



**KEMAMPUAN RECOVERY BEBERAPA VARIETAS TANAMAN PADI
HITAM (*Oryza sativa* L. *indica*) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN
PADA FASE PERTUMBUHAN**

SKRIPSI

Oleh:

**Yulia Dewi Aminatus Syarofah
151510501246**

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



**KEMAMPUAN RECOVERY BEBERAPA VARIETAS TANAMAN PADI
HITAM (*Oryza sativa* L. *indica*) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN
PADA FASE PERTUMBUHAN**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Pendidikan Program Strata Satu pada Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

**Yulia Dewi Aminatus Syarofah
151510501246**

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ketiga orang tua saya, Ibu saya Tasemi, Ayah saya Hadi Priyono dan almarhum Bapak saya Suyadi. Terimakasih sebanyak- banyaknya dari segenap hati yang terdalam. Terimakasih telah mendidik saya, membesarkan saya dengan penuh kasih sayang. Terimakasih telah selalu mendukung saya dan mengerti saya dalam setiap waktu dan kondisi;
2. Kakak saya Andi Eko Prasetyo, Terimakasih yang telah dalam diam memantau tumbuh kembang dan mengawal tiap proses kehidupan adikmu. Terimakasih selalu siap sedia dan ada dalam tiap masalah suka dan duka hidup ini;
3. Dosen Pembimbing Skripsi sekaligus Dosen Pembimbing Akademik dan Dosen Pembimbing Riset saya Bapak Tri Handoyo, S.P., Ph.D.
4. Segenap guru saya di SDN 1 Sumberagung, SMPN 1 Siliragung dan SMAN 1 Pesanggaran;
5. Segenap dosen dan civitas akademik Fakultas Pertanian;
6. Semua saudara, sahabat, dan teman saya yang selalu menemani saya melalui waktu bersama;
7. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

Innallaha Ma'ana

Urip iku murup

(hendaknya dalam kehidupan kita, kita selalu memberi manfaat bagi orang lain)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yulia Dewi Aminatus Syarofah

NIM : 151510501246

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Kemampuan Recovery Beberapa Varietas Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Fase Pertumbuhan”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 20 Oktober 2019

Yang menyatakan,

Yulia Dewi A.S.

NIM. 151510501246

SKRIPSI

**KEMAMPUAN RECOVERY BEBERAPA VARIETAS TANAMAN PADI
HITAM (*Oryza sativa* L. *indica*) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN
PADA FASE PERTUMBUHAN**

Oleh:

Yulia Dewi Aminatus Syarofah

151510501246

Pembimbing

Dosen Pembimbing Skripsi : Tri Handoyo, S.P., Ph. D.

NIP : 197112021998021001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Kemampuan Recovery Beberapa Varietas Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa L. indica*) Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Fase Pertumbuhan**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Senin
Tanggal : 9 Desember 2019
Tempat : Ruang Sidang 1 Fakultas Pertanian

Dosen Pembimbing Skripsi,

Tri Handoyo, S.P., Ph.D
NIP. 197112021998021001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Wahyu Indra Duwi F., S.P., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198102042015041001

M. Ubaidillah, S.Si., M.Agr., Ph.D
NIP. 198612112019031008

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Kemampuan Recovery Beberapa Varietas Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Fase Pertumbuhan; Yulia Dewi Aminatus Syarofah; 151510501246; 2019; 35 halaman; Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Padi beras hitam merupakan tanaman pangan yang bermanfaat bagi kesehatan. Seiring dengan kesadaran masyarakat pentingnya kesehatan, padi beras hitam mulai diminati. 148 juta ha lahan di Indonesia merupakan lahan kering dan \sekitar 84,365 ha lahan sawah mengalami kekeringan pada periode Januari- Juli 2011. Lahan kering ini dapat dimanfaatkan untuk budidaya tanaman padi hitam. *Drought recovery* merupakan salah satu mekanisme ketahanan tanaman padi terhadap cekaman kekeringan selama periode tertentu pada awal pertumbuhan ditandai dengan kemampuan kembali hijau. Tujuan penelitian untuk mengetahui tingkat ketahanan cekaman kekeringan pada beberapa varietas padi hitam untuk mengembangkan varietas padi hitam yang toleran cekaman kekeringan. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan menerapkan perlakuan cekaman kekeringan kemudian disiram kembali pada 10 varietas padi hitam. Hasil data kemudian dianalisis menggunakan analisis varians dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT taraf 5 %. Hasil terbaik kemudian di SDS PAGE dan elektroforesis 2D untuk mengetahui apabila ada perubahan protein dari tanaman yang tercekam. Varietas lumajang memiliki respon morfologis dan fisiologis yang lebih baik dibandingkan varietas lainnya. Hasil elektroforosis 2D menunjukkan munculnya spot protein baru setelah mengalami cekaman kekeringan pada berat molekul antara 10-15kDa, begitupun dengan hasil SDS-PAGE menunjukkan munculnya pita protein baru pada berat molekul 10-20 kDa .

SUMMARY

Recovery Ability of Several Varieties of Black Rice (*Oryza sativa L. indica*) Against Drought Stress in the Growth Phase; Yulia Dewi Aminatus Syarofah; 151510501246; 2019; 35 pages; Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture, University Jember.

Black rice is a food crop that is beneficial to health. Along with public awareness of the importance of health, black rice began to be in demand. 148 million ha of land in Indonesia are dry land and 84,365 ha of paddy fields experienced drought in the January-July 2011 period. This dry land can be used for cultivation of black rice. Drought recovery is one mechanism of resistance of rice plants to drought stress during a certain period at the beginning of growth marked by the ability to return green. The purpose of this study was to determine the level of drought stress resistance in several black rice varieties to develop black rice varieties that were tolerant of drought stress. The study used a completely randomized design by applying drought stress treatment and then watering it again on 10 varieties of black rice. The results of the data were then analyzed using analysis of variance and if there were significant differences followed by further tests of DMRT level of 5%. The best results are then in SDS PAGE and 2D electrophoresis to find out if there is a change in protein from the gripped plant. Lumajang varieties have better morphological and physiological responses compared to other varieties. 2D electrophoresis results showed the emergence of new protein spots after experiencing drought stress at a molecular weight of 10-15kDa, as well as the SDS-PAGE results showed the emergence of new protein bands at 10-20 kDa.

PRAKATA

Segala puji dan syukur senantiasa tercurah kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa, yang telah memberikan Rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Kemampuan Recovery Beberapa Varietas Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa L. indica*) Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Fase Pertumbuhan”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (SI) pada Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Penyelesaian Tugas Akhir (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Maka dari itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih atas segala dukungan dan bantuan kepada :

1. Bapak Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Bapak Tri Handoyo, S.P., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi sekaligus Dosen Pembimbing Akademik dan Dosen Pembimbing Riset. Terimakasih atas bimbingan, wawasan dan ilmu yang diberikan dengan penuh kesabaran dan keikhlasan, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kesehatan dan kebahagiaan untuk Bapak Tri Handoyo sekeluarga.
3. Bapak Wahyu Indra Duwi Fanata, S.P., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji Pertama dan Bapak M. Ubaidillah, S.Si.,M.Agr.,Ph.D selaku Dosen Penguji Dua.
4. Segenap guru-guru saya dari TK, MI, SMP, SMA, dan PTN terimakasih atas segala nasihat, ilmu dan semangat yang telah diberikan.
5. Segenap Bapak dan Ibu dosen yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan yang sangat berharga selama menyelesaikan studi S1 di Program Studi Agroteknologi Universitas Jember.
6. Segenap keluarga besar saya yang selalu memberikan nasihat serta memberikan warna dalam kehidupan saya.

7. Terima kasih kepada teman-teman seperjuangan Bismillah Lillah (Faida, Putri, dan Yuni), PUELLA (Alif, maori, dina, dessi dan nila), serta Leli, widya, iva dan hana yang selalu ada menemani dan mau menerima segala kekurangan serta keluh kesah.
8. Teman satu kosan Bu Surati (Mbak Nia, Ely, Alis, Tyak, Putri dan mbak Devi), TH Team (Bu Umami, Mbak Anisa, Mbak Meili, Mas Zainal, Mbak Innani, Engga, Rendra, Didin, Mbak Irza, gilang), Teman Teman Agroteknologi 2015, CDAST 2015, Mbak Mbak dan Mas Mas di Cdastr yang selalu memberikan nasihat terkhusus Mbak Afid terimakasih banyak, Teman teman di UKM Kesenian yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih telah menemani, memotivasi, memberikan kenangan kenangan yang selalu terkenang, banyak pihak yang belum sempat disebutkan satu persatu, dengan segenap hati saya mengucapkan terimakasih atas segala bentuk perhatian dan kasih sayang yang diberikan.;
9. Almamater kebanggaan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Semoga kejayaan selalu menyertai dan istiqomah mendatangkan kebermanfaat demi kemajuan bangsa.
10. Serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Semoga segala do'a, bimbingan, wawasan, pengarahan, pengalaman, bantuan, dan dorongan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan sebaik-baik balasan dari Allah SWT. Akhir kata, besar harapan penulis semoga dengan adanya skripsi ini dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Jember, 20 November 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RIGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Gambaran Umum Padi Hitam	4
2.2 Cekaman Kekeringan dan Kemampuan Recovery	5
2.3 Ketahanan Cekaman Kekeringan dan Analisis Profil Protein	6
2.4 Hipotesis	7
BAB III METODE PENELITIAN	8
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Persiapan Penelitian	8
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	8
3.3.1 Rancangan Percobaan	8
3.3.2 Prosedur Penelitian	9

3.3.3 Variabel Pengamatan	12
3.3.4 Analisis Data	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Hari Layu	14
4.2 Daun Menggulung	15
4.3 Kandungan Klorofil Total Daun Normal, Tercekam dan Recovery....	17
4.4 Kemampuan Recovery.....	19
4.5 Profil Protein.....	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	30
DOKUMENTASI	30
HASIL DATA DAN ANALISIS RAGAM.....	32

DAFTAR GAMBAR

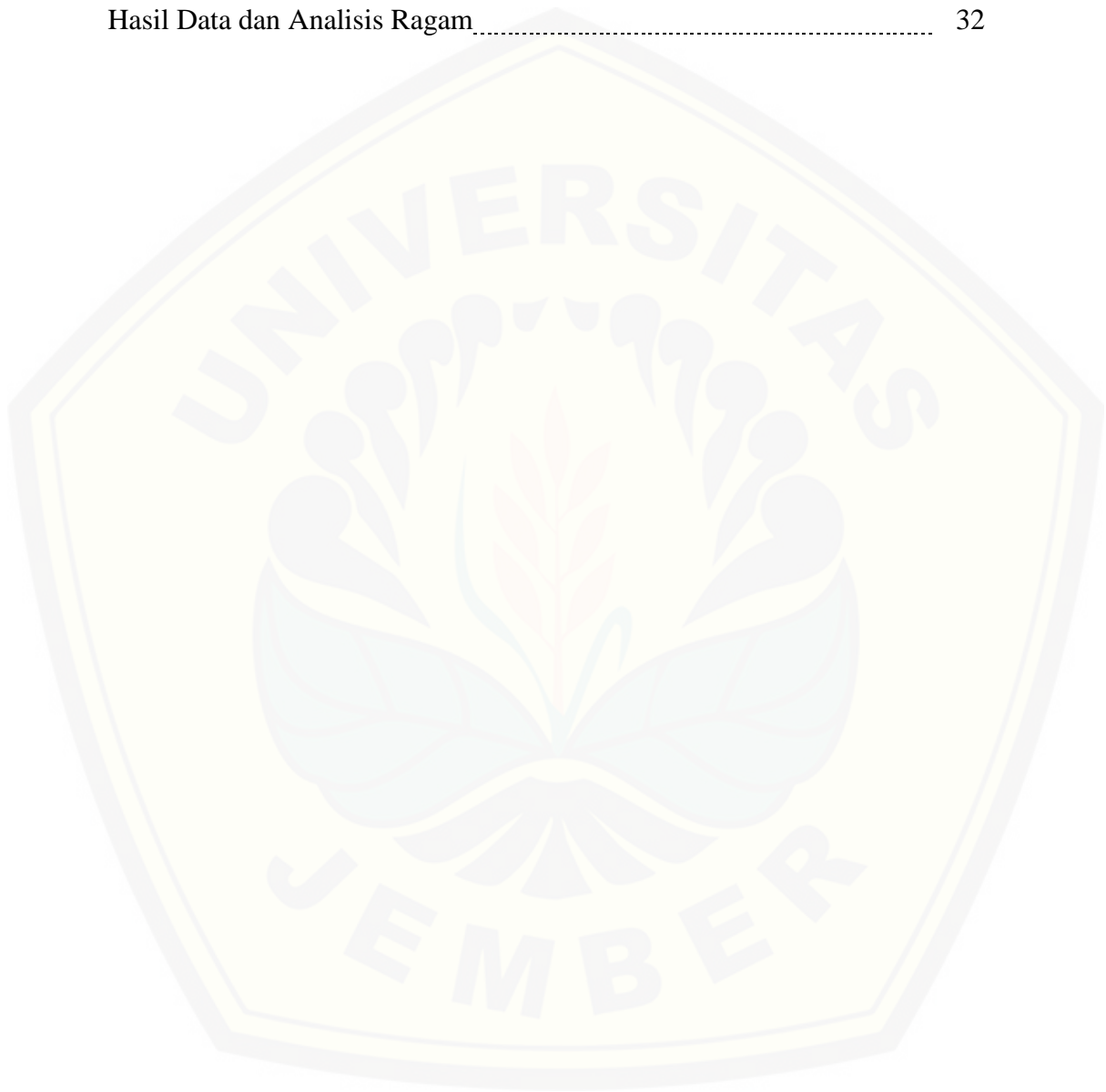
Gambar	Judul	Halaman
1.	Diagram Hari Untuk Layu	14
2.	Diagram Daun Menggulung	15
3.	Diagram Kandungan Klorofil Total Daun Normal, Tercekam dan Recovery	17
4.	Diagram Kemampuan Recovery.....	19
5.	Hasil SDS PAGE	20
6.	Hasil Analisis Gel 2D menggunakan Image J.....	21

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1.	Nama Varietas Padi Hitam dan Asal Daerah	8
2.	Skor Tingkat Menggulung Daun	13
3.	Skor Tingkat Kemampuan Recovery	13
4.	Analisis Sidik Ragam (F-Hitung) Beberapa Varietas Padi Hitam terhadap Cekaman Kekeringan.....	14
5.	Luas Area Spot Protein Menggunakan Image J	21

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran Dokumentasi.....	30
Hasil Data dan Analisis Ragam.....	32



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi hitam merupakan salah satu jenis tanaman padi yang menghasilkan beras berwarna hitam. Selain Padi beras hitam juga terdapat padi beras putih, padi beras merah dan padi beras coklat. Keunggulan dari padi beras hitam ini adalah tingginya kandungan antosianin yang merupakan sumber dari antioksidan (Kristamtini dkk, 2014). Menurut Werdhasari (2014), antioksidan memiliki manfaat untuk mencegah timbulnya stress oksidatif yang dapat memicu munculnya penyakit degeneratif. Fungsi lain dari antosianin ini adalah mampu untuk mengurangi resiko penyakit jantung koroner, penyakit stroke, aktivitas antikarsinogen, memberikan efek *antiinflammatory* dan memperbaiki ketajaman mata (Ariviani, 2010).

Berdasarkan kandungan gizinya tersebut, padi hitam merupakan bahan pangan fungsional yang memiliki manfaat untuk kesehatan. Minat masyarakat akan padi hitam semakin meningkat seiring kesadaran masyarakat untuk hidup sehat. Salah satu penyebab padi beras hitam semakin banyak diminati karena nilai kalori dari padi beras hitam yang rendah yaitu 362 Kkal per 100 gram, sehingga padi beras hitam ini menjadi pilihan untuk diet, serta aman bagi penderita diabetes dan obesitas. Padi beras hitam juga memiliki kandungan kalium, asam amino, kalsium, magnesium dan flavonoid lima kali lebih besar dibandingkan dengan padi beras putih (Suhartini dan Suardi, 2010). Namun pengembangan padi hitam masih mengalami kendala, sehingga keberadaanya masih jarang ditemui. Permintaan padi hitam yang meningkat tidak sejalan dengan hasil produksi padi hitam yang ada.

Luas total daratan di Indonesia 188,2 juta ha dan 148 juta ha merupakan lahan kering dan 40,20 juta ha lahan basah (Badan Koordinasi Penataan Ruang Nasional, 2012). Lahan sawah sekitar 84,365 ha mengalami kekeringan selama periode Januari-Juli tahun 2011. Pada periode Januari- Juli tahun 2010 lahan sawah sekitar 83,73 ha mengalami kekeringan (Wahyudi, 2012). Apabila Lahan kering ini dapat digunakan untuk budidaya tanaman padi hitam maka

produktivitas padi hitam akan meningkat. Menurut Laffitte dan Bennet (2002), tanaman padi lebih peka terhadap cekaman kekeringan. Tingkat kepekaan tanaman padi dipengaruhi oleh bentuk anatomi tanaman padi dan akar yang berhubungan dengan penyerapan dan pelepasan air. Cekaman kekeringan dapat menurunkan produktivitas dan mutu hasil padi hitam. Menurut Afza (2016), varietas padi hitam yang memiliki daya adaptasi yang baik terhadap cekaman kekeringan dapat dibudidayakan pada lahan kering.

Respon tanaman padi terhadap cekaman kekeringan dipengaruhi oleh tingkat keparahan cekaman, waktu (fase tumbuh) terjadinya cekaman kekeringan (Kadir, 2011), dan genotip (Castello *et al*, 2006). Menurut Fukai dan Cooper (1995), mekanisme *drought recovery* sangat penting pada fase awal pertumbuhan dan perkembangan tanaman padi. Kemampuan *recovery* pada fase pertumbuhan bisa ditandai dengan genotipe yang mampu menghasilkan anakan tinggi setelah cekaman kekeringan dan kemampuan daun untuk tetap hijau. Varietas padi yang memiliki mekanisme ketahanan terhadap cekaman kekeringan dapat dikembangkan menjadi varietas unggul.

Analisis profil protein lebih lanjut dapat digunakan untuk mengetahui ekspresi genetik ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan. Analisis Protein menggunakan elektroforesis 2-D dapat digunakan untuk mengetahui kandungan protein di dalam tanaman, sehingga dapat diketahui apabila ada perubahan protein dari tanaman yang tercekam. Penelitian tentang kemampuan *recovery* beberapa varietas tanaman padi hitam setelah mengalami cekaman kekeringan pada fase pertumbuhan, digunakan untuk mengetahui tingkat ketahanan cekaman kekeringan pada masing- masing varietas yang kemudian dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan varietas padi hitam yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

1.2 Rumusan Masalah

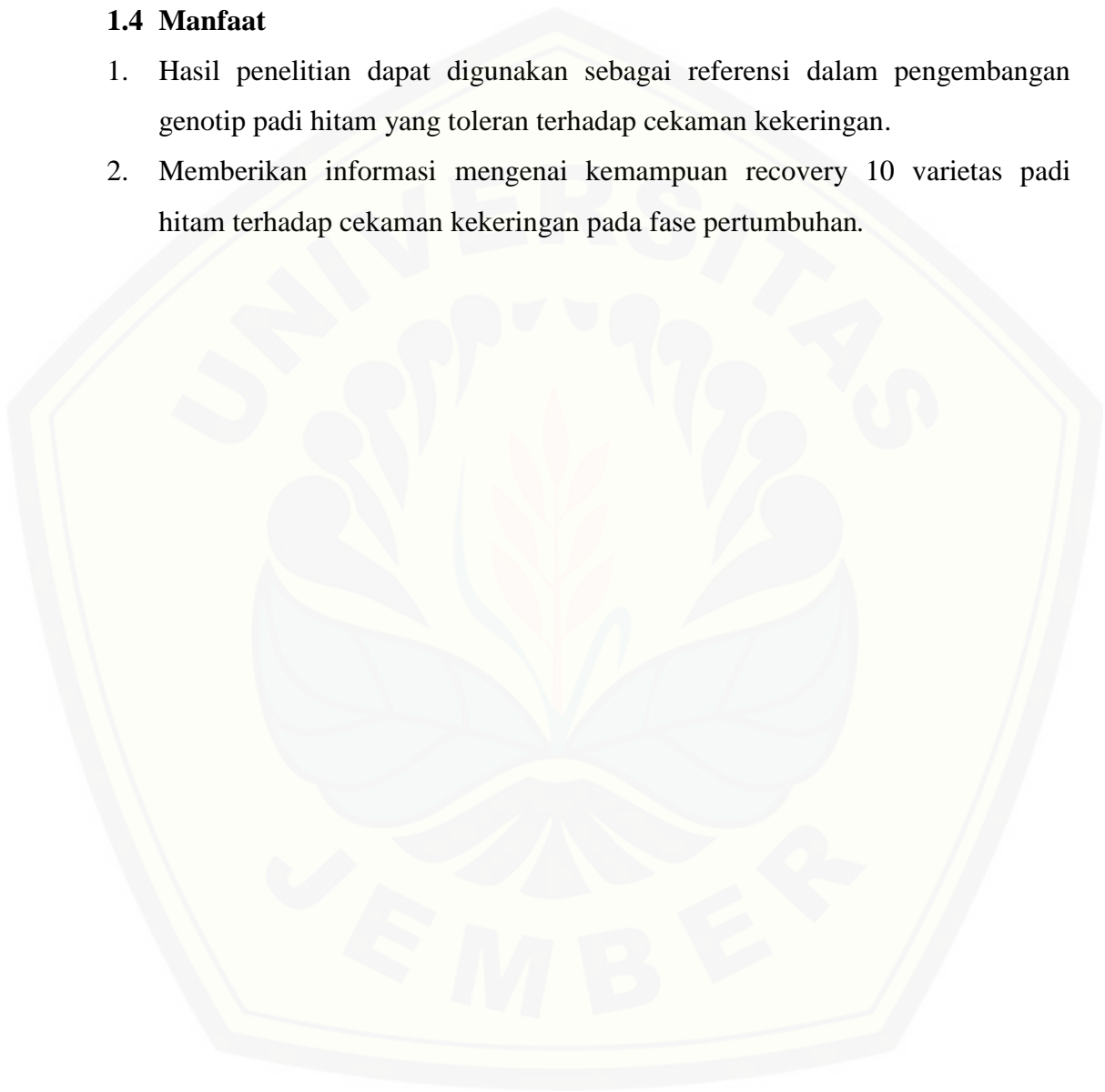
Bagaimana kemampuan *recovery* beberapa varietas padi hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) terhadap cekaman kekeringan pada fase pertumbuhan.

1.3 Tujuan

Mengetahui kemampuan recovery beberapa varietas padi hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) terhadap cekaman pada fase pertumbuhan.

1.4 Manfaat

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai referensi dalam pengembangan genotip padi hitam yang toleran terhadap cekaman kekeringan.
2. Memberikan informasi mengenai kemampuan recovery 10 varietas padi hitam terhadap cekaman kekeringan pada fase pertumbuhan.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Padi Hitam

Menurut Kushwaha (2016), klasifikasi tanaman padi hitam adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliopyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Sub kelas : Commelinidae
Ordo : Poales
Family : Poaceae
Genus : Oryzae
Spesies : Oryza sativa L. indica

Padi beras hitam merupakan tanaman pangan yang bermanfaat bagi kesehatan. Seiring dengan kesadaran masyarakat sekarang yang sadar dengan pentingnya kesehatan, padi beras hitam mulai diminati. Beras hitam bisa menjadi sumber antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan gizi lainnya yang terdapat dalam beras hitam meliputi serat vitamin E, kandungan kalium sebanyak 105 mg dalam 100 g bahan makanan, kadar protein 7,88% dan kandungan karbohidratnya 74,8%. Berdasarkan kandungan gizinya inilah beras hitam semakin diminati oleh masyarakat. Padi hitam menjadi bahan pangan fungsional karena juga bermanfaat bagi kesehatan (Purwasasmita, 2014).

Padi hitam memiliki warna beras hitam disebabkan oleh tingginya kandungan antosianin. Kandungan antosin yang tinggi ini terdapat pada lapisan perikarp yang akhirnya memberikan warna ungu gelap (Kristamtini dkk, 2014). Antosianin yang terdapat di dalam padi hitam adalah *cyniadin-3-glucoside* (C3G). Antosianin memiliki peran untuk meningkatkan daya tahan tubuh, memperbaiki kerusakan sel hati, mencegah gangguan fungsi ginjal, mencegah tumor/kanker, memperlambat penuaan, mencegah anemia, membersihkan kolesterol dalam darah dan sekaligus sebagai antioksidan (Pengkumsri *et al.*, 2015). Di Indonesia banyak

sekali ditemukan bermacam macam kultivar padi hitam. Keragaman kultivar padi hitam ini merupakan hasil dari variabilitas genetik yang dimiliki dan perbedaan komposisi fitokimia pada masing- masing kultivar (Pratiwi dan Purwestri, 2017.).

2.2 Cekaman Kekeringan dan Kemampuan Recovery

Cekaman kekeringan merupakan salah satu kendala dalam budidaya tanaman padi hitam karena dapat menurunkan produktivas dan mutu dari tanaman padi. Respon fisiologis tanaman tercekam kekeringan berdampak pada penurunan tekanan turgor, kerusakan membran dan protein, meningkatkan hormon ABA, difusi CO₂ dan fotosintesis terhambat. Respon morfologi tanaman tercekam kekeringan berdampak pada ukuran tajuk yang berkurang karena jumlah daun, anakan dan anakan produktif berkurang, luas daun menurun, umur pembungaan dan umur tanaman memanjang. Respon fisiologis dan morfologi ini saling mempegaruhi satu sama lain dan berdampak pada penurunan bobot biomassa, besarnya hasil dan komponen hasil tanaman (Sujinah dan Jamil, 2016).

Respon tanaman padi terhadap cekaman kekeringan dipengaruhi oleh tingkat keparahan cekaman, waktu (fase tumbuh) terjadinya cekaman kekeringan (Kadir, 2011), dan genotip (Castello *et al*, 2006). Menurut Arrandean (1989), ada 4 cara mekanisme ketahanan padi terhadap cekaman kekeringan, yaitu : menghindari kekeringan (*drought escape*), menghindari dehidrasi (*dehydration avoidance*), toleran kekeringan (*dehydration tolerance*), dan kemampuan memperbaiki sistem tumbuh setelah melewati periode cekaman kekeringan (*drought recovery*). Mekanisme *drought recovery* berkaitan dengan kemampuan memulihkan pertumbuhan setelah mengalami periode kekeringan tertentu.

Cekaman kekeringan pada tanaman padi dibagi kedalam tiga fase yaitu, stress kekeringan di awal musim tanam (*early stress*), stress kekeringan tengah musim tanam (*Mild-intermittent stress*) dan stress kekeringan si akhir musim tanam (*late stress*). Stres kekeringan pada awal musim tanam terjadi pada fase pembenihan pada bibit muda yang masih rentan terhadap cekaman kekeringan dan menghambat proses pindah tanam. Bibit yang akan ditanam menjadi bibit tua berakibat pada penurunan hasil produksi yang diperoleh (Chang *et al.*, 1979).

Menurut Lestari dan Mariska (2006), penggunaan varietas padi yang tahan kekeringan merupakan cara termudah dan murah untuk mengatasi cekaman kekeringan. Setiap varietas padi memiliki ketahanan cekaman biotik dan abiotik yang berbeda. Ketahanan ini dipengaruhi gen yang terdapat pada varietas tersebut. Respon terhadap cekaman dapat menunjukkan gen tanaman tersebut. Menurut Santoso dkk (2013), kemampuan pulih kembali (*Recovery*) tanaman padi setelah mengalami cekaman kekeringan dapat digunakan sebagai tanda tanaman toleran terhadap kekeringan. Tanaman padi yang memiliki kemampuan *recovery* daunnya akan kembali berwarna hijau setelah disiram, sedangkan tanaman padi yang peka terhadap cekaman kekeringan daunnya akan berwarna coklat kering, menggulung, anakan tampak patah/lunglai, tidak nampak warna hijau pada seluruh bagian tanaman atau tanaman mati.

Kemampuan *recovery* dapat dilihat berdasarkan pengamatan visual dengan skoring. Kemampuan *recovery* suatu genotip tanaman pada awal pertumbuhan menunjukkan tanda positif untuk mengembangkan padi di lahan tadah hujan. Pengamatan kemampuan *recovery* ini dapat dilakukan setelah pengamatan menggulung dan mengeringnya daun. Tanaman yang memiliki kemampuan *drought recovery* dapat diketahui dari daun yang kembali hijau setelah disirami (Afrianingsih dkk, 2018). Skor *recovery* ini bisa diambil berdasarkan acuan SES (*Standart Evaluation System for Rice*). Skor ini diambil setelah 10 hari penyiraman untuk mengetahui tingkat stress sebelum *recovery* (IRRI, 2013).

2.3 Ketahanan Cekaman Kekeringan dan Analisis Profil Protein

Tanaman melakukan perubahan fisiologis dan morfologis saat mengalami cekaman kekeringan. Menurut Guo *et al.* (2012), Tanaman melakukan mekanisme osmotik saat mengawali cekaman kekeringan. Penurunan tekanan osmotik, akumulasi prolin dan betain pada akar dan tunas menyebabkan tanaman mampu mempertahankan tekanan turgor sehingga proses biologis dan biokimia tetap berjalan normal meskipun tercekam kekeringan. Protein merupakan ekspresi dari gen, juga merupakan karakter fenotip sebagai hasil interaksi antara faktor genotip dan lingkungan (Brock *et al.*, 1992). Tanaman dapat menunjukkan reaksi

metabolisme tertentu dalam sel untuk mempertahankan hidup dan pertumbuhan dalam berbagai kondisi keadaan lingkungan. Protein dapat menandakan ciri genetik pada tanaman (Sunarto, 2011).

Aktivitas protein dapat diketahui dengan melakukan analisis profil protein. Analisis profil protein dapat menunjukkan pola ekspresi gen unik dalam skala protein saat satu tipe sel protein dibandingkan dengan tipe sel protein lainnya. Nilai profil protein dapat meningkat berdasarkan keadaan dan waktu, analisis profil protein dapat digunakan untuk mengetahui modifikasi profil protein yang terjadi pada suatu tanaman (Mohamed *et al.*, 2011). Elektroforesis dua dimensi merupakan salah satu metode untuk analisis protein yang memisahkan protein berdasarkan dua parameter. Pada dimensi pertama protein dipisahkan berdasarkan titik isoelektriknya dan pada dimensi kedua berdasarkan berat molekulnya (O'Farrel, 1975).

Prinsip kerja elektroforesis dua dimensi ini dimulai saat arus listrik dialirkan pada medium yang berisi makromolekul yang bermuatan listrik sehingga terjadi perpindahan menuju kutub positif dan negatif sesuai dengan muatan yang terkandung pada molekul- molekul tersebut (Magdeldin, 2012). Pada tahap pertama Elektroforesis dua dimensi menggunakan *Iso Electric Focussing* (IEF), sedangkan tahap kedua menggunakan *Sodium Deodecyl Polyacryamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Protein yang telah terpisah pada 2D-Gel kemudian dapat di staining menggunakan Coomasie Blue Dye, Silver stain, Fluorescent dyes, immunological detection atau dengan radio labelling dan quantifikasi dengan densitometer, fluoro atau phospor imagers (GE Healthcare, 2004).

2.4 Hipotesis

Cekaman kekeringan menimbulkan respon kemampuan recovery berbeda pada masing- masing varietas tanaman padi hitam.

BAB III. METODE PELAKSANAAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019- Oktober 2019 yang bertempat di *Greenhouse* dan Laboratorium *Center Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember

3.2 Persiapan Penelitian

Alat yang adalah bak, perangkat *ZOOM IPG Runner System*, perangkat SDS PAGE, mikropipet, tip, sentrifus, beaker glass, ependorf, spektrofotometer dan scanner. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah Buffer Fenol, PVP, ddH₂O, IEF Strip Gel, Upper Gel, Lower Gel, Seasand, SDS 10%, Acrylamide, Amonium persulphate, TEMED, CBB (*Coomasie Brilliant Blue*, Sample Reducing agent, etanol, media tanam dan benih padi hitam 10 varietas.

Tabel 3.1 Nama Varietas Padi Hitam dan Asal daerah

Kode	Nama Varietas	Asal
V1	Padi hitam Banjarnegara	Banjarnegara, Jawa Tengah
V2	Padi hitam Purbalingga	Purbalingga, Jawa Tengah
V3	Padi ireng	Jawa Tengah
V4	Padi hitam Purwokerto	Purwokerto, Jawa Tengah
V5	Hare lahok	Timor leste
V6	Padi hitam Bantul	Bantul, Jawa Tengah
V7	Padi hitam Lumajang	Lumajang, Jawa Timur
V8	Toraja	Toraja, Sulawesi selatan
V9	Padi hitam Melik	Jawa Tengah
V10	Padi hitam Blitar	Blitar, Jawa Timur

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah 10 varietas tanaman padi hitam yang tercekam kekeringan kemudian disiram kembali. Hasil data kemudian dianalisis menggunakan analisis varians, kemudian apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT taraf kesalahan 5%. Varietas yang

menunjukkan hasil terbaik kemudian di analisis profil protein menggunakan elektroforesis 2 dimensi untuk mengetahui profil protein untuk mengetahui apabila terdapat perubahan dan di SDS-PAGE sebagai pembanding. Hasil elektroforesis 2-D di analisis menggunakan image J dan dijabarkan secara deskriptif

3.3.2 Prosedur Penelitian

1. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah tanah berlempung seberat 5 kg, kemudian dimasukkan ke dalam masing- masing bak.

2. Penyemaian Benih Padi Hitam

Benih padi yang digunakan adalah benih bernas yang sebelumnya telah direndam selama 24 jam kemudian diperam hingga benih berkecambah. Benih yang telah berkecambah kemudian ditanam di dalam bak.

3. Penerapan Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan diterapkan ketika tanaman berumur 25 hari setelah tanam (HST). Tanaman padi di dalam bak tidak disirami dengan air selama 7 hari, hingga terjadi perubahan pada daun (Kusumaningrum Dkk., 2015).

4. Penyiraman kembali

Setelah tanaman mengalami cekaman kekeringan selama 7 hari kemudian tanaman disiram kembali selama 10 hari untuk diamati kemampuan recovery yang dimiliki masing masing varietas

5. Ekstraksi Sempel Protein

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode fenol berdasarkan Song et. al (2011). Daun diambil sebanyak 0,4 gram, lalu dihaluskan menggunakan mortar dan pestle, kemudian dibekukan dengan nitrogen cair dan ditambahkan PVP sebanyak 30 mg. Sampel yang telah ditumbuk halus ditambahkan dengan Tris saturated fenol sebanyak 1 ml dan buffer ekstraksi dingin suhu dengan 4 °C [0,7 M Sucrose; 0,1 M KCl; 0,5 M tris-HCl, pH 7,5 dan 50 mM EDTA, 1% w/v DTT, dan pH dijadikan 7,5] sebanyak 1 ml. Sampel yang telah homogen dimasukkan ke dalam eppendorf 2 ml dan disentrifuge dengan kecepatan 10000

rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Fase fenolik yang berada di atas dan berwarna hijau pekat diambil dan dimasukkan ke eppendorf baru, fase air yang ada di bawahnya dibuang. Setelah itu ditambahkan buffer ekstraksi ke dalam fase fenolik sebanyak 1 ml, lalu disentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Kemudian ditambahkan Ammonium acetate dingin dalam methanol ke dalam fase fenolik sebanyak 1 ml, lalu kocok hingga homogen dan terdapat serabut putih pada suspensi tersebut yang mengindikasikan adanya protein. Sampel inkubasi selama semalam pada suhu – 20°C.

Sampel yang telah diinkubasi kemudian disentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C Supernatan dibuang dan pellet yang berwarna putih dicuci secara berturut-turut (3 kali) menggunakan Ammonium acetate dalam methanol, Methanol dan Aceton masing-masing sebanyak 1 ml dengan cara divortex dan disentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Setelah pellet terdapat bersih dengan indikasi warna pellet putih, maka pellet dikeringkan menggunakan evaporator pada suhu 30°C selama 25 menit. Sampel disimpan pada suhu -80 °C hingga digunakan untuk analisis profil protein.

6. Analisis profil protein

Analisis profil protein dilaksanakan diakhir penelitian dengan menggunakan metode elektroforesis dua dimensi biasa untuk memastikan pita protein yang ada. Tahapan yang dilakukan berdasarkan Novex (2012) yaitu sebagai berikut :

1) Rehidrasi Strip Gel

Sampel protein dilarutkan dengan buffer rehidrasi (8 M urea, 2% CHAPS, 0,05% v/v Zoom carrier ampholytes dan 0,002% Bromophenol blue) sebanyak 150 µl lalu disonikasi hingga larut. Sampel kemudian di vortex dan disentrifuge 1000 rpm selama 5 menit dengan suhu 4°C. Memasukkan supernatan 140 µl ke IPG runner cassette melalui sumuran. Memasukkan strip gel kedalam IPG runner cassette melalui sumuran dengan kutub + berada dibawah dan sisi cetak menghadap ke bawah. Sumuran lalu disegel menggunakan selotip dan diinkubasi selama 1- 3 jam dengan suhu ruang.

2) Isoelectro Focussing (IEF) : dimensi pertama elektroforesis

Strip gel yang telah terrehidrasi dimasukkan ke mini chamber IPG runner secara vertikal. Menambahkan aquades 600 ml kedalam mini chamber lalu menutup sumuran dan menghubungkan dengan power supply 1000 PAC. Uraian aliran tegangan arus listrik yang dialirkan adalah sebagai berikut:

200 V selama 20 menit

450 V selama 15 menit

750 V selama 15 menit

950 V selama 180 menit

Setelah proses IEF berakhir, strip gel disimpan pada suhu 80°C untuk proses elektroforesis dimensi yang kedua.

3) Equilibrasi Strip Gel

Sebelum melakukan proses elektroforesis dimensi yang kedua dilakukan equilibrasi strip gel menggunakan 1 x LDS sampel buffer sebanyak 1 ml. Kemudian diinkubasi dengan digoyang-goyang selama 15 menit lalu dibuang, diulangi sebanyak 3 kali. Pengulangan terakhir ditambah sampel reducing agent sebanyak 200 µl lalu dibuang. Langkah selanjutnya yaitu menambahkan SDS sampel buffer sebanyak 200 µl pada strip gel untuk kemudian siap di running pada dimensi kedua

4) Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis(SDS-PAGE): dimensi kedua elektroforesis

Konsentrasi lower gel 15% dan menggunakan 2 cetakan sumuran pada upper gel yaitu 1 untuk marker dan 1 untuk strip gel dengan posisi horizontal. Strip gel dimasukkan di dekat anion (-) atau anion berada di sebelah kanan. Marker 5 µl kemudian dimasukkan ke sumuran, kemudian SDS Page runner dihubungkan dengan power supply tegangan 30 V selama 1 jam dan 100 V selama 3-4 jam.

5) Staining dan Analisis Gel SDS Page.

Gel SDS PAGE kemudian diberi warna menggunakan CBB (Coomasie Brilliant Blue) dengan inkubasi shaker selama semalam. Setelah pita atau band telah terlihat jelas kemudian gel di destaining menggunakan methanol dan asam

asetat selama 3 jam hingga spot terlihat jelas dan gel berubah warna biru terang. Gel divisualisasi dengan di scan dengan mesin scanner manual yang dihubungkan dengan komputer. Gambar hasil elektroforesis dua dimensi kemudian dianalisis menggunakan software image J untuk menentukan luas area spot protein.

7. Analisis Kandungan Klorofil

Analisis kandungan klorofil total diterapkan pada daun tanaman padi yang belum tercekam kekeringan, tercekam kekeringan dan setelah terjadinya recovery. Tujuannya analisis kandungan klorofil total untuk mengetahui perubahan kandungan klorofil total yang terjadi pada daun sebelum tercekam, sesudah tercekam dan setelah pulih kembali pasca tanaman mengalami recovery. Metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan klorofil total disini adalah metode Winterman dan De Mots (1965). Langkah awal adalah melakukan ekstraksi kandungan klorofil daun dengan mengambil sampel daun padi sebanyak 0,1 gram kemudian digerus dengan mortar hingga menjadi tepung. Tepung sampel disuspensikan dengan 0,5 ml 10 mM H₃BO₃. Kemudian suspensi divortex dan disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Suspensi sebanyak 40 µl diambil lalu ditambahkan dengan ethanol sebanyak 960 µl kemudian divortex hingga homogen, selanjutnya sampel diinkubasi ke dalam kulkas (4°C selama 30 menit). Suspensi disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 8000 rpm pada suhu 10°C. supernatan kemudian diambil untuk diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 649 nm dan 665 nm. Konsentrasi klorofil a dan b dapat dihitung menggunakan microsoft excel berdasarkan rumus berikut :

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

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

$$\text{Klorofil Total} = \text{Klorofil a} + \text{Klorofil b} = \mu\text{g klorofil/g sampel}$$

3.3.3 Variabel Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hari untuk layu, diawasi setiap hari dan dimulai dihitung ketika 50% tanaman mulai layu.

2. Daun menggulung, berdasarkan skor menurut IRRI,2013

Tabel 3.2 Skor Tingkat Menggulung Daun

Skala	Kriteria	Daun Menggulung
0	Sangat Toleran	Daun sehat
1	Toleran	Daun mulai melipat (agak berbentuk V)
3	Agak Toleran	Daun melipat (sangat berbentuk V)
5	Agak Peka	Daun betul- betul kuncup (bebentuk U)
7	Peka	Ujung daun bersentuhan (berbentuk O)
9	Sangat Peka	Daun menggulung ketat

3. Kemampuan recovery, diamati 10 hari setelah penyiraman berdasarkan IRRI, 2014 dalam Kartina Dkk, 2019.

Tabel 3.3 Skor Tingkat Kemampuan Recovery

Skala	Kriteria	Skor Recovery
1	Toleran	>80%
3	Agak Toleran	61-80%
5	Moderat	41-60%
7	Agak peka	40-11%
9	Peka	<11%

4. Analisis protein, analisis protein dilakukan di akhir penelitian menggunakan metode elektroforesis 2 dimensi dan SDS PAGE
5. Analisis klorofil, dilakukan diakhir penelitian.

3.3 Analisis Data

Data respon morfologis dan fisiologis yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA), apabila terdapat berbeda nyata dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. Data analisis profil protein dijabarkan secara deskriptif

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Varietas padi hitam lumajang membutuhkan waktu rata rata 6,33 hari untuk layu yang menandakan titik layu pulih kembali. Titik layu pulih kembali merupakan tanda positif dari kemampuan recovery.
2. Skor Daun menggulung terbaik pada varietas lumajang dan hare lahok dengan rata rata skor menggulung 7,67 yang tergolong peka. Skor daun menggulung yang rendah mengindikasikan tanaman masih mempertahankan potensial air daun agar tetap tinggi, sehingga ketika tanaman tersebut disiram kembali mampu untuk pulih atau recovery.
3. Jumlah kandungan klorofil total saat recovery merupakan tanda positif dari kemampuan recovery masing- masing varietas. Varietas Lumajang yang memiliki kandungan klorofil total tertinggi saat recovery, memiliki kemampuan recovery yang terbaik.
4. varietas lumajang memiliki skor recovery 3 yang berarti agak toleran terhadap cekaman kekeringan. Varietas melik memiliki skor 7 yang berarti agak peka terhadap cekaman kekeringan, sedangkan delapan varietas lainnya memiliki skor 5 yang berarti moderat terhadap cekaman kekeringan.
5. Varietas yang menunjukkan respon fisiologis dan morfologis yaitu Varietas Lumajang kemudian dianalisis profil protein menggunakan SDSPAGE dan 2-D menunjukkan adanya pita baru pada 10-20 kDA dan spot protein baru pada 10-15 kDA dan pI 6,17 yang dapat mengindikasikan adanya mekanisme ketahanan setelah mengalami recovery

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya perlu melakukan penelitian dengan jenis tanah, waktu atau musim dan lokasi daerah yang berbeda untuk hasil penelitian yang lebih valid. Selain itu, juga perlu dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan western blot untuk dapat mengetahui dengan pasti jenis jenis protein pada spot spot protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianingsih, S., U. Santoso dan N.R. Ardiarini. 2018. Toleransi Genotip Padi (*Oryza sativa* L.) Pada Fase Vegetatif dan Fase Generatif Terhadap Cekaman Kekeringan. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(3): 355-363.
- Afza, H. 2016. Peran Konservasi Karakteristik Plasma Nutfah Padi Beras Merah dalam Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*, 35(3): 143-153.
- Ariviani, S. 2010. Kapasitas Anti Radikal Ekstrak Antosianin Buah Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) Segar dengan Variasi Proporsi Pelarut. *Caraka Tani*, 25(1): 43-49.
- Ai, N.S. dan Y.Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Ilmiah Sains*, 11(2): 166-173.
- Ai, N.S dan A.G. Lenak. 2014. Penggulungan Daun pada Tanaman Monokotil saat Kekurangan Air (*Leaf Rolling in Monocotyledone Plants Under Water Deficits*). *Bioslogos* 4(2): 48-55.
- Arrandeau, MA. 1989. Breeding Startegies for Drought Resistance. In: Baker EWG (ed) *Drought Resistance in Cereals*. CAB International, London, pp 107-116.
- [BKPRN] Badan Koordinasi Penataan Ruang Nasional. 2012. *Menata Kawasan Hutan Dan Mempertahankan Lahan Pertanian*. Jakarta (ID): Sekretariat Tim Pelaksana BKPRN
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., dan Parker J. 1992. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall. Englewood Cliffs: New Jersey.
- Castello, E.G., T.P. Tuong, U. Singh, K. Inubushi dan J. Padilla. 2006. Drought Response of Dry Seeded Rice to Water Stress Timing, N-Fertilizer Rates and Source. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52: 249- 508.
- Chai-hong, S., Guang-rong, L., Jing-yuan, W., Cai-fei, Y and Wen-xiong, L. 2008. Differential Proteomic Analysis of Leav Development at Rice (*Oryza sativa*) Seedling Stage. *Agricultural Science in China*, 7 (9):1153-1160.
- Chang, T.T. B. Somrith, dan J.C. O'Toole . 1979. Potential of Improving Drought Resistance in Rainfed Lowland Rice. In: *Rainfed Lowland Rice : Selected Pappers from the 1978 International Rice Research Conference*. Innternational Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, pp 149-164.

- Duranni, R., Abubakar M., Arshed M.J., Saleha, S., Ullah I., dan Q. Ali. 2008. Biological Characterization and Protein Profiles of Two Model Bacteria by SDS-PAGE and FT-IR. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 3: 1-6
- Fukai, S. Dan M. Cooper.1995. Development of Drought Resistant Cultivars Using Physio-Morphological Trait in Rice. *Field Crop Research*, 64: 61-74
- GE Healthcare. 2004. 2-D Electrophoresis Principles and Methods. Germany : Technical University of Munich.
- Guo, R., W. Hao dan D. Gong. 2012. Effect of Water Stress on Germination and Growth of Linseed Seedling (*Linum usitatissimum* L.) Photosynthetic Efficiency and Accumulation of Metabolites. *Journal of Agricultural Science*, 4(10): 253-246.
- Hardjowigeno, S. dan Widiatmaka. 2007. *Evaluasi Kesesuaian Lahan dan Perencanaan Tata Guna Lahan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- IRRI. 2013. *SES (Standart Evaluation System for Rice)*. Manila: International Rice Research Institute.
- Kadir, A. 2011. Respon Genotipe Padi Mutan Hasil Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Cekaman Kekeringan. *J. Agrivivor*, 10(3):253-246.
- Kristamtini, Taryono, P. Basunanda dan R.H. Murti. 2014. Keragaman Genetik dan Korelasi Parameter Warna Beras dan Kandungan Anthosianin Total Sebelas Kultivar Lokal Padi Beras Hitam Lokal. *IlmuPertanian*, 14(1):90-103.
- Kushwaha, U.K.S. 2016. *Black Rice*. Nepal: Springer Nature.
- Laffite, H.R. dan C. Bennet. 2002. Interpreting Cultivar X Environment Interactions for Yield in Upland Rice: Assigning Value to Drought-Adaptive Traits. *Crop science*, 42 : 1409-1420.
- Lestari, E.G., dan Ika Mariska. 2006. Identifikasi Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti dan IR 64 Tahan Kekeringan menggunakan *Polyethylene Glycol*. *Bul. Agron.* 34(2):71-78.
- Magdeldin, S. 2012. *Gel Electrophoresis -Principles And Basics*. Intech Publishe: Rijeka, Croatia.
- Mohamed, G.S., Turan T., Ekiz H.A., dan Baran Y. 2011. The Importance of Protein Profiling in the Diagnosis and Treatment of Hematologic Malignancies. *Turk J. Hemantol*, 28: 1-14.

- Muthurajan, R., Z.S. Shobbar, S.V.K. Jagadish, R. Bruskiwich, A. Ismail, H. Leung dan J. Bennett. 2010. Physiological and Proteomic Responses of Rice Peduncles to Drought Stress. *Mol Biotechnol*, 1: 1-10.
- Nayer, Mohammadkhani, dan Reza Heidari. 2007. "Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties". *Turk J Biol*. 32 (2008) 23-30
- Nurmalasari, R.I., E. Purwanto dan Pardono. 2015. Kajian Ketahanan Terhadap Cekaman Air pada Padi Hitam dan Merah. *EL VIVO*, 3(1): 25-33.
- O'Farrel, P.H. 1975. High Resolution Two- Dimensional Electrophoresis of Protein. *Journal of Biological Chemsistry*, 250(10): 4007-2021.
- Pengkumsri, N., C. Chaiyasut, C. Saenjum, S.Sirilun, S. Peerajan, P.Sunwannalert, S. Sirisattha dan B.S. Sivamaruthi. 2015. Pysicochemical and Antioxidative Properties of Black, Brown and Red Rice Varieties of Northern Thailand. *Food Sci. Technol*, 35(2): 331-338.
- Pratiwi, R. dan Y.A. Purwestri. 2017. Black Rice as A Functional Food in Indonesia. *Functional Foods in Health and Disease*, 7(3): 182-194.
- Purwasasmita, M. 2014. *Padi SRI Organik Indonesia*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Santoso, T.J., A. Apriana, A. Sisharmini dan K.R. Trijatmiko. 2013. Identifikasi Galur dan Gen- Gen Terkait Toleran Kekeringan pada Padi Transgenik cv. T309 yang Mengandung Vektor Penanda Aktivasi. *Jurnal AgroBiogen*, 9(3): 97-106.
- Song, C., F.Zeng, W. Feibo, W. Ma dan G. Zhang. 2011. Proteomic Analysis of Nitrogen Stress-Responsive Proteins in Two Rice Cultivars Differing in N Utilization Efficiency. *Journal of Integrated Omics*, 1(1): 78-87.
- Suhartini, T. Dan D. Suardi. 2010. Potensi Beras Hitam Lokal Indonesia. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 32(1): 9-10.
- Sujinah dan A. Jamil. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi Hitam Terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(1): 1-7.
- Sunarto. 2011. Karakteristik Pola Pita Protein *Anodonta Woodiana* Lea Akibat Terpapar Logam Berat Cadmium (Cd). *Jurnal EKOSAINS*, 3(1): 41-45.
- Wahyudi, B. 2012. *Manajemen Sumber Daya Manusia*. Bandung.

Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2): 59-68.

Yugi R., A. 2011. Identifikasi Varietas Padi Gogo Potensi Toleran Cekaman Kekeringan pada Skala Laboratorium. *Agronomika*, 11(1): 1-8.



LAMPIRAN

A. Dokumentasi



Gambar 1. Perkecambahan



Gambar 2. Penanaman



Gambar 3. Tanaman normal



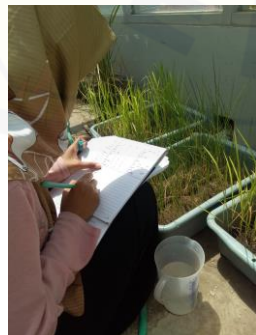
Gambar 4. Tanaman tercekam



Gambar 5. Pengamatan menggulung daun



Gambar 6. Tanaman Recovery



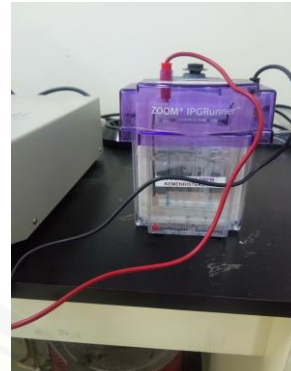
Gambar 7. Pengamatan



Gambar 8. Pengambilan Sampel



Gambar 9. Ekstraksi Protein



Gambar 10. Dimensi Pertama 2-D



Gambar 11. Dimensi kedua 2-D (SDS-PAGE)



Gambar 12. Uji Kandungan Klorofil

B. Data Hasil Penelitian dan Analisis Ragam**1. Hari Untuk Layu**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
Lumajang	7	6	6	19	6,33
toraja	5	4	4	13	4,33
bantul	4	4	5	13	4,33
pari ireng	4	4	5	13	4,33
blitar	6	5	4	15	5,00
hare lahok	5	5	4	14	4,67
purwokerto	4	5	4	13	4,33
banjarnegara	5	5	4	14	4,67
melik	4	4	4	12	4,00
purbalingga	6	5	5	16	5,33
Jumlah	50	47	45	142	4,73

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	12,53	1,3926	3,798	**	2,393	3,457
Galat	20	7,33	0,3667				
Total	29	19,87	0,6851				
FK	672,133						
KK (%)	12,79						

2. Daun Menggulung

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
Lumajang	7	9	7	23	7,67
toraja	7	9	9	25	8,33
bantul	7	9	9	25	8,33
pari ireng	9	9	9	27	9,00
blitar	7	9	9	25	8,33
hare lahok	7	9	7	23	7,67
purwokerto	7	9	9	25	8,33
banjarnegara	7	9	9	25	8,33
melik	9	9	9	27	9,00
purbalingga	7	9	9	25	8,33
Jumlah	74	90	86	250	8,33

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	5,33	0,5926	0,556	NS	2,393	3,457
Galat	20	21,33	1,0667				
Total	29	26,67	0,9195				
FK	2083,333						
KK (%)	12,39						

3. Kemampuan Recovery

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Skor
	1	2	3			
Lumajang	70	80	70	220	73,33	3
toraja	50	30	50	130	43,33	5
bantul	60	50	60	170	56,67	5
pari ireng	50	50	50	150	50,00	5
blitar	60	50	50	160	53,33	5
hare lahok	50	20	70	140	46,67	5
banjar	60	50	60	170	56,67	5
Purwokeeto	60	40	70	170	56,67	5
melik	40	20	40	100	33,33	7
purbalingga	60	50	50	160	53,33	5

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	2936,67	326,296	2,510	*	2,393	3,457
Galat	20	2600,00	130,000				
Total	29	5536,67	190,9195				
FK	82163,333						
KK (%)	21,79						

4. Kandungan Klorofil Total saat Normal

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
HL	6,1934	5,76296	5,58608	17,54244	5,85
T	4,48212	4,39034	4,34794	13,2204	4,41
PW	10,53278	10,21096	10,30158	31,04532	10,35
L	11,00398	11,04232	9,13148	31,17778	10,39
BL	6,16988	5,62356	5,22884	17,02228	5,67
PB	4,42896	5,67584	4,33834	14,44314	4,81
PI	5,94942	5,42662	7,13966	18,5157	6,17
BT	8,09476	7,86734	8,3335	24,2956	8,10
BJ	8,07808	9,26658	8,27936	25,62402	8,54
M	5,05022	4,61978	3,99416	13,66416	4,55
Jumlah	69,9836	69,8863	66,68094	206,5508	6,89

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	142,275	15,8084	43,711	**	2,393	3,457
Galat	20	7,233	0,3617				
Total	29	149,509	5,1555				
FK	1422,108						
KK (%)	8,73						

5. Kandungan Klorofil Total saat Recovery

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
HL	3,00522	2,45192	2,79436	8,2515	2,75
bl	2,22624	9,02178	4,90124	16,14926	5,38
T	4,15364	4,7932	3,66308	12,60992	4,20
bt	6,68488	7,60152	6,65438	20,94078	6,98
L	10,151	9,72492	8,3151	28,19102	9,40
bj	5,24544	7,043	5,89196	18,1804	6,06
pb	5,6654	3,42434	4,10136	13,1911	4,40
pw	8,8199	9,48908	8,96076	27,26974	9,09
pi	4,38632	6,20044	6,51818	17,10494	5,70
M	3,46354	4,62764	3,10368	11,19486	3,73
Jumlah	53,80158	64,37784	54,9041	173,0835	5,77

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	130,477	14,4974	8,255	**	2,393	3,457
Galat	20	35,126	1,7563				
Total	29	165,603	5,7104				
FK	998,597						
KK (%)	22,97						

6. Kandungan Klorofil Total saat Tercekam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
HL	2,58176	2,18356	2,54604	7,31136	2,44
R	2,80482	2,4894	2,41098	7,7052	2,57
PW	3,57508	3,42086	2,86756	9,8635	3,29
L	6,48008	6,88438	6,4339	19,79836	6,60
BL	4,13186	5,29248	5,00668	14,43102	4,81
PB	3,9059	4,8542	3,01656	11,77666	3,93
PI	4,42638	5,53646	3,78682	13,74966	4,58
bt	2,45542	1,76532	3,05054	7,27128	2,42
m	3,71188	3,31368	3,02788	10,05344	3,35
BJ	6,60822	3,99858	6,43048	17,03728	5,68
Jumlah	40,6814	39,73892	38,57744	118,9978	3,97

Analisis Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	f-hit	Notasi	F Tabel	
						5%	1%
Perlakuan	9	55,4175	6,1575	12,456	**	2,393	3,457
Galat	20	9,887	0,4943				
Total	29	65,304	2,2519				
FK	472,016						
KK (%)	17,73						