



**VARIASI KARAKTER BEBERAPA GENOTIPE TEBU HASIL RADIASI
SINAR GAMMA COBALT-60 SETELAH GENANGAN DENGAN
TEKNIK RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

SKRIPSI

Oleh

**Arina Aulia Zaimatuz Zahro
NIM 131510501137**

HALAMAN

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**VARIASI KARAKTER BEBERAPA GENOTIPE TEBU HASIL RADIASI
SINAR GAMMA COBALT-60 SETELAH GENANGAN DENGAN
TEKNIK RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

SKRIPSI

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

Oleh

Arina Aulia Zaimatuz Zahro
NIM. 131510501137

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Orang tua tercinta Ayahanda H. Nor Rofiq, Ibunda Hj. Nurul Miftahul Roifah, serta keluarga tercinta yang tiada henti memberikan doa dan dukungan kepada saya.
2. Guru-guru sejak sekolah dasar hingga sekarang yang telah membimbing dengan penuh kasih sayang dan kesabaran.
3. Dosen-dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran dan dedikasi yang tinggi.
4. Almamater Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Tidak ada masalah yang tidak bisa diselesaikan selama ada komitmen untuk menyelesaikannya”

“ Hai orang-orang beriman, jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.”
(terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 153)*)

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang berilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha mengetahui apa yang kamu kerjakan”
(terjemahan Surat Al-Mujaadilah ayat 11)*)

* Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang. PT Kumudasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Arina Aulia Zaimatuz Zahro

NIM : 131510501137

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Variasi Karakter Beberapa Genotipe Tebu Hasil Radiasi Sinar Gamma Cobalt-60 setelah Genangan dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**” adalah benar-benar hasil karya tulis sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi di sebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia menerima sanksi akademik jika ternyata dikemudain hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 Juli 2018

Arina Aulia Zaimatuz Zahro

NIM 131510501137

SKRIPSI

**VARIASI KARAKTER BEBERAPA GENOTIPE TEBU HASIL RADIASI
SINAR GAMMA COBALT-60 SETELAH GENANGAN DENGAN
TEKNIK RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**



Oleh

Arina Aulia Zaimatuz Zahro
NIM 131510501137

Pembimbing:

Pembimbing Utama	: Dr.Ir. Sholeh Avivi, M.Si NIP. 196907212000121002
Pembimbing Anggota	: M. Ubaidillah, S.Si., M. Agr., Ph.D. NRP. 760015751

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Variasi Karakter Beberapa Genotipe Tebu Hasil Radiasi Sinar Gamma Cobalt-60 setelah Genangan dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 3 Juli 2018

Tempat : Ruang Sidang 1 Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

M. Ubaidillah, S. Si., M. Agr., Ph.D
NRP.760015751

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Ir. Kacung Hariyono, MS. Ph.D
NIP. 196408141995121001

Prof. Tri Agus S., SP., M.Agr., Ph.D
NIP. 197008101998031001

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Variasi Karakter Beberapa Genotipe Tebu Hasil Radiasi Sinar Gamma Cobalt-60 Setelah Genangan Dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); Arina Aulia Zaimatuz Zahro; 131510501137; 2018; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Tebu (*Saccharum Officinarum*) merupakan tanaman perkebunan yang berperan sebagai sumber utama produksi gula komersial. Saat ini kemampuan produksi gula nasional masih belum stabil, sehingga tidak dapat mencukupi permintaan konsumen. Salah satu penurunan produksi gula dipengaruhi oleh fluktuasi cuaca yang ekstrim. Ketersediaan air yang berlebihan mengakibatkan O₂ di daerah perakaran tanah menjadi berkurang sehingga berpengaruh terhadap proses metabolisme. Hal ini menyebabkan rendemen tebu tidak maksimal, sehingga hasil produksi gula nasional turun.

Penggunaan tanaman tebu mutan hasil radiasi sinar gamma Cobalt-60 diharapkan dapat meningkatkan produksi tebu dengan kadar sukrosa tinggi yang ditanam pada lahan genangan. RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu teknik molekuler dengan penanda DNA yang melibatkan penggunaan teknik polimerase DNA (*Polymerase Chain Reaction PCR*) untuk mendeteksi perubahan konstitusi genetik akibat mutan pada DNA genom. Penelitian ini diharapkan mampu mengungkap perubahan yang terjadi akibat mutasi cobalt-60 pada fenotipnya yang mengarah terhadap ketahanan genangan dan perubahan konstitusi genetik akibat mutasi pada DNA genom.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutan tebu memiliki karakter toleran genangan berdasarkan parameter tinggi tanaman, jumlah ruas, jumlah anakan dan munculnya jaringan aerenkim pada akar adventif. Perbedaan variasi fenotipe juga nampak pada ukuran luas daun dan diameter batang tanaman tebu, tanaman mutan memiliki ukuran lebih kecil dibanding tanaman *wild type*. Variasi DNA genom tebu yang dimutasi memiliki perbedaan dengan DNA genom tebu *wild type* berdasarkan analisis PCR-RAPD yang menghasilkan rata-rata pita polimorfik sebesar 57,86 % dengan nilai koefisien kemiripan berkisar 0,681-1,000

Filogenetik yang terbentuk berdasarkan kemiripan genetik dikelompokkan menjadi 2 klaster dan 2 grub.

Kata Kunci : Tebu Mutan, Genangan, Fenotipe, Genotipe, RAPD.



SUMARRY

The Genotype Variations Of Some Gamma Irradiation In Sugarcane After Waterlogging With Rapd Technique (*Random Amplified Polymorphic DNA*); Arina Aulia Zaimatuz Zahro; 131510501137; 2018; Agrotechnology Studies Program; Agriculture Faculty, University of Jember.

Sugarcane (*Saccharum Officinarum*) Plantation is a plant who serves as the main source of commercial sugar production. Currently, the national sugar production capacity is still not stable, so it can't be insufficient consumer demand. One of the drops in sugar production is affected by the extreme weather fluctuations. Availability of excessive water resulted in O₂ in the area reduced the land becomes so rooting effect on metabolic processes. This causes the yield of sugarcane is not a maximum, so the results of the national sugar production are down.

The use of the sugar cane plant mutant gamma-ray radiation results of Cobalt-60 is expected to increase the production of sugarcane of high sucrose levels with plants on land inundation. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) is one of the molecular techniques with DNA marker techniques involving the use of DNA polymerase to detect any changes in the genetic constitution of a result mutant DNA in the genome. This research is aimed to show the changes that occur due to mutation of the cobalt-60 at phenotype which leads towards a waterlogging of tolerant and genetic constitution changes due to mutations in the DNA of the genome.

The results showed that the mutant tolerant character has a waterlogging of sugarcane based on the parameters of plant height, number of sections, tiller and the emergence of the network aerenchym at the adventive roots. The difference is also appear on phenotype variation in leaf size of sugarcane, which is a broadleaf mutant plant is (mutant plant has) narrower leaf size than the wild-types plants. Variations in DNA genome of mutan sugarcane have demoted the difference with a DNA genome of wild type sugarcane based on PCR-RAPD analysis that produces an average polymorphic bands of 57,86% similarity coefficients with

values ranging from 0,681-1,000. Phylogenetic trees based on genetic similarities which are grouped into 2 cluster and 2 groups.

Keywords: *Mutation, waterlogging, phenotype, genotype, RAPD*



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya skripsi yang berjudul “Variasi Karakter Beberapa Genotipe Tebu Hasil Radiasi Sinar Gamma Cobalt-60 setelah Genangan dengan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)” dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa Sholawat dan Salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari masukan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu ucapan terima kasih saya sampaikan kepada:

1. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
2. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi.
3. Dr. Ir. Sholeh Avivi, M. Si., dan M. Ubaidillah, S. Si., M. Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ini.;
4. Ir. Kacung Hariyono, MS. Ph.D dan Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M. Agr., Ph.D selaku Dosen Penguji I dan Dosen Penguji II yang telah memberikan evaluasi dan masukan demi kesempurnaan karya tulis ini;
5. Drs. Yagus Wijayanto, MA., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingannya selama masa studi;
6. Prof. Dr. Bambang Sugiarto, M.Agr.Sc selaku Ketua CDAST yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di CDAST;
7. Wirdhatul Muslihatin, S.Si., M. Si selaku Ketua Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan Progrma Studi Biologi FMIA ITS yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ;
8. Rekan-rekan kerja di laboratorium: Bella Rhea Lavita Sanjaya, Meili Nur Zakiya, Ahmad Fadil, Lutfiana Riski, Siti Nurul Afidah, Moch Rosyadi Adnan, Nur Nafisatul. A, Intan Nirmala, Retnosari Apriasti, Nurul Mufidah, Syandi Pradipta, Indra Khusmana, Rahmad, Risky Maulana, Reza Anugrah,

Ridwan Akbar dan Sugar Group, Bakteriofag Team dan keluarga besar CDAST yang memberikan motivasi dan waktunya untuk membantu penelitian ini;

9. Sahabat ku yaitu Afi, Devi, Tyas, Ilmi, Helty, Neni, Intan, Ganiu, Osi, Ria, Semar, Lentur, Lintang, Febi, Anisa, Anisak, Wildan dan Umam yang telah banyak membantu dalam proses penelitian tanpa pamrih.
10. Rekan-rekan ku yaitu Keluarga Besar Agrosera, Kosan 40, MAPENSA dan rekan-rekan seperjuangan Agroteknologi 2013 yang telah mendukung dan membantu dalam penelitian.
11. Byan Arasyi Arraniry dan Andis Rihandoko yang telah membantu dalam penelitian selama di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuan.

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis juga menyadari bahwa karya ilmiah tertulis ini masih jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, 3 Juli 2018

Penulis

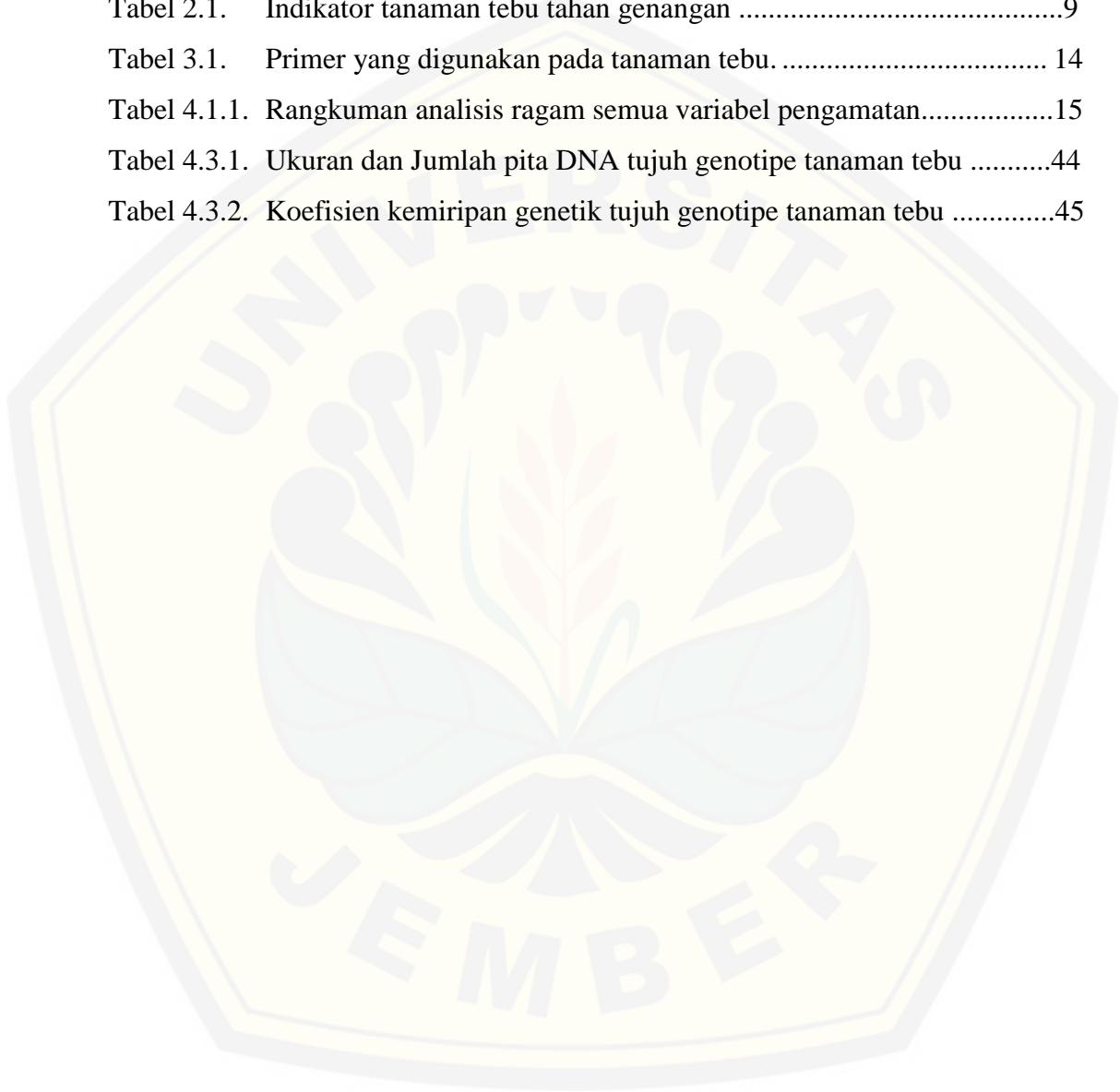
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	vii
SUMARRY	ix
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tanaman Tebu (<i>Saccharum Officinarum</i>).....	4
2.2. Pengaruh Cekaman Genangan Terhadap Pertumbuhan Tanaman	5
2.3. KetahananTanaman Terhadap cekaman Genangan	8
2.4. Mutasi Hasil Radiasi Sinar Gamma CO ⁶⁰	10
2.5. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	11
2.6. Hipotesis.....	13
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1. Waktu dan Tempat	15
3.2. Bahan dan Alat	15

3.3. Rancangan Percobaan	15
3.4. Pelaksanaan Percobaan.....	16
3.5. Identifikasi DNA berdasarkan marka RAPD-PCR.....	16
3.6. Analisis Perbedaan Genotipe	18
3.7. Variabel Pengamatan.....	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1. Hasil Variasi Fenotip.....	23
4.2. Jaringan Aerenkim	39
4.3. Variasi genotipe dengan PCR-RAPD	41
BAB 5. PENUTUP.....	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Indikator tanaman tebu tahan genangan	9
Tabel 3.1. Primer yang digunakan pada tanaman tebu.	14
Tabel 4.1.1. Rangkuman analisis ragam semua variabel pengamatan.....	15
Tabel 4.3.1. Ukuran dan Jumlah pita DNA tujuh genotipe tanaman tebu	44
Tabel 4.3.2. Koefisien kemiripan genetik tujuh genotipe tanaman tebu	45

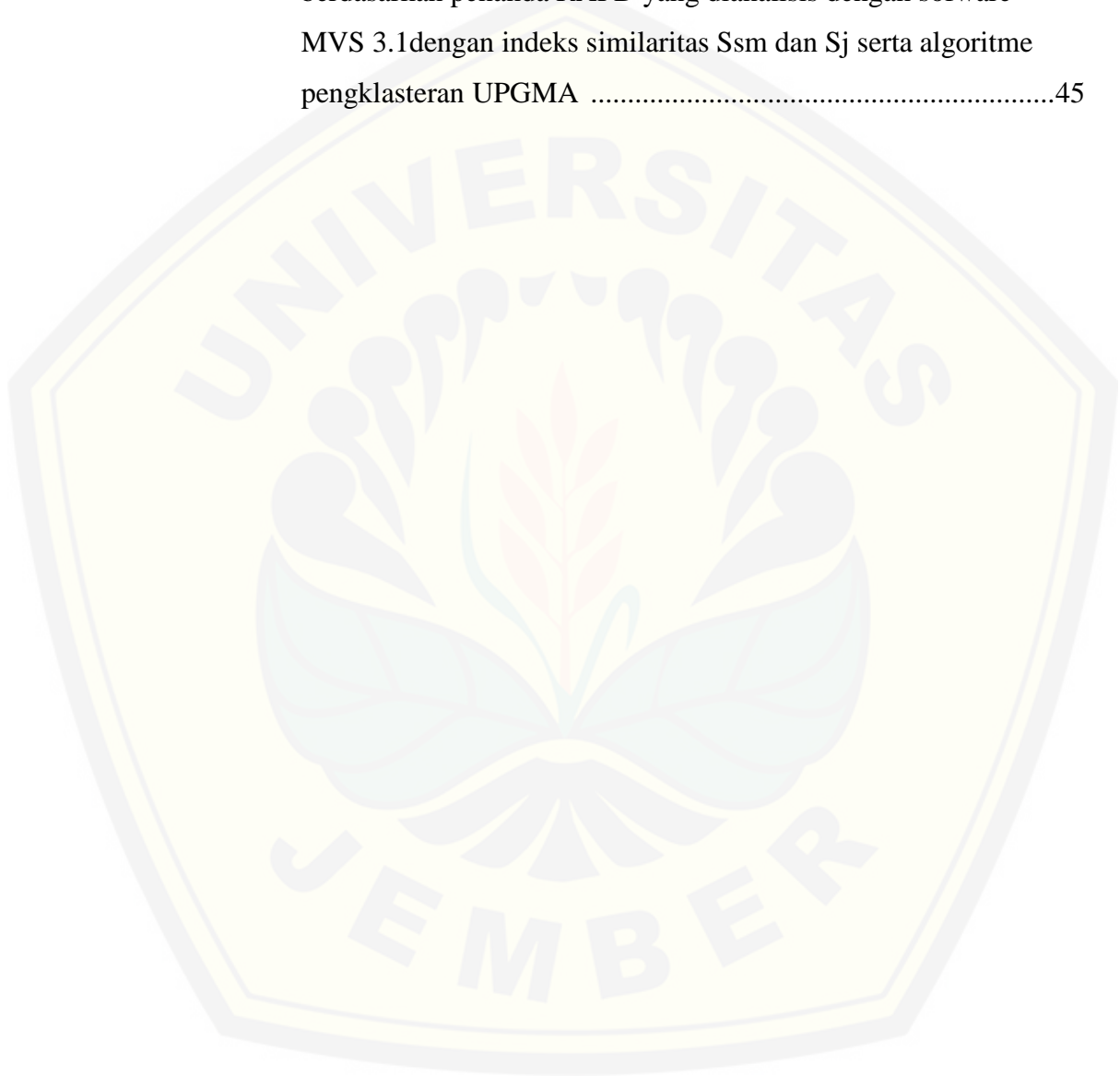


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1. Fase perkembangan taman tebu.....	5
Gambar 2.2.1. Proses respirasi anaerob selama tanaman dalam kondisi Tergenang	8
Gambar 3.1. Denah Percobaan	15
Gambar 3.2. Kurva Standar Penentuan Sukrosa	22
Gambar 4.1.1. Rata-rata tinggi tanaman setiap klon pada perlakuan penggenangan	24
Gambar 4.1.2. Rata-rata jumlah ruas batang setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	26
Gambar 4.1.3. Rata-rata diameter batang (cm) setiap klon pada perlakuan penggenangan	28
Gambar 4.1.4. Rata-rata jumlah anakan tiap rumpun pada setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	30
Gambar 4.1.5. Rata-rata jumlah daun setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	31
Gambar 4.1.6. Rata-rata luas daun (cm ²) setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	33
Gambar 4.1.6.2. Ukuran luas daun setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	34
Gambar 4.1.7. Rata-rata total klorofil setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	35
Gambar 4.1.8. Rata-rata kandungan sukrosa setiap klon pada perlakuan penggenangan.....	37
Gambar 4.2.1. Bentuk akar adventik pada tanaman tebu yang dilakukan penggenangan.....	40
Gambar 4.6.1. Bentuk jaringan aerenkim secara melintang dengan perbesaran mikroskop 100 µm	40

Gambar 4.3.1. Hasil elektroforesis genotipe mutan dan non mutan pada sepuluh primer RAPD. M=Marker 1 kb DNA Ladder; Wt= wild type dan C-H: mutan42

Gambar 4.3.2. Filogenetik tujuh genotipe tanaman tebu wild type dan mutan berdasarkan penanda RAPD yang dianalisis dengan software MVS 3.1 dengan indeks similaritas Ssm dan Sj serta algoritme pengklasteran UPGMA45



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambaran Penelitian.....	55
Lampiran 2. Hasil pengamatan dan pengolahan data	57
a. Tinggi tanaman	57
b. Jumlah ruas	58
c. Diameter batang	59
d. Jumlah anakan	60
d. Jumlah daun	61
e. Luas daun	62
f. Total klorofil	63
g. Sukrosa daun	64

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan penting di Indonesia yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku utama pembuatan gula. Permintaan gula nasional terus naik dengan laju permintaan sebesar 2,96 % pertahunnya (Lestari *et al.*, 2014). Namun, kemampuan produksi gula nasional masih belum stabil, sehingga tidak dapat mencukupi permintaan konsumen. Menurut Ditjen Perkebunan Kementan (2018), Produksi gula pada tahun pada tahun 2015 sebesar 2,497 juta ton kemudian tahun 2016 produksi gula juga mengalami penurunan menjadi 2,72 juta ton dan tahun 2017 produksi gula terjadi penurunan menjadi 2,121 juta ton. Salah satu penurunan produksi gula dipengaruhi oleh fluktuasi cuaca yang ekstrim. Musim hujan dan kemarau yang sulit diprediksi karena tidak lagi beruntun antara bulan basah dan bulan kering sehingga lahan-lahan yang tidak tergenang menjadi tergenang. Kondisi lahan genangan mengakibatkan masalah pada pertumbuhan dan produktivitas tanaman, dimana ketersediaan O₂ di daerah perakaran tanah menjadi berkurang sehingga berpengaruh terhadap proses metabolisme. Hal ini menyebabkan rendemen tebu tidak maksimal, sehingga hasil produksi gula nasional turun.

Peningkatan produksi gula dapat dilakukan melalui perluasan areal pertanaman tebu dengan memanfaatkan lahan marginal yang berpotensi sebagai lahan budidaya seperti lahan pasang surut atau rawa serta pengembangan varietas tebu yang tahan terhadap genangan sehingga diperoleh sumber genetik tebu yang memiliki sifat toleran genangan. Upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut, dapat dilakukan salah satunya yakni melalui mutasi fisik dengan pemberian radiasi sinar gamma cobalt-60. Secara genetik iridiasi mengakibatkan terjadinya perubahan struktur kromosom. Menurut Kadir, (2011), pada dosis rendah mengakibatkan terjadinya delesi dan semakin tinggi dosis yang digunakan mengakibatkan duplikasi, inversi dan translokasi. Radiasi sinar gamma dengan dosis 10, 20 dan 30 Gy cenderung menyebabkan tanaman tebu memiliki sifat

toleran terhadap penyakit busuk merah (Kaur *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Luthfiyyah *et al.*, (2015), menunjukkan bahwasanya mutan tebu BL yang diradiasi sinar gamma cobalt-60 dengan dosis 20 Gy memiliki ketahanan terhadap genangan pada pengamatan tinggi tanaman, luas daun dan diameter batang. Meskipun demikian, informasi yang melandasi adanya perubahan variasi fenotipe dan genotipe belum diketahui. Maka penelitian ini, lebih diarahkan pada pengamatan fenotipe dengan pendekatan morfologi, anatomi dan genotipe menggunakan kajian marka RAPD.

Hasil Penelitian ini diharapkan mampu mengungkap perubahan yang terjadi akibat mutasi cobalt-60 pada fenotipenya yang mengarah terhadap ketahanan genangan dan perubahan konstitusi genetik akibat mutasi pada DNA genom.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana variasi fenotipe mutan tebu hasil radiasi sinar gamma cobalt-60 pada perlakuan genangan?
2. Bagaimana karakter perbedaan genotipe tebu mutan pada perlakuan genangan dibandingkan tebu non mutan berdasarkan DNA genom yang muncul dengan penanda marka RAPD?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui variasi fenotipe mutan tebu hasil radiasi sinar gamma cobalt-60 pada perlakuan genangan.
2. Mengidentifikasi perbedaan genotipe tebu mutan pada perlakuan genangan dibandingkan tebu non mutan berdasarkan DNA genom yang muncul dengan penanda marka RAPD.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui variasi fenotipe dan perbedaan DNA genom tebu hasil radiasi sinar gamma cobalt-60 sehingga dapat dijadikan sebagai acuan dalam program pemuliaan tanaman. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperoleh informasi perbedaan genotipe tebu mutan tahan genangan dengan non mutan.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

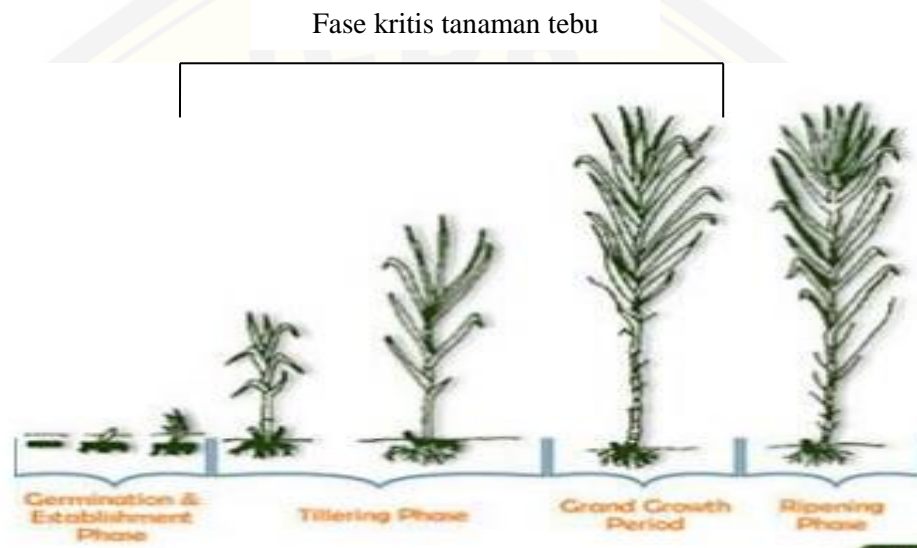
2.1. Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum*)

Tebu (*Saccharum Officinarum*) merupakan tanaman C4 yang di perbanyak secara vegetatif, tanaman ini termasuk sumber utama sukrosa yang disimpan di bagian ruas batang (Nasir *et al.*, 2014). Tebu merupakan tanaman perkebunan yang tergolong dalam jenis rumput-rumputan termasuk kelas *Monocotyledonae* dengan ordo *Glumiflorae* dan family *Gramineae* yang dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plante
Devisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledone
Ordo	: Graminales
Famili	: Graminae
Genus	: Saccharum
Species	: <i>Saccarum officinarum</i> (Indrawanto <i>et al.</i> , 2010).

Varietas Bululawang merupakan hasil pemutihan varietas yang ditemukan pertama kali di wilayah Bululawang-Malang Selatan. Batang tebu varietas BL berbentuk silindris penampang lintang bulat, berwarna coklat kemerahan, lapisan lilin sedang hingga kuat, teras dan lubang masif. bentuk mata segitiga dengan bagian terlebar dibawah tengah-tengah mata. Tepi sayap mata tunas rata, ada rambut basal dan rambut jambul. Bululawang merupakan varietas tebu yang termasuk dalam kategori kemasakan tengah lambat. Tebu BL memiliki ciri-ciri perkecambahan yang lambat, diameter batang sedang sampai besar, pembungaan sedikit hingga banyak, kadar sabut 13-14% dan siap dipanen saat tanaman telah memasuki fase fisiologi dewasa (lebih dari sembilan bulan). Hasil produksi tebu bululwang sebesar 94,3 ton/ha dengan rendemen 7,51 % dan hablur gula sebesar 6,90 ton/ha (Mentri Pertanian, 2004). Fase kritis pertumbuhan tanaman tebu adalah ketika fase pertunasan (2 bulan) hingga pemanjangan batang, sehingga diharapkan selama fase tersebut tanaman tidak mengalami stres air. Luo *et al.*,

(2014), fase awal pemanjangan batang (umur 3-9 bulan) adalah fase kritis terhadap hasil produksi akhir tebu. Menurut Rossler et al., (2013), stress air yang terjadi kurang dari 5 hari saat fase pemanjangan batang dapat menurunkan hasil produksi sebesar 6-11 ton/ha. Varietas ini lebih cocok pada lahan ringan (geluh berpasir) dengan sistem drainase yang baik dan pemupukan N yang cukup. BL merupakan varietas yang selalu tumbuh dengan munculnya tunas-tunas yang disebut sogolan (Keputusan Menteri Pertanian, 2004).



Gambar 2.1 Fase perkembangan tanaman tebu (Wikipedia, 2006)

Kondisi tanah yang baik bagi tanaman tebu adalah tanah yang lembab, yang mana tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah. Hal ini dikarenakan tanaman tebu sangat sensitif terhadap kekurangan oksigen dalam tanah sehingga pengairan dan drainase perlu diperhatikan (Netondo *et al.*, 2010). Menurut Thangamani *et al.*, (2013). Suhu ideal bagi tanaman tebu berkisar antara 24⁰C–34⁰C dengan perbedaan suhu antara siang dan malam tidak lebih dari 10⁰C. Pembentukan sukrosa terjadi pada siang hari dan akan berjalan lebih optimal pada suhu 30⁰C.

2.2. Pengaruh Cekaman Genangan Terhadap Pertumbuhan Tanaman

Genangan air atau banjir adalah cekaman pada lingkungan di banyak ekosistem alami dan buatan manusia di seluruh dunia. Perubahan iklim global

akibat antropogenik diperkirakan akan meningkatkan frekuensi dan tingkat keparahan kejadian banjir (Arnell dan Liu 2001). Sebagian besar tanaman tidak mampu tumbuh dan berproduksi pada kondisi cekaman genangan. Pada saat air menggenangi tanah, ruang udara dipenuhi air, mengakibatkan terjadinya perubahan karakteristik beberapa fisiko-kimia tanah (Kirk *et al* 2003; Dat *et al.*, 2004). Hal pertama yang terjadi sebenarnya adalah adanya peningkatan H₂O. Mekanisme yang memicu respons tanaman adalah perubahan redoks, pH tanah, dan penurunan kadar O₂. Potensial redoks (Eh) tanah sering dianggap sebagai indikator yang paling tepat dari perubahan kimia yang terjadi saat banjir (Pezeshki dan Delaune 1998). Potensial umumnya menurun selama tergenang air tanah (Pezeshki dan Delaune 1998; Pezeshki 2001, Boivin *et al.*, 2002; Lu *et al.*, 2004). Potensial redoks tidak hanya merupakan indikator dari kadar O₂. Reduksi tanah memacu pelepasan kation dan fosfor melalui adsorpsi ion besi dan pelarutan oksida (Boivin *et al.* 2002).

Menurut Ahmed *et al.*, (2013), genangan mengakibatkan klorofil, protein, dan degradasi RNA, serta mengurangi konsentrasi akar dalam menyerap nutrisi seperti nitrogen, fosfor, ion logam dan mineral dalam tanah. Lama kelamaan akan menyebabkan daun klorosis, gugur, pertumbuhan terhambat dan akhirnya tanaman mati. Tanaman yang mendapat perlakuan penggenangan memiliki nilai klorofil lebih rendah dibandingkan tanaman tanpa genangan, namun penurunan kandungan klorofil pada varietas tahan lebih rendah dibandingkan tanaman yang rentan (Harsanti, 2015).

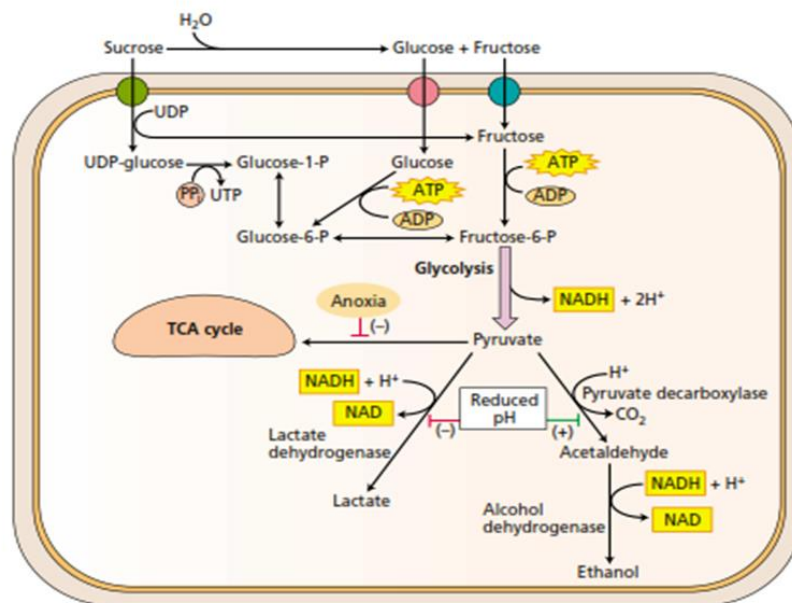
Kondisi jenuh air dapat mempengaruhi penurunan pertukaran gas antara jaringan tanaman dan udara, karena oksigen berdifusi 10.000 kali lebih besar di udara ($2.14 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ S}^{-1}$) dibanding di air ($1,97 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ S}^{-1}$). Kondisi ini mengakibatkan terjadinya hipoksia atau anoksia di sekitar perakaran (Dennis *et al.*, 2000). Penurunan pertukaran gas menyebabkan ketersediaan O₂ di daerah perakaran berkurang dan menghambat suplai O₂ bagi akar, sehingga dapat mengakibatkan penurunan energi pada sel perakaran dan mempengaruhi proses metabolisme (Hapsari dan Adie, 2010).

Cekaman genangan juga dapat mempengaruhi peningkatan etilen, asam absisik (ABA), giberelin acid (GA) auksin, serta pengurangan sitokinin. Peningkatan kadar ABA dapat menghambat pertumbuhan pucuk sebagai mekanisme fisiologi tanaman untuk mengurangi transpirasi (Zou *et al.*, 2013). Etilen juga dapat menyebabkan stomata menutup, diduga karena etilen dan asam absisat dapat menyebabkan perubahan pada membran pelindung sel sehingga mengganggu keluar-masuknya air dan ion. Kejadian tersebut akan meningkatkan konsentrasi CO₂ dan menyebabkan stomata menutup. Saat terjadi genangan, konsentrasi etilen akan meningkat karena etilen tidak berdifusi keluar dari akar (Smith *et al.*, 2010). Sintesis etilen membutuhkan oksigen, sehingga dapat terjadi dalam keadaan hipoksia dan tidak dapat terjadi dalam kondisi anoksia (Videmsek *et al.*, 2006).

Respon fisiologi akibat genangan menyebabkan terjadinya perubahan dari respirasi aerob ke fermentasi anaerob yang menginduksi glikolisis dan gen-gen fermentasi (Dat, *et al.*, 2004). Proses fermentasi menyebabkan jumlah energi yang dihasilkan menjadi lebih sedikit, dimana hanya menghasilkan 2 mol ATP untuk setiap mol glukosa, sedangkan pada proses metabolisme oksidatif menghasilkan 38 mol. Kondisi anaerob pada kondisi genangan dapat meningkatkan aktifitas enzim alkohol dehidrogenase (ADH). ADH berperan dalam respirasi untuk mempertahankan level ATP dalam kondisi anaerob. Selain itu kondisi tergenang mengakibatkan terjadinya pemecahan gula secara anaerob yang memicu akumulasi etanol pada tingkat toksik sehingga mengakibatkan tanaman mengalami ketidak mampuan bertahan menghadapi genagan (Majid *et al.*, 2001).

Menurut Taiz and Zeiger (2003), O₂ yang tidak tersedia mengakibatkan transport elektron dan oksidatif fosforilasi di mitokondria terhenti, siklus tricarboxylic acid terhenti dan hanya bisa memproduksi ATP melalui fermentasi. Ketika suplai O₂ tidak tersedia, tanaman akan memulai fermentasi piruvat menjadi lactate dengan bantuan enzim LDH (lactate dehydrogenase). Akibat dari metabolisme yang terjadi mengakibatkan pH dalam sitosol menjadi masam, penurunan pH mengakibatkan terjadinya penghambatan enzim lactat

dehydrogenase dan mengaktifkan piruvat decarboxylase sehingga terjadi penggeseran fermentasi lactate menjadi fermentasi ethanol. Fermentasi ethanol hanya menghasilkan 2 mol ATP per mol gula heksosa yang berasal dari respirasi. Sedangkan sel membutuhkan energi yang banyak untuk menetralkan pH dengan cara mentransport H^+ ke vacuola. Sehingga ATP yang dihasilkan tidak cukup tersedia untuk pembentukan makanan pada tanaman.



Gambar 2.2.1 Proses respirasi anaerob selama tanaman dalam kondisi tergenang (Taiz and Zeiger, 2003).

2.3. Ketahanan Tanaman Terhadap cekaman Genangan

Ketahanan tanaman terhadap genangan berbeda-beda, tanaman yang mampu hidup dan tumbuh pada kondisi tanah tergenang dapat dilihat berdasarkan adaptasi anatomi, morfologi, dan mekanisme metabolik (Bandi *et al.*, 2014). Perubahan yang diakibatkan oleh kejenuhan air akan berdampak pada kapasitas tanaman untuk bertahan pada kondisi ini. Respon tanaman dapat ditunjukkan melalui peningkatan ketahanan stomata, fotosintesis dan konduktivitas hidrolis akar terganggu dan translokasi photoassimilates berkurang. Salah satu adaptasi morfologi tanaman yang mengalami jenuh air dapat ditandai dengan pembentukan akar adventif, yang mana secara fungsional menggantikan akar basal. Akar adventif umumnya terbentuk di daerah pangkal batang atau di daerah lintisel dan

pertumbuhannya lateral (Parent *et al.*, 2008). Pembentukan akar adventif ini dirangsang oleh adanya interaksi hormon auxin dan etilen dalam tanaman (Akhtar and Nazir, 2013).

Pembentukan aerenkim menjadi mekanisme utama pada akar tebu untuk bertahan pada lahan yang tergenang. Sehingga tanaman tetap mampu melakukan metabolisme meskipun dalam keadaan tercekam genangan (Glaz *et al.*, 2004). Aerenkim merupakan jaringan pada tumbuhan yang terletak pada jaringan parenkim yang memiliki rongga besar dan berfungsi sebagai jalur pertukaran gas seperti etilen, metana, oksigen dan karbon dioksida. Adanya aerenkim, oksigen dapat diangkut dari akar ke batang bawah air (Rachmawati *et al.*, 2015). Jaringan aerenkim di akar menyediakan udara secara terus menerus yang saling berhubungan dengan transpor oksigen dari tunas ke akar yang terendam air, sehingga akar bernafas dalam keadaan aerobik (Begum *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil penelitian Widyasari *et al.*, (2011), menguji 13 klon tebu hasil introduksi australia, menunjukkan bahwasanya tanaman tebu yang tahan genangan akan memunculkan akar adventive, terjadinya klorosis dan memunculkan aerenkim disekitar perakaran. Munculnya akar adventive merupakan reaksi utama dari tanaman tebu dalam upaya mempertahankan hidupnya selama tercekam genangan karena dengan adanya akar adventif akan memfasilitasi masuknya oksigen ke dalam tanaman dalam kondisi anaerob, akar adventive tumbuh mendekati bagian atas permukaan tanah pada bagian tanaman guna mencari oksigen. Berikut merupakan indikator ketahanan tanaman tebu terhadap kondisi genangan.

Tabel 2.1. Indikator tanaman tebu tahan genangan

Karakter morfologi dan fisiologi	Toleran genangan	Peka genangan	Sumber
Berat segar batang	Tinggi	Rendah	Harsanti <i>et al.</i> , 2015.
Diameter batang	Tinggi	Rendah	Harsanti <i>et al.</i> , 2015.
Akar adventife	Ada	Tidak	Widyasari <i>et al.</i> , 2011.
Aerenkim	Ada	Tidak	Widyasari <i>et al.</i> , 2011.

2.4. Mutasi Hasil Radiasi Sinar Gamma CO⁶⁰

Mutasi adalah perubahan susunan genetik yang terjadi secara tiba-tiba. Mutasi dapat dilakukan melalui teknik kimia atau fisik, induksi mutasi secara kimia dan fisik dalam bidang pertanian digunakan sebagai cara untuk memperoleh variasi genetik dan sifat unggul. Mutasi fisik meliputi sinar gamma, sinar X dan sinar ultraviolet. Sinar gamma memiliki tingkat energi yang lebih tajam dibanding radiasi sinar alfa dan beta (Solichatun, 1999).

Sinar gamma merupakan gelombang elektromagnetik berenergi tinggi dengan panjang gelombang pendek. Sumber yang biasa digunakan adalah isotop radioaktif Cobal-60 (⁶⁰CO) dan Caesium-137 (¹³⁷Cs). Mutasi dengan iridiasi sinar gamma dapat merusak atau memodifikasi komponen penting dari sel tumbuhan dan mempengaruhi perubahan morfologi, anatomi, biokimia, fisiologi tanaman tergantung pada dosis radiasi. Selain itu efek dari radiasi juga mempengaruhi perubahan dalam struktur seluler tanaman dan metabolisme misalnya, pelebaran membran tilakoid, perubahan dalam fotosintesis, modulasi sistem anti-oksidatif dan akumulasi senyawa fenolik (Borzouei *et al.*, 2010). Ketika dilakukan induksi radiasi, sinar gamma yang dipancarkan diserap oleh bahan biologis dan terjadi interaksi dengan molekul yang menghasilkan radikal bebas di dalam sel. Radikal tersebut dapat memodifikasi senyawa penting dalam sel dan mengakibatkan kerusakan sel, sehingga berdampak terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel-sel vegetatif (Suparjono, 2014). Efeks biologis dari radiasi sinar gamma didasarkan pada interaksi dengan atom atau molekul dalam sel, terutama air untuk menghasilkan radikal bebas (Aruna *et al.*, 2014).

Iridiasi sinar gamma mengakibatkan perubahan genetik di dalam sel somatik yang dapat diturunkan kepada keturunannya dan dapat mengakibatkan perubahan fenotipe (Kadir, 2011). Contoh pengaruh cobalt-60 terhadap tanaman menurut Djajanegara *et al.*, (2007), jamur tiram yang dimutasi cobalt-60 dengan dosis 0,75 Gy mengalami penambahan diameter miselia serta menyebabkan perubahan warna koloni menjadi kecoklatan. Berdasarkan Heinz *et al.*, (1997) dalam Solichatun (1999), perubahan morfologi pada tebu yang diradiasi dengan sinar gamma antara lain berupa perubahan permukaan dan ukuran batang,

pengkerdilan serta resistensi terhadap herbisida. Bibit kacang yang diradiasi dengan dosis 25 kr memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan bibit yang tidak diradiasi (Aruna *et al.*, 2014).

2.5. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Penanda molekuler telah banyak digunakan dalam menganalisis perbedaan genetik tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaannya dan analisisnya dibandingkan identifikasi menggunakan karakter morfologi. Faktor lingkungan dapat mempengaruhi karakter fenotipe, perbedaan umur tanaman dan jaringan tanaman. Sedangkan penanda molekuler tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Hapsoro *et al.*, 2015). Salah satu penanda molekuler yang digunakan dalam identifikasi genotipe tumbuhan adalah RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

RAPD merupakan metode yang didasarkan pada *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan amplifikasi DNA yang menggunakan ‘*arbitrary primer*’ selama reaksi PCR, yang menghasilkan amplifikasi diskrit DNA. Produk PCR berupa sejumlah fragmen-fragmen DNA dengan ukuran yang berbeda secara konvensional dipisahkan dengan elektroforesis gel agarosa yang diwarnai dengan etidium bromida. Metode ini sangat mudah dilakukan, cepat dan hanya memerlukan sedikit DNA sebagai cetakan, serta tidak memerlukan pengetahuan mengenai genom yang akan dianalisis (Kumari and Thakur, 2014). RAPD dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan genotipe normal dan abnormal berdasarkan perbedaan pada pita DNA yang dapat teramplifikasi dengan random primer (Sembiring *et al.*, 2015).

Teknologi genotip yang digunakan adalah berdasarkan total DNA diamplifikasi dengan menggunakan primer acak tunggal (10 nukleotida) pada PCR dan fragmen DNA yang dihasilkan dipisahkan dengan gel agarosa etidium bromida. Sumber polimorfisme marka ini adalah Homologi antara primer dan DNA template menghasilkan adanya pita tertentu. Setiap mutasi yang mencegah amplifikasi DNA template oleh primer pada lokus tertentu mengakibatkan tidak adanya pita ini. RAPD memiliki karakteristik biasanya memiliki dua alel pada

masing-masing lokus (ada tidaknya band tertentu). Jumlah lokus RAPD yang digunakan untuk analisis genom tanaman bervariasi antara beberapa puluh sampai beberapa ratus (Ben dan Lavi, 2012). Proses amplifikasi yang terjadi selama analisis RAPD-PCR menghasilkan pita-pita polimorfik yang menunjukkan perbedaan karakter genetik. Berdasarkan penelitian Langga *et al.*, (2012), pita yang diperoleh merupakan hasil amplifikasi primer dan DNA *template*. Semakin banyak sekuens yang dapat dikenali oleh primer pada sebuah DNA template akan menghasilkan pita yang lebih banyak.

RAPD digunakan untuk mendeteksi polimerase rantai nukleotida pada DNA dengan menggunakan primer tunggal yang memiliki rangkaian nukleotida acak. Pada reaksi PCR-RAPD ini, marka di tempelkan pada DNA genomik pada dua tempat yang berbeda dari DNA komplementer. Ketika primer ditempalkan di daerah yang dapat di amplifikasi, maka hasil DNA tertentu dapat dihasilkan melalui amplifikasi siklus ternal (Pharmawati, 2009). Prinsip kerja RAPD adalah rantai primer pendek dan satu (bukan sepasang) yang terikat pada banyak lokus dalam genom, hal ini kemudian akan di amplifikasi pada reaksi PCR. Fragmen DNA yang teramplifikasi tergantung pada panjang dan ukuran sekuen primer dan genom target. Asumsinya adalah bahwa primer akan menempel secara berlawanan pada genom dan akan di amplifikasi pada reaksi PCR

Beberapa primer RAPD tidak dapat mendeteksi homologi atau memiliki homologi rendah dengan DNA analisis (sesuai dengan identifikasi kami, ini adalah primer spesifik rendah) dan, sebagai hasilnya, tidak adanya produk PCR atau kuantitasnya yang kecil dan reproduktifitas rendah. Beberapa primer RAPD tidak dapat mendeteksi polimorfisme DNA pada populasi yang pada sebagian besar kasus membuat mereka tidak berguna untuk analisis genetika molekuler populasi lebih lanjut (bukan primer informatif) (Vi, 2017).

2.6. Hipotesis

1. Terdapat variasi fenotipe mutan tebu hasil radiasi sinar gamma cobalt-60 pada perlakuan genangan.
2. Terdapat perbedaan genotipe tebu mutan pada perlakuan genangan dibandingkan tebu non mutan berdasarkan pita yang muncul dengan penanda marka RAPD.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Percobaan ini dilaksanakan di *Agrotechnopark* Jubung dan Laboratorium *Center for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Mei 2017 sampai dengan Maret 2018.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman tebu Bululawang (BL) yang terdiri atas aksesori 1-6, berupa tanaman hasil radiasi dengan sinar gamma 20 Gy dan tebu non mutan BL, pot, Kompos, pasir, tanah, ZA, KCL, SP36. Sedangkan bahan berupa untuk Isoasi DNA dan komponen primer untuk PCR yang sudah beberapa kali digunakan. Alat percobaan terdiri dari jangka sorong, timbangan digital, meteran, Ependorf, mikropipet, enlenmayer, incubator, sentrifuse, mortal, microwafe, spitula, alat PCR dan elektroforesis. Marka primer RAPD untuk mendeteksi genotipe tebu ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 3.1 Primer yang digunakan pada tanaman tebu

NO	Nama Primer	Sequence (5'-3')
1	OPA-07	GAA ACG GGT G
2	OPA-08	GTG ACG TAG G
3	OPA-11	CAA TCG CCG T
4	OPA-12	TCG GCG ATA G
5	OPA-15	TTC CGA ACC C
6	OPA-19	CAA ACG TCG G
7	OPC-19	GTT GCC AGC C
8	OPE-02	GGT GCG GGA A
9	OPF-04	GGT GAT CAG G
10	OPN-11	TCG CCG CAA A

3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada setiap lingkungan adalah rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri dari 1 faktor perlakuan dan diulang 3 kali setiap perlakuan. Faktor perlakuan yang diuji yaitu tebu mutan sebanyak 6 aksesori (C, D, E, F, G, H) dan non mutan BL (A dan B). Penggenangan dilakukan saat tanaman berumur 2 bulan selama 6 minggu. Semua tanaman baik mutan maupun non

mutan (kontrol) ditanam pada media di dalam pot, kemudian perlakuan penggenangan dilakukan dengan memasukkan tanaman tebu beserta media ke dalam bak yang berisi air dengan ketinggian 5 cm dari permukaan tanah.

Percobaan menggunakan Rancangan acak Lengkap (RAL), dimana model statistika yang berlaku untuk analisis dari RAL adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Nilai pengamatan pada perlakuan varietas ke-i dan ulangan ke-j

μ : Nilai rata-rata populasi

ε_{ij} : Pengaruh galat percobaan varietas ke-i dan ulangan ke-j

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam (Anova) dan apabila terjadi perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf kepercayaan sebesar 95 persen. Rancangan menggunakan ulangan sebanyak 3 kali dengan petak percobaan ialah 24 satuan percobaan dengan dengan tiap unit terdiri dari 3 sampel, dengan kombinasi dan denah rancangan acak lengkap (RAL) tersaji sebagai berikut:

1. A (Kontrol tanpa genangan)
2. B (Kontrol + genangan)
3. C (Mutan 1 + genangan)
4. D (Mutan 2 + genangan)
5. E (Mutan 3 + genangan)
6. F (Mutan 4 + genangan)
7. G (Mutan 5 + genangan)
8. H (Mutan 6 + genangan)

G1	G3	C2	H3	D2	C3	B3	F3
A3	H2	C1	F1	E3	F2	B1	D1
G2	D3	A2	H1	A1	E2	B2	E1

Gambar 3.1 Denah Percobaan

3.4. Pelaksanaan Percobaan

Percobaan ini dimulai dengan menyiapkan bahan tanam berupa mutan tebu BL dari percobaan tingkat panlet dan penanaman di *green house* sebelumnya. Kemudian menanam bahan tanam yang sudah disiapkan di pot dengan komposisi media yang terdiri dari tanah, pasir, dan kompos dengan perbandingan 1 : 1 : 1, lalu memberikan air pada media hingga memenuhi kapasitas lapang, setelah itu menaruh media pada pot. Penanaman menggunakan single bud yang berasal dari batang utama. Tahapan pemeliharaan dengan cara melakukan penyiraman setiap hari, jika kelembapan media cukup maka tidak perlu melakukan penyiraman. Pemupukan dilakukan pada saat tanaman berumur satu bulan setelah tanam dengan pupuk ZA, SP36 dan KC. Setelah bibit mencapai umur 2 atau 3 bulan kemudian memindahkan pot pada bejana dan memberikan perlakuan penggenangan dengan merendam tanaman dalam air yang mengalir tinggi genangan 30 cm dari permukaan tanah.

3.5. Identifikasi DNA berdasarkan marka RAPD-PCR

Analisis DNA genom dilakukan dengan menggunakan marka RAPD-PCR (*Random Amplified Polymorphic DNA*) yang bertujuan untuk mendeteksi *genotipe* mutan tebu dan non mutan. Identifikasi karakteristik pola pita DNA pada metode PCR (*Polymerase chain reaction*) menggunakan primer RAPD bertujuan untuk mendeteksi perubahan *genotipe* pada mutan tebu. Tahapan analisis terdiri dari ekstraksi DNA, amplifikasi RAPD-PCR, elektroforesis, analisis perubahan *genotype* menggunakan UPGMA.

3.5.1. Tahap Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA genom tanaman dilakukan berdasarkan metode *Zheng et al.*, (1995) dengan cara menggerus 0,5 gram daun tebu dengan nitrogen cair sampai halus kemudian ditambah dengan 1 ml buffer ekstraksi (100 mM Tris, 50 mM EDTA, 500 mM NaCl, dengan pH keseluruhan 8,0), 50 µl SDS 20% dan 1,25 µl β – mercaptoethanol kemudian divortek hingga homogen. Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit. Sampel yang telah diinkubasi kemudian ditambah 500 µl potasium acetat (5M), dilakukan *swirling* dan diinkubasi dalam es selama 10 menit kemudian disentrifugasi 12.000 rpm

selama 10 menit dengan suhu 4⁰C. Supernatan selanjutnya dipindah ke dalam mikrotube baru dan ditambah 625 µl isopropanol kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu -20⁰C, dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Setelah itu pelet (DNA) yang diperoleh dicuci dengan 500 µl buffer TE.

Purifikasi DNA dilakukan dengan penambahan 500 µl PCI dan divortek hingga homogen. Setelah itu, sampel disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Supernatan yang diperoleh dipindah ke mikrotube baru dan ditambah *chloroform* (1:1) kemudian divortek dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Supernatan dipindah ke mikrotube baru, kemudian ditambah 0,8 isopropanol kali volume supernatan dan 0,2 NaAc kali volume supernatan, serta dilakukan *swirling* agar homogen dan inkubasi selama 1 jam pada suhu -20⁰C, kemudian disentrifugasi 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Pellet yang diperoleh dicuci dengan 800 µl ethanol PA 70% dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4⁰C. Supernatan dibuang kemudian pellet dikeringkan dengan *vacum dry* selama 5 menit. Setelah itu, DNA ditambah 30 µl buffer TE dan 1 µl RNA-se kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37⁰C. Konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

3.5.2. Tahap Amplifikasi DNA Genom dengan Teknik PCR

DNA genom tanaman mutan tebu dan non mutan diamplifikasi menggunakan primer RAPD. Volume reaksi total PCR adalah 10 µl yang terdiri 5 µl 1 x PCR, 3 µl ddH₂O dan 1 µl DNA *template* yang telah diukur konsentrasinya. Amplifikasi PCR-RAPD dengan program *Therma Cycler* dengan siklus ternal sebanyak 40 kali dengan tahapan: (1) 1 menit 95⁰C, (2) denaturasi di 94⁰C selama 15 detik, (3) annealing pada 34⁰C selama 30 detik, (4) ekstensi pada 72⁰C selama 10 detik. Ekstensi akhir di tetapkan sebesar 72⁰C selama 2 menit dan reaksi dihentikan pada 16⁰C.

3.5.3. Tahap Elektroforesis

Hasil amplifikasi selanjutnya di elektroforesis bersama DNA marker 1 Kb (DNA ladder) pada gel agarosa. Sebanyak 0,5 gram agarosa, ditambah dengan 25 ml kali TAE buffer dan panaskan menggunakan microwafe sekitar 1 menit, kemudian tambahkan 1,5 µg/µl ETBR. Lalu plate dan siapkan cetakan sesuai dengan jumlah sampel. Sampel sebanyak 7 µl dipisahkan dengan gel agarosa yang sudah tercetak dengan tegangan 75 volt selama 35 menit. Gambar diambil dibawah sinar UV.

3.6. Analisis Perbedaan Genotipe

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid pada setiap lokus diasumsikan sebagai alel RAPD. Marka DNA merupakan data alel yang teramati dengan ketentuan ada tidaknya pita DNA berdasarkan ukuran produk PCR pada satu posisi yang sama dari beberapa aksesori yang dibandingkan untuk memperoleh pola pita yang dapat menunjukkan perbedaan yang khas antara tanaman tebu mutan dan non mutan. Fragmen hasil amplifikasi merupakan lokus DNA yang bersifat dominan. Evaluasi dari pita-pita yang dihasilkan dilihat berdasarkan fragmen yang memiliki berat molekul tertentu. Pengukuran bobot molekul (*Molekuler Weight*) pita DNA hasil amplifikasi PCR marka RAPD dilakukan dengan menggunakan software microsoft excel, data diubah menjadi data biner.

Setiap pita dianggap sebagai satu lokus sehingga pita yang sama dari contoh tanaman diinterpretasikan sebagai satu lokus yang homolog. Lokus tersebut diubah ke dalam bentuk data biner dengan skoring (1) adanya pola pita (0) tidak memiliki pola pita. Indeks kesamaan genetik tebu mutan dan non mutan dihitung berdasarkan rumus koefisien Dice (s) (Nei dan Li,1987). yaitu:

$$SI = \frac{\text{irisan "nx" + "ny"}}{\text{gabungan "nx" + "ny"}}$$

$$SI = (\text{irisan nx + ny}) / (\text{gabungan nx + ny})$$

Keterangan:

SI = koefisien kemiripan

x dan y = genotipe tanaman

nxy = jumlah pita yang koefisiennya sama

n_x = jumlah pita genotipe tanaman x

n_y = jumlah pita genotipe tanaman y

Hasil koefisien kemiripsn genetik dilakukan analisis pengelompokan filogenetik menggunakan dendogram. Jarak kemiripan genetik tanaman tebu mutan dan non mutan diamati menggunakan software MVS 3.1 dengan indeks similaritas S_{sm} dan S_j serta algoritme pengklasteran UPGMA.

3.7. Variabel Pengamatan

1. Tinggi tanaman (cm)

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

2. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung dengan cara menghitung helai daun yang tumbuh pada batang. Pengamatan dilakukan satu hari sebelum penggenangan, 15 hari, 30 hari, 45 hari, 60 hari dan 75 hari setelah penggenangan.

3. Jumlah ruas

Jumlah ruas yang dihitung adalah ruas yang berada di atas permukaan tanah.

4. Luas Daun

Luas daun diamatai dengan menggunakan aplikasi *image*. Pengukuran luas daun dilakukan dengan cara mengambil sehelai daun tiap tanaman kemudian diambil gambarnya, dalam pengambilan gambar perlu dikasih alat pengukur (penggaris) disamping daun yang digunakan sebagai acuan pengukuran.

5. Jumlah anakan keseluruhan

Jumlah anakan keseluruhan dapat di hitung berdasarkan jumlah semua anakan yang tumbuh dalam satu rumpun. Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu sekali.

6. Diameter batang

Diameter batang diukur diatas 10 cm dari pangkal batang dengan menggunakan jangka sorong.

7. Kandungan klorofil daun (mg/g)

Pengukuran kandungan klorofil menggunakan metode yang dilakukan oleh Wintermans and De Mots (1965). Sebanyak 0,1 g sampel daun tebu digerus menggunakan mortal dan ditambahkan nitrogen cair. Kemudian ditambah larutan H_3BO_3 10 mM sebanyak 0,5 ml ke dalam sampel yang telah halus. Masukkan suspensi tersebut ke dalam tabung *microcentrifuge* sebanyak 40 μ l. Ambil suspensi kemudian tambahkan ethanol sebanyak 960 μ l ke dalam masing-masing ependorf, lalu di vortex hingga homogen dan inkubasi di suhu 4°C selama 30 menit. Setelah itu, suspensi di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 8000 rpm dengan suhu 10°C. Ambil supernatan sebanyak 200 μ l, lalu ukur OD (*Optical Density*) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 649 nm dan 665 nm. Hasil absorbansi dimasukkan ke dalam rumus di bawah ini :

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

8. Aerenkim Akar

Pengamatan jaringan aerenkim berdasarkan Ningsih dkk (2016), pengambilan sampel akar jaringan aerenkim dilakukan dengan cara mengambil akar adventiv yang diiris dari bagian tebu secara melintang. Selanjutnya akar dimasukkan dalam larutan fiksatif FAA (Formaledehyde Acetic Acid Alcohol) selama 24 jam. Sampel yang telah difiksatif langsung dimasukkan dalam larutan alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol absolute I, alkohol absolut II berturut-turut masing-masing 30 menit. Kemudian dealkoholisasi dilakukan dengan berturut-turut mencampurkan alkohol dan xylol dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3 dan memasukkan dalam larutan xylol 1 selama 30 menit dan larutan xylol II selama semalam. Bahan tanam diinfiltrasi menggunakan parafin lunak dengan 3 kali pengulangan masing-masing 2 jam, kemudian dimalamkan. Kemudian bahan tanam ditanam didalam kotak kertas

dengan parafin keras, penanaman dilakukan didalam oven. Selanjutnya menempelkan hasil penanaman pada holder kayu menggunakan parafin yang dicairkan di atas bunsen. Penempelan harus dilakukan dengan kuat agar tidak lepas ketika diiris.

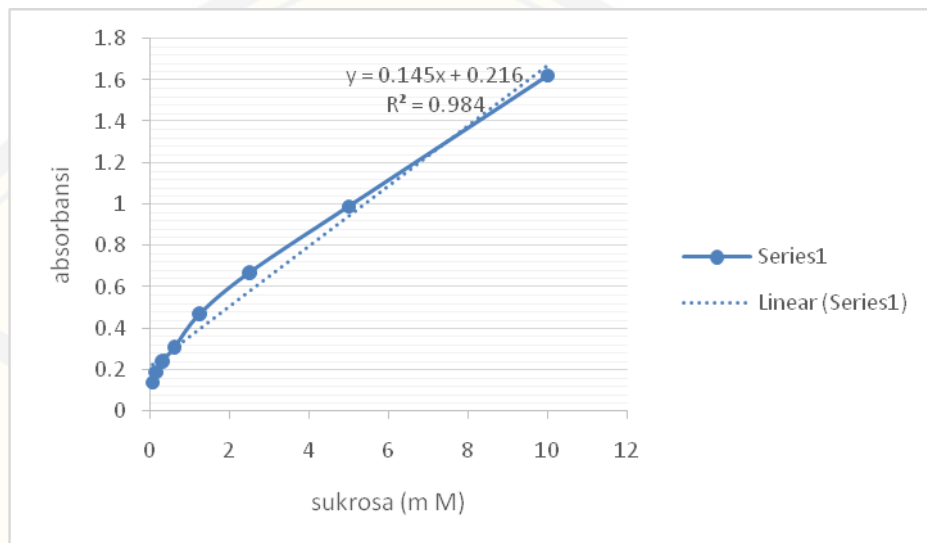
Pengirisan dilakukan dengan *rotary microtom* dengan ketebalan 10 μm . Kemudian meletakkan irisan diatas gelas benda yang telah dicampuri gliserin dan ditambah putih telur. Hasil irisan berupa pita parafin yang ditempel pada gelas benda dan menempatkannya pada hot plate dengan temperatur 45⁰C hingga pita parafin merenggang. Irisan yang telah mengering diwarnai dengan menggunakan safarin 1% aquosa. Tahap terakhir irisan ditetesi dengan entelan terlebih dahulu kemudian ditutup dengan gelas menutup dan mengeringkan diatas hot plate dengan temperatur 45⁰C. Pengamatan jaringan dilakukan dalam preparat kaca dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x kemudian memfoto gambar.

9. Kandoungan Sukrosa

Kandoungan sukrosa diukur menggunakan resolcinol berdasarkan metode yang dilakukan oleh Abramoff *et al.*, 1966. Ekstraksi sukrosa daun dilakukan dengan cara menggerus 2 gram sampel daun menggunakan mortal dan N₂ cair dan dilarutkan dalam 5 ml buffer MCW (*Metanol Chloroform Water*), selanjutnya diinkubasi pada suhu 60⁰C selama 10 menit. Campuran dihomogenkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm, selama 10 menit untuk memisahkan bahan yang terlarut dan tidak terlarut. Supernatan yang diperoleh ditampung dalam botol *falcon*. Perlakuan ini diulang sampai pellet yang tersisa berwarna putih (5 kali pengulangan). Supernatan yang diperoleh dievaporasi hingga metanol dan kloroform menguap sehingga hanya tersisa larutan berpelarut air.

Pengujian sukrosa dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 30 μl dan dimasukkan pada *microtube*, kemudian tambahkan NaOH 1 N sebanyak 35 μl . Larutan divortek sampai homogen kemudian dipanaskan di *dry bock* dengan suhu 100 ⁰C selama 10 menit. Larutan didinginkan kemudian ditambah dengan 375 μl HCL 30 % dan 125 μl resolsinol 0,1 % kemudian

divortek sampai homogen dan dipanaskan kembali dengan suhu 80 °C selama 8 menit dan diukur nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Pengukuran kandungan sukrosa menggunakan satuan μg dilakukan berdasarkan nilai standar kurva untuk sukrosa. Kurva standar ditentukan dengan mengkorelasikan kedua faktor yaitu konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh.



Gambar 3.2 Kurva Standar Penentuan Sukrosa

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Variasi fenotipe pada tanaman tebu mutan yang diuji dengan kondisi genangan menunjukkan respon ketahanan tanaman secara nyata ditandai dengan karakter tinggi tanaman, jumlah ruas batang dan jumlah anakan yang lebih tinggi dibanding tanaman lainnya. Adapun secara anatomi tanaman yang toleran terhadap kondisi genangan menunjukkan adanya jaringan aerenkim pada akar adventif. Perbedaan variasi fenotipe juga nampak pada ukuran luas daun dan diameter batang tanaman tebu.
2. Genotipe tebu hasil mutasi sinar gamma menunjukkan adanya polimorfisme antara genotipe hasil mutasi dengan kontrol sebesar 57,86 %. Berdasarkan analisis UPGMA *Wild type* memiliki perbedaan karakter genetik yang jauh dengan mutan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perubahan DNA akibat mutasi pada tebu.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat melakukan seleksi tanaman tebu toleran genangan pada vase pemasakan sehingga dapat diketahui bagaimana respon hasil panen tanaman tebu yang digenangi. Serta menganalisis perubahan genotipe yang terjadi akibat mutasi dengan penanda selain PCR-RAPD.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, F., M. Y. Rafli, M. R. Ismail, A. S. Juraimi, H. A. Rahim, R. Asfaliza and M. A. Latif. 2013. Waterlogging tolerance of crops: breeding, mechanism of tolerance, molecular approaches, and future prospects. *BioMed Research International*, 1(1): 1-10.
- Akhtar, I., and N. Nazir. 2013. Effect of waterlogging and drought stress in plant. *Water Resources and Environmental Sciences*, 2(2): 34-40.
- Amell N, Liu C. 2001. Climatic Change 2001: hydrology and water resources. Report from the Intergovernmental Panel on Climate Change. Available at <http://www.ipcc.ch/> [Verified 16 June 2009].
- Aruna.S., Desai and S. Rao. 2014. Effect of gamma radiation on germination and physiological aspects of pigeon pea (*Cajan (L.) Millsp*). Seedling. *Research in Applied*, 2(6): 47-52.
- Bandi, A. A., Sumono dan A. P. Munir. 2014. Kajian pengaruh lama penggenangan terhadap kualitas airdan sifat fisik tanah andosol serta pertumbuhan tanamantomat (*lycopersicum esculentum mill.*). *Pangan dan Pert*, 2 (1): 134-142.
- Begum, M.K., Alam, M. R., and M.S. Islam. 2013. Adaptive mekanisme of sugarcane genotypes under flood stress condition. *World Journal Of Agricultural Scinces*, 1(2): 056-064.
- Ben, A., dan Lavi, U. Marker-assisted selection in plant breeding. 2012. *Breeding biotechnologies*. 10.1016/B978-0-12-381466-1.00011-0.
- Boivin, P., Favre, F., Hammecker, C., Maeght, J. L., Delarivière, J., Poussin, J. C., Wopereis, M. C. S. 2002. Processes driving soil solution chemistry in a flooded rice-cropped vertisol: Analysis of long-time monitoring data. *Geoderma* 110,87-107.
- Borzouei.A., M. Kafi, H. Khazaei, B. Naseriyan and A. Majdabadi. 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum Aestivum L.*) seedlings. *Bot*, 42(4): 2281-2290.
- Braver, M., D. Sander, and M. Stitt. 1990. Regulation of photosynthesis sucrose synthesis a role for calcium. *Planta*. 1 (182).

- Cox, M.C.H., Millenaar, F.F., van Berkel, Y.E.M., Peeters, A.J.M., dan Voesenek, L.A.C.J. 2003. Plant movement. submergence-induced petiole elongation in *Rumex palustris* depends on hyponastic growth. *Plant Physiology* 132: 282–291.
- Dat, J. F., N. Capelli, H. Folzer, P. Bourgeade, and P.Badot. 2004. Sensing and signalling during plant flooding. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 273–282.
- Dennis, E. S., R. Dolferus, M. Ellis, M. Rahman, Y. Wu, F.U. Hoeren, A. Grover, K.P. Ismon, A.G. Good and W.J. Peacock. 2000. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. *Journal of Experimental Botan*, 51(342): 89-97.
- Dinas Perkebunan Jawa Timur. 2008. *Pola pertumbuhan tanaman tebu*. www.disbunjatim.co.id [7 Juli 2015].
- Ditjen Perkebunan Kementan. 2016. *Produksi Gula Kembali Turun*. Agroindonesi. 30/08/2016/ Comments off on produksi gula kembali turun/in Hutan. Industri (off-fram), kebun (on-fram).
- Djajanegara.I., P. Wahyudi., D. Tjokrokusumo., N. Widyastuti dan Harsoyo. 2007. Pengaruh mutasi dengan radiasi sinar gamma (C0₆₀) terhadap produktivitas jamur tiram abu-abu. *Berk. Penel Hayati*, 13 (1): 57-61.
- Du. Juan and A. Groover. 2010. Transcriptional regulation of secondary growth and wood formation. *Plant Biologi*. 52(1): 17-27.
- El Sherif. F., S. Khattab, E. Ghoname, N. Salem and K. Radwan. 2011. Effect of gamma irradiation on enhancement of some economic traits and molecular changes in *Hibiscus Sabdariffa* L. *Life Science*. 8 (3).
- Glaz., B., Morris D.R., and S. H. Daroub. 2004. Sugarcane photosynthesis, transpiration and stomatal conductance due to flooding and water table. *Crop Sci*, 44: 1633-1641.
- Gomathi. R. P. N., G. Rao, K. Chandran and A. Selvi. 2014. Adaptive respon of sugarcane to waterlogging stress: an over view. *Sugar Tech*. Published Online: 17 Agustus 2014.
- Hapsari. T. R., dan M. M. Adie. 2010. Peluang perakitan dan pengembangan kedelai toleran genagan. *Litbang pertanian*, 29 (2): 50-57.

- Hapsoro, D., H. A. Warganegara, S. D. Utomo, N. Sriyani and Yusnit. 2015. Genetic diversity among sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) genotypes as shown by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Agrivita*, 37(3): 247-257.
- Harsanti, S. H., S. Hartatik, A. Syamsunihar, S. Soeparjono dan S. Avivi. 2015. Uji toleransi beberapa varietas tebu pada berbagai tinggi penggenangan. *Ilmiah Pertanian*, 1(1): 1-3.
- Heydarian, Z., Sasidharan, R., Cox, M.C.H., Pierik, R., Voesenek, L.A.C.J., dan Peeters, A.J.M. 2010. A kinetic Analysis of hyponastic growth and petiole elongation upon ethylene exposure in *Rumex palustris*. *Annals of Botany* 106: 429–435.
- Indrawanto, C., Purwono, Siswanto, M. Syakir, dan W. Rumini. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Bogor: Eska Media.
- Jaiphong, T., J. Tominago, K. Watanabe, M. Nakabaru, H. Takaragawa, R. Suwa, M. Ueno and Y. Kawamitsu. 2016. Effect of duration and combination of drought and flood conditions on leaf photosynthesis, growth and sugar content in sugarcane. *Plant Production*. 19 (3).
- Johnston, R., M. Wang, Q. Sun, A. W. Sylvester, S. Hake and M. J. Scanlon. 2014. Transcriptomic analyses Indicate that maize ligule development recapitulates gene expression patters that occur during lateral organ initiation. *Plant Cell*. 26: 4718-4732.
- Kadir, A. 2011. Pengaruh iridiasi sinar gamma terhadap terhadap pembentukan tunas tanaman nila. *Agrivigor*, 10(2): 117-127.
- Kaur, M., K. S. Thind, G. S. Sanghera, R. Kumar and L. Kashyap. 2016. Gamma rays induced variability for economic traits, quality and red rot resistance in sugarcane (*Saccharum* SPP.). *Environment and Technology*. 5(2): 355-364.
- Khan, I.A., M.U. Dahot and A. Khatri. 2007. Study of genetic variability in sugarcane induced through mutation breeding. *Pak. J. Bot.*, 39(5): 1489-1501.
- Keputusan Menteri Pertanian. 2004. *Pelepasan Tebu Varietas Bululawang Sebagai Varietas Unggul*. Jakarta. Menteri Pertanian.
- Kementrian Perkebunan. 2018. *Rapat Pembangunan Perkebunan*. Jakarta. Direktur Jendral Perkebunan Kementrian Pertanian.

- Kozłowski, T.T. 1985. Soil aeration, flooding, and tree growth. *J. Arboricult.* 11:85-95.
- Kumari, N., and S. K. Thakur. 2014. Randomly amplified polymorphic DNA-A brief review. *Animal and Veterinary Sciences.* 9 (1): 6-13.
- Kumutha. D., R. K. Sairam, K. Ezhilmathi, V. Chinnusamy and R. C. Meena. Effect of waterlogging on carbohydrate metabolism in pigeon pea (*Cajanus cajan L.*) : Upregulation of sucrose synthase and alcohol dehydrogenase. *Plant Science.* 175(1): 706-716.
- Langga, I.F., M. Restu, dan T. Kuswinanti. 2012. Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi dna tanaman bitti (*Vitex cofasus Reinw*) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *Sains dan Teknologi*, 12(3): 265-276.
- Luthfiyyah. Z., S. Avivi dan T. A. Siswoyo. 2015. Studi karakter morfologi dan pola pita protein mutan tebu hasil mutasi dengan cobalt (⁶⁰ Co) yang toleran terhadap genangan. *Pertanian*, 1(1): 1-5.
- Luo, J, Pan, Yong-Bao, Xu, L, Zhang, Y, Zhang, H, Chen, R & Que, Y 2014, Photosynthetic and canopy characteristics of different varieties at the early elongation stage and their relationships with the cane yield in sugarcane , *Research Article*, The Scientific World Journal , Hindawi Publishing Corporation, 9 p. diakses tanggal 1 Agustus 2016 (<http://dx.doi.org/10.1155/2014/707095>).
- Majid, M. A., K. M. Shamsuzzaman, M. A. R. Howlider and M.M. Islam. 2001. Development of *sugarcane* mutants with resistance to red rot, waterlogging delayed or non-flowering through induced mutations. Bangladesh Institute of Nuclear Agriculture. Bangladesh.
- Martanti. D., Y. S Poerba, K. S. Yulita and Herlina. 2014. Karakterisasi mutan kentang hitam (*Plectranthus rotundifolius (poir) spreng*) hasil radiasi sinar gamma yang toleran salinitas dan kekeringan dengan menggunakan marka RAPD dan ISSR. *Widyariset.*17(3). 435-444.
- Mommer, L., Pons, T. L., Wolters-Arts, M., Venema, J. H., Visser, E. J. W. 2005. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affects gas diffusion resistance and photosynthetic performance. *Plant Physiol.* 139:497–508.
- Netondo, G.W., F. Waswa, L. Maina, T. Naisako, N. Masayi, J. K. Ngaira. 2010. Agrobiodiversity endangered by sugarcane farming in Mumias and Nzoia Sugarbelts of Western Kenya. *Environmental Science and Technology*, 4(7): 437-445.

- Ningsih, A., Mansyurdin, dan T. Maideliza. 2016. Perkembangan aerenkim akar kangkung darat (*Ipomoea reptans Poir*) dan kangkung air (*Ipomoea aquatic Forsk*). *Biologi*, 9(1): 37-43.
- Ningtias, F. 2015. Analisis Pertumbuhan dan Kandungan Karbohidrat Tanaman Tebu Hasil Mutasi dengan *Ethyle Methane Sulphonate (EMS)*. *Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Jember*.
- Parent, C., N. Capelli, A. Berger, M. Crevecoeur and J. F. Dat. 2008. An overview of plant responses to soil waterlogging. *Plant Stress*, 2(1): 20-27.
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi ekstraksi DNA PCR-RAPD pada *grevillea spp.*(PROTEACEAE). *Biologi*, 13(1): 12-16.
- Rosler, RL, Singels, A, Olivier, FC & Steyn, JM 2013, Growth and yield of a sugarcane plant crop under water stress imposed through deficit drip irrigation, *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.*, 86:170–183.
- Sairam, R.K., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P.S., Srivastava, G.C., 2008. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biol Plant* 52: 401- 412.
- Sembiring, S. M. I., L. A. P. Putri dan H. Setiado. 2015. Aplikasi penanda lima primer RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) untuk analisis keragaman genetik Andalima (*Zanthoxylum acanthopodium DC*) Sumatera Utara. *Agroteknologi*, 4 (1): 1748-1755.
- Sherif, F.E., Khattab, S., Ghoname, E., Salem, N. and Radwan, K. 2011. Effect of gamma irradiation on enhancement of some economic traits and molecular changes in *Hibiscus sabdariffa L.* *Life Sci*, 8 (9).
- Smith, A.M., Coupland, G., Dolan, L., Harberd, N., Jones, J., Martin, C., Sablowski, R., Amey, A. 2010. *Plant Biology*. New York: Garland Science.
- Solichatun. 1999. Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan eksplan tebu (*Saccharum officinarum L.*) Varietas M 442-51 (BZ 148). *BioSmart*, 1(1): 15-21.
- Suparjono, S. 2014. Induksi mutasi untuk seleksi ketahanan terhadap salinitas tanaman tebu (*Saccharum officinarum L.*) secara *in vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Pemuliaan*. Jember. Fakultas Pertanian Universitas Jember.

- Taiz, L., dan Zeiger, E. 2003. *Plant Physiology: Fifth Edition*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Thangamani, P.R., R. Thiruvengadam, K. Thillaigovindan. 2013. Morphological Characterization And Reaction Of PartialPurified Toxin Of Sugarcane Red Rot PathogenColletotrichum Falcatum Collected From Southern India. *Agricultural Sciences*, 3(10): 60-76.
- Vi, K. 2017. Using RAPD PCR Method for Studying DNA Polymorphism of Agricultural Importance Arthropods . *Agricultural Research And Technology*. 9 (4). 2471-6774.
- Widyasari. B. W., Damanhuri dan H. Budhisantosa. 2011. Respon 13 klon tebu introduksi asal australia terhadap cekaman genangan. *MPG*, 47(1): 10-27.
- Zeo, X., X. Tan, Chengwei Hu, L. Zeng, G. Lu, G. Fu, Y. Cheng and X. Zhang. 2013. The transcriptome of *brassica napus* l. roots underwaterlogging at the seedling stage. *Mol. Sci*, 14(1): 2637-2651.
- Zheng, K., N. Huang., P. Bennet., dan G. S. Khush. 1995. PCR Based Marker Assisted Selection in Rice Breeding. *IRRI news let* 2.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambaran Penelitian



Penampakan penelitian di lahan



Pengukuran tinggi tanaman menggunakan meteran dan penggaris



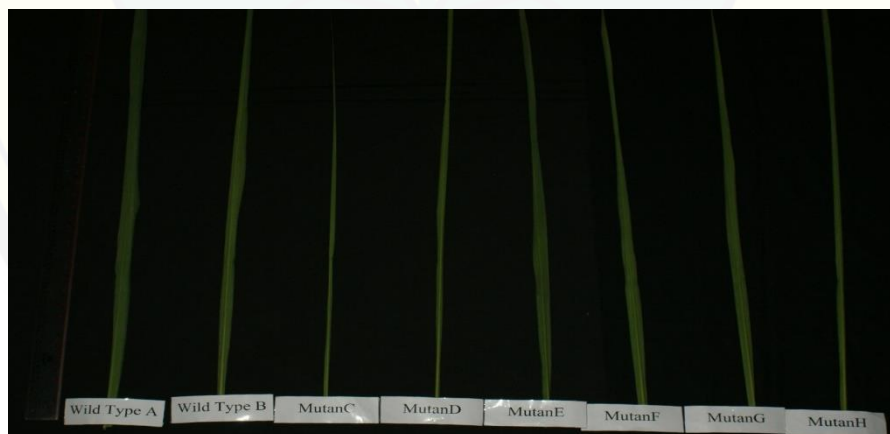
Pengukuran luas daun



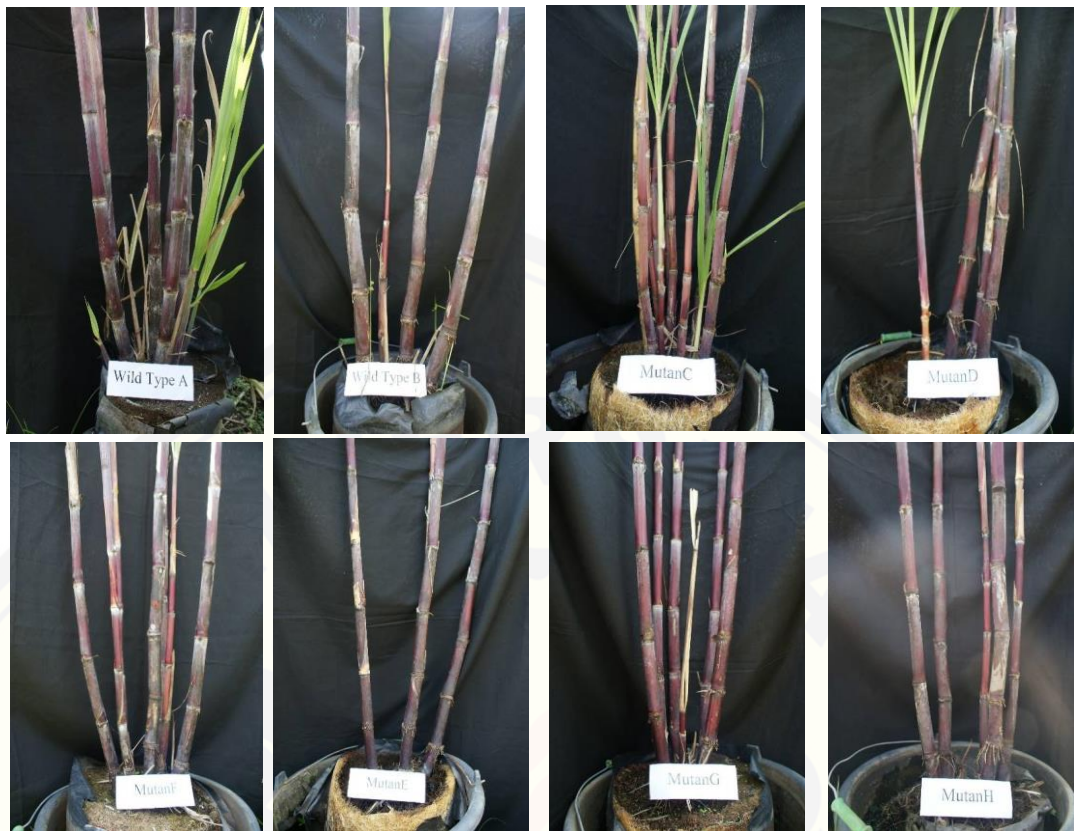
Pngamatan akar adventif dan jaringan aerenkim



Pengukuran kandungan sukrosa daun dan kandungan klorofil



Penampilan bentuk daun tanaman tebu



Penampilan bentuk batang tanaman tebu

Lampiran 2. Hasil pengamatan dan pengolahan data

1. Tinggi tanaman

Perlakuan	U1	U2	U3	Total	Rata-rata	SDEV	SEM
A	58	64	63	185	61,67	3,21	1,86
B	96	95	74	265	88,33	12,42	7,17
C	105	101	88	294	98,00	8,89	5,13
D	90	100	109	299	99,67	9,50	5,49
E	100	94	86	280	93,33	7,02	4,06
F	80	85	93	258	86,00	6,56	3,79
G	103	95	98	296	98,67	4,04	2,33
H	99	88	93	280	93,33	5,51	3,18
Total	731	722	704				
Rata-rata	91,38	90,25	88,00	2157	89,88		

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	3228,625	461,23	7,80	2,66	4,03	**
Error	16	946,000	59,1250				
Total	23	4174,625					
	CV	9%					

Uji Duncan 5%										
		99,67	98,67	98,00	93,33	93,33	88,33	86,00	61,67	
D	99,67	0,00	a							a
G	98,67	1,00	0,00	a						a
C	98,00	1,67	0,67	0,00	a					a
E	93,33	6,34	5,34	4,67	0,00	a				a
H	93,33	6,34	5,34	4,67	0,00	0,00	a			a
B	88,33	11,34	10,34	9,67	5,00	5,00	0,00	a		a
F	86,00	13,67	12,67	12,00	7,33	7,33	2,33	0,00	a	a
A	61,67	38,00	37,00	36,33	31,66	31,66	26,66	24,33	0,00	b

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Tabel	3	3,15	3,23	3,3	3,34	3,37	3,39
Sy	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44
UJD 5%	13,32	13,98	14,34	14,65	14,83	14,96	15,05

2. Jumlah ruas

perlakuan	U1	U2	U3	Total	rata-rata	SDEV	sem
A	4	4	4	12	4,00	0,00	0,00
B	5	4	4	13	4,33	0,58	0,33
C	6	4	5	15	5,00	1,00	0,58
D	5	7	6	18	6,00	1,00	0,58
E	6	5	5	16	5,33	0,58	0,33
F	5	5	5	15	5,00	0,00	0,00
G	5	5	4	14	4,67	0,58	0,33
H	4	5	5	14	4,67	0,58	0,33
Total	40	39	38				
rata-rata	5,00	4,88	4,75	117	4,88		

JK TK 585
FK 570,375

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	7,958	1,1369	2,73	2,66	4,03	*
Eror	16	6,667	0,41667				
Total	23	14,625					
	CV	13%					

Uji Duncan 5%										
		6,00	5,33	5,00	5,00	4,67	4,67	4,33	4,00	notasi
D	6,00	0,00	a							a
E	5,33	0,67	0,00	b						ab
C	5,00	1,00	0,33	0,00	b					ab
F	5,00	1,00	0,33	0,00	0,00	b				ab
G	4,67	1,33	0,66	0,33	0,33	0,00	b			ab
H	4,67	1,33	0,66	0,33	0,33	0,00	0,00	b		ab
A	4,33	1,67	1,00	0,67	0,67	0,34	0,34	0,00	b	b
B	4,00	2,00	1,33	1,00	1,00	0,67	0,67	0,33	0,00	b

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai tabel	3	3,15	3,23	3,3	3,34	3,37	3,39
sy	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
UJD 5%	1,12	1,17	1,20	1,23	1,24	1,26	1,26

3. Diameter batang

Perlakuan	U1	U2	U3	Total	Rata-rata	stdev	sem
A	3,01	2,51	2,51	8,0	2,68	0,29	0,17
B	2,51	2,81	2,42	7,7	2,58	0,20	0,12
C	1,71	2	1,74	5,0	1,67	0,10	0,06
D	2	2	2,22	6,6	2,19	0,05	0,03
E	1,94	1,855	2,4	6,2	2,07	0,29	0,17
F	2,51	2,61	2	7,5	2,49	0,14	0,08
G	2,4	2,44	2,351	7,2	2,40	0,04	0,03
H	2,13	2,12	2,37	6,6	2,21	0,14	0,08
Total	18,34	18,13	18,35	54,82			
Rata-rata	2,29	2,27	2,29		2,28		

JK TK 127,9333

FK 125,200

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	2,206	0,3152	9,56	2,66	4,03	**
Eror	16	0,527	0,03296				
Total	23	2,734					
	CV	8%					

Uji Duncan 5%										
		2,68	2,58	2,49	2,40	2,21	2,19	2,07	1,67	notasi
A	2,68	0,00	a							a
B	2,58	0,10	0,00	a						a
F	2,49	0,19	0,09	0,00	b					ab
G	2,40	0,28	0,18	0,09	0,00	c				abc
H	2,21	0,47	0,37	0,28	0,19	0,00	c			bc
D	2,19	0,49	0,39	0,30	0,21	0,02	0,00	c		bc
E	2,07	0,61	0,51	0,42	0,33	0,14	0,12	0,00	c	c
C	1,67	1,01	0,91	0,82	0,73	0,54	0,52	0,40	0,00	d

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Tabel	3	3,15	3,23	3,3	3,34	3,37	3,39
Sy	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
UJD 5%	0,31	0,33	0,34	0,35	0,35	0,35	0,36

4. Jumlah anakan

Perlakuan	U1	U2	U3	Total	Rata-rata	stdev	sem
A	8	7	8	23	7,67	0,58	0,33
B	4	4	3	11	3,67	0,58	0,33
C	5	8	5	18	6,00	1,73	1,00
D	6	4	4	14	4,67	1,15	0,67
E	5	5	4	14	4,67	0,58	0,33
F	5	6	5	16	5,33	0,58	0,33
G	5	6	6	17	5,67	0,58	0,33
H	4	6	4	14	4,67	1,15	0,67
Total	42	46	39	127			
Rata-rata	5,25	5,75	4,88		5,3		

JK TK 717
FK 672,042

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	30,292	4,3274	4,72	2,66	4,03	**
Eror	16	14,667	0,91667				
Total	23	44,958					
	CV	18%					

Uji Duncan 5%										
		7,67	6,00	5,67	5,33	4,67	4,67	4,67	3,67	notasi
A	7,67	0,00	a							a
C	6,00	1,67	0,00	b						ab
G	5,67	2,00	0,33	0,00	b					b
F	5,33	2,34	0,67	0,34	0,00	b				b
D	4,67	3,00	1,33	1,00	0,66	0,00	c			b
E	4,67	3,00	1,33	1,00	0,66	0,00	0,00	c		b
H	4,67	3,00	1,33	1,00	0,66	0,00	0,00	0,00	c	bc
B	3,67	4,00	2,33	2,00	1,66	1,00	1,00	1,00	0,00	c

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Tabel	3	3,15	3,23	3,3	3,34	3,37	3,39
Sy	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
UJD 5%	1,66	1,74	1,79	1,82	1,85	1,86	1,87

Jumlah daun

Perlakuan	U1	U2	U3	Total	Rata-rata	stdev	sem
A	10	9	9	28	9,33	0,58	0,33
B	9	9	8	26	8,67	0,58	0,33
C	9	8	9	26	8,67	0,58	0,33
D	9	8	9	26	8,67	0,58	0,33
E	8	9	9	26	8,67	0,58	0,33
F	8	9	8	25	8,33	0,58	0,33
G	9	7	8	24	8,00	1,00	0,58
H	8	9	9	26	8,67	0,58	0,33
Total	70	68	69				
Rata-rata	8,75	8,50	8,63	207	8,6		

JK TK 1795
FK 1785,375

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	2,958	0,4226	1,01	2,66	4,03	ns
Eror	16	6,667	0,41667				
Total	23	9,625					

CV 7%

5. Luas daun

Perlakuan	U1	U2	U3	Total	rata-rata	stdev	sem
A	3,398	3,788	3,316	10,502	3,50	0,25	0,15
B	3,339	3,398	3,623	10,36	3,45	0,15	0,09
C	2,13	1,93	1,922	5,982	1,99	0,12	0,07
D	2,278	2,171	2,704	7,153	2,38	0,28	0,16
E	3,237	1,983	1,988	7,208	2,40	0,72	0,42
F	2,6	3,231	3,285	9,116	3,04	0,38	0,22
G	3,114	2,151	2,843	8,108	2,70	0,50	0,29
H	3,464	2,821	2,841	9,126	3,04	0,37	0,21
Total	23,56	21,473	22,522	67,555			
rata-rata	2,945	2,684125	2,81525		2,81		

JK TK 198,6709
FK 190,153

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	6,064	0,8663	5,65	2,66	4,03	**
Eror	16	2,454	0,15336				
Total	23	8,518					

CV 14%

Uji Duncan 5%										
		3,45	3,04	3,04	2,90	2,70	2,40	2,38	1,99	notasi
B	3,45	0,00	a							a
A	3,04	0,41	0,00	a						a
F	3,04	0,41	0,00	0,00	b					ab
H	2,90	0,55	0,14	0,14	0,00	b				ab
G	2,70	0,75	0,34	0,34	0,20	0,00	c			bc
E	2,40	1,05	0,64	0,64	0,50	0,30	0,00	c		bc
D	2,38	1,07	0,66	0,66	0,52	0,32	0,02	0,00	c	bc
C	1,99	1,46	1,05	1,05	0,91	0,71	0,41	0,39	0,00	c

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Tabel	3	3,15	3,23	3,3	3,34	3,37	3,39
Sy	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
UJD 5%	0,68	0,71	0,73	0,75	0,76	0,76	0,77

6. Total klorofil

perlakuan	U1	U2	U3	Total	rata-rata	stdev	sem
A	0,708	0,701	0,51	1,919	0,64	0,11	0,06
B	0,381	0,425	0,794	1,6	0,53	0,23	0,13
C	0,824	0,645	0,478	1,947	0,65	0,17	0,10
D	0,651	0,62	1,046	2,317	0,77	0,24	0,14
E	0,837	0,947	0,659	2,443	0,81	0,15	0,08
F	0,58	0,484	0,792	1,856	0,62	0,16	0,09
G	0,508	0,625	0,639	1,772	0,59	0,07	0,04
H	0,715	1,366	0,826	2,907	0,97	0,35	0,20
total	5,204	5,813	5,744	16,761			
rata-rata	0,65	0,73	0,72		0,70		

FK 11,70546

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi
Varietas	7	0,430	0,0614	1,52	2,66	4,03	ns
Error	16	0,646	0,04035				
Total	23	1,075					
	CV	1%					

7. Sukrosa daun

mg/gr daun							
perlakuan	U1	U2	U3	total	rata-rata	STDEV	SEM
A	0.128	0.125	0.144	0.396	0.13	0.01	0.01
B	0.033	0.025	0.060	0.118	0.04	0.02	0.01
C	0.028	0.043	0.065	0.136	0.05	0.02	0.01
D	0.089	0.066	0.083	0.238	0.08	0.01	0.01
E	0.096	0.109	0.113	0.318	0.11	0.01	0.01
F	0.091	0.090	0.047	0.228	0.08	0.03	0.01
G	0.057	0.059	0.045	0.162	0.05	0.01	0.00
H	0.123	0.124	0.129	0.376	0.13	0.00	0.00
total	0.645	0.640	0.687	1.972			
rata-rata	0.081	0.080	0.086		0.082		

JK TK 0.19243
FK 0.162

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F Tabel (5%)	F Tabel (1%)	Notasi	
Varietas	7	0.027	0.004	17.92	2.66	4.03	**	Sangat signifikan
Eror	16	0.003	0.00021					
Total	23	0.030						
CV		18%						

Uji Duncan 5%										notasi
		0.13	0.13	0.11	0.08	0.08	0.05	0.05	0.04	
A	0.13	0.00	a							a
H	0.13	0.00	0.00	a						a
E	0.11	0.02	0.02	0.00	b					ab
D	0.08	0.05	0.05	0.03	0.00	c				bc
F	0.08	0.05	0.05	0.03	0.00	0.00	c			bc
C	0.05	0.08	0.08	0.06	0.03	0.03	0.00	d		cd
G	0.05	0.08	0.08	0.06	0.03	0.03	0.00	0.00	d	cd
B	0.04	0.09	0.09	0.07	0.04	0.04	0.01	0.01	0.00	d

	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Tabel	3	3.15	3.23	3.3	3.34	3.37	3.39
Sy	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
UJD 5%	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

