
| M | 3 | 3,27 | 1,09 | 0,85 ^{tn} | 3,49 | 5,95 |
| N | 4 | 9,38 | 2,35 | 3,19* | 2,61 | 3,83 |
| M x N | 12 | 15,37 | 1,28 | 1,74 ^{tn} | 2,00 | 2,66 |
| Galat | 40 | 29,41 | 0,74 | | | |
| Total | 59 | 57,44 | | | | |

Keterangan:

- SK : Sumber Keragaman
- db : Derajat Bebas
- JK : Jumlah Kuadrat
- KT : Kuadrat Tengah
- FH : F Hitung
- FT : F Tabel

Lampiran 3. Hasil analisis Uji Dunnett 5%

Kandungan Sukrosa Batang (Rendemen)

| Genotipe | Rata-rata | Selisih | Dunnett 5% | Notasi |
|-----------------|------------------|----------------|-------------------|---------------|
| M2 | 16,93 | M2 - M1 | 6,20 | a |
| M3 | 15,73 | M3 - M1 | 5,00 | a |
| M4 | 14,83 | M4 - M1 | 4,10 | a |
| M1 (Kontrol) | 10,73 | M1 - M1 | 0,00 | b |

Kandungan Sukrosa Daun

| Genotipe | Rata-rata | Selisih | Dunnett 5% | Notasi |
|-----------------|------------------|----------------|-------------------|---------------|
| M2 | 3,00 | M2 - M1 | 1,10 | a |
| M3 | 3,15 | M3 - M1 | 1,26 | a |
| M4 | 3,06 | M4 - M1 | 1,17 | a |
| M1 (Kontrol) | 1,89 | M1 - M1 | 0,00 | b |

Kandungan Gula Reduksi Batang

| Genotipe | Rata-rata | Selisih | Dunnett 5% | Notasi |
|-----------------|------------------|----------------|-------------------|---------------|
| M2 | 4,81 | M2 - M1 | 0,37 | a |
| M3 | 4,99 | M3 - M1 | 0,54 | a |
| M4 | 5,13 | M4 - M1 | 0,69 | a |
| M1 (Kontrol) | 4,45 | M1 - M1 | 0,00 | a |

Kandungan Gula Reduksi Daun

| Genotipe | Rata-rata | Selisih | Dunnett 5% | Notasi |
|--------------|-----------|---------|------------|--------|
| M2 | 11,43 | M2 - M1 | 0,64 | a |
| M3 | 11,33 | M3 - M1 | 0,54 | a |
| M4 | 11,17 | M4 - M1 | 0,37 | a |
| M1 (Kontrol) | 10,79 | M1 - M1 | 0,00 | a |

Kandungan Klorofil Total

| Genotipe | Rata-rata | Selisih | Dunnett 5% | Notasi |
|--------------|-----------|---------|------------|--------|
| M2 | 113,76 | M2 - M1 | 10,57 | a |
| M3 | 112,61 | M3 - M1 | 9,42 | a |
| M4 | 107,57 | M4 - M1 | 4,38 | b |
| M1 (Kontrol) | 103,19 | M1 - M1 | 0,00 | b |

Lampiran 4. Dokumentasi pelaksanaan penelitian



Pindah tanam



Pemupukan pada awal pindah tanam



Pemupukan 2 bulan setelah pindah tanam



Tebu usia 9 bulan



Sampel daun



Penimbangan sampel daun dan batang



Sentrifugasi sampel daun dan batang



Pengukuran absorbansi



Kunjungan dosen pembimbing