



**PENGARUH CEKAMAN SALINITAS TERHADAP KANDUNGAN
 γ -AMINO BUTYRIC ACID (GABA) PADA PADI KETAN
HITAM (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) SELAMA
FASE VEGETATIF DAN GENERATIF**

SKRIPSI

Oleh

**Anandita Linggar Putri Laksono
191510501115**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
JEMBER
2023**



**PENGARUH CEKAMAN SALINITAS TERHADAP KANDUNGAN
 γ -AMINO BUTYRIC ACID (GABA) PADA PADI KETAN
HITAM (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) SELAMA
FASE VEGETATIF DAN GENERATIF**

*Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana
pada Program Studi Agroteknologi*

SKRIPSI

Oleh

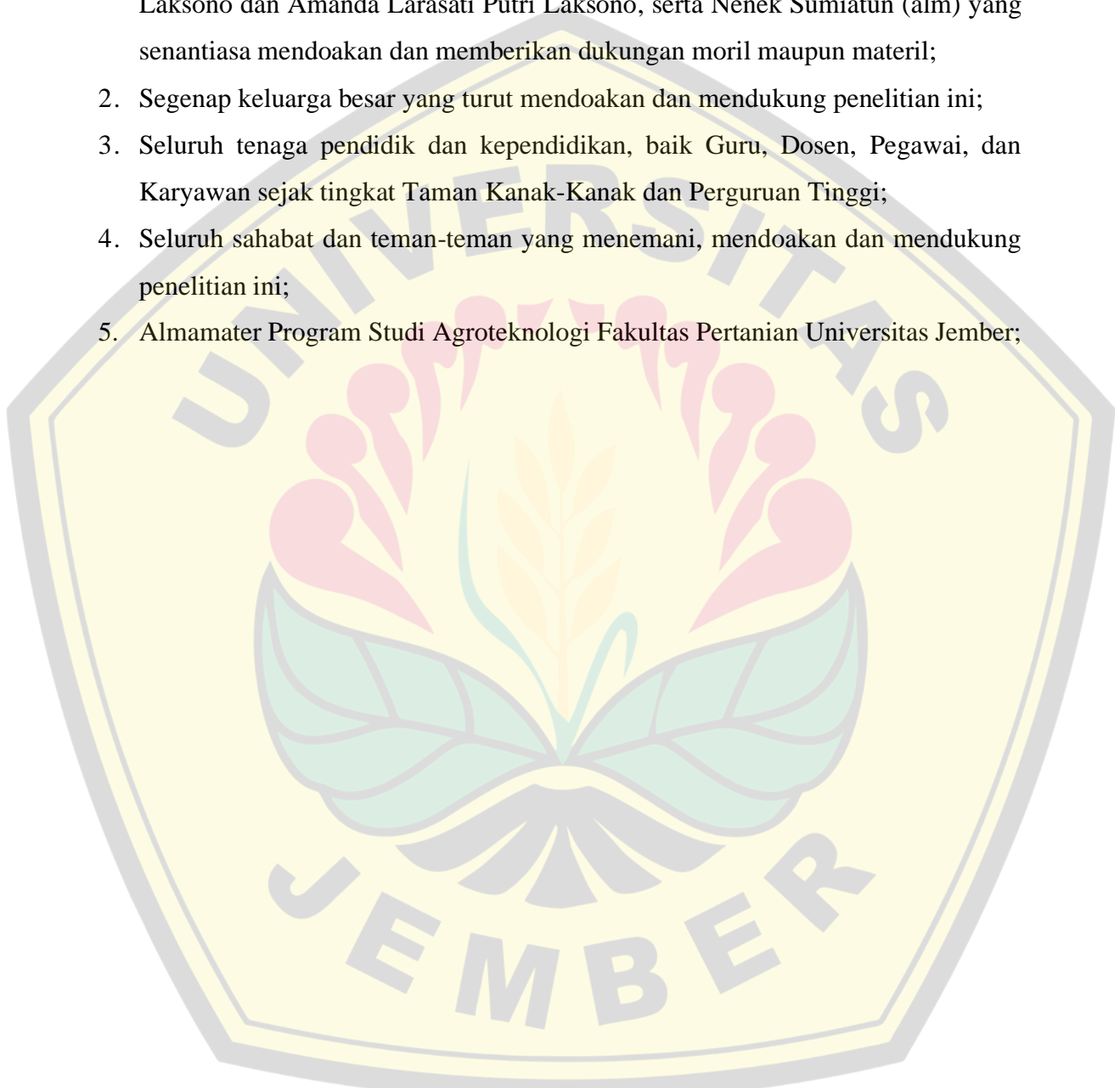
**Anandita Linggar Putri Laksono
191510501115**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
JEMBER
2023**

PERSEMBAHAN

Dengan puji syukur kehadiran Allah SWT, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Bambang Supeno dan Ibu Ummi Hasanah, kedua adik tercinta Bimo Adjie Laksono dan Amanda Larasati Putri Laksono, serta Nenek Sumiatun (alm) yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan moril maupun materil;
2. Segenap keluarga besar yang turut mendoakan dan mendukung penelitian ini;
3. Seluruh tenaga pendidik dan kependidikan, baik Guru, Dosen, Pegawai, dan Karyawan sejak tingkat Taman Kanak-Kanak dan Perguruan Tinggi;
4. Seluruh sahabat dan teman-teman yang menemani, mendoakan dan mendukung penelitian ini;
5. Almamater Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember;



MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(Q.S. Insyirah: 5-6)

“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat-Ku) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka pasti adzab-Ku sangat berat”
(Q.S. Ibrahim: 7)

“All blame is wasting time. No matter how much fault you find with another, and regardless of how much you blame it, it will not change”
(Wayne Dyer)

“Work hard and work smart on your urges, give as much as you could but don't be too hard on yourself to pursue it. Don't worry with something not happened yet, because everything depends on your own mind”
(Anandita Linggar Putri Laksono)



PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anandita Linggar Putri Laksono

NIM : 191510501115

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Kandungan γ -Aminobutyric Acid (GABA) pada Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa L. var. Glutinosa*) selama Fase Vegetatif dan Generatif* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada instansi manapun serta bukan karya tulis plagiasi. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 28 Juli 2023

Yang menyatakan,



(Anandita Linggar Putri Laksono)

NIM 191510501115

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul *Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Kandungan γ -Aminobutyric Acid (GABA) pada Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa L. var. Glutinosa*) selama Fase Vegetatif dan Generatif* telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Pertanian Universitas Jember pada:

Hari : Jumat
Tanggal : 28 Juli 2023
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Pembimbing

1. Pembimbing Utama

Nama : Prof Tri Agus Siswoyo, S.P.,
M.Agr., Ph.D.
NIP : 197008101998031001

(.....)

Penguji

2. Penguji Utama

Nama : Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P.,
M.Sc., Ph.D.
NIP : 198102042015041001

(.....)

3. Penguji Anggota 1

Nama : Mohammad Ubaidillah, S.Si.,
M.Agr., Ph.D.
NIP : 198612112019031008

(.....)

ABSTRAK

Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Kandungan γ -Aminobutyric Acid (GABA) pada Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama Fase Vegetatif dan Generatif, Anandita Linggar Putri Laksono; 191510501115; 2023; 88 halaman: Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Padi Ketan Hitam merupakan salah satu kultivar padi hitam yang termasuk ke dalam padi berpigmen. Pigmen yang terkandung di dalam padi berpigmen menunjukkan adanya kandungan biokimia seperti asam amino, yakni γ -Aminobutyric Acid (GABA). GABA, asam amino non-protein empat karbon memiliki berbagai fungsi pada tanaman dan juga tergolong sebagai antioksidan. Sintesis GABA melalui GABA *shunt* dapat berasal dari reaksi enzimatik dekarboksilasi glutamat oleh enzim *glutamate decarboxylase* (GAD), degradasi poliamina maupun reaksi non-enzimatik dari prolin saat cekaman. Pada tanaman, pembentukan GABA akan meningkat apabila dalam keadaan cekaman salinitas karena dapat mengurangi tingkat *reactive oxygen species* (ROS). Cekaman salinitas merupakan cekaman abiotik yang menyebabkan ketidakseimbangan rasio ion Na^+/K^+ dengan Cl^- sehingga penyerapan ion pada tanaman menjadi terganggu. Padi memiliki ambang batas salinitas sebesar 30 mM NaCl. Fase hidup pada padi yang paling responsif saat terjadi cekaman adalah fase vegetatif dan generatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA pada padi Ketan Hitam selama fase vegetatif dan generatif. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), yakni dengan faktor konsentrasi 0 dan 80 mM NaCl, serta faktor fase tanaman pemberian cekaman yang akan diberikan pada fase vegetatif dan generatif. Pengaplikasian cekaman salinitas menyebabkan perubahan kandungan GABA pada padi Ketan Hitam. Pengaplikasian 80 mM NaCl dapat meningkatkan kandungan GABA pada padi Ketan Hitam selama fase vegetatif dan generatif. Pengaplikasian 80 mM NaCl menunjukkan hasil 8,21 mg/100 g pada fase vegetatif dan 8,55 mg/g pada fase generatif

Kata Kunci: *Cekaman Salinitas, Kandungan GABA, Padi Ketan Hitam*

ABSTRACT

Effect of Salinity Stress On Γ -Aminobutyric Acid (GABA) in Black Glutinous Rice (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) during Vegetative and Generative Phase, Anandita Linggar Putri Laksono; 191510501115; 2023; 88 pages: Study Program of Agrotechnology; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Black Glutinous Rice is pigmented rice in Black Rice cultivars. Pigment on Black Glutinous Rice shows a biochemical such as amino acid, γ -Aminobutyric Acid (GABA). GABA, non-protein amino acids has four carbons and plant metabolism role under normal and or stress condition. GABA biosynthesis can possibly occur via three pathways, via GABA shunt, by proline, and by polyamine degradation. Its biosynthesis enhances on salinity stress condition for reduces level of reactive oxygen species (ROS). Salinity stress is the commonly abiotic stresses that will lead ion toxicity and imbalance in the ratio of Na^+/K^+ to Cl^+ , so that the uptake of ions in plants is disrupted. Rice has a salinity threshold of 30 mM NaCl. The life phases in rice that are most responsive when stress occurs are the vegetative and generative phases. This study aims to determine the effect of salinity stress on GABA content in Black Glutinous Rice during the vegetative and generative phases. The method used in this study was a Completely Randomized Design (CRD), with concentration factors of 0 and 80 mM NaCl, and plant phase factors that the concentration which were given to the vegetative and generative phases. Salinity stress application causes changing of the GABA content in Black Glutinous Rice. Application of 80 mM NaCl in the vegetative dan generative phase proved a rapid increase the GABA content in Black Glutinous Rice. Application of 80 mM NaCl on GABA content has a result 8,21 mg/100g at vegetative phase and 8,55 mg/100g at generative phase.

Keywords: *Black Glutinous Rice, GABA content, Salinity Stress*

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Kandungan γ -Aminobutyric Acid (GABA) pada Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama Fase Vegetatif dan Generatif**” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Program Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan peran berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember Bapak Prof. Dr. Ir. Soetrisno, M.P.;
2. Koordinator Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember Bapak Drs. Yagus Wijayanto, M.A, Ph.D.;
3. Dosen Pembimbing Skripsi Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D. yang telah memberikan banyak ilmu, saran, masukan, motivasi dan nasehat dalam membimbing dan mendampingi dengan sabar selama proses penyusunan skripsi;
4. Dosen Penguji Utama Bapak Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D. dan Dosen Penguji Anggota Bapak Mohammad Ubaidillah, S.P., M.Agr., Ph.D. atas koreksi, saran, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi;
5. Dosen Pembimbing Akademik Bapak Tri Wahyu Saputra, S.TP., M.Sc. yang senantiasa membimbing sejak awal perkuliahan;
6. Segenap Dosen, Pegawai, dan Karyawan Fakultas Pertanian Universitas Jember, khususnya Program Studi Agroteknologi yang telah memberikan ilmu, pengalaman dan pelayanan serta fasilitas selama menempuh pendidikan Strata Satu;
7. Orang tua tercinta Bapak Bambang Supeno dan Ibu Ummi Hasanah, kedua Adik tercinta Bimo Adjie Laksono dan Amanda Larasati Putri Laksono, serta Mas Anjas Happy Prayoga yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan moril maupun materil;

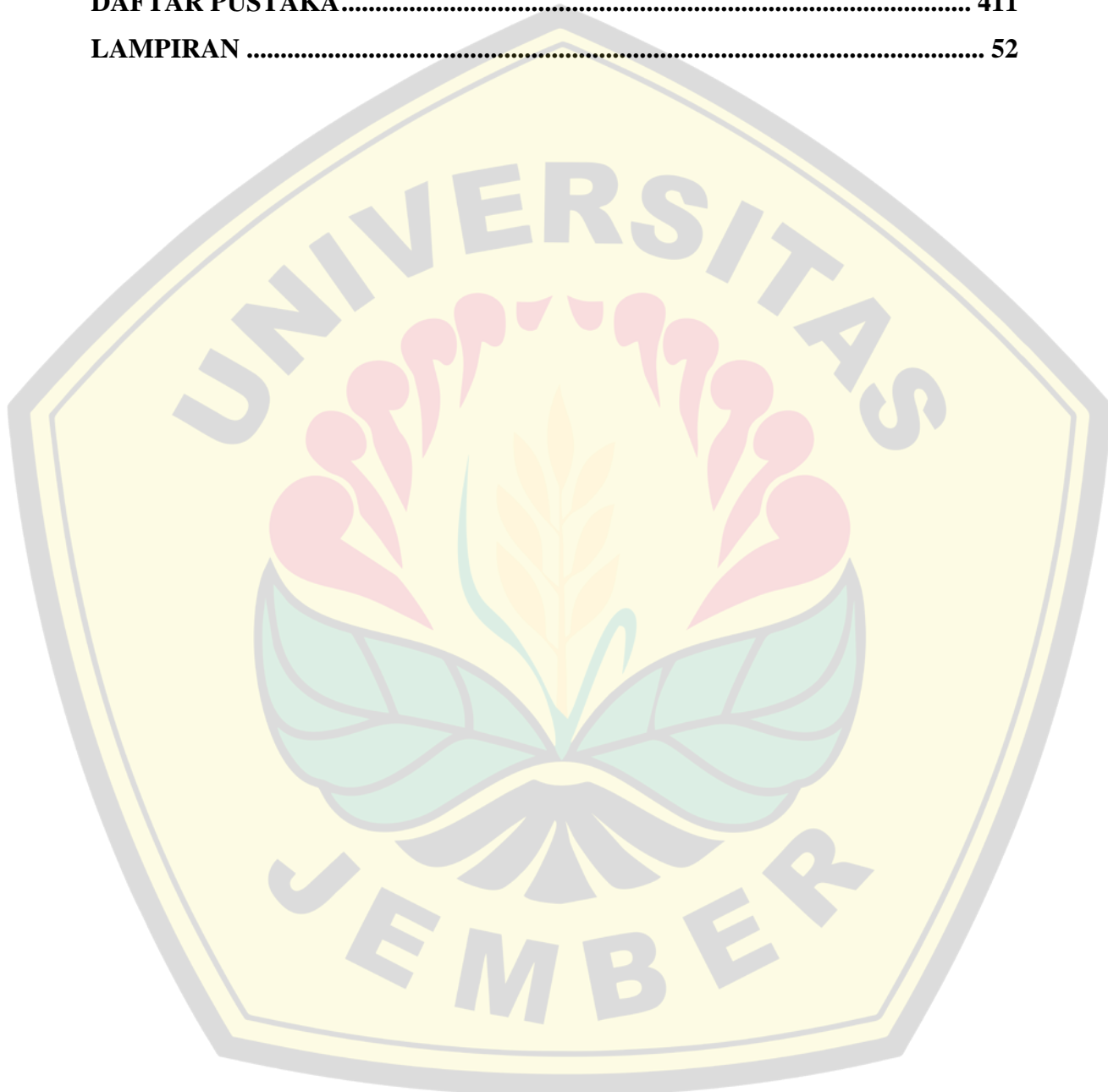
8. Teman-teman riset di Laboratorium Nutrasetikal dan Farmasetikal UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (CDAST) Universitas Jember;
9. Okta Hadina Alfiana, Farizha Amalia Radiansyah, dan Alief Rizky Ariyono selaku teman agroteknologi angkatan 2019 dengan minat riset bioteknologi yang telah menemani dan mendukung selama perkuliahan;
10. Teman-teman dari UKM Chorus Rusticarum yang selalu memberikan semangat dan tempat untuk mencari hiburan;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu dan memberi dukungan dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir hingga mendapatkan gelar Sarjana Pertanian.

Penulis telah berusaha dengan sebaik-baiknya dalam menyelesaikan tanggung jawab penyusunan skripsi. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis berharap adanya saran dan kritik yang sifatnya membangun terhadap skripsi ini sehingga dapat menjadikan skripsi ini lebih baik. Semoga segala sesuatu yang tertulis di dalam skripsi ini dapat memberikan informasi bagi para pembaca.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Padi Berpigmen	4
2.2 Cekaman Salinitas	6
2.3 Metabolisme GABA	9
2.4 Hipotesis	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Pelaksanaan Penelitian	13
3.4 Variabel Pengamatan	19
3.5 Analisis Data	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil	22

4.2 Pembahasan.....	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	400
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA.....	411
LAMPIRAN	52



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam	23
Tabel 4.2	Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Total Protein Terlarut pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam.....	29
Tabel 4.3	Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Klorofil-a, Klorofil-b, Karoten, Total Klorofil pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam.....	30
Tabel 4.4	Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Nilai IC50 ABTS dan Nilai IC50 Hidroksil pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam.....	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Padi Varietas Ketan Hitam.....	5
Gambar 2.2 Respon Tanaman terhadap Cekaman Salinitas.....	7
Gambar 2.3 Struktur Kimia γ -Aminobutyric Acid (GABA).....	9
Gambar 2.4 Mekanisme Biosintesis γ -Aminobutyric Acid (GABA).....	10
Gambar 2.5 GABA <i>Shunt</i> pada Tanaman di bawah Kondisi Cekaman.....	11
Gambar 3.1 Diagram Alir Percobaan Penelitian.....	14
Gambar 3.2 Alur Waktu Prosedur Penelitian.....	14
Gambar 4.1 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Vegetatif.....	22
Gambar 4.2 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Generatif.....	22
Gambar 4.3 Kandungan GABA selama Tahap Cekaman Salinitas Pemulihan.....	26
Gambar 4.4 Kandungan Asam Amino Bebas selama Tahap Cekaman Salinitas Pemulihan.....	27
Gambar 4.5 Rasio Klorofil A/B selama Tahap Cekaman dan Pemulihan.....	31
Gambar 4.6 Rasio Karotenoid/Total Klorofil selama Tahap Cekaman dan Pemulihan.....	31

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi merupakan salah satu tanaman utama yang dibudidayakan di Indonesia dan terbagi menjadi dua jenis padi, yakni padi berpigmen dan tidak berpigmen (Vichapong *et al.*, 2010). Adanya pigmen pada tanaman padi menunjukkan adanya kandungan senyawa biokimia, seperti antioksidan dan asam amino (Deng *et al.*, 2013; Dwiatmini dan Afza, 2018). An *et al.* (2010), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa beberapa contoh varietas padi berpigmen antara lain padi hitam, padi merah dan padi cokelat. Padi Ketan Hitam termasuk ke dalam salah satu kultivar dari padi hitam yang mengandung antioksidan antosianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultivar padi ketan lainnya (Setyaningsih *et al.*, 2015; Amrinola *et al.*, 2021). Tanaman padi mengalami beberapa fase hidup selama pertumbuhan dan perkembangannya, yakni fase vegetatif, fase generatif, dan fase pematangan (Yuzugullu *et al.*, 2017). Shelp *et al.* (2021), menyebutkan faktor dalam kegiatan budidaya tanaman padi berpigmen tidak jauh berbeda dengan tanaman padi non pigmen, seperti iklim. Iklim salah satunya adalah cekaman atau stress yang dapat menyebabkan beberapa kondisi yang mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kondisi cekaman atau stress baik cekaman abiotik maupun biotik yang terjadi pada tanaman dapat meningkatkan tingkat *reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan senyawa radikal yang dapat memicu kerusakan tanaman (Abdillah *et al.*, 2015).

Kerusakan tanaman terjadi karena adanya kerusakan sel pada tanaman tersebut akibat akumulasi ROS (Shelp *et al.*, 2021). Cekaman yang umum terjadi pada kegiatan budidaya padi adalah cekaman salinitas (Reddy *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2021). Cekaman salinitas adalah salah satu cekaman abiotik yang menunjukkan kondisi tanah atau media tanam mengalami ketidakseimbangan rasio ion Na^+/K^+ dengan Cl^- yang berada pada konsentrasi yang tinggi (Khanna *et al.*, 2020). Ketidakseimbangan rasio Na^+ dan K^+ menyebabkan adanya gangguan penyerapan unsur hara seperti NO_3 , Ca^{2+} , dan Zn (Sopandie, 2013). Cekaman salinitas ini menyebabkan toksisitas sehingga mengganggu keseimbangan senyawa dalam tanaman. Cekaman salinitas dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan tanaman apabila melebihi ambang

batas toleran pada suatu tanaman tersebut. Suatu tanaman disebut toleran salinitas jika mampu hidup di atas kisaran nilai 150 mM NaCl. Tanaman padi memiliki ambang batas salinitas sebesar 30 mM dengan penurunan hasil sebesar 12 persen per 10 mM (Zannati, 2015; Anosheh *et al.*, 2016).

Cekaman salinitas yang terjadi pada budidaya tanaman padi dapat terjadi sewaktu-waktu selama fase hidupnya. Fase vegetatif dan generatif merupakan fase yang paling responsif saat mengalami cekaman (Heenan *et al.*, 1988; Rad *et al.*, 2011; Ganie *et al.*, 2019). Hal ini sejalan dengan Zeng *et al.* (2001), fase hidup tertentu pada tanaman padi sangat peka terhadap cekaman salinitas. Cekaman salinitas yang terjadi selama budidaya padi dapat mempengaruhi morfologi serta kandungan biokimia tanaman seperti protein dan asam amino (Barus *et al.*, 2021; Jamil *et al.*, 2012; Hakim *et al.*, 2014). Salah satu senyawa asam amino yang terdapat pada tanaman padi adalah γ -Aminobutyric Acid (GABA). GABA merupakan asam amino non-protein dengan jumlah empat karbon serta tergolong ke dalam senyawa bioaktif antioksidan yang memiliki berbagai fungsi pada hewan dan tanaman, seperti pada perkembangan dan pertumbuhan (Xu *et al.*, 2017; Meerasri dan Sothornvit, 2020; Khan *et al.*, 2021, Li *et al.*, 2021). GABA pada tanaman berperan sebagai intermediet biosintesis asam amino dan metabolisme nitrogen, baik dalam tanaman kondisi normal maupun di bawah cekaman (Ramos-Ruiz *et al.*, 2019).

GABA pada cekaman salinitas dapat mengontrol dan mengurangi tingkat *reactive oxygen species* (ROS) (Khanna *et al.*, 2020). Adanya cekaman salinitas juga dapat menginduksi kandungan senyawa GABA, sehingga GABA dapat meningkat saat terjadi cekaman (Kim *et al.*, 2007; Das *et al.*, 2021). Hal ini dikarenakan GABA terlibat dalam pensinyalan tanaman sehingga secara tidak langsung dapat terbentuk dan terakumulasi secara cepat sebagai respon cekaman abiotik (Ramos-Ruiz *et al.*, 2019). Pembentukan GABA dapat terjadi dari reaksi enzimatik dekarboksilasi glutamat oleh enzim *glutamate decarboxylase* (GAD), degradasi poliamina maupun reaksi non-enzimatik dari prolin saat cekaman. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa GABA pada tanaman padi berpigmen selama fase vegetatif dan generatif dalam kondisi cekaman salinitas.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA pada padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama fase vegetatif dan generatif?

1.3 Tujuan

Mengetahui pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA pada padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama fase vegetatif dan generatif.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagi mahasiswa, dapat dijadikan pertimbangan dalam mengembangkan penelitian selanjutnya terkait pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA pada padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama fase vegetatif dan generatif;
2. Bagi masyarakat, dapat menambah pengetahuan tentang upaya dalam peningkatan pemanfaatan pangan fungsional;
3. Bagi dunia pendidikan, dapat dijadikan sebagai ilmu pengetahuan dan referensi ilmiah mengenai pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA pada padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama fase vegetatif dan generatif.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Padi Berpigmen

Padi yang memiliki nama latin *Oryza sativa* L. merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan pangan utama yang tersebar di Indonesia. Menurut Wongsa (2020), padi termasuk ke dalam tanaman sereal yang sering dikonsumsi penduduk dunia dan menjadi makanan pokok yang paling utama di Asia. Padi memiliki ciri morfologi bentuk daun padi yang memanjang dengan ruas searah batang daun, serta bentuk akar serabut yang dapat memanjang hingga 20-30 cm, yang terbagi menjadi akar utama dan akar seminal (Trisnawaty *et al.*, 2020). Padi memiliki ciri morfologis batang berongga, berbentuk bulat atau silindris, agak pipih atau bersegi yang disebut jerami (Kuswanto, 2007). Padi memiliki organ malai yang berupa sekumpulan bunga padi yang menjulur ke atas dari buku paling atas. Bagian dari bunga padi atau malai, antara lain tangkai bunga, kelopak bunga *lemma* (gabah padi yang besar) dan *palea* (gabah padi yang kecil), putik, benang sari, dan bulu pada ujung lemma (Nurmala, 2003).

Tanaman padi mengalami beberapa fase hidup selama pertumbuhan dan perkembangannya, yakni fase vegetatif atau fase awal perkecambahan hingga pemanjangan batang, dan fase generatif atau fase pembentukan malai hingga pembungaan, serta fase pematangan atau fase pengisian malai hingga terisi penuh dan masak (Yuzugullu *et al.*, 2017). Tanaman padi umumnya tumbuh dengan membentuk rumpun yang pada fase vegetatif terdiri dari bagian batang utama dan, sedangkan pada fase generatif mulai muncul malai. Tanaman padi dalam penamaan sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Trisnawaty *et al.*, 2020) :

Kingdom : Plantae
Division : Spermatophyta
Class : Monocotyledoneae
Ordo : Poales
Famili : Poaceae (Graminae)
Genus : *Oryza*
Species : *Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*



Gambar 2.1 Padi Varietas Ketan Hitam (Sumber: MSG3ORGANIC, 2022)

Padi berdasarkan warna pigmen dibedakan menjadi dua jenis yakni, padi non-pigmen dan padi berpigmen. Padi berpigmen merupakan padi yang memiliki warna selain warna putih yang mana diakibatkan oleh adanya rekayasa genetik. Menurut An *et al.* (2010), bahwa beberapa contoh varietas padi berpigmen antara lain padi hitam, padi merah dan padi cokelat. Hal ini sesuai dengan penelitian Deng *et al.* (2013), bahwa padi berpigmen yang umum dibudidayakan adalah padi hitam dan merah. Padi berpigmen selain padi hitam dan merah, juga terdapat padi ketan, yakni padi Ketan Hitam (Hariyati dan Lestari, 2021). Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) merupakan kultivar dari varietas padi hitam yang memiliki tingkat kandungan amilosa lebih rendah dibandingkan padi hitam biasa (Setyaningsih *et al.*, 2015). Penelitian Rohaeni dan Hastini (2015), menyebutkan terkait padi ketan lokal yakni memiliki ciri morfologi tanaman yang tinggi sekitar 126-177 cm, jumlah anakan yang lebih sedikit, serta umur panen yang lebih lama. Padi Ketan Hitam umumnya memiliki ciri morfologi tinggi tanaman yang lebih tinggi dan berumur lebih panjang daripada padi biasa, yakni berkisar antara 5-6 bulan (Santika dan Rozakurniati, 2010; Hayati *et al.*, 2014).

Padi Ketan Hitam dibandingkan dengan kultivar padi ketan lainnya memiliki kandungan pigmen yang lebih tinggi, sehingga menunjukkan kandungan biokimia seperti serat, total fenolik, flavonoid, dan antosianin juga lebih tinggi (Kurnia *et al.*, 2019; Amrinola *et al.*, 2021). Padi berpigmen sangat berpotensi sebagai bentuk pengembangan bahan pangan karena mengandung banyak nutrisi seperti asam amino, antioksidan, pigmen antosianin, kalium, serta magnesium yang tinggi dibandingkan

dengan padi tak berpigmen (Vichapong *et al.*, 2010; Nailufar *et al.*, 2012; Sihombing, 2017; Pradipta *et al.*, 2020). Padi berpigmen ini mengandung senyawa antosianin flavonoid yang merupakan bahan alam pada tanaman yang berperan sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas tinggi dalam tubuh (Dwiatmini dan Afza, 2018). Senyawa yang terkandung dalam padi Ketan Hitam berupa antioksidan antosianin ini berfungsi sebagai penangkal radikal bebas di dalam tubuh yang akan mengurangi terjadinya stress oksidatif (Siswoyo *et al.*, 2011; Siswoyo *et al.*, 2017).

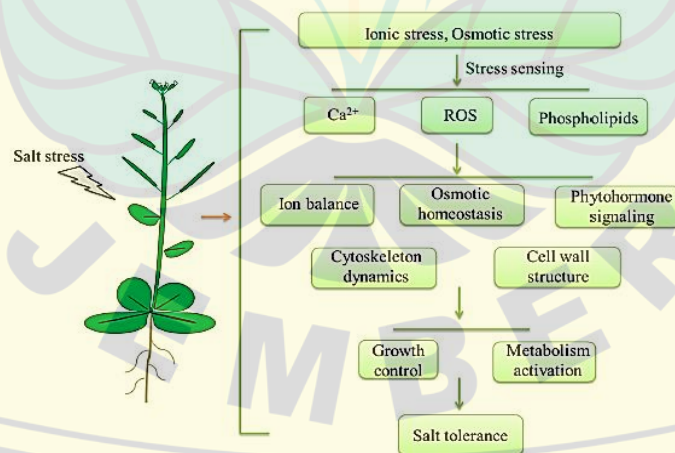
Ali *et al.* (2013), dalam penelitiannya menyebutkan senyawa antioksidan antosianin ini banyak ditemukan pada buah pada tanaman. Senyawa ini juga dapat berasal dari berbagai organ lain pada tanaman seperti daun, biji, umbi, bahkan kulit sekalipun dikarenakan senyawa antosianin terletak pada vakuola tanaman tersebut. Senyawa antioksidan seperti antosianin yang terdapat dalam pigmen juga bisa berperan sebagai pelindung tanaman dari adanya cekaman biotik ataupun abiotik pada lingkungannya (Siswoyo *et al.*, 2021). Hal ini dikarenakan peningkatan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) saat terjadi cekaman dapat meningkatkan antioksidan untuk melindungi tanaman dari kerusakan sel akibat tekanan osmotik (Pratama dan Siswoyo, 2022). Warna pigmen senyawa antosianin tidak hanya digunakan sebagai pembeda visual saja, tetapi juga sebagai indikator kandungan nutrisi yang ada pada suatu tanaman seperti padi. Tingkat kepekatan warna pigmen sejalan dengan tingkat kandungan nutrisi pada suatu tanaman (Priska *et al.*, 2018).

2.2 Cekaman Salinitas

Cekaman abiotik merupakan salah satu cekaman yang terjadi pada media tanam yang dipengaruhi oleh suatu unsur abiotik, seperti kadar salinitas. Menurut Salisbury (1991), bahwa adanya perubahan pada kondisi lingkungan di suatu lahan yang memberikan dampak negatif dan menurunkan laju pertumbuhan dan perkembangan tanaman disebut juga dengan cekaman. Keadaan salinitas adalah keadaan dimana kandungan garam pada lingkungan hidup tumbuhan memiliki jumlah yang berlebihan dan tidak normal yang masuk melalui proses osmosis pada tanaman dan berakibat fatal pada tanaman (Suhartini dan Harjosudarmo, 2017). Hal ini disebabkan karena adanya kadar garam yang tinggi dapat menyebabkan cekaman osmotik dan toksisitas ion

(Kosova *et al.*, 2013, Zhao *et al.*, 2021). Cekaman osmotik menyebabkan kemampuan akar dalam menyerap air dalam tanah atau media tanam akan berkurang, sedangkan kondisi tanah atau media tanam mengalami ketidakseimbangan rasio ion Na^+/K^+ dengan Cl^- yang mana berada pada konsentrasi yang tinggi (Khanna *et al.*, 2020).

Cekaman salinitas memiliki dampak bagi pertumbuhan tanaman baik secara morfologi, fisiologis dan biokimia (Negrão *et al.*, 2016; Barus *et al.*, 2021). Penelitian Purwaningrahyu dan Taufiq (2017), disebutkan bahwa cekaman salinitas dapat menyebabkan proses metabolisme tanaman menjadi terganggu sehingga dapat terjadi adanya perubahan morfologi pada tanaman. Ketidakseimbangan rasio Na^+ dan K^+ menyebabkan adanya gangguan penyerapan unsur hara seperti NO_3 , Ca^{2+} , dan Zn (Sopandie, 2013). Cekaman salinitas dapat mempengaruhi proses fisiologis dan biokimia tanaman, seperti efisiensi penggunaan air, kandungan klorofil dan efisiensi karboksilasi (Major *et al.*, 2017). Cekaman salinitas dapat terjadi melalui dua cara, antara lain adanya akumulasi Na^+ dalam sel dan jaringan, serta peningkatan konsentrasi ion di sekitar akar. Adanya akumulasi Na^+ dalam sel dapat menyebabkan kematian sel dan jaringan, sedangkan peningkatan konsentrasi ion di sekitar akar tanaman dapat meningkatkan tekanan osmotik sehingga akan menghambat penyerapan air oleh akar (Situmorang *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Respon Tanaman terhadap Cekaman Salinitas (Sumber: Zhao *et al.*, 2021)

Shahid *et al.* (2020), dalam penelitiannya menyebutkan akumulasi ion Na^+ dilakukan dengan cara ion Na^+ mengikuti jalur dimana keadaan Na^+ berada di kondisi yang tinggi yakni pada saat tanaman berada pada kondisi salinitas tinggi. Ion ini masuk

ke dalam sel tanaman secara pasif dari osmolaritas larutan tanah, atau melalui saluran kation. Adanya kesamaan tekanan ion terhidrasi untuk Na^+ dan K^+ , sehingga menghambat penyerapan ion K^+ oleh tanaman karena protein transpor tidak dapat membedakannya. Hal itu menyebabkan konsentrasi rasio Na^+/K^+ menjadi lebih tinggi dengan ion Cl^- . Ketidakseimbangan ion ini mempengaruhi proses seluler karena ion K^+ yang tidak seimbang dengan ion Na^+ , hal ini disebabkan karena ion K^+ berperan dalam sintesis protein dan aktivitas enzim. Penurunan penyerapan ion K^+ dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan dan produktivitas tanaman pada kondisi salin. Akumulasi K^+ dalam vakuola diperoleh melalui berbagai saluran K dan transporter sehingga dapat berperan dalam mengatasi cekaman yang terjadi pada tanaman. Ion ini sebagai langkah dalam cekaman salinitas berperan dalam mengubah potensial membran dan turgor, mempertahankan aktivitas enzim, dan menyesuaikan tekanan osmotik dan gerakan stomata. Mekanisme adaptif ini dilakukan dengan mengubah respon tanaman respon terhadap salinitas.

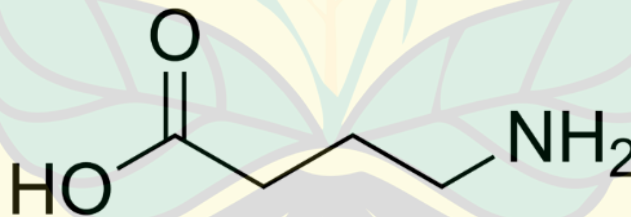
Cekaman salinitas umum terjadi pada tanaman padi, yang mana memiliki respon yang berbeda-beda pada setiap fase hidupnya. Fase vegetatif dan fase reproduksi pada tanaman padi adalah fase yang paling responsif terhadap cekaman salinitas (Rad *et al.*, 2011). Tanaman padi dalam merespon cekaman salinitas, yakni dengan mensintesis metabolit sekunder berupa metabolit organik sebagai pengatur osmotik (*osmoregulators*). Adanya metabolit organik dapat menyebabkan terjadinya penyesuaian osmotik dalam tanaman akibat adanya akumulasi zat terlarut dalam sel sebagai respon terhadap penurunan potensial air pada tanaman. Penyesuaian osmotik tersebut bertujuan untuk mempertahankan tekanan turgor dan potensial osmotik pada sel tanaman. Penyesuaian osmotik saat terjadi cekaman dilakukan oleh metabolit organik cara mempertahankan nutrisi dan laju penyerapan air, serta mencegah plasmolisis pada sel tanaman (Firmansyah *et al.*, 2017).

Tanaman padi selama fase hidupnya yang mengalami cekaman seperti cekaman salinitas, juga mengalami fase pemulihan yang bertujuan untuk mengembalikan keadaan morfologis maupun fisiologis dari tanaman padi. Fase pemulihan dapat dilakukan secara eksogenus. Salah satu perlakuan pemulihan atau *recovery* secara eksogenus adalah dengan cara menyiram tanaman dengan air atau *re-watering*

(Salekdeh *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2013). Adanya perlakuan pemulihan atau *recovery* secara eksogenus dapat mengembalikan tingkat toleransi tanaman terhadap suatu cekaman. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya daun muda berwarna hijau segar dan pertumbuhan akar yang lebih baik dibandingkan dengan saat tanaman mengalami cekaman (Khan dan Panda, 2008; Li *et al.*, 2011).

2.3 Metabolisme GABA

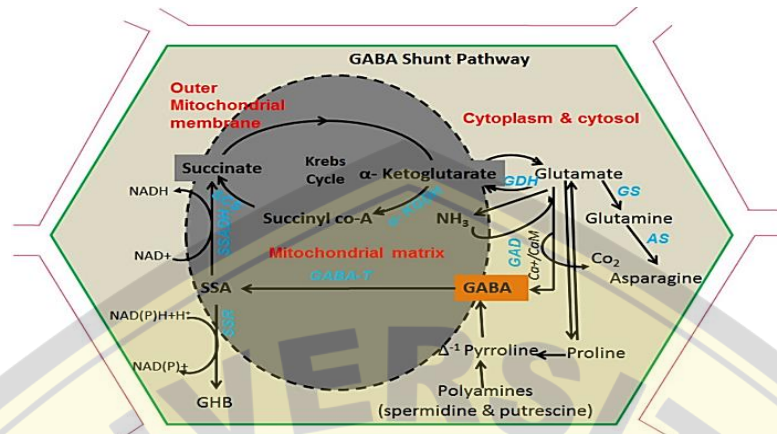
Senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) merupakan senyawa asam amino non-protein dengan jumlah empat karbon memiliki berbagai fungsi pada hewan dan tanaman, seperti pada perkembangan dan pertumbuhan (Xu *et al.*, 2017; Khan *et al.*, 2021, Li *et al.*, 2021). Senyawa ini merupakan regulator utama dalam sebuah jalur biosintesis yang penting dalam penentuan dinamika fungsi metabolit. Senyawa ini selain sebagai regulator utama biosintesis, juga termasuk ke dalam senyawa bioaktif yang berperan sebagai *neurotransmitter* pada otak mamalia sehingga menurunkan tingkat penyakit kronis Alzheimer (Wu *et al.*, 2013; Ngo dan Vo, 2019). GABA pada tanaman berperan sebagai intermediet biosintesis asam amino dan metabolisme nitrogen, baik dalam tanaman kondisi normal maupun di bawah cekaman (Ramos-Ruiz *et al.*, 2019).



Gambar 2.3 Struktur Kimia γ -Aminobutyric Acid (GABA) (Sumber: Xu *et al.*, 2021)

Sintesis GABA disebut dapat terjadi dari reaksi enzimatik dekarboksilasi glutamat oleh enzim *glutamate decarboxylase* (GAD), degradasi poliamina maupun reaksi non enzimatik dari prolin saat cekaman. Shelp *et al.* (2021), dalam penelitiannya menyebutkan GAD merupakan sumber utama dalam pembentukan GABA di sitoplasma. GABA juga diturunkan secara tidak langsung melalui degradasi poliamina, sedangkan prolin merupakan sumber tidak langsung untuk pembentukan

GABA. Sintesis GABA secara langsung melalui jalur GAD dan secara tidak langsung melalui jalur degradasi poliamina dan prolin disebut sebagai mekanisme GABA *Shunt*.



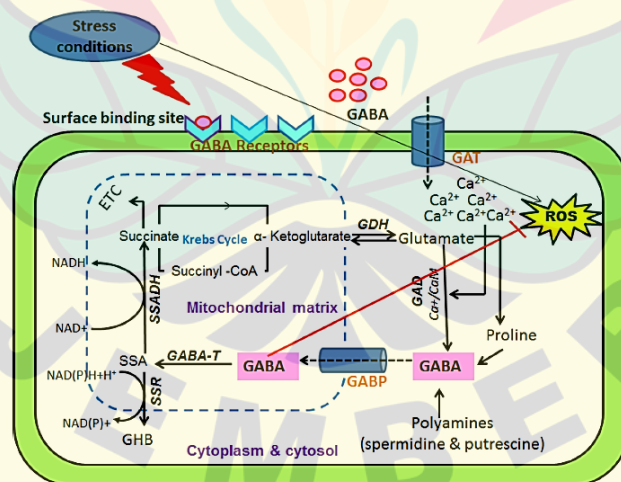
Gambar 2.4 Mekanisme γ -Aminobutyric Acid (GABA) *Shunt*
(Sumber: Ansari *et al.*, 2021)

Sintesis GABA yang utama terjadi melalui reaksi enzimatik dekarboksilasi glutamat oleh enzim *glutamate decarboxylase* (GAD) (Ansari *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2021). Enzim GAD bertindak sebagai katalis konversi tidak bolak-balik senyawa glutamat menjadi GABA dengan adanya tambahan proton dan pelepasan CO_2 di sitoplasma. Senyawa GABA tersebut kemudian ditransportasikan menuju mitokondria melalui GABA *carriers* untuk metabolisme lanjutan dari GABA *shunt* berupa sintesis sukinat oleh GABA-T dan SSADH. Translokasi GABA dikatalisis oleh GABA permease (GABA-P) dalam melewati membran plasma. GABA-T bertindak sebagai katalis dalam produksi SSA dengan aktivasi simultan dari asam amino yang berbeda seperti asam piruvat, α -ketoglutarat (AKG) atau glioksilat pada katabolisme GABA yang terjadi pada matriks mitokondria. Enzim GAD pada tanaman contohnya ditemukan pada isolasi dari tanaman *Petunia*, yang mana terdapat ion Ca^{2+} /CaM *binding domain* (CaMBD) yang mengindikasikan bahwa Ca^{2+} memberikan sinyal untuk biosintesis GABA. Sukinat yang terbentuk berperan dalam siklus asam sitrat atau krebs (*TCA cycle*) dan rantai transport elektron sebagai donor elektron.

Jalur pembentukan GABA lainnya selain melalui reaksi enzimatik tidak bolak-balik pada enzim GAD, juga dapat terjadi melalui jalur degradasi poliamina dan siklus prolin. Jalur degradasi poliamina merupakan jalur alternatif pembentukan GABA terjadi sintesis secara langsung dari ornithin dan secara tidak langsung dari arginin di

bawah aktivitas enzimatik *ornithin decarboxylase* (ODC) atau *arginin decarboxylase* (ADC). Ornithin dan arginin tersebut mengalami dekarboksilase menjadi *putrescine* yang kemudian ditambah dcSAM menjadi spermidine dengan enzim *Spd synthase*, yang kemudian menjadi Δ^1 *pyroline* dengan enzim *poliamine oxydase* (PAO). *Putrescine* juga dapat langsung menjadi Δ^1 *pyroline* dengan enzim *diamine oxydase* (DAO). Δ^1 *pyroline* kemudian disintesis menjadi GABA dengan enzim *pyruvate dehidrogenase* (PDH).

Jalur alternatif lainnya dalam pembentukan atau sintesis GABA adalah melalui reaksi non-enzimatik prolin. Prolin merupakan senyawa osmolit pada tanaman yang paling umum saat mengalami cekaman oksidatif maupun kekeringan akibat akumulasi ROS dan mampu meningkatkan kemampuan tanaman dalam osmolaritas selular saat terkena cekaman (Yoshiba *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2021). Menurut Jayant dan Sarangi (2014), tingginya konsentrasi prolin pada tanaman akibat cekaman menunjukkan mekanisme yang sangat efisien untuk regulasi osmotik, stabilisasi dan adaptasi seluler terhadap cekaman. Adanya akumulasi ROS menyebabkan pemindahan ion H dari asam piruvat sehingga terbentuk Δ^1 *pyroline* yang diubah menjadi GABA dengan enzim PDH yang kemudian akan menghasilkan NADH.



Gambar 2.5 GABA Shunt pada Tanaman di bawah Kondisi Cekaman (Sumber: Ansari *et al.*, 2021)

Senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) juga memiliki pengaruh terhadap perlindungan tanaman untuk toleran terhadap cekaman salinitas. Peran GABA dalam tanaman adalah sebagai pensinyalan tanaman sehingga saat terjadi suatu cekaman,

senyawa ini secara tidak langsung dapat terbentuk dan terakumulasi secara cepat sebagai respon cekaman abiotik (Ramos-Ruiz *et al.*, 2019). Hal ini dikarenakan GABA merupakan senyawa penting bagi tanaman karena dapat menurunkan konsentrasi Na^+ dan meningkatkan konsentrasi K^+ selama cekaman berlangsung (Sheteiwiy *et al.*, 2019). GABA pada cekaman salinitas dapat mengontrol dan mengurangi tingkat *reactive oxygen species* (ROS) (Khanna *et al.*, 2020). GABA pada cekaman salinitas dapat mengurangi tingkat *reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan senyawa radikal yang dapat memicu kerusakan tanaman (Abdillah *et al.*, 2015; Khanna *et al.*, 2020).

Cekaman juga dapat menginduksi kandungan senyawa GABA, sehingga peningkatan dosis salinitas dapat meningkatkan kandungan GABA (Kim *et al.*, 2007; Feizi *et al.*, 2021). Sintesis GABA dapat mengalami peningkatan saat diberikan perlakuan cekaman karena adanya aktivitas ROS. Prabhandaru dan Saputro (2017), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa konsentrasi yang tinggi pada *reactive oxygen spesies* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap DNA nuklear, mitokondria dan kloroplas. Hal ini dikarenakan adanya ROS menandakan bahwa terdapat peningkatan fluks metabolit yang dapat meningkatkan beban oksidatif pada jaringan sehingga mengakibatkan cedera pada tanaman yang menghalangi pertumbuhan tanaman (Farooq *et al.*, 2008).

2.4 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan tinjauan pustaka, maka dapat diambil hipotesis yakni perlakuan cekaman salinitas dapat mempengaruhi perubahan kandungan GABA pada padi berpigmen (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama fase vegetatif dan generatif.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Cekaman Salinitas terhadap Kandungan γ -Aminobutyric Acid (GABA) pada Padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) selama Fase Vegetatif dan Generatif” akan dilaksanakan di *Green House Agrotechnopark* Jubung, Jember dan Laboratorium *Nutraceutical and Pharmaseutical Central for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Februari 2023 hingga Juli 2023.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain pot (diameter 48 cm), spektrofotometer UV-Vis (U-2900, Hitachi, Japan), vorteks, *sentrifuge*, mortar, *pastle*, tabung reaksi, tabung ulir, *ependorf*, mikropipet, neraca analitik, spatula, tabung falcon, erlenmeyer, pinset, dan alat pendukung lainnya.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain benih padi Ketan Hitam Lokal (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*), NaCl, nitrogen cair, standart L-leusin, *Bovine Serum Albumin* (BSA), GSH, *buffer* Tris HCl pH 8, *buffer* Tris HCl pH 7,4, 0,2 M *buffer borate* pH 8,5, 0,2 M *buffer K-phosphate* pH 8, 20 mM *buffer phosphate* pH 7,4, 0,2 M *buffer phosphate saline* pH 7,4, 15% natrium hipoklorit (NaOCl), 6% *phenol*, 80% ethanol, 80% methanol, 2,8% TNBS, 1% TBA, 1% TCA, 0,1 M NaSO₃, ABTS, aquadest, 1 mM EDTA pH 8, 28 mM deoksiribosa, 1 mM H₂O₂, dan bahan pendukung lainnya.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, antara lain faktor fase tanaman pemberian cekaman dan faktor perbedaan konsentrasi NaCl dengan 4 ulangan.

Faktor fase tanaman pemberian cekaman :

F1 : Fase Vegetatif

F2 : Fase Generatif

Faktor konsentrasi NaCl :

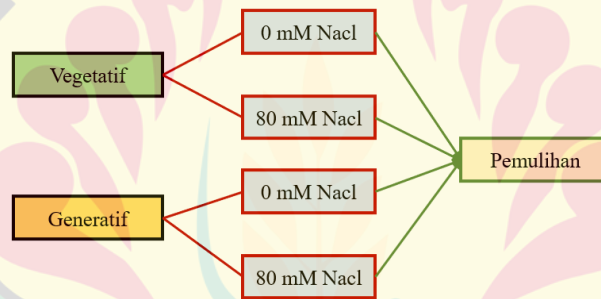
K1 : 0 mM

K2 : 80 mM

Berdasarkan perlakuan dari perbedaan konsentrasi tersebut, maka didapatkan 2 perlakuan NaCl dan 2 perlakuan fase tanaman pemberian cekaman dengan 4 ulangan, sehingga terdapat 16 percobaan.

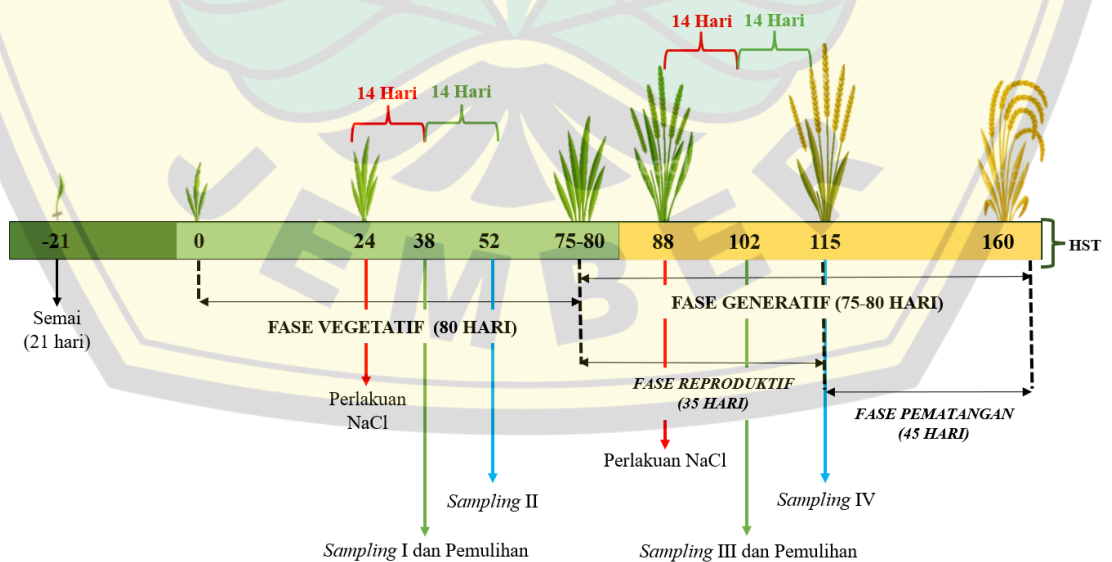
3.3.2 Denah Percobaan

Denah percobaan yang akan dilakukan pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Percobaan Penelitian

3.3.3 Prosedur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Waktu Prosedur Penelitian

1. Persiapan Benih

Persiapan benih dilakukan dengan menyiapkan benih padi Ketan Hitam. Benih padi Ketan Hitam direndam di dalam air terlebih dahulu agar dapat dipisahkan antara benih hampa dan benih bernas agar hasil perkecambahan dapat optimal. Benih bernas kemudian dilakukan perendaman benih di dalam larutan fungisida selama 10 menit, lalu dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Benih yang telah dicuci bersih kemudian direndam kembali dengan air selama 1x24 jam dengan tujuan agar dapat memecah dormansi benih dan mempercepat imbibisi benih. Benih bernas merupakan benih yang baik digunakan untuk perkecambahan dengan ciri tenggelam di dasar air, sedangkan benih hampa merupakan benih yang tidak digunakan untuk perkecambahan mengapung pada permukaan air.

2. Penyemaian

Benih yang disemai telah direndam selama 1x24 jam. Penyemaian benih langsung menggunakan pot besar berdiameter 48 cm, dan setiap potnya akan disebar 5 benih untuk sementara hingga berakhirnya waktu semai. Penyemaian benih dilakukan selama 21 hari hingga muncul tunas, plumula dan radikula.

3. Pindah Tanam

Pindah tanam dilakukan dengan memindahkan bibit tanaman padi yang telah tumbuh pada pot dengan ketentuan satu tanaman per potnya. Posisi tanaman juga perlu diletakkan di posisi tengah agar memudahkan dalam pemberian pupuk pada tanaman.

4. Pemeliharaan

a) Pemupukan

Pemupukan yang dilakukan pada tanaman padi untuk penelitian adalah dengan menggunakan pupuk anorganik. Berdasarkan anjuran dari Kementerian Pertanian, pupuk anorganik yang digunakan untuk pemupukan, antara lain pupuk urea, SP-36, KCl, dan ZA. Dosis yang digunakan untuk pemupukan tanaman padi yakni urea 20 gr/pot, SP-36 10 gr/pot, ZA 10 gr/pot dan KCl 10 gr/pot (Fadhilah *et al.*, 2021). Pemupukan tanaman padi dilakukan tiga kali yaitu pada awal semai, fase vegetatif dan generatif. Pemupukan yang dilakukan pada saat penyemaian menggunakan pupuk urea yang diaplikasikan dengan cara menyebar pupuk di area tanaman kemudian ditimbun dengan tanah.

b) Penyiangan

Penyiangan pada tanaman percobaan dilakukan untuk mengendalikan gulma yang tumbuh di sekitar tanaman tersebut agar tidak terjadi persaingan nutrisi dan hara, serta dapat mengemburkan tanah yang digunakan sebagai media tanam. Penyiangan dapat dilakukan dengan cara fisik dan mekanis yakni dengan mencabut gulma yang tumbuh di sekitar tanaman tersebut.

5. Pengaplikasian NaCl

Pengaplikasian NaCl pada media menggunakan variasi konsentrasi yakni 0 mM dan 80 mM NaCl, dan fase pemberian cekaman yakni fase vegetatif dan fase generatif. Pengaplikasian NaCl dilakukan pada saat tanaman padi berusia 24 HST atau pada fase vegetatif selama 14 hari, serta pada saat tanaman berusia 88 HST atau saat fase generatif selama 14 hari. Tanaman setelah diberi perlakuan cekaman salinitas, dilanjutkan dengan pemulihan atau *recovery* yang mana dilakukan dengan menggunakan air atau disebut *re-watering* selama 14 hari.

6. Pengambilan Sampel (*Sampling*)

Pengambilan sampel atau *sampling* bertujuan mendapatkan bahan yang akan digunakan untuk analisis. Bahan yang digunakan sebagai *sampling* adalah a Pengambilan sampel atau *sampling* dilakukan pada saat rentang pengaplikasian NaCl selesai. Banyaknya *sampling* yang dilakukan selama rentang waktu penelitian adalah sebanyak 4 kali *sampling*, yakni pada saat tanaman berusia 38 HST (*sampling* I), 52 HST (*sampling* II), 102 HST (*sampling* III), dan 115 HST (*sampling* IV). *Sampling* I dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis parameter dari fase vegetatif setelah perlakuan NaCl, sedangkan *sampling* II dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis parameter dari fase vegetatif setelah pemulihan.

Sampling juga dilakukan pada perlakuan NaCl fase generatif, yang juga terdiri dari dua kali *sampling* yakni setelah perlakuan NaCl dan pemulihan dengan air. *Sampling* III dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis parameter dari fase generatif setelah perlakuan NaCl, sedangkan *sampling* IV dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis parameter dari fase generatif setelah pemulihan. Pemulihan pertama dilakukan setelah *sampling* I dan pemulihan kedua dilakukan setelah *sampling* III yang masing-masing dilakukan selama 14 hari setelah perlakuan NaCl.

7. Ekstraksi Sampel

7.1 Ekstraksi Sampel (Analisis GABA Spektrofotometri)

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan metode Karladee dan Suriyong (2012), dengan sedikit modifikasi. Sampel daun dihaluskan menggunakan mortar dan alu menggunakan 1 mL 80% *ethanol* dengan perbandingan sampel dan *ethanol* 1:5. Lalu hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam *ependorf* dan divorteks, lalu disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. *Supernatant* direbus dalam bak air dengan suhu 80°C untuk menguapkan *ethanol*. Larutan yang telah dipanaskan kemudian ditambahkan 0,5 mL aquadest atau *distilled water*, dan kemudian disentrifugasi lagi menggunakan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. *Supernatant* dipindahkan ke *ependorf* baru.

7.2 Ekstraksi Sampel (Analisis untuk Sampel Protein)

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menghaluskan sampel daun dan 1 mL *buffer* Tris HCl ph 8 dengan perbandingan sampel dan *buffer* ekstraksi 1:3. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam *ependorf* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Hasil *supernatant* dipindahkan ke dalam *ependorf* baru.

7.3 Ekstraksi Sampel (Analisis untuk Sampel Non-Protein)

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menghaluskan sampel daun dan 1 mL 80% *methanol* dengan perbandingan sampel dan *methanol* 1:3. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam *ependorf* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Hasil *supernatant* dipindahkan ke dalam *ependorf* baru.

8. Analisis Sampel

8.1 Analisis Kandungan GABA

Analisis kandungan GABA dilakukan dengan metode Karladee dan Suriyong (2012), dengan sedikit modifikasi. *Supernatant* ditambah 0,2 mL 0,2 M *buffer* borat dan 1 mL 6% *phenol*. Sampel yang telah ditambahkan 0,2 M *buffer* borat dan 6% *phenol*, kemudian divorteks dan didinginkan di dalam *cooling bath* selama 5 menit. Sampel kemudian ditambahkan 400µL 15% NaOCl lalu divorteks selama 1 menit dan didinginkan kembali di dalam *cooling bath* selama 5 menit. Sampel kemudian dipanaskan pada *water bath* dengan suhu 100°C selama 10 menit, dan didinginkan pada suhu ruang.

8.2 Analisis Kandungan Asam Amino Bebas

Kandungan total asam amino ditentukan berdasarkan metode uji Fields (1972). Kandungan asam amino dilakukan pada sampel dengan mengambil 25 μL supernatan dan ditambahkan 400 μL 0,2 M *buffer* K-phospat pH 8, 200 μL 0,1% TNBS, lalu divorteks dan diinkubasi dalam suhu 50°C selama 30 menit. Supernatan yang telah divorteks kemudian ditambahkan 400 μL 0,1 M NaSO_3 divorteks dan diinkubasi selama 15 menit dalam suhu ruang. Sampel yang telah diinkubasi kemudian diukur pada spektrofotometer dengan menggunakan panjang gelombang 420 nm.

8.3 Analisis Kandungan Total Protein Terlarut

Kandungan total protein terlarut pada sampel dilakukan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Bradford (1976). Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam dalam *eppendorf* lalu disentrifugasi dengan menggunakan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Sampel yang digunakan diambil sebanyak 5 μL , kemudian ditambah 45 μL aquades dan 950 μL Bradford, kemudian diinkubasi selama 15 menit.

8.4 Analisis Kandungan Klorofil

Kandungan total klorofil dilakukan dengan metode Pora *et al.* (1989) dengan sedikit modifikasi. *Supernatant* dianalisis menggunakan spektrofotometer dengan menggunakan panjang gelombang 470, 652 dan 665 nm.

8.5 Analisis Kandungan Kapasitas Antioksidan

8.4.1 Metode 2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid (ABTS)

Pengukuran kapasitas antioksidan (*Antioxidant Capacities*) dengan metode ABTS dilakukan sesuai dengan prosedur Re *et al.* (1999). Pengujian kapasitas antioksidan dengan metode ABTS dilakukan dengan pembuatan stok ABTS dan PBS. Pembuatan stok ABTS dilakukan dengan dengan melarutkan 0,38 g ABTS, dan 0,666 g Potassium Persulfat pada 50 mL aquadest. Pembuatan stok 0,2 M *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dilakukan dengan melarutkan 3,556 g NaH_2PO_2 dan 26,08 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4(2\text{H}_2\text{O})$ pada 500 mL aquadest dan ditambah 5,4 g NaCl pH 7,4.

Phosphate Buffer Saline (PBS) yang telah siap, dilanjutkan dengan pembuatan *working stock* hingga besar absorbansi $0,70 \pm 0,05$ dengan menggunakan panjang gelombang 734 nm. Blanko yang digunakan sebagai larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan sampel. Larutan sampel yang telah dicampur,

kemudian ditambahkan dengan reagen ABTS dan divorteks selama 30 detik, kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 6 menit. Hasil inkubasi kemudian dilakukan analisis pada spektrofotometer dengan menggunakan panjang gelombang 734 nm.

8.4.2 Hidroksil

Pengukuran kapasitas antioksidan (*Antioxidant Capacities*) dengan metode hidroksil dilakukan sesuai dengan prosedur Kumar *et al.* (2013), dengan sedikit modifikasi. Sampel ditambahkan dengan larutan 20 μL 28 mM deoksiribosa, 2 μL 10 mM FeCl_3 , 2 μL 1 mM H_2O_2 , 20 μL 1 mM EDTA, 20 μL 1 mM asam askorbat, dan 150 μL 28 mM *buffer* Tris HCl pH 7,4. Sampel yang telah dicampur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Sampel kemudian didinginkan pada suhu ruang dan ditambahkan 400 μL 1% TBA dan 400 μL 2,8% TCA agar menimbulkan kromogen yang berwarna merah muda. Sampel kemudian diinkubasi kembali menggunakan oven pada suhu 70°C selama 30 menit. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan panjang gelombang 532 nm. *Glutathione* (GSH) ditambahkan dan digunakan sebagai pembanding kontrol positif.

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1 Morfologi Tanaman

Morfologi tanaman padi yang diamati antara lain tinggi tanaman (cm), jumlah anakan (batang) dan jumlah daun (helai) yang akan diukur dan dihitung setelah pemberian perlakuan NaCl dan pemulihan dengan air.

3.4.2 Kandungan GABA dengan Metode Spektrofotometri

Nilai absorbansi GABA diukur dengan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 630 nm. Blanko yang digunakan berupa 80% *ethanol* 2 mL

3.4.3 Total Asam Amino

Penentuan dan pengukuran nilai kandungan total asam amino dengan persamaan standar:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

x = nilai absorbansi sampel (mg/g)

3.4.4 Total Protein Terlarut

Nilai absorbansi total protein terlarut diukur melalui spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Standar untuk menentukan konsentrasi total protein terlarut adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan satuan mg/g berat basah sampel.

3.4.5 Klorofil

Pengukuran kandungan klorofil dan karotenoid dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Total Klorofil (mg/g)} = [(22,12 \times A_{652}) + (2,71 \times A_{665})] / 1000 \times V / W$$

- Klorofil-a (mg/g FW) = $[9.784 (A_{665}) - 0.99 (A_{652})] \times V/W$
- Klorofil-b (mg/g FW) = $[21.426 (A_{652}) - 4.65 (A_{665})] \times V/W$
- Karotenoid (mg/g FW) = $[4.695 (A_{470}) - 0.268 (Chl a + Chl b)] \times V/W$

Keterangan :

A = Absorbansi pada α

V = Volume total ekstrak sampel (setelah disentrifuge)

W = Berat sampel

3.4.6 Kapasitas Antioksidan (*Antioxidant Capacities*)

1. Metode ABTS

Pengukuran untuk persentase uji radikal ABTS dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi \%} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sample})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs kontrol = nilai absorbansi tanpa penambahan sampel

Abs sampel = nilai absorbansi dengan penambahan sampel

2. Metode Hidroksil

Pengukuran kapasitas antioksidan (*Antioxidant Capacities*) melalui peredaman radikal hidroksil (OH) dinyatakan sebagai persentase (%) penghambatan terhadap radikal hidroksil. Peredaman radikal hidroksil dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi \%} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sample})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs kontrol = nilai absorbansi tanpa penambahan sampel

Abs sampel = nilai absorbansi dengan penambahan sampel

3.5 Analisis Data

Data yang telah didapatkan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5%.

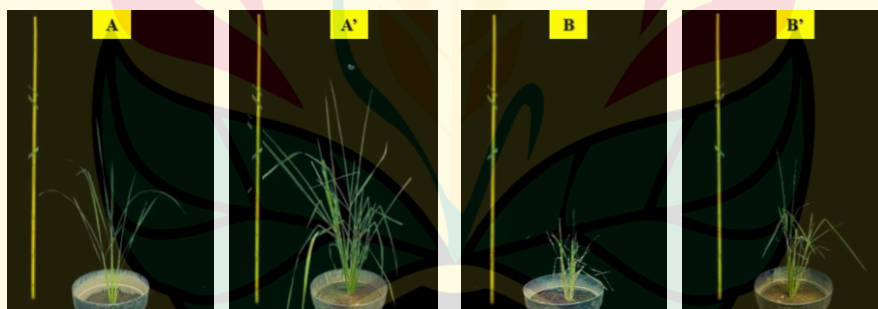


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

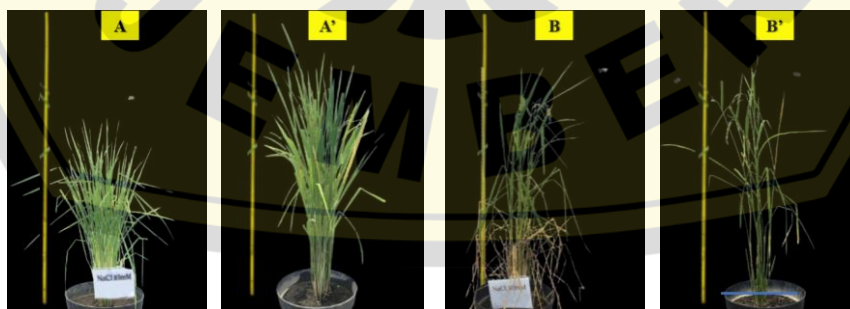
4.1 Hasil

4.1.1 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi Tanaman Padi Ketan Hitam

Pengamatan karakteristik morfologi selama cekaman salinitas dilakukan untuk mengetahui respon pertumbuhan tanaman dalam kondisi cekaman. Variabel pengamatan pada parameter karakteristik morfologi ini antara lain tinggi tanaman, jumlah anakan dan jumlah daun. Pengukuran dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman dari bagian pangkal batang hingga ujung daun tertinggi saat dibentangkan ke atas. Karakteristik morfologi pada pertumbuhan tanaman padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) yang diberikan perlakuan NaCl sebagai simulasi cekaman salinitas selama 14 hari dengan dua konsentrasi cekaman salinitas yang diberikan yaitu kontrol atau 0 mM NaCl dan 80 mM NaCl. Berikut ini merupakan data kualitatif dari pengamatan karakteristik morfologi tanaman padi pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM setelah perlakuan cekaman salinitas selama 14 hari:



Gambar 4.1 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Vegetatif



Gambar 4.2 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Generatif

Keterangan: A (0 mM NaCl setelah Tahap Cekaman), A' (0 mM NaCl setelah Tahap Pemulihan), B (80 mM NaCl setelah Tahap Cekaman), B' (0 mM NaCl setelah Tahap Pemulihan),

Pengaruh cekaman salinitas yang diberikan pada fase tanaman yang berbeda memberikan pengaruh yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2. Karakteristik morfologi, khususnya tinggi tanaman berkurang secara signifikan antar interaksi perlakuan NaCl dan fase tanaman. Cekaman salinitas dapat memberikan respon morfologi sesuai dengan yang disebutkan Purwaningrahyu (2016), bahwa akumulasi ion Na^+ dan Cl^- di dalam suatu tanaman utamanya di daun dapat menyebabkan klorosis atau tanaman menguning, nekrosis atau tanaman mengering, serta tepi daun yang menggulung. Hal ini menunjukkan bahwa adanya keracunan atau toksisitas ion akibat cekaman salinitas. Keracunan atau toksisitas ion yang terjadi pada tanaman menyebabkan pengurangan nilai pada hampir seluruh karakteristik morfologi yang diamati. Berikut ini merupakan data kuantitatif yang dihasilkan dari pengamatan karakteristik morfologi tanaman padi setelah perlakuan cekaman salinitas selama 14 hari:

Tabel 4.1 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Karakteristik Morfologi pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam

Fase	Tahap	Konsentrasi NaCl (mM)	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Anakan (batang)	Jumlah Daun (helai)
Vegetatif	Cekaman	0	67,20±0,70	3,00±0,82	12,00±1,41
		80	56,30±0,85	6,00±1,41	18,00±2,16
	Pemulihan	0	112,55±0,60	6,00±1,41	26,00±2,16
		80	88,80±1,42	7,00±0,82	28,00±3,74
Generatif	Cekaman	0	154,20±0,88	24,00±1,31	80,00±1,07
		80	152,10±0,86	15,00±1,60	62,00±3,30
	Pemulihan	0	174,05±0,60	25,00±2,16	94,00±2,16
		80	172,18±1,92	14,00±2,58	57,00±1,63
Notasi			**	**	**

Keterangan: (tn) Tidak Berbeda Nyata, (*) Berbeda Nyata, (**) Berbeda Sangat Nyata

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa seluruh variabel pengamatan parameter morfologi tanaman yang diberi perlakuan 0 mM NaCl berbeda nyata terhadap tanaman yang diberikan perlakuan 80 mM NaCl pada setiap fase tanaman. Nilai tinggi tanaman antar perlakuan konsentrasi NaCl pada masing-masing fase tanaman menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Tinggi tanaman pada perlakuan konsentrasi 0 mM dan 80 mM NaCl pada fase vegetatif berturut-turut adalah 67,2 cm dan 56,3 cm. Tinggi tanaman setelah pemulihan pada tanaman kontrol 0 mM dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl pada fase vegetatif berturut-turut adalah 112,2 cm dan 88,8 cm. Perbedaan nyata pada tinggi tanaman antara kedua perlakuan NaCl dan fase tanaman menjadi

indikator bahwa cekaman salinitas mempengaruhi pertumbuhan tanaman berdasarkan hasil karakteristik morfologi tinggi tanaman yang semakin menurun pada kedua fase tanaman pemberian perlakuan cekaman. Adanya pemulihan dengan air juga menyebabkan adanya perubahan pada tinggi tanaman.

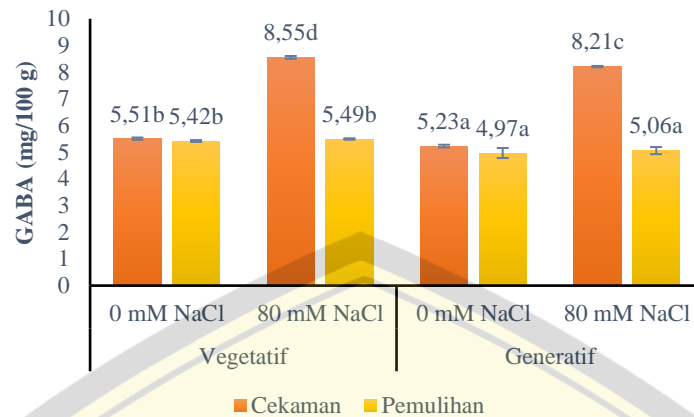
Berdasarkan Tabel 4.1, cekaman salinitas juga berpengaruh terhadap jumlah anakan, namun tidak seluruhnya mengalami penurunan nilai. Penurunan nilai pada variabel karakteristik morfologi hanya terjadi pada variabel jumlah anakan saat perlakuan fase generatif, yakni pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif, namun terjadi peningkatan saat diberikan perlakuan cekaman salinitas, yakni pada 0 mM dan 80 mM NaCl berturut-turut adalah 3 batang dan 6 batang anakan. Jumlah anakan sejalan dengan jumlah helai daun. Setiap anakan pada tanaman padi mempengaruhi jumlah helai daun. Semakin besar jumlah anakan pada tanaman padi, maka semakin besar pula jumlah helai daun. Berdasarkan Tabel 4.1, jumlah helai daun pada perlakuan konsentrasi 0 mM dan 80 mM NaCl pada fase vegetatif berturut-turut adalah 12 helai dan 18 helai daun. Jumlah helai daun pada perlakuan konsentrasi 0 mM dan 80 mM NaCl pada fase generatif berturut-turut adalah 80 helai dan 62 helai. Penurunan jumlah helai daun terjadi pada tanaman perlakuan di fase generatif karena adanya penurunan jumlah anakan pada fase generatif.

Cekaman salinitas pada tanaman perlakuan dihentikan dengan pemulihan atau *recovery* dengan menggunakan air. Pemulihan dengan air bertujuan untuk memulihkan keadaan tanaman yang terkena cekaman menjadi keadaan tanaman tanpa cekaman. Adanya pengaruh pemulihan dengan air ditunjukkan pada Tabel 4.1, bahwa semua variabel pengamatan karakteristik morfologi yang meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan dan jumlah helai daun pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl mengalami peningkatan saat diberikan pemulihan dengan air atau *re-watering*, selain pada jumlah anakan dan helai daun pada tanaman perlakuan 80 mM NaCl di fase generatif. Tinggi tanaman pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl di fase vegetatif berturut-turut meningkat menjadi 112,55 cm dan 88,8 cm. Tinggi tanaman pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl di fase generatif berturut-turut meningkat menjadi 174,05 cm dan 172,18 cm.

Adanya pemulihan dengan air atau *recovery* juga berpengaruh nyata terhadap jumlah anakan dan jumlah helai daun. Jumlah anakan pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl di fase vegetatif berturut-turut meningkat menjadi 6 batang dan 7 batang anakan. Jumlah anakan di fase generatif pada tanaman kontrol 0 mM NaCl meningkat menjadi 25 batang, sedangkan pada tanaman perlakuan 80 mM NaCl menurun menjadi 14 batang anakan. Jumlah daun sejalan dengan jumlah anakan. Jumlah helai daun pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM NaCl di fase vegetatif berturut-turut meningkat menjadi 26 helai dan 28 helai daun. Jumlah helai daun di fase generatif pada tanaman kontrol 0 mM NaCl meningkat menjadi 94 helai daun, sedangkan pada tanaman perlakuan 80 mM NaCl menurun menjadi 57 helai daun.

4.1.2 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) dan Asam Amino Bebas Tanaman Padi Ketan Hitam

Karakteristik fisiologi dan biokimia tanaman pada tanaman padi juga dapat dipengaruhi oleh adanya cekaman salinitas. Perubahan fisiologi dan biokimia dapat terjadi sebagai respon tanaman terhadap cekaman abiotik seperti cekaman salinitas. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan hasil berbeda nyata pada senyawa biokimia berupa senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) dan asam amino bebas saat diberikan cekaman salinitas. GABA tergolong sebagai asam amino bebas karena merupakan asam amino bukan penyusun protein atau tidak terikat menjadi protein. Kandungan senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) dan Asam Amino Bebas pada pertumbuhan tanaman padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) yang diberikan perlakuan NaCl sebagai simulasi cekaman salinitas selama 14 hari dengan dua konsentrasi cekaman salinitas yang diberikan yaitu kontrol atau 0 mM NaCl dan 80 mM NaCl yang diberikan pada fase vegetatif dan atau fase generatif. Perlakuan cekaman salinitas dihentikan dengan pemulihan dengan air atau *re-watering*. Berikut ini merupakan data yang dihasilkan dari analisis karakteristik biokimia GABA tanaman padi setelah perlakuan cekaman salinitas dan pemulihan selama 14 hari pada Gambar 4.3 di bawah ini:

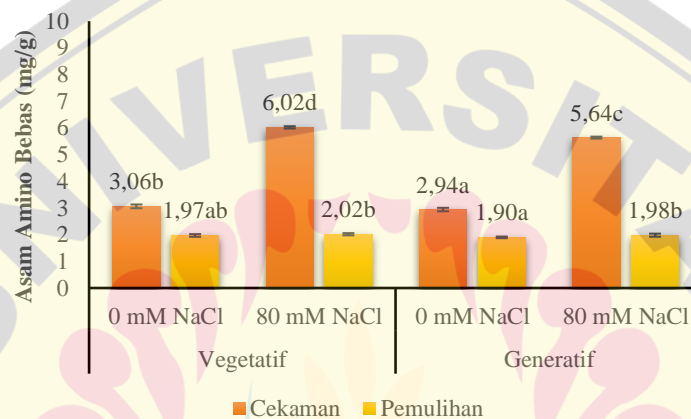


Gambar 4.3 Kandungan GABA selama Tahap Cekaman Salinitas dan Pemulihan
 Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama
 Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Berdasarkan Gambar 4.3, kandungan GABA antara tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM di kedua fase tanaman menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Kandungan GABA meningkat pada saat tanaman diberikan cekaman salinitas dibandingkan dengan tanaman kontrol. Nilai kandungan GABA pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif berturut-turut yakni 5,51 mg/100 g dan 8,55 mg/100 g. Nilai kandungan GABA pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni 5,23 mg/100 g dan 8,21 mg/100 g. Hal ini menunjukkan bahwa cekaman salinitas berpengaruh terhadap kandungan GABA yang ada pada tanaman padi. Kandungan GABA pada tanaman perlakuan 80 mM NaCl fase vegetatif memiliki kandungan GABA tertinggi yakni 8,55 mg/100 g, diikuti dengan kandungan GABA pada tanaman perlakuan 80 mM NaCl fase generatif yakni 8,21 mg/100 g. Kandungan GABA tidak berbeda nyata pada tanaman kontrol 0 mM pada tahap pemulihan, namun, berbeda nyata antar perlakuan fase.

Perlakuan cekaman salinitas dihentikan dengan pemulihan dengan air atau *re-watering*. Nilai kandungan GABA menurun setelah dilakukan pemulihan dengan air pada kedua tanaman kontrol 0 mM NaCl maupun 80 mM NaCl. Nilai kandungan GABA pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase

vegetatif berturut-turut menurun menjadi 5,42 mg/100 g dan 5,49 mg/100 g. Nilai kandungan GABA pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni 4,97 mg/100 g dan 5,06 mg/100 g. GABA dan asam amino bebas memiliki kaitan karena GABA merupakan asam amino. Berikut ini merupakan data yang dihasilkan dari analisis karakteristik biokimia asam amino bebas tanaman padi setelah perlakuan cekaman salinitas dan pemulihan selama 14 hari pada Gambar 4.3:



Gambar 4.4 Kandungan Asam Amino Bebas selama Tahap Cekaman Salinitas dan Pemulihan

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama
Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Berdasarkan Gambar 4.4, kandungan asam amino bebas antara tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM di kedua fase tanaman menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Kandungan asam amino bebas meningkat pada saat tanaman diberikan cekaman salinitas dibandingkan dengan tanaman kontrol di kedua fase tanaman, yakni fase vegetatif dan generatif. Nilai kandungan asam amino bebas pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif berturut-turut yakni 3,06 mg/g dan 6,02 mg/g. Nilai kandungan asam amino bebas pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni 2,94 mg/g dan 5,64 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa cekaman salinitas berpengaruh terhadap kandungan asam amino bebas yang ada pada tanaman padi Ketan Hitam.

Perlakuan cekaman salinitas dihentikan dengan pemulihan dengan air atau *re-watering*. Nilai kandungan asam amino bebas menurun setelah dilakukan pemulihan dengan air pada kedua tanaman kontrol 0 mM NaCl maupun 80 mM NaCl. Nilai kandungan asam amino bebas pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif berturut-turut menurun menjadi 1,97 mg/g dan 2,02 mg/g. Nilai kandungan asam amino bebas pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni menjadi 1,90 mg/g dan 1,98 mg/g. Nilai kandungan asam amino bebas pada tahap pemulihan di kedua fase maupun antar fase vegetatif dan generatif menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

4.1.3 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Total Protein Terlarut Tanaman Padi Ketan Hitam

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan hasil total protein terlarut berbeda nyata saat diberikan cekaman salinitas. Protein tersusun atas asam-asam amino yang disebut sebagai asam amino protein yang memiliki berbagai fungsi bagi metabolisme tanaman. Kandungan total protein Terlarut pada pertumbuhan tanaman padi Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) yang diberikan perlakuan NaCl sebagai simulasi cekaman salinitas selama 14 hari. Terdapat dua konsentrasi cekaman salinitas yang diberikan yaitu kontrol atau 0 mM NaCl dan 80 mM NaCl yang diberikan pada fase vegetatif dan atau fase generatif. Perubahan fisiologi dan biokimia terjadi sebagai respon terhadap cekaman abiotik.

Perlakuan cekaman salinitas dihentikan dengan pemulihan atau *recovery* dengan menggunakan air atau disebut juga *re-watering*, yang mana dilakukan selama 14 hari. Adanya cekaman memberikan pengaruh nyata pada penurunan kandungan total protein, namun pemulihan dengan menggunakan air tidak memiliki pengaruh yang nyata terhadap peningkatan kandungan total protein terlarut antar tanaman yang telah diberikan perlakuan cekaman salinitas 80 mM NaCl maupun tanaman yang tidak diberikan cekaman salinitas 0 mM NaCl di kedua fase tanaman. Kandungan total protein terlarut dianalisis dengan menggunakan metode Bradford yang disajikan pada Tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.2 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Total Protein Terlarut pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam

Fase	Tahap	Konsentrasi NaCl (mM)	Total Protein Terlarut (mg/g)
Vegetatif	Cekaman	0	2,08±0,04 ^d
		80	1,62±0,08 ^b
	Pemulihan	0	2,58±0,06 ^a
		80	2,70±0,06 ^a
Generatif	Cekaman	0	1,83±0,08 ^c
		80	1,28±0,03 ^a
	Pemulihan	0	2,56±0,11 ^a
		80	2,73±0,19 ^a

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama
Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan total protein terlarut pada Tabel 4.2 menunjukkan hasil bahwa kandungan total protein adalah menurun pada diberikan perlakuan cekaman salinitas. Nilai kandungan total protein terlarut pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif berturut-turut yakni 2,08 mg/g dan 1,62 mg/g. Nilai kandungan total protein terlarut pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni 1,83 mg/g dan 1,28 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa cekaman salinitas berpengaruh terhadap kandungan total protein terlarut yang ada pada tanaman padi. Kandungan total protein terlarut tidak berbeda nyata setiap tanaman pada tahap pemulihan.

Adanya pemulihan dengan air setelah diberikan perlakuan cekaman salinitas tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan total protein terlarut antar tanaman 80 mM NaCl maupun tanaman 0 mM NaCl, baik pada fase vegetatif maupun generatif. Nilai kandungan total protein terlarut meningkat setelah dilakukan pemulihan dengan air pada kedua tanaman kontrol 0 mM NaCl maupun 80 mM NaCl. Peningkatan kandungan total protein terlarut terjadi pada kedua fase tanaman, yakni pada fase vegetatif dan fase generatif. Nilai kandungan total protein terlarut pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase vegetatif berturut-turut meningkat menjadi 2,58 mg/g dan 2,70 mg/g. Nilai total protein terlarut pada tanaman kontrol 0 mM NaCl dan tanaman perlakuan 80 mM pada fase generatif berturut-turut yakni menjadi 2,56 mg/g dan 2,72 mg/g.

4.1.4 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Klorofil dan Karotenoid Tanaman Padi Ketan Hitam

Klorofil merupakan zat hijau yang terdapat pada daun dan mampu menyerap cahaya matahari. Penyerapan cahaya oleh klorofil digunakan untuk melakukan proses fotosintesis dengan optimal. Kandungan klorofil memiliki beberapa kandungan seperti klorofil-a, klorofil-b, karoten dan total klorofil. Daun merupakan salah satu organ bagian tanaman yang memiliki fungsi utama untuk menghasilkan energi bagi tanaman dan menunjang pertumbuhan tanaman dengan optimal. Fotosintesis yang dilakukan pada daun dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan cara pengelolaan budidaya. Kandungan klorofil dan karotenoid disajikan pada Tabel 4.2 berikut:

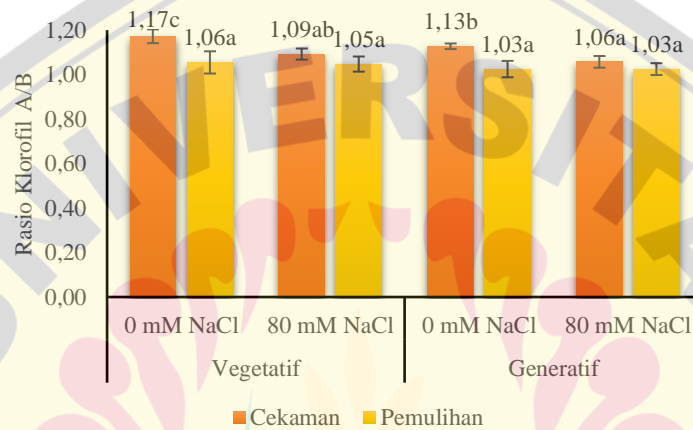
Tabel 4.3 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kandungan Klorofil-a, Klorofil-b, Karoten, Total Klorofil pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam

Fase	Tahap	Konsentrasi NaCl (mM)	Klorofil-a (mg/g)	Klorofil-b (mg/g)	Karoten (mg/g)	Total Klorofil (mg/g)
Vegetatif	Cekaman	0	5,05±0,09 ^b	4,30±0,12 ^b	1,58±0,03 ^a	9,35±0,05 ^b
		80	4,15±0,07 ^a	3,80±0,06 ^a	3,17±0,07 ^b	7,96±0,04 ^a
	Pemulihan	0	7,12±0,12 ^a	6,75±0,15 ^a	2,07±0,07 ^a	13,87±0,27 ^a
		80	6,95±0,09 ^a	6,59±0,09 ^a	2,15±0,06 ^a	13,54±0,25 ^a
Generatif	Cekaman	0	9,60±0,08 ^d	8,52±0,11 ^d	3,72±0,06 ^c	18,12±0,05 ^d
		80	7,69±0,05 ^c	7,27±0,05 ^c	6,54±0,09 ^d	14,96±0,04 ^c
	Pemulihan	0	10,22±0,27 ^c	9,92±0,18 ^c	4,22±0,11 ^b	20,14±0,29 ^b
		80	9,76±0,23 ^b	9,50±0,27 ^b	4,40±0,13 ^c	19,26±0,33 ^c

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama
Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Konsentrasi 80 mM NaCl pada tanaman padi ini meningkatkan kandungan pada klorofil-a, klorofil-b, karoten dan total klorofil. Tabel 4.3 menunjukkan bahwa pada fase vegetatif kandungan klorofil-a, klorofil-b dan total klorofil menurun pada konsentrasi 80 mM NaCl. Klorofil-a saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut mendapatkan hasil 4,15 mg/g dan 7,69 mg/g lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Klorofil-b saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut mendapatkan hasil dengan jumlah 3,80 mg/g dan 7,27 mg/g lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Kandungan total klorofil menurun pada fase vegetatif dan generatif berturut-turut dengan jumlah 7,96 mg/g dan 14,96 mg/g sedangkan kandungan karoten pada tanaman mendapatkan hasil yang meningkat saat dicekam pada fase vegetatif dan generatif

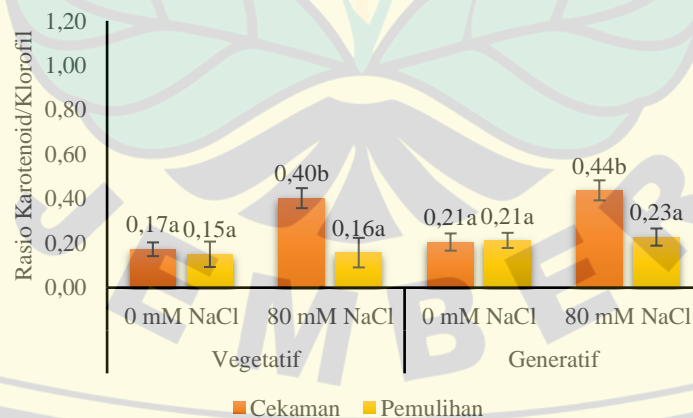
berturut-turut dengan nilai 3,17 mg/g dan 6,54 mg/gr. Penurunan total klorofil berbanding lurus dengan penurunan klorofil-a dan klorofil-b, sehingga mempengaruhi penurunan rasio klorofil a/b. Penurunan rasio klorofil a/b menunjukkan adanya pengaruh cekaman salinitas 80 mM NaCl. Adanya cekaman salinitas juga berpengaruh terhadap rasio karotenoid dan total klorofil karena kandungan karotenoid meningkat saat diberikan cekaman. Berikut merupakan hasil perhitungan rasio klorofil a/b pada Gambar 4.5 dan rasio karotenoid/total klorofil pada Gambar 4.6 di bawah ini:



Gambar 4.5 Rasio Klorofil A/B selama Tahap Cekaman dan Pemulihan

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama

Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)



Gambar 4.6 Rasio Karotenoid/Klorofil selama Tahap Cekaman dan Pemulihan

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama

Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Adanya pemulihan dengan air setelah cekaman 80 mM NaCl saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut pada total klorofil mendapatkan hasil sejumlah 13,24 mg/g dan 19,26 mg/g lebih rendah dibandingkan kontrol, namun mengalami peningkatan jika dibandingkan saat terjadi cekaman salinitas. Klorofil-a saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut mendapatkan hasil 6,95 mg/g dan 9,76 mg/g lebih rendah dibandingkan kontrol. Klorofil-b saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut mendapatkan hasil dengan jumlah 6,59 mg/g dan 9,50 mg/g. Kandungan karotenoid juga mendapatkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol saat fase vegetatif dan generatif berturut-turut dengan jumlah 2,15 mg/g dan 4,40 mg/g.

4.1.5 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Kapasitas Antioksidan Tanaman Padi Ketan Hitam

Parameter aktivitas antioksidan yang dilakukan antara lain analisis aktivitas antioksidan ABTS dan peredaman radikal hidroksil. Pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan jumlah total protein pada masing-masing dalam perhitungannya menggunakan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50%*) atau konsentrasi penghambatan 50%. Nilai IC₅₀ yang semakin rendah, maka semakin tinggi kapasitas antioksidannya, sedangkan semakin tinggi nilai IC₅₀ maka semakin rendah nilai kapasitas antioksidannya. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA), berikut merupakan hasil analisis kapasitas antioksidan pada tanaman padi Ketan Hitam selama fase generatif dan vegetatif:

Tabel 4.4 Pengaruh Cekaman Salinitas dan Pemulihan terhadap Nilai IC₅₀ ABTS dan Nilai IC₅₀ Hidroksil pada Fase Vegetatif dan Generatif Tanaman Padi Ketan Hitam

Fase	Tahap	Konsentrasi NaCl (mM)	Nilai IC ₅₀ ABTS (µg/µL)	Nilai IC ₅₀ Hidroksil (µg/µL)
Vegetatif	Cekaman	0	3,10±0,04 ^d	3,22±0,04 ^b
		80	2,61±0,06 ^b	3,08±0,03 ^a
	Pemulihan	0	3,16±0,07 ^b	3,22±0,01 ^b
		80	3,08±0,04 ^a	3,21±0,03 ^b
Generatif	Cekaman	0	2,89±0,05 ^c	3,18±0,04 ^b
		80	2,14±0,03 ^a	3,04±0,02 ^a
	Pemulihan	0	3,13±0,04 ^{ab}	3,16±0,02 ^a
		80	3,06±0,08 ^a	3,16±0,02 ^a

Keterangan: Huruf kecil menunjukkan notasi antar interaksi fase tanaman dan konsentrasi NaCl dalam tahap yang sama
Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada tahap yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Fase vegetatif perlakuan kontrol mendapatkan hasil nilai IC50 3,10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan pada pemberian 80 mM NaCl mendapatkan hasil nilai aktivitas antioksidan IC50 yang tinggi sebesar 2,61 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Pada fase generatif nilai IC50 perlakuan kontrol mendapatkan nilai 2,89 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan pada perlakuan 80 mM NaCl mendapatkan nilai aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan kontrol dengan nilai 2,14 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Pemulihan setelah cekaman NaCl memberikan nilai aktivitas antioksidan peredaman radikal ABTS tidak berbeda nyata baik di fase vegetatif dan fase generatif. Fase vegetatif pada tahap pemulihan setelah tercekam nilai IC50 paling tinggi terdapat pada perlakuan 80 mM NaCl dengan nilai IC50 3,09 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ sedangkan nilai IC50 paling tinggi di fase generatif juga didapati pada perlakuan 80 mM NaCl dengan nilai IC50 sebesar 3,08 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Pengukuran antioksidan juga dilakukan menggunakan aktivitas antioksidan terhadap peredaman radikal hidroksil. Hasil nilai IC50 Hidroksil menunjukkan berbeda nyata pada fase vegetatif dan fase generatif. Pada perlakuan kontrol di fase vegetatif tahap cekaman mendapatkan hasil nilai IC50 sebesar 3,22 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ sedangkan pada perlakuan 80 mM NaCl mendapatkan nilai IC50 yang tinggi yaitu sebesar 3,08 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Hasil nilai IC50 pada fase generatif yang lebih tinggi terdapat pada perlakuan 80 mM NaCl dengan nilai 3,04 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dibandingkan dengan kontrol hanya mendapatkan nilai 3,18 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Hasil nilai IC50 Hidroksil saat pemulihan dari cekaman NaCl mendapatkan hasil tidak berbeda nyata. Nilai IC50 saat pemulihan di fase vegetatif terdapat pada perlakuan 80 Mm NaCl dengan nilai 3,21 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol yang mendapatkan nilai 3,22 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Pemulihan pada fase generatif juga mendapatkan hasil aktivitas antioksidan pada perlakuan 80 mM NaCl dengan nilai IC50 3,16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan memiliki nilai yang sama dengan nilai IC50 tanaman kontrol.

4.2 Pembahasan

Cekaman salinitas mempengaruhi perubahan pada karakteristik morfologi maupun biokimia tanaman. Perubahan pada karakteristik morfologi seperti tinggi sesuai dengan penelitian Rahayu *et al.* (2020), bahwa penurunan tinggi tanaman disebabkan karena potensial osmotik di dalam sel menjadi lebih rendah dibandingkan

dengan potensial osmotik di luar sel karena terjadi akumulasi garam di lingkungan. Perbedaan potensial osmotik di dalam dan di luar sel tersebut menyebabkan penyerapan akar terhadap air dan unsur hara terganggu, sehingga pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Romadloni *et al.* (2018), dalam penelitiannya mengemukakan bahwa pertumbuhan tinggi tanaman yang semakin turun disebabkan oleh adanya cekaman osmotik yang menyebabkan tanaman sulit menyerap air begitu juga dengan pengaruh ion Na^+ dan Cl^- yang berlebihan akibat pemberian NaCl juga menyebabkan pembelahan dan pembesaran sel terhambat. Penelitian Puvanitha dan Mahendran (2017), juga menyebutkan bahwa cekaman salinitas memberikan perbedaan yang signifikan. Penelitian Islam *et al.*, (2007) dan Hakim *et al.*, (2013), juga menyebutkan tinggi tanaman akan menurun seiring dengan peningkatan kadar garam pada media tanam fase generatif secara signifikan.

Karakteristik morfologi selain tinggi tanaman, juga berpengaruh pada jumlah anakan. Jumlah anakan pada fase vegetatif tidak mengalami penurunan seperti pada fase generatif maupun pada variabel tinggi tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman dalam merespon cekaman tidak hanya mengurangi tingkat pertumbuhannya saja, tetapi juga dapat meningkatkan aktivitas metabolisme sebagai respon pertahanan terhadap cekaman. Peningkatan aktivitas metabolisme tanaman ditunjukkan dengan pertumbuhan anakan yang lebih cepat dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hal ini sejalan dengan pernyataan Firmansyah *et al.* (2017), dalam penelitiannya menyebutkan respon tanaman yang mengalami cekaman salah satunya adalah dengan penyesuaian osmotik yang dilakukan oleh metabolit organik untuk mempertahankan nutrisi dan laju penyerapan air, serta mencegah plasmolisis pada sel tanaman. Mekanisme pertahanan tanaman terhadap cekaman salinitas ini ditunjukkan dalam peningkatan jumlah anakan yang bertujuan untuk memperluas wilayah tanaman dalam mempertahankan nutrisi dan laju penyerapan airnya.

Jumlah helai daun pada tanaman perlakuan di fase vegetatif mengalami peningkatan karena jumlah anakannya juga meningkat akibat adanya perlakuan cekaman saat fase vegetatif. Fase vegetatif merupakan fase dimana tanaman sedang fokus terhadap aktivitas pertumbuhan, seperti peningkatan tinggi tanaman. Adanya cekaman salinitas pada fase vegetatif menyebabkan tinggi tanaman menurun, tetapi

jumlah anakan dan daun meningkat karena salah satu respon tanaman saat terjadi cekaman adalah dengan mempercepat aktivitas metabolismenya. Peningkatan aktivitas metabolisme sebagai respon tanaman menghadapi cekaman menyebabkan tanaman yang seharusnya sedang dalam proses pertumbuhan, justru memasuki proses perkembangan dengan meningkatnya jumlah anakan dan helai daun. Penurunan jumlah anakan ini terjadi karena beberapa anakan yang telah tua tidak dapat bertahan hidup untuk melanjutkan pertumbuhan dan perkembangannya atau disebut sebagai kematian. Ketidakmampuan tanaman dalam mempertahankan hidupnya diakibatkan kerusakan jaringan akibat cekaman salinitas yang terjadi sebelumnya karena toksisitas ion sehingga ion racun disalurkan ke daun tua dan pelepah daun untuk menyelamatkan jaringan meristematik muda yang sedang tumbuh (Das *et al.*, 2018)

Cekaman salinitas juga mempengaruhi terhadap perubahan kandungan bikomia tanaman seperti GABA dan asam amino bebas. Senyawa γ -Aminobutyric Acid (GABA) merupakan senyawa asam amino non-protein dengan jumlah empat karbon memiliki berbagai fungsi pada hewan dan tanaman (Xu *et al.*, 2017; Khan *et al.*, 2021, Li *et al.*, 2021). Jumlah kandungan GABA berhubungan dengan jumlah asam amino karena yang merupakan asam amino non-protein. Adanya hubungan ini dapat menjadi penegas bahwa peningkatan kandungan GABA terjadi dalam kondisi tanaman terkena cekaman salinitas. Kandungan GABA yang meningkat saat terjadi cekaman sesuai dengan pernyataan Kinnersley dan Turano (2000) bahwa suatu pola atau mekanisme akumulasi GABA terjadi saat adanya cekaman seperti cekaman salinitas. Adanya cekaman salinitas yang menyebabkan toksisitas ion garam dapat mempengaruhi fisiologis dan metabolisme tanaman salah satunya penurunan laju sintesis protein (Swapna, 2003; Xu *et al.*, 2013). GABA merupakan prekursor dari senyawa antioksidan, sehingga adanya kandungan GABA yang meningkat dapat meningkatkan aktivitas metabolisme antioksidan dalam mengurangi efek kerusakan oksidatif. Hal ini dikarenakan biosintesis poliamina meningkat pada saat kondisi cekaman, sehingga dapat meningkatkan aktivitas biosintesis GABA.

Adanya cekaman seperti cekaman salinitas dapat meningkatkan kandungan asam amino pada tanaman. Hal ini dikarenakan asam amino yang terkandung dalam tanaman merupakan senyawa yang berfungsi sebagai mekanisme toleransi terhadap

cekaman. Adanya cekaman salinitas berpengaruh terhadap peningkatan kandungan asam amino bebas. Hal ini sejalan dengan fungsi asam amino bebas di dalam sel saat tanaman mengalami cekaman seperti cekaman salinitas yakni sebagai penjaga osmotik dalam sel. Asam amino sebagai mekanisme toleransi terhadap cekaman adalah dengan melakukan penyesuaian osmotik sel sehingga turgiditas sel tetap terjaga. Turgiditas sel dapat dipertahankan dengan meningkatkan potensial osmotik sel dengan meningkatkan kadar bahan larut di dalam sel seperti asam amino. Asam amino bebas berhubungan dengan GABA karena asam amino bebas merupakan asam amino yang tidak berikatan membentuk protein, tetapi hanya sebagai asam amino tidak terikat (asam amino individu), sehingga jumlah peningkatan GABA sejalan dengan peningkatan jumlah asam amino bebas.

Kandungan biokimia selain pada GABA dan asam amino bebas, juga terdapat total protein terlarut. Total protein terlarut merupakan kumpulan asam-asam amino yang mana protein tersebut larut di dalam air. Penurunan laju sintesis protein ini menyebabkan jumlah total protein terlarut menjadi menurun saat diberi cekaman. Protein tersusun atas asam amino yang memiliki berbagai fungsi bagi metabolisme tanaman. Perubahan kandungan total protein terlarut digunakan sebagai indikator untuk mengetahui kandungan asam amino yang terbentuk dalam meresponi cekaman salinitas. Nilai kandungan total protein terlarut mengalami penurunan dengan adanya pemberian cekaman salinitas dan mengalami peningkatan kandungan total protein terlarut setelah dilakukan pemulihan. Protein tersusun dari asam-asam amino yang saling terikat dan merupakan salah satu komponen penting penyusun sel.

Penurunan kandungan total protein terlarut pada tanaman dikarenakan protein yang ada dipecah menjadi asam amino bebas pada saat tanaman tumbuh pada lingkungan stress yang berfungsi untuk menjaga tekanan osmotik sel. Hal ini disampaikan oleh Mastur (2016), bahwa adanya cekaman menyebabkan tanaman menjadi kekurangan air atau dehidrasi sehingga mengakibatkan pengentalan cairan sel yang. Adanya pengentalan cairan menyebabkan agregasi dan denaturasi protein-protein, sehingga nilai kandungan total protein terlarut pada tanaman menurun saat mengalami cekaman. Akumulasi Na^+ berlebihan akibat adanya cekaman salinitas juga menjadi faktor penghambat dalam metabolisme seluler seperti sintesis protein dan

aktivitas enzim, sehingga kandungan total protein terlarut menurun dan mengakibatkan proses fotosintesis menjadi terganggu (Horie *et al.*, 2012). Selain itu, pengukuran untuk protein terlarut ini dilakukan untuk mengetahui jumlah protein yang akan digunakan dalam pengukuran kapasitas antioksidan. Kapasitas antioksidan merupakan metode yang dilakukan untuk mengetahui seberapa besar protein di dalam tanaman mampu meredam radikal bebas akibat adanya cekaman.

Kandungan klorofil yang meningkat pada konsentrasi NaCl yang semakin tinggi dapat disebabkan oleh bertambahnya jumlah kloroplas dalam tanaman (Ekinci *et al.*, 2012). Klorofil merupakan zat hijau yang terdapat pada daun yang terbuat dari karbon dan nitrogen serta magnesium sebagai inti klorofil mampu menyerap cahaya matahari (Nasrudin *et al.*, 2022). Kemampuan klorofil menyerap cahaya matahari guna untuk melakukan proses fotosintesis dengan optimal. Klorofil memiliki beberapa kandungan yang terbagi seperti klorofil-a, klorofil-b, karoten dan total klorofil. Kandungan klorofil-a, klorofil-b dan total klorofil yang menurun dikarenakan peningkatan Na^+ dan ROS saat tercekam salinitas. Hal ini mengganggu stabilitas membran kloroplas dan menguraikan kompleks pigmen lipid dan meningkatnya enzim klorofilase untuk mempercepat proses degradasi (Meng *et al.*, 2023). Klorofil yang menurun juga disebabkan oleh efek penghambatan dari akumulasi ion garam pada NaCl pada biosintesis seluruh kandungan klorofil (Ali *et al.*, 2003).

Penelitian Bayat *et al.* (2022), juga menyebutkan mendapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi NaCl maka semakin menurun kandungan klorofil. Total klorofil konsentrasi tertinggi yaitu 13,3 dS/m mendapatkan nilai 0,78 mg/g. Penelitian Lu *et al.* (2023), juga memberikan hasil yang sama dimana pada konsentrasi 200 mM NaCl menurunkan jumlah kandungan total klorofil, klorofil-a dan klorofil-b dibandingkan dengan kontrol. Efek penghambatan garam pada daun sehingga menghambat efisiensi fotosintesis pembengkakan tilakoid diikuti oleh gangguan kloroplastida (Ghosh *et al.*, 2016). Ion keseimbangan dan respon metabolisme nitrogen dari daun tua bibit padi di bawah tekanan garam atau cekaman salinitas (Ubudiyah dan Nurhidayati, 2013). Tanaman yang sedang berada di bawah cekaman salinitas dapat menyebabkan akumulasi konsentrasi Na^+ , Cl^- dan NO_3^- yang lebih tinggi pada daun tua dibandingkan dengan daun muda sehingga terjadi toksisitas ion dalam sel.

Penurunan kandungan klorofil-a menyebabkan kemampuan dalam reaksi merubah energi radiasi cahaya semakin menurun sehingga fotosintesis akan terhambat. Klorofil-a dan klorofil-b berperan dalam proses fotosintesis tanaman. Klorofil-b berfungsi sebagai antena fotosintetik yang mengumpulkan cahaya. Hal ini berkaitan dengan peningkatan protein klorofil a/b pada LHC II (*Light Harvesting Complex*). Membesarnya antena untuk fotosistem II ini akan mempertinggi efisiensi pemanenan cahaya. Klorofil-b berfungsi sebagai antena yang mengumpulkan cahaya untuk kemudian ditransfer ke pusat reaksi. Pusat reaksi tersusun dari klorofil-a. Energi cahaya akan diubah menjadi energi kimia di pusat reaksi yang kemudian dapat digunakan untuk proses reduksi dalam fotosintesis (Taiz dan Zeiger, 1991).

Ma'ruf (2016), melaporkan bahwa perlakuan tingkat salinitas yang berbeda dapat menyebabkan jumlah air yang terdapat di dalam tanaman akan berkurang sehingga turgor sel penutup stomata menurun yang mengakibatkan proses fotosintesis terganggu dan asimilat yang dihasilkan akan berkurang. Pigmen fotosintesis seperti klorofil-a dan klorofil-b sangat dipengaruhi oleh cekaman salinitas. Kandungan klorofil-a dan klorofil-b pada padi yang diinduksi level salinitas tinggi akan menurunkan kandungan klorofil-a dan klorofil-b hingga 44% dan 27% dibandingkan dengan tanaman yang tidak terpapar oleh salinitas. Akumulasi Na^+ yang berlebih pada tanaman akan menghambat biosintesis klorofil sehingga kandungan klorofil akan mengalami penurunan saat berada pada cekaman salinitas (Anosheh *et al.*, 2016).

Adanya pemulihan dengan air atau *recovery* dilakukan sebagai mengembalikan keadaan lingkungan yang semula setelah tanaman tercekam NaCl. Adanya perlakuan cekaman NaCl diberikan pemulihan dengan air yang menunjukkan hasil yang meningkat dari kandungan klorofil-a, klorofil-b, karoten dan total klorofil dibandingkan dengan saat tercekam. Klorofil yang meningkat setelah tercekam dikarenakan menurunnya kandungan Na^+ dan fotosintesis meningkat kembali sehingga penyerapan air kembali meningkat dan memenuhi kebutuhan suplai air (Rahnama *et al.*, 2010). Tanaman yang selesai tercekam akan mendapatkan potensial air kembali sehingga ion Mg^+ yang berfungsi sebagai pembentukan klorofil akan kembali bias diserap oleh tanaman (Juwarno *et al.*, 2021). Efek cekaman NaCl akan terakumulasi memberikan efek toksik terhadap penyusun pigmen protein yang

menyusun kloroplas, namun tanaman padi yang tahan akan cekaman salinitas dan mampu memulihkan proses fotosintesis memiliki kemampuan membran sel yang mengakumulasi dan mendistribusikan baik itu ion anorganik atau organik (Anugrah *et al.*, 2022).

Anosheh *et al.* (2016), dalam penelitiannya menyebutkan tanaman yang tumbuh pada kondisi salin, akan mengalami pengurangan penyerapan air tanaman, toksisitas ion, ketidakseimbangan dan defisiensi nutrisi serta serta peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) seperti H_2O_2 (*hydrogen peroxide*), O_2^- (*superoxide*), O_2 (*singlet oxygen*) and OH (*hydroxyl radical*) yang dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Peredaman radikal bebas menggunakan metode ABTS dan hidroksil. Metode ABTS dipilih sebagai metode dalam pengukuran kapasitas antioksidan karena sampel yang digunakan berasal dari sampel protein. Metode ABTS merupakan metode yang digunakan dalam meredam spesies-spesies radikal bebas secara umum dan efektif untuk sampel protein. Radikal ABTS mengukur kestabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran kapasitas antioksidan pada metode ABTS ditunjukkan dengan adanya pemudaran warna pada senyawa ABTS yang berwarna biru-hijau yang akan semakin memudar apabila terdapat suatu radikal bebas seperti pada sampel tanaman perlakuan cekaman.

Metode pengujian kapasitas antioksidan selain ABTS, juga menggunakan metode hidroksil karena radikal hidroksil (OH^\cdot) merupakan spesies reaktif oksigen yang paling reaktif, yang mana dihasilkan melalui rekasi fenton. Radikal hidroksil dapat menyebabkan kerusakan biomolekul seperti lipid, protein dan asam nukleat serta menjadi faktor penyebab penyakit degeneratif. Pada Tabel menunjukkan hasil pengujian menggunakan nilai IC50 menggunakan peredaman radikal ABTS dan Hidroksil. Senyawa antioksidan yang terdapat dalam tanaman merupakan senyawa yang mampu menghambat radikal bebas saat tanaman terkena cekaman dan dapat mencegah terjadinya kerusakan sel pada tanaman akibat tekanan osmotik (Pratama dan Siswoyo, 2022). Hasil peredaman terhadap radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) akan semakin tinggi dalam cekaman salinitas pada konsentrasi 50%, sehingga peredaman radikal hidroksil semakin tinggi dengan nilai yang didapat sebesar 0,5 mg/mL (Li *et al.*, 2022)

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Perlakuan cekaman salinitas dengan menggunakan NaCl yang diberikan pada tanaman padi Ketan Hitam dapat mempengaruhi morfologi dan senyawa biokimia yang terkandung. Cekaman salinitas dengan 80 mM NaCl pada fase vegetatif dan generatif menurunkan semua nilai variabel karakteristik morfologi, kecuali pada jumlah anakan pada fase vegetatif. Cekaman salinitas dengan 80 mM NaCl pada fase vegetatif dan generatif juga menurunkan kandungan total protein terlarut, klorofil-a, klorofil-b, total klorofil, rasio klorofil a/b, nilai IC50 ABTS, dan nilai IC50 hidrosil. Namun, adanya cekaman salinitas pada fase vegetatif dan generatif justru meningkatkan kandungan karotenoid, rasio karotenoid/klorofil, dan asam amino bebas yang sejalan dengan peningkatan kandungan GABA. Cekaman salinitas pada fase vegetatif 80 mM NaCl meningkatkan kandungan GABA sebesar 8,55 mg/100g yang memberikan nilai lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian 80 mM NaCl pada fase generatif yaitu sebesar 8,21 mg/100g.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilaksanakan tentang pengaruh cekaman salinitas terhadap kandungan GABA padi Ketan Hitam pada fase vegetatif dan generatif, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait penambahan perlakuan berupa kombinasi cekaman salinitas vegetatif dan generatif, disertai dengan penelitian untuk produksi dan ekspresi gen GABA.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah D., R. Soedradjad., dan T. A. Siswoyo. 2015. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Kandungan Fenolik dan Antioksidan Tanaman Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) pada Fase Awal Vegetatif. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1): 1–4.
- Ali F., Ferawati, dan A. Risma. 2013. Ekstraksi Zat Warna dari Kelopak Bunga Rosella (Studi Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat dan Asam Sitrat). *Teknik Kimia*, 1(19): 26-34.
- Ali Y., Aslam Z., Ashraf M.Y. and Tahir G.R. 2003. Effect of Salinity on Chlorophyll Concentration, Leaf Area, Yield and Yield Components of Rice Genotypes Grown Under Saline Environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*. Vol.1(3): 1-6
- Aliu, S., I. Rusinovci, S. Fetahu, B. Gashi, E. Simeonovska, and L. Rozmant. 2015. The Effect of Salt Stress on The Germination of Maize (*Zea mays* L.) Seeds and Photosynthetic Pigments. *Acta agriculturae Slovenica*, 105(1): 85-94.
- Amrinola, W., A. B., Sitanggang, F. Kusnandari, and S. Budiarto. 2021. Characterization of Three Cultivars of Indonesian Glutinous Rice: A Basis for Developing Rice-Based Functional Food. *Food Technology*, 45(1): 141-156.
- An, M. K., J. B. Ahn, S. H. Lee, and K. G. Lee. 2010. Analysis of γ -Aminobutyric Acid (GABA) Content in Germinated Pigmented Rice. *KOREAN J. FOOD SCI.*, 42(5): 632-636.
- Anosheh, H. P., G. Ranjbar, H. Pakniyat, and Y. Emam. 2016. Physiological Mechanisms of Salt Stress Tolerance in Plants: An Overview. *Plant Environment Interaction*, 203: 141-160.
- Ansari, M. I., S. U. Jalil, S. A. Ansari, and M. Hasanuzzaman. 2021. GABA Shunt: A Key-Player in Mitigation of ROS during Stress. *Plant Growth Regulation*, 94: 131-149.
- Anugrah D.E., Setiawan T.P., Rasmita R., Ewwa A., Restu A., Venti N.S., Selvia W.H., Yuliasti D.K., Evan D.S.N., Isnin K.S., Antromega J.S.P., Usman K.J.S., dan Fahrurrozi F., 2022. Penggunaan Indikator Fisiologis Untuk Menentukan Tingkat Cekaman Salinitas Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Agroqua*. 20(1): 50 – 65
- Azizza, L., N. Kusstianti, O. K. Pritasari, D. Lutfiati. 2020. Pengaruh Proporsi Madu, Ketan Hitam (*Oryza sativa* var. *Glutinosa*) dan Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap Sifat Fisik Masker Wajah Tradisional. *e-Jurnal*, 9(4): 59-64.

- Barus, W. A., A. Munar, I. Shofia, dan E. Lubis. Kontribusi Asam Salisilat untuk Ketahanan Cekaman Salinitas pada Tanaman. *Penelit. Bid. Ilmu Pertan.*, 19(2): 9-19.
- Bayat H., Shafie F., Shahraki B., 2022. Salinity Effects on Growth, Chlorophyll Content, Total Phenols and Antioxidant Activity in *Salvia Lavandulifolia* Vahl. *Adv. Hort. Sci.* 36(2): 145 – 153
- Brilia C.K., M, Nelly, dan S. E Kawengian. 2016. Gambaran Kandungan Zat-Zat Gizi Pada Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Varietas Enrekang. *eBiomedik*, 4(1): 1-7.
- Chen, T., S. Shabala, Y. Niu, Z.H. Chen, L. Shabala, H. Meinke, G. Venkataraman, A. Pareek, J. Xu, and M. Zhou. 2021. Molecular Mechanism of Salinity Tolerance in Rice. *The Crop Journal*, pp. 1-42.
- Das. G., G. J. N. Rao, M. Varier, A. Prakash and D. Prasad. 2018. Improved Tapaswini Having Four BB Resistance Genes Pyramided with Six Genes/QTLs, Resistance Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses in Rice. *Scientific Reports*. 8:2413.
- Deng, G. F., X. Xiang-Rong, Z. Yuan, L. Dan, G. Ren-You, and L. Hua-Bin. 2013. Phenolic Compounds and Bioactivities of Pigmented Rice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53(3): 296-306.
- Dwiatmini K., dan H. Afza, 2018. Karakterisasi Kadar Antosianin Varietas Lokal Padi Warna sebagai SDG Pangan Fungsional. *Buletin Plasma Nutfah*, 24(2): 125–134.
- Ekowati, N. Y., dan Y. A. Purwestri. 2016. Analisis Kandungan *Gamma Aminobutyric Acid* (GABA), Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan “Beras Kecambah” Kultivar Lokal (*Oryza sativa* L.) di Yogyakarta. *Agricola*, 6(2): 117-127.
- Farooq M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, S. M. A. Basra. 2008. Plant Drought Stress: Effects, Mechanism and Management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29: 185-212.
- Feizi, H., R. Moradi, N. Pourghasemian, and H. Sahabi. 2021. Assessing Saffron Response to Salinity Stress and Alleviating Potential of Gamma Amino Butyric Acid, Salicylic Acid and Vermicompost Extract on Salt Damage. *South African Journal of Botany*, 141: 330-343.
- Firmansyah, E., B. Kurniasih dan D. Indradewa. 2017. Respon Varietas Padi Tahan Salin terhadap Beberapa Durasi Genangan dengan Tingkat Salinitas Berbeda. *AGROISTA*, 1(1) : 50-65.

- Ganie, S. S., K. A. Molla, R. J. Henry, K. V. Bhat, and T. K. Mondal. 2019. Advances in Understanding Salt Tolerance in Rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 132: 851-870.
- Ghosh, N., M. K. Adak, P. D. Ghosh, S. Gupta, D. N. Sen Gupta, C. Mandal. 2011. Differential Response of Two Rice Varieties to Salt Stress. *Plant Biotechnol Rep*, 5 : 89-103.
- Hakim, M. A., A. S. Juraimi, M. M. Hanafi, M. R. Ismail, A. Selamat, S. M. R. Karim. 2013. Effect of Salt Stress on Morpho-Physiologi Vegetative Growth and Yield of Rice. *Journal of Environmental Biology*, 35: 317-326.
- Hakim, M. A., A. S. Juraimi, M. M. Hanafi, M. R. Ismail, A. Selamat, M. Y. Rafii, and M. A. Latif. 2014. Biochemical and Anatomical Changes and Yield Reduction in Rice (*Oryza sativa* L.) under Varied Salinity Regimes. *BioMed Research International*, 2014: 1-11.
- Halindra, Y. M., E. P. W. Rusmiyanto, dan R. Linda. 2017. Perkecambahan Benih Padi (*Oryza sativa* L.) Lokal Asal Kalimantan Barat Berdasarkan Tingkat Salinitas. *Protobiont*, 6(3): 295-302.
- Hariyati, T. dan R. Lestari. 2021. Karakterisasi Morfologi Padi Lokal Desa Tanjung Buka Kec. Tanjung Palas Tengah Kab. Bulungan. *Agrotek Indonesia*, 6(2): 1-6.
- Hayati,, P. K. D., L. Syukriani, N. E. Putri, N. Rozen, dan Sutoyo. 2014. Orientasi Dosis Irradiasi pada Benih Padi Ketan Lokal Sumatera Barat untuk Perbaikan Karakter Tinggi Tanaman dan Umur Panen. *PERIPI Komda Riau*: 108-112.
- Heenan, D. P., L. G. Lewin, and D. W. McCaffery. 1988. Salinity Tolerance in Rice Varieties at Different Growth Stages. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 28: 343-349.
- Horie, T., I. Karahara and M. Katsuhara. 2012. Salinity Tolerance Mechanisms in Glycophytes: An Overview with Central Focus on Rice Plants. *Rice*, 5: 1-18.
- Indrowati, M., P. Astuti, R. Pratiwi, dan Rumiati. 2015. Deteksi Gamma Amino Butyric Acid (GABA) pada Daun *Artocarpus altilis*. *SNPS*, hal. 595-600.
- Islam, M. Z., M. A. B. Mia, M. R. Islam, and A. Akter. 2007. Effect of Different Saline Levels on Growth and Yield Attributes of Mutant Rice. *J. Soil. Nature*, 1(2): 18-22.
- Jamil, M., S. Bashir, S. Anwar, S. Bibi, A. Bagash, F. Ullah, and E. S. Rha. 2012. Effect of Salinity on Physiological and Biochemical Characteristics of Different Varieties of Rice. *Pak. J. Bot*, 44: 7-13.

- Jayant, K. S., and S. K. Sarangi. 2014. Effect of Drought Stress on Proline Accumulation in Peanut Genotypes. *Advanced Research*, 2(10): 301-309 .
- Juwarno J., Samiyarsih S. dan Abbas M. 2021. Distribusi Kandungan Ion dan Klorofil Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) Kultivar Mahameru Di Pesisir Pantai Sodong Cilacap, Jawa Tengah. *Biosfera a Scientific Journal*. 38(3): 1 – 6
- Karladee, D., and S. Suriyong. 2012. γ -Aminobutyric Acid (GABA) Content in Different Varieties of Brown Rice during Germination. *ScienceAsia*, 38: 13-17.
- Khan, M. H., and S. K. Panda. 2008. Alterations in Root Lipid Peroxidation and Antioxidative Responses in Two Rice Cultivars under NaCl-Salinity Stress. *Acta Physiol Plant*, 30: 81-89.
- Khan, M. I. R., S. U. Jalil, P. Chopra, H. Chillar, A. Ferrante, N. A. Khan, and M. I. Ansari. 2021. Role of GABA in Plant growth, Development and Senescence. *Plant Gene*, 26: 1-11.
- Khanna, R., B. Jahan, N. Iqbal, N. A. Khan, M. F. Al-Ajmi, Md. T. Rehman, and M. I. R. Khan. 2020. GABA Reverses Salt-Inhibited Photosynthetic and Growth Responses through Its Influence on No-Mediated Nitrogen-Sulfur Assimilation and Antioxidant System in Wheat. *Biotechnology*, pp. 1-36.
- Kim, D. W., J. Shibato, G. A. Agrawal, S. Fujihara, H. Iwahashi, D. H. Kim, I. S. Shim, and R. Rakwal. 2007. Gene Transcription in The Leaves of Rice Undergoing Salt-Induced Morphological Changes. *Mol. Cells.*, 24(1): 45-59.
- Kinnersley, A. M., and F. J. Turano. 2012. Gamma Aminobutyric Acid (GABA) and Plant Responses to Stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(6): 479-509.
- Kuswanto. 2007. Teknologi Pemrosesan Pengemasan dan Penyimpanan Benih. Yogyakarta: Kanisius.
- Komatsuzaki, N., K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu, and T. Kimura. 2007. Effect of Soaking and Gaseous Treatment on GABA Content in Germinated Brown Rice. *Food Engineering*, 78: 556–560
- Kristiono, A., R. D. Purwaingrahayu, dan A. Taufiq. Respons Tanaman Kedelai, Kacang Tanah, dan Kacang Hijau terhadap Cekaman Salinitas. *Buletin Palawija*, 26: 45-60.
- Kumar, G. P., K. Navyaa, E. M. Ramya, M. Venkataramana, T. Anand, and K. R. Anilakumar. 2013. DNA Damage Protecting and Free Radical Scavenging Properties of Terminalia Arjuna Bark in PC-12 Cells and Plasmid DNA. *Free Radicals and Antioxidants*, 3(2013): 35-39.

- Kurnia, D., N. A. Lisniawati, dan D. I. Dinata. 2019. Uji Pengikatan Kolesterol oleh Ekstrak Metanol Bekatul Beras Ketan Hitam secara In Vitro. *Kimia Riset*, 4(1): 74-80.
- LeBreton S., C. CaBassa-Hourton, A. Savore, F. Dietmar, and F. Giuseppe. 2020. Appropriate Activity Assays are Crucial for The Specific Determination of Proline Dehydrogenase and Pyrroline-5-Carboxylate Reductase Activities. *Frontire in Plant Science*, 11: 1-9.
- Lesilolo, M. K., J. Riry, dan E. A. Matatula. 2013. Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih Beberapa Jenis Tanaman yang Beredar di Pasaran Kota Ambon. *Agrologia*, 2(1): 1-9.
- Li, L., N. Dou, H. Zhang, and C. Wu. 2021. The Versatile of GABA. *PLANT SIGNALLING & BEHAVIOR*, 16(3): 1-12.
- Li, M., X. Lin, and H. Li. 2011. Overexpression of *AtNHX5* Improves Tolerance to Both Salt and Water Stress in Rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 107: 283-293.
- Liu, A. L., J. Zou, C. F. Liu, X. Y. Zhou, X. W. Zhang, G. Y. Luo, and X. B. Chen. 2013. Over-expression of *OsHsfA7* Enhanced Salt and Drought Tolerance in Transgenic Rice. *BMB Rep*, 46(1): 31-36.
- Lu C., Li L., Liu X., Chen M., Wan S., Li G. 2023. Salt Stress Inhibits Photosynthesis and Destroys Chloroplast Structure by Downregulating Chloroplast Development-Related Genes in *Robinia pseudoacacia* Seedlings. *Plants*. 12(1283): 1 – 18
- Ma'ruf, A., 2016. Respon Beberapa Kultivar Tanaman Pangan terhadap Salinitas. *Jurnal Penelitian Pertanian BERNAS*, 12 (3), pp. 11 – 19.
- Major, J. E., A. Mosseler, J. W. Malcolm and S. Hartz. 2017. Salinity Tolerance of Three *Salix* Species : Survival, Biomass Yield and Allocation, and Biochemical Efficiencies. *Biomass and Bioenergy*, 1(105): 10-22.
- Mastur. 2016. Respon Fisiologis Tanaman Tebu Terhadap Kekeringan. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 8(2): 98-111
- Meerasri, J. and R. Sothornvit. 2020. Characterization of Bioactive Film from Pectin Incorporated with Gamma-Aminobutyric Acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 147: 1286-1293.
- Meng F., Feng N., Zheng D., Meiling L., Rongjun Z., Xixin H., Anqi H. and Ziming C. 2023. Exogenous Hemin Alleviates NaCl Stress by Promoting Photosynthesis and Carbon Metabolism in Rice Seedlings. *Scientific Reports*. 13:3497(1-18)

- MSG3ORGANIC.co.id. 2022. Benih Padi Ketan Hitam. (Diakses pada 30 Desember 2022) <https://msg3organic.co.id/benih-padi-ketan-hitam/>
- Nailufar, A. A., Basito, dan C. Anam. 2012. Kajian Karakteristik Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*) pada Beberapa Jenis Pengemas Selama Penyimpanan. *Teknosains Pangan*, 1(1): 121-132.
- Nasrudin N., Isnaeni S. and Fahmi P. 2022 The Effect of High Salt Stress on The Agronomic, Chlorophyll Content, and Yield Characteristics of Several Rice Varieties. *Conf. Series: Earth and Enviromental Science*. 995-012028(1-7).
- Negrão, S., S. M. Schmöckel, and M. Tester. 2017. Evaluating Physiological Responses of Plants to Salinity Stress. *Annals of Botany*, 119: 1–11.
- Ngo, D. H., and T. S. Vo. 2019. An Updated Review on Pharmaceutical Properties of Gamma-Aminobutyric Acid. *Molecules*, 24: 1-23.
- Nofrianinda, Vida., F. Yulianti dan E. Agustina. 2017. Pertumbuhan Planlet Stoberi (*Fragaria ananassa* D) Var. Dorit pada Beberapa Variasi Media Modifikasi *In Vitro* di Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO). *BIOTROPIC*, 1(1): 41-50.
- Nurmala, T. 2003. Prospek Jewawut (*Pinnisetum* spp.) sebagai Pangan Serealia Alternatif. *Bionatura*, 5(1): 11-20.
- Patil, S. B., M. K. Khan, S. R. Yadav, and G. R. Sahoo. 2020. Determination of Gamma-Aminobutyric Acid in Germinated Brown Rice by HPTLC. *Agricultural Engineering*, 57(1): 40-47.
- Poonlaphdecha, J., I. Maraval, S. Roques, A. Audebert, R. Boulanger, X. Bry, and Z. Gunata. 2012. Effect of Timing and Duration of Salt Treatment during Growth of a Fragrant Rice on Yield and 2-Acetyl-1-pyrroline, Proline, and GABA Levels. *Agric. Food Chem*, 60: 3824-3830.
- Pora, R. J., W. A. Thompson and P. E. Kriedemann. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous equations for Assaying Chlorophylls A and B Extracted with four different solvents: verification of The Concentration of Chlorophyll Standards by Atomic Absorption Spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975: 384-394.
- Prabhandaru, I., dan T. B. Saputro. 2017. Respon Perkecambahan Benih Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal Si Gadis Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *SAINS DAN SENI ITS*, 6(2): 48-52.

- Pradipta, S., M. Ubaidillah, and T. A. Siswoyo. 2020. Physicochemical, Functional and Antioxidant Properties of Pigmented Rice. *Curr. Res. Nutr Food Sci.*, 8(3): 837-851
- Pratama, R. S., dan T. A. Siswoyo. Pengaruh Cekaman Salinitas Terhadap Aktivitas Katalase dan Pertumbuhan Bibit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Berkala Ilmiah PERTANIAN, 5(3): 170-177.
- Priska M., Peni N., Ludovicus C. dan Yulius D.N. 2018. Antosianin dan Pemanfaatannya. *Cakra Kimia*, 6(2): 79-97.
- Pujiasmanto, B., Sutarno, N. Suharyana, dan Riyatun. 2021. *Padi Hitam: Manfaat, Resep Makanan Beras Hitam, dan Riset Padi Hitam yang Diradiasi Sinar Gamma*. Medan: Yayasan Kita Menulis.
- Purwaningrahayu, R. D. 2016. Karakter Morfofisiologi dan Agronomi Kedelai Toleran Salinitas. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(1): 35-48.
- Purwaningrahayu, R. D., dan A. Taufiq. 2017. Respon Morfologi Empat Genotip Kedelai Terhadap Cekaman Salinitas. *Biologi Indonesia*, 13(2): 175-188.
- Purwasasmita M. dan Sutaryat A. 2014. *Padi Sri Organik Indonesia*. Bandung: Penebar Swadaya Grup.
- Puvanitha, S., and S. Mahendran. 2017. Effect of Salinity on Plant Height, Shoot, and Root Dry Weight of Selected Rice Cultivars. *Sch. J. Agric. Vet. Sci.*, 4(4): 126-131.
- Rad, H. E., F. Aref, M. Rezaei, E. Amiri and M. R. Khaledian. 2011. The Effects of Salinity at Different Growth Stage on Rice Yield. *Eco. Env. and Cons.*, 17(2): 111-117.
- Raghuvanshi, R. S., A. Dutta, T. Gunjan, and S. Shweta. 2017. Qualitative Characteristics of Red Rice and White Rice Procured from Local Market of Uttarakhand: A Comparative Study. *Rice Research*, 10(1): 49-53.
- Rahayu, Y., C. Nurjanah, P. Permana, dan Nasrudin. Tanggapan Ketahanan Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas IPB 4S terhadap Cekaman Salinitas dan Cekaman Genangan selama Fase Vegetatif Awal. *Agroscript*, 2(1): 55-66.
- Rahnama A., James R.A., Poustini K. and Munns R. 2010. Stomatal Condustance as a Screen For Osmotic Stress Tolerance in Durum Wheat Growing in Saline Soil. *Csiro Publishing*. 37:256 – 263
- Ramos-Ruiz, R., F. Martinez, and G. K. Beiter. 2019. The Effects of GABA in Plants. *Cogent Food and Agriculture*, 5: 1-12.

- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. R. Evans. 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10): 1231-1237.
- Reddy, I. N. B. L., B. K. Kim, I. S. Yoon, K. H. Kim, and T. R. Kwon. 2017. Salt Tolerance in Rice: Focus on Mechanism and Approaches. *Rice Science*, 24(3): 123-144.
- Rohaeni, W. R., dan T. Hastini. 2015. Inventarisasi Padi Lokal di Kawasan Ciater, Subang, Provinsi Jawa Barat. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 1(2): 189-193.
- Romadloni, A., Karuniawan, D. & Wicaksono, P. 2018. Pengaruh Beberapa Level Salinitas terhadap Perkecambahan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Varietas Vima 1. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6 (8): 1663-1670.
- Salekdeh, Gh. H., J. Siopongco, L. J. Wade, B. Ghareyazie, and J. Bennett. 2002. A Proteomic Approach to Analyzing Drought and Salt-Responsiveness in Rice. *Field Crop Research*, 76: 190-219.
- Salisbury F. B. 1991. *Fisiologi Tumbuhan: Jilid Tiga*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sanseya, S., Y. Hua, S. Chumanee, K. Phasai, and C. Sricheewin. 2017. Effect of Gamma Irradiation on 2-Acetyl-1-pyrroline Content, GABA Content and Volatile Compounds of Germinated Rice (Thai Upland Rice). *Plants*, 6(18): 1-12.
- Santika, A., dan Rozakurniati. 2010. Teknis Evaluasi Mutu Beras Ketan dan Beras Merah pada Beberapa Galur Padi Gogo. *Buletin Teknik Pertanian*, 15(1): 1-5.
- Shahid, M. A., A. Sarkosh, N. Khan, R. M. Balal, S. Ali, L. Rossi, C. Gomez, N. Mattson, W. Nasim, and F. G. Sanchez. 2020. Insights into the Physiological and Biochemical Impacts of Salt Stress on Plant Growth and Development. *Agronomy*, 10(938): 1-34.
- Shelp, B. J., M. S. Aghdam, and E. J. Flaherty. 2021. γ -Aminobutyrate (GABA) Regulated Plant Defense: Mechanisms and Opportunities. *Plants*, 10(1939): 1-27.
- Sheteiwiy, M. S., H. Shao, W. Qi, Y. A. Hamoud, H. Shaghaleh, N. A. Khan, R. Yang, and B. Tang. 2019. GABA-Alleviated Oxidative Injury Induced by Salinity, Osmotic Stress and Their Combination by Regulating Cellular and Molecular Signals in Rice. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(5709): 1-26.

- Sihombing, T., M., Damanhuri, dan Ainurrasjid. 2018. Uji Ketahanan Tiga Genotip Padi Hitam (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Cekaman Kekeringan. *Produksi Tanaman*, 5(12): 2026-2031.
- Siswoyo, T. A., E. Mardiana, K. O. Lee, and K. Hoshokawa. 2011. Isolation and Characterization of Antioxidant Protein Fractions From Melinjo (*Gnetum gnemon*) Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10): 5648-5656.
- Siswoyo, T. A., L. S. Arum, B. R. L. Sanjaya, and Z. S. Aisyah. 2021. The Growth Responses and Antioxidant Capabilities of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) In Different Durations of Drought Stress. *Annals of Agricultural Sciences*, 66: 81-86.
- Siswoyo, T. A., T. Ardyati, and K. Hoshokawa. 2017. Fermentation-Induced Changes in Antioxidant Activities and Oxidative DNA Damage Protection of Melinjo (*Gnetum gnemon*) Flour. *Journal of Food Biochemistry*, 41(4): 1-8.
- Situmorang, A., A. Zannati, D. Widyajayantie dan S. Nugroho. 2010. Seleksi Genotipe Padi Mutan Insersi Toleran Cekaman Salinitas berdasarkan Karakter Pertumbuhan dan Biokimia. *Agron. Indonesia*, 38(1): 8-14.
- Sopandie, D. *Fisiologi Adaptasi Tanaman terhadap Cekaman Abiotik pada Agroekosistem Tropika*. 2013. Bogor: IPB Press.
- Stefani, E., R. Nurmalinga, dan R. Amzul. 2017. Strategi Pengemabangan Usaha Beras Hitam pada Asosiasi Tani Organik Sawangan di Kabupaten Magelang. *AGRARIS*, 3(1): 57-66.
- Suhartini, T. dan T. Z. Harjosudarmo. 2017. Toleransi Plasma Nutfah Padi Lokal terhadap Salinitas. *Bul. Plasma Nutfah*. 23(1): 51-58.
- Swapna, T. S. 2003. Salt stress induced changes on enzyme activities during different developmental stages of rice. *Indian J. of Biotech.*. 2: 251- 258.
- Setyaningsih, W., N. Hidayat, I. E. SaPutro, M. P. Lovillo, and C. G. Barosso. 2015. Study of Glutinous and Non-Glutinous Rice (*Oryza sativa*) Varieties on Their Antioxidant Compounds. *International Conference on PMES*, pp. 31.
- Tortayeva, D. D., R. Horax., S. Eswaranandam., A. Jha., and N. Hettiarachchy. 2014. Effects of Germination on Nutrient Composition of Long Grain Rice and its Protein Physico-Chemical and Functional Properties. *Food and Nutrition*, 1(201): 1-9.

- Trisnawaty, A. R., R. Ashra, R. Sjahril, M. Riadi, dan N. J. Panga. *Priming: Alternatif Peningkatan Viabilitas Benih Padi pada Lahan Kering*. Bandung: Media Sains Indonesia.
- Utama, Z. H. 2019. *Budi Daya Padi Hitam dan Merah: Pada Lahan Marginal dengan Sistem SBSU*. Yogyakarta: Penerbit Andi (Anggota IKAPI).
- Verslues P.E. and Sharma S. 2010. Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. *The Arabidopsis Book*, (8): 1–23.
- Vichapong, J., M. Sookserm, V. Srijesdaruk, P. Swatsitang, and S. Srijaranai. 2010. High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activities in Rice Varieties. *Food Science and Technology*, 43: 1325-1330.
- Wibowo, N. I. 2020. Efektifitas Daya Berkecambah Benih Padi Pandan Wangi dengan Menggunakan Metode Kertas. *Agroscience*, 10(1): 38-47.
- Wongsa P. 2020. Phenolic Compounds and Potential Health Benefits of Pigmented Rice. *Recent Advances in Rice Search*, pp. 1-20
- Wu, F., N. Yang, A. Touré, Z. Jin, and X. Xu. 2013. Germinated Brown Rice and Its Role in Human Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5): 451-463.
- Xu, N., L. Wei, and J. Liu. 2017. Biotechnological Advance and Perspectives of Gamma Aminobutyric Acid Production. *Microbiol. Biotechnol.*, 33(64): 1-11.
- Xu, S., S. Zhu, Y. Jiang, N. Wang, R. Wang, W. Shen & J. Yang. 2013. Hydrogen-rich water alleviates salt stress in rice during seed germination. *Plant Soil*. 370: 47–57.
- Yoshida Y., T. Kiyosu, K. Nakashima, K. Yamaguchi-Shinozaki, and K. Shinozaki. 1997. Regulation of Levels of Proline as an Osmolyte in Plants under Water Stress. *Plant Cell Physiol*, 38(10): 1095-1102.
- Youshida, S. 1981. *Fundamental of Rice Crop Science*. Los Baños: International Rice Research Institute.
- Yuzugullu, O., S. Marelli, E. Erten, B. Sudrett, and I. Hajnsek. 2017. Determining Rice Growth Stage with X-Band SAR: A Metamodel Based Inversion. *Remote Sens*, 9(460): 1-20.
- Zannati, A. 2015. Perubahan Iklim dan Cekaman Abiotik Salinitas. *BioTrends*, 1(1): 5-8.

Zeng, L., M. C. Shannon, and S. M. Lesch. 2001. Timing of Salinity Stress Affect Rice Growth and Yield Components. *Agricultural Water Management*, 48: 191-206.

Zhao, S., Q. Zhang, M. Liu, H. Zhou, C. Ma, and P. Wang. 2021. Regulation of Plant Responses to Salt Stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(9): 1-16.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Rangkuman Hasil Analisis Sidik Ragam ANOVA (*Analysis of Variance*) Parameter Pengamatan Penelitian setelah Cekaman Salinitas

No.	Variabel Pengamatan	Nilai F-Hitung dan Notasi	
		Interaksi Fase dan Konsentrasi NaCl	
1.	Tinggi Tanaman	16420,62**	
2.	Jumlah Anakan	144**	
3.	Jumlah Daun	1560,47**	
4.	Kandungan GABA	6090,54**	
5.	Kandungan Total Asam Amino	3445,79	
6.	Kandungan Total Protein Terlarut	159,31**	
7.	Kandungan Klorofil-a	4959,87**	
8.	Kandungan Klorofil-b	2542,39**	
9.	Kandungan Karoten	3813,11**	
10.	Kandungan Total Klorofil	38458,39**	
11.	Rasio Klorofil a/b	15,89**	
12.	Rasio Karoten/Total Klorofil	44,76**	
13.	Kapasitas Antioksidan (IC50 ABTS)	294,16**	
14.	Kapasitas Antioksidan (IC50 Hidroksil)	25,12**	

Keterangan: (tn) Tidak Berbeda Nyata, (*) Berbeda Nyata, (**) Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 2. Analisis Sidik Ragam ANOVA Tinggi Tanaman (cm)

▪ Tahap Cekaman

Tinggi Tanaman									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	67,20	68,00	67,30	66,30	268,80	F1K1	67,20	0,70
	K2	56,30	55,80	55,60	57,50	225,20	F1K2	56,30	0,85
F2	K1	154,40	152,90	154,70	154,80	616,80	F2K1	154,20	0,88
	K2	151,20	153,20	151,70	152,30	608,40	F2K2	152,10	0,86

$$JK \text{ Total Tak Terkoreksi} = 7,12^2 + \dots + 8,1 = 218398,52$$

$$FK = (GT)^2 / (r \cdot p) = 184728,04$$

$$JK \text{ Total} = 33670,48$$

$$JK \text{ Perlakuan} = 33662,28$$

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	33662,28	11220,76	16420,62	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	8,20	0,68				
TOTAL	15	33670,48					

▪ **Tahap Pemulihan**

Tinggi Tanaman									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	111,70	112,80	113,10	112,60	450,20	F1K1	112,55	0,60
	K2	88,90	90,10	86,80	89,40	355,20	F1K2	88,80	1,42
F2	K1	174,30	172,80	176,10	173,00	696,20	F2K1	174,05	1,52
	K2	169,90	174,00	173,50	171,30	688,70	F2K2	172,18	1,92

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 321987,41
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 299838,38
 JK Total = 22149,03
 JK Perlakuan = 22123,92

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	22123,92	7374,64	3524,67	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	25,11	2,09				
TOTAL	15	22149,03					

Lampiran 3. Analisis Sidik Ragam ANOVA Jumlah Anakan (batang)

▪ **Tahap Cekaman**

Jumlah Anakan									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,00	4,00	3,00	2,00	12,00	F1K1	3,00	0,82
	K2	7,00	7,00	4,00	6,00	24,00	F1K2	6,00	1,41
F2	K1	24,00	22,00	27,00	23,00	96,00	F2K1	24,00	2,16
	K2	13,00	17,00	15,00	15,00	60,00	F2K2	15,00	1,63

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 3414,00
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 2304,00
 JK Total = 1110,00
 JK Perlakuan = 1080,00

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	1080,00	360,00	144,00	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	30,00	2,50				
TOTAL	15	1110,00					

▪ **Tahap Pemulihan**

Jumlah Anakan									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	7,00	7,00	4,00	6,00	24,00	F1K1	6,00	1,41
	K2	7,00	7,00	8,00	6,00	28,00	F1K2	7,00	0,82
F2	K1	24,00	25,00	28,00	23,00	100,00	F2K1	25,00	2,16
	K2	13,00	15,00	11,00	17,00	56,00	F2K2	14,00	2,58

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 3666,00
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 2704,00
 JK Total = 962,00
 JK Perlakuan = 920,00

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	920,00	306,67	87,62	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	42,00	3,50				
TOTAL	15	962,00					

Lampiran 4. Analisis Sidik Ragam ANOVA Jumlah Daun (helai)

▪ **Tahap Cekaman**

Jumlah Daun									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	12,00	13,00	13,00	10,00	48,00	F1K1	12,00	1,41
	K2	18,00	16,00	17,00	21,00	72,00	F1K2	18,00	2,16
F2	K1	81,00	80,00	78,00	81,00	320,00	F2K1	80,00	1,41
	K2	62,00	64,00	60,00	62,00	248,00	F2K2	62,00	1,63

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 42,882,00
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 29584,00
 JK Total = 13298,00
 JK Perlakuan = 13265,00

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	13264,00	4421,33	1560,47	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	34,00	2,83				
TOTAL	15	13298,00					

▪ **Tahap Pemulihan**

Jumlah Daun									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	26,00	25,00	24,00	29,00	104,00	F1K1	26,00	2,16
	K2	28,00	32,00	29,00	23,00	112,00	F1K2	28,00	3,74
F2	K1	94,00	91,00	96,00	95,00	376,00	F2K1	94,00	2,16
	K2	57,00	55,00	57,00	59,00	228,00	F2K2	57,00	1,63

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 3666,00
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 2704,00
 JK Total = 962,00
 JK Perlakuan = 920,00

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	12155,00	4051,67	623,33	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	78,00	6,50				
TOTAL	15	12233,00					

Lampiran 5. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan GABA (mg/100 g)

▪ **Tahap Cekaman**

GABA									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	5,53	5,50	5,55	5,45	22,03	F1K1	5,51	0,04
	K2	8,55	8,58	8,48	8,60	34,21	F1K2	8,55	0,05
F2	K1	5,23	5,30	5,18	5,20	20,91	F2K1	5,23	0,05
	K2	8,21	8,24	8,18	8,20	32,83	F2K2	8,21	0,03

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 792,69
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 755,98
 JK Total = 36,72
 JK Perlakuan = 36,70

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	36,70	12,23	6090,54	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,02	0,00				
TOTAL	15	36,72					

SD DMRT	0,022407216	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,069036633	0,072263272	0,0742127	0,075512318

		5,23	5,51	8,21	8,55	notasi	DMRT
F2K1	5,23	0,00				a	0,069037
F1K1	5,51	0,28	0,00			b	0,072263
F2K2	8,21	2,98	2,70	0,00		c	0,074213
F1K2	8,55	3,33	3,05	0,35	0,00	d	0,075512
		0,069036633	0,072263272	0,0742127	0,075512318		

▪ **Tahap Pemulihan**

GABA									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	5,42	5,47	5,39	5,40	21,68	F1K1	5,42	0,04
	K2	5,49	5,53	5,47	5,49	21,98	F1K2	5,49	0,03
F2	K1	4,97	4,89	5,23	4,79	19,88	F2K1	4,97	0,19
	K2	5,06	5,10	5,20	4,88	20,24	F2K2	5,06	0,13

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1^2 = 439,52$

FK = $(GT)^2 / (r \cdot p) = 438,55$

JK Total = 0,98

JK Perlakuan = 0,81

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,81	0,27	19,53	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,17	0,01				
TOTAL	15	0,98					

SD DMRT	0,058768712	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,181066401	0,189529095	0,194641973	0,198050559

		4,97	5,06	5,42	5,49	notasi	
F2K1	4,97	0,00				a	0,181066401
F2K2	5,06	0,09	0,00			a	0,189529095
F1K1	5,42	0,44	0,36	0,00		b	0,194641973
F1K2	5,49	0,52	0,43	0,08	0,00	b	0,198050559
		0,181066401	0,189529095	0,194641973	0,198050559		

Lampiran 6. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Asam Amino (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Asam Amino Bebas									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,06	3,10	3,12	2,96	12,24	F1K1	3,06	0,07
	K2	6,02	6,08	6,00	5,98	24,08	F1K2	6,02	0,04
F2	K1	2,94	2,97	2,85	3,00	11,76	F2K1	2,94	0,06
	K2	5,64	5,59	5,68	5,63	22,54	F2K2	5,64	0,04

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 344,04

FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 311,70

JK Total = 32,34

JK Perlakuan = 32,30

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	32,30	10,77	3445,79	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,04	0,00				
TOTAL	15	32,34					

SD DMRT	0,02795085	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	-------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,086116568	0,090141	0,092573	0,094194

		2,94	3,06	5,64	6,02		
F2K1	2,94	0,00				a	0,09
F1K1	3,06	0,12	0,00			b	0,09
F2K2	5,64	2,70	2,58	0,00		c	0,09
F1K2	6,02	3,08	2,96	0,39	0,00	d	0,09
		0,09	0,09	0,09	0,09		

▪ Tahap Pemulihan

Asam Amino Bebas									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	1,97	2,00	2,01	1,90	7,88	F1K1	1,97	1,97
	K2	1,96	2,03	2,06	2,01	8,06	F1K2	2,02	1,96
F2	K1	1,87	1,94	1,88	1,90	7,59	F2K1	1,90	1,87
	K2	1,98	2,03	2,01	1,90	7,92	F2K2	1,98	1,98

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 62,87
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 62,82
 JK Total = 0,05
 JK Perlakuan = 0,03

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,03	0,01	4,61	3,49	5,95	*
Error (Galat)	12	0,03	0,00				
TOTAL	15	0,05					

SD DMRT	0,022992299	$DMRT = \frac{KTG}{\sqrt{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,070839275	0,07415	0,07615	0,077484

		1,90	1,97	1,98	2,02		
F2K1	1,90	0,00				a	0,070839
F1K1	1,97	0,07	0,00			ab	0,07415
F2K2	1,98	0,08	0,01	0,00		b	0,07615
F1K2	2,02	0,12	0,04	0,03	0,00	b	0,077484
		0,07	0,07	0,08	0,08		

Lampiran 7. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Total Protein Terlarut (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Total Protein Terlarut									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	2,08	2,12	1,98	2,14	8,32	F1K1	2,08	0,07
	K2	1,68	1,60	1,58	1,60	6,46	F1K2	1,62	0,04
F2	K1	1,83	1,75	1,89	1,85	7,32	F2K1	1,83	0,06
	K2	1,30	1,24	1,28	1,31	5,14	F2K2	1,28	0,03

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 47,76
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 48,36
 JK Total = 1,40
 JK Perlakuan = 1,37

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	1,37	0,46	159,31	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,03	0,46				
TOTAL	15	1,40					

SD DMRT	0,026739057	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,082383034	0,086233458	0,088559756	0,090110622

	RATA"	1,28	1,62	1,83	2,08	notasi	DMRT
F1K2	1,28	0,00				a	0,082383
F1K1	1,62	0,33	0,00			b	0,086233
F2K2	1,83	0,55	0,22	0,00		c	0,08856
F2K1	2,08	0,80	0,47	0,25	0,00	d	0,090111
		0,08	0,09	0,09	0,09		

▪ Tahap Pemulihan

Total Protein Terlarut									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	2,58	2,52	2,64	2,59	10,33	F1K1	2,58	0,05
	K2	2,70	2,65	2,71	2,76	10,81	F1K2	2,70	0,05
F2	K1	2,56	2,53	2,46	2,68	10,23	F2K1	2,56	0,09
	K2	2,73	2,83	2,51	2,85	10,92	F2K2	2,73	0,15

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 112,00

FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 111,81

JK Total = 0,19

JK Perlakuan = 0,09

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,09	0,03	3,88	3,49	5,95	*
Error (Galat)	12	0,11	0,01				
TOTAL	15	0,19					

SD DMRT	0,046933007	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,144600595	0,151358948	0,155442119	0,158164234

	RATA"	2,56	2,58	2,70	2,73	notasi	DMRT
F2K1	2,56	0,00				a	0,144601
F1K1	2,58	0,02	0,00			ab	0,151359
F1K2	2,70	0,14	0,12	0,00		ab	0,155442
F2K2	2,73	0,17	0,15	0,03	0,00	b	0,158164
		0,14	0,15	0,16	0,16		

Lampiran 8. Analisis Sidik Ragam ANOVA Nilai IC50 ABTS (µg/µL)

▪ **Tahap Cekaman**

IC50									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,04	3,13	3,11	3,13	12,40	F1K1	3,10	3,04
	K2	2,56	2,69	2,65	2,56	10,46	F1K2	2,61	2,56
F2	K1	2,87	2,96	2,83	2,90	11,56	F2K1	2,89	2,87
	K2	2,11	2,12	2,17	2,15	8,56	F2K2	2,14	2,11

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 117,53

FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 115,44

JK Total = 2,09

JK Perlakuan = 2,07

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	2,07	0,69	294,16	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,03	0,00				
TOTAL	15	2,09					

SD DMRT	0,024189968	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,074529291	0,078013	0,080117	0,08152

		2,14	2,61	2,89	3,10		
F2K2	2,14	0,00				a	0,074529
F1K2	2,61	0,47	0,00			b	0,078013
F2K1	2,89	0,75	0,28	0,00		c	0,080117
F1K1	3,10	0,96	0,49	0,21	0,00	d	0,08152
		0,074529	0,078013	0,080117	0,08152		

▪ Tahap Pemulihan

IC50									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,16	3,20	3,10	3,18	12,64	F1K1	3,16	0,04
	K2	3,11	3,07	3,17	2,98	12,32	F1K2	3,08	0,08
F2	K1	3,13	3,22	3,06	3,08	12,50	F2K1	3,13	0,07
	K2	3,04	3,06	3,04	3,10	12,24	F2K2	3,06	0,03

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 154,50
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 154,38
 JK Total = 0,05
 JK Perlakuan = 0,02

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,02	0,01	3,81	3,49	5,95	*
Error (Galat)	12	0,03	0,00				
TOTAL	15	0,05					

SD DMRT	0,023189823	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,071447844	0,074787	0,076805	0,07815

		3,06	3,08	3,13	3,16		
F2K2	3,06	0,00				a	0,071448
F1K2	3,08	0,02	0,00			a	0,074787
F2K1	3,13	0,06	0,05	0,00		ab	0,076805
F1K1	3,16	0,10	0,08	0,03	0,00	b	0,07815
		0,071448	0,074787	0,076805	0,07815		

Lampiran 9. Analisis Sidik Ragam ANOVA Nilai IC50 Hidroksil (µg/µL)

▪ **Tahap Cekaman**

IC50									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,21	3,25	3,17	3,26	12,89	F1K1	3,22	0,04
	K2	3,07	3,11	3,03	3,09	12,30	F1K2	3,08	0,03
F2	K1	3,16	3,16	3,24	3,17	12,72	F2K1	3,18	0,04
	K2	3,02	3,05	3,03	3,05	12,15	F2K2	3,04	0,02

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 156,74

FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 156,63

JK Total = 0,11

JK Perlakuan = 0,09

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,09	0,03	25,12	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,01	0,00				
TOTAL	15	0,11					

SD DMRT	0,017351	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	-----------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,053457	0,055956	0,057465	0,058472

		3,04	3,08	3,18	3,22	notasi	
F2K2	3,04	0,00				a	0,053457
F1K2	3,08	0,04	0,00			a	0,055956
F2K1	3,18	0,14	0,11	0,00		b	0,057465
F1K1	3,22	0,18	0,15	0,04	0,00	b	0,058472
		0,053457	0,055956	0,057465	0,058472		

▪ Tahap Pemulihan

IC50									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	3,22	3,23	3,23	3,22	12,89	F1K1	3,22	0,00
	K2	3,18	3,23	3,25	3,20	12,86	F1K2	3,21	0,03
F2	K1	3,13	3,16	3,18	3,17	12,64	F2K1	3,16	0,02
	K2	3,15	3,19	3,17	3,15	12,65	F2K2	3,16	0,02

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 162,78
 FK = $(GT)^2/(r*p)$ = 162,79
 JK Total = 0,02
 JK Perlakuan = 0,01

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,01	0,00	1,62	3,49	5,95	ns
Error (Galat)	12	0,00	0,00				
TOTAL	15	0,02					

SD DMRT	0,01005	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	---------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,030964	0,032411	0,033285	0,033868

		3,16	3,16	3,21	3,22	notasi	
F2K1	3,16	0,00				a	0,030564
F2K2	3,16	0,00	0,00			a	0,031993
F1K2	3,21	0,05	0,05	0,00		b	0,032856
F1K1	3,22	0,06	0,06	0,01	0,00	b	0,033431
		0,030564	0,031993	0,032856	0,033431		

Lampiran 10. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Klorofil-a (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Klorofil-a									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	5,02	5,15	4,95	5,09	20,21	F1K1	5,05	0,09
	K2	4,15	4,19	4,06	4,21	16,61	F1K2	4,15	0,07
F2	K1	9,60	9,54	9,71	9,56	38,41	F2K1	9,60	0,08
	K2	7,69	7,76	7,67	7,65	30,77	F2K2	7,69	0,05

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 776,66

FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 702,23

JK Total = 74,43

JK Perlakuan = 74,37

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	74,37	24,79	4959,87	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,06	0,00				
TOTAL	15	74,43					

SD DMRT = 0,035348191 $DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,108907776	0,113997915	0,117073208	0,119123403

		4,15	5,05	7,69	9,60		
F1K2	4,15	0,00				a	0,1089078
F1K1	5,05	0,90	0,00			b	0,1139979
F2K2	7,69	3,54	2,64	0,00		c	0,1170732
F2K1	9,60	5,45	4,55	1,91	0,00	d	0,1191234
		0,108907776	0,113997915	0,117073208	0,119123403		

▪ Tahap Pemulihan

Klorofil-a									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	7,12	7,27	7,10	6,98	28,47	F1K1	7,12	0,12
	K2	6,95	7,00	6,83	7,03	27,81	F1K2	6,95	0,09
F2	K1	10,22	10,60	10,08	9,98	40,88	F2K1	10,22	0,27
	K2	9,76	9,46	10,01	9,8	39,03	F2K2	9,76	0,23

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 1195,05
 FK = $(GT)^2/(r*p)$ = 1159,23
 JK Total = 35,82
 JK Perlakuan = 35,38

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	35,38	11,79	320,61	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,44	0,04				
TOTAL	15	35,82					

SD DMRT	0,095897623	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,295460578	0,309269835	0,317612929	0,323174991

	6,95	7,12	9,76	10,22		
6,95	0,00				a	0,2954606
7,12	0,17	0,00			a	0,3092698
9,76	2,81	2,64	0,00		b	0,3176129
10,22	3,27	3,10	0,46	0,00	c	0,323175
	0,295460578	0,309269835	0,317612929	0,323174991		

Lampiran 11. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Klorofil-b (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Klorofil-b									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	4,31	4,23	4,19	4,47	17,20	F1K1	4,30	0,12
	K2	3,80	3,88	3,73	3,78	15,19	F1K2	3,80	0,06
F2	K1	8,52	8,49	8,40	8,66	34,07	F2K1	8,52	0,11
	K2	7,27	7,20	7,30	7,29	29,06	F2K2	7,27	0,05

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 633,05

FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 570,25

JK Total = 62,80

JK Perlakuan = 62,70

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	62,70	20,90	2542,39	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,10	0,01				
TOTAL	15	62,80					

SD DMRT **0,045334406** $DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,139675304	0,146203	0,150148	0,152777

		3,80	4,30	7,27	8,52		
F1K2	3,80	0,00				a	0,139675
F1K1	4,30	0,50	0,00			b	0,146203
F2K2	7,27	3,47	2,97	0,00		c	0,150148
F2K1	8,52	4,72	4,22	1,25	0,00	d	0,152777
		0,139675	0,146203	0,150148	0,152777		

▪ Tahap Pemulihan

GABA									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	6,75	6,59	6,69	6,95	26,98	F1K1	6,75	0,15
	K2	6,59	6,57	6,49	6,7	26,35	F1K2	6,59	0,09
F2	K1	9,92	9,89	9,70	10,15	39,66	F2K1	9,92	0,18
	K2	9,50	9,70	9,69	9,12	38,01	F2K2	9,50	0,27

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 1110,39
 FK = $(GT)^2/(r*p)$ = 1072,56
 JK Total = 37,83
 JK Perlakuan = 37,42

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	37,42	12,47	361,39	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,41	0,03				
TOTAL	15	37,83					

SD DMRT	0,092887701	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,286187007	0,299563	0,307644	0,313032

		6,59	6,75	9,50	9,92		
F1K2	6,59	0,00				a	0,286187
F1K1	6,75	0,16	0,00			a	0,299563
F2K2	9,50	2,92	2,76	0,00		b	0,307644
F2K1	9,92	3,33	3,17	0,41	0,00	c	0,313032
		0,286187	0,299563	0,307644	0,313032		

Lampiran 12. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Karotenoid (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Karotenoid									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	1,59	1,61	1,53	1,60	6,33	F1K1	1,58	0,03
	K2	3,17	3,25	3,18	3,08	12,68	F1K2	3,17	0,07
F2	K1	3,72	3,65	3,80	3,71	14,88	F2K1	3,72	0,06
	K2	6,54	6,50	6,45	6,66	26,15	F2K2	6,54	0,09

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 276,59

FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 225,33

JK Total = 51,26

JK Perlakuan = 51,21

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	36,70	12,23	6090,54	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,02	0,00				
TOTAL	15	36,72					

SD DMRT **0,033452819** $DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,103068137	0,107885	0,110796	0,112736

		1,58	3,17	3,72	6,54		
F1K1	1,58	0,00				a	0,103068
F1K2	3,17	1,59	0,00			b	0,107885
F2K1	3,72	2,14	0,55	0,00		c	0,110796
F2K2	6,54	4,95	3,37	2,82	0,00	d	0,112736
		0,103068	0,107885	0,110796	0,112736		

▪ Tahap Pemulihan

Karotenoid									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	2,07	2,00	2,16	2,04	8,27	F1K1	2,07	0,07
	K2	2,15	2,12	2,23	2,09	8,59	F1K2	2,15	0,06
F2	K1	4,22	4,38	4,15	4,13	16,88	F2K1	4,22	0,11
	K2	4,40	4,50	4,21	4,47	17,58	F2K2	4,40	0,13

JK Total Tak Tereksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 184,16
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 164,61
 JK Total = 19,55
 JK Perlakuan = 19,43

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	19,43	6,48	680,40	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,11	0,01				
TOTAL	15	19,55					

SD DMRT	0,048787379	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,150313914	0,157339	0,161584	0,164413

		2,07	2,15	4,22	4,40		
F1K1	2,07	0,00				a	0,150314
F1K2	2,15	0,08	0,00			a	0,157339
F2K1	4,22	2,15	2,07	0,00		b	0,161584
F2K2	4,40	2,33	2,25	0,18	0,00	c	0,164413
		0,150314	0,157339	0,161584	0,164413		

Lampiran 13. Analisis Sidik Ragam ANOVA Kandungan Total Klorofil (mg/g)

▪ **Tahap Cekaman**

Total Klorofil									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	9,35	9,41	9,37	9,28	37,41	F1K1	9,35	0,05
	K2	7,96	8,00	7,90	7,98	31,84	F1K2	7,96	0,04
F2	K1	18,12	18,14	18,18	18,05	72,49	F2K1	18,12	0,05
	K2	14,96	15,01	14,91	14,96	59,84	F2K2	14,96	0,04

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 2812,26
 FK = $(GT)^2 / (r \cdot p)$ = 2539,66
 JK Total = 272,6
 JK Perlakuan = 272,57

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	272,57	90,86	38458,39	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,03	0,00				
TOTAL	15	272,60					

SD DMRT	0,024302778	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,074876858	0,078376	0,080491	0,0819

		7,96	9,35	14,96	18,12		
F1K2	7,96	0,00				a	0,074877
F1K1	9,35	1,39	0,00			b	0,078376
F2K2	14,96	7,00	5,61	0,00		c	0,080491
F2K1	18,12	10,16	8,77	3,16	0,00	d	0,0819
		0,074877	0,078376	0,080491	0,0819		

▪ Tahap Pemulihan

Total Klorofil									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	13,87	13,94	13,49	14,12	55,42	F1K1	13,86	0,27
	K2	13,54	13,57	13,22	13,83	54,16	F1K2	13,54	0,25
F2	K1	20,14	20,49	19,78	20,13	80,54	F2K1	20,14	0,29
	K2	19,26	19,16	19,70	18,92	77,04	F2K2	19,26	0,33

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 4067,60
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 4460,90
 JK Total = 146,70
 JK Perlakuan = 145,73

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	145,73	48,58	601,20	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,97	0,08				
TOTAL	15	146,70					

SD DMRT	0,142126704	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,437892375	0,458359	0,470724	0,478967

		13,54	13,86	19,26	20,14		
F1K2	13,54	0,00				a	0,437892
F1K1	13,86	0,32	0,00			a	0,458359
F2K2	19,26	5,72	5,41	0,00		b	0,470724
F2K1	20,14	6,60	6,28	0,88	0,00	c	0,478967
		0,437892	0,458359	0,470724	0,478967		

Lampiran 14. Analisis Sidik Ragam ANOVA Rasio Klorofil a/b

▪ **Tahap Cekaman**

Rasio Klorofil a/b									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	1,17	1,13	1,20	1,19	4,69	F1K1	1,17	0,03
	K2	1,09	1,10	1,12	1,06	4,37	F1K2	1,09	0,03
F2	K1	1,13	1,11	1,13	1,14	4,51	F2K1	1,13	0,01
	K2	1,06	1,02	1,07	1,08	4,23	F2K2	1,06	0,03

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 1984
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 19,84
 JK Total = 0,04
 JK Perlakuan = 0,03

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,03	0,01	15,89	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,01	0,00				
TOTAL	15	0,04					

SD DMRT	0,012332207	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
----------------	--------------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,03799553	0,039771	0,040844	0,04156

		1,06	1,09	1,13	1,17		
F2K2	1,06	0,00000				a	0,037996
F1K2	1,09	0,03500	0,00000			ab	0,039771
F2K1	1,13	0,07000	0,03500	0,00000		b	0,040844
F1K1	1,17	0,11500	0,08000	0,04500	0,00000	c	0,04156
		0,037996	0,039771	0,040844	0,04156		

▪ Tahap Pemulihan

Rasio Klorofil a/b									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	1,06	1,12	1,04	1	4,22	F1K1	1,06	0,05
	K2	1,05	1,00	1,06	1,08	4,19	F1K2	1,05	0,03
F2	K1	1,03	1,07	0,98	1,02	4,10	F2K1	1,03	0,04
	K2	1,03	1,01	1,00	1,06	4,10	F2K2	1,03	0,03

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 17,26
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 17,24
 JK Total = 0,02
 JK Perlakuan = 0,00

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,00	0,001	0,67	3,49	5,95	ns
Error (Galat)	12	0,02	0,001				
TOTAL	15	0,02					

Lampiran 15. Analisis Sidik Ragam ANOVA Rasio Karotenoid/Total Klorofil

▪ Tahap Cekaman

Rasio Karotenoid/Total Klorofil									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	0,17	0,20	0,19	0,13	0,69	F1K1	0,17	0,03
	K2	0,40	0,35	0,46	0,4	1,61	F1K2	0,40	0,05
F2	K1	0,21	0,24	0,22	0,15	0,82	F2K1	0,21	0,04
	K2	0,44	0,44	0,49	0,38	1,75	F2K2	0,44	0,05

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 1,72
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 1,48
 JK Total = 0,24
 JK Perlakuan = 0,22

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,22	0,073	44,76	3,49	5,95	**
Error (Galat)	12	0,02	0,002				
TOTAL	15	0,24					

SD DMRT	0,020168561	$DMRT = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
---------	-------------	-------------------------------

Tabel DMRT

	2	3	4	5
r-table	3,081	3,225	3,312	3,37
DMRT Hitung	0,062139335	0,065044	0,066798	0,067968

		0,17	0,21	0,40	0,44		
F1K1	0,17	0,00				a	0,062139
F2K1	0,21	0,03	0,00			a	0,065044
F1K2	0,40	0,23	0,20	0,00		b	0,066798
F2K2	0,44	0,27	0,23	0,04	0,00	b	0,067968
		0,062139	0,065044	0,066798	0,067968		

▪ Tahap Pemulihan

Rasio Karotenoid/Total Klorofil									
Fase	Konsentrasi	Ulangan				Total		Rata-rata	STDEV
		1	2	3	4				
F1	K1	0,15	0,23	0,12	0,1	0,60	F1K1	0,15	0,06
	K2	0,16	0,25	0,12	0,1	0,63	F1K2	0,16	0,07
F2	K1	0,21	0,20	0,26	0,18	0,85	F2K1	0,21	0,03
	K2	0,23	0,21	0,28	0,19	0,91	F2K2	0,23	0,04

JK Total Tak Terkoreksi = $7,12^2 + \dots + 8,1$ = 0,61
 FK = $(GT)^2/(r \cdot p)$ = 0,56
 JK Total = 0,05
 JK Perlakuan = 0,02

Perhitungan ANOVA

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	3	0,02	0,006	2,34	3,49	5,95	ns
Error (Galat)	12	0,03	0,003				
TOTAL	15	0,05					