

**PENGARUH PEMUPUKAN NITROGEN DAN STRES AIR TERHADAP
BUKAAN STOMATA, KANDUNGAN KLOROFIL DAN AKUMULASI PROLIN
TANAMAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum* Schum)**

**(The effect of nitrogen fertilization and water stress on
stomatal aperture, chlorophyll content and proline accumulation of
Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum))**

Budiman

Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan Km.10, Tamalanrea, Makassar (90245)
e-mail : budiman_ek58@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the effect of nitrogen fertilization and water stress on the stomatal aperture, chlorophyll and proline accumulation of Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) The effect of water stress and nitrogen fertilizer levels were evaluated within an arrangement of Completely Randomized Design with factorial pattern (2x3). The variables observed were stomatal aperture, total chlorophyll and proline content. The results showed interaction between water stress and the level of fertilization. Interaction between water stress with nitrogen fertilization showed that the stomatal openings were more narrow ($P<0.05$) in water stressed plants compared to plants with excess water and that decreased stomatal aperture was not significant ($P>0.05$) with increasing levels of nitrogen fertilization either with sufficient water or with water stress. The exception is treatment of enough water and fertilizer 250 kg N/ha ($P<0.05$) where stomatal aperture decreased compared with no fertilizer. The total chlorophyll content of both the sufficiently watered and the water stressed Napier grass on nitrogen fertilizer rose with increasing doses of nitrogen fertilizer. The conditioning of water stress with fertilizer dose of 0 kg N/ha and 150 kg N/ha did not increase the total chlorophyll, however a dose of 250 kg N/ha resulted in an increase of total chlorophyll ($P<0.05$). Interaction between water stress and nitrogen fertilizer levels showed that the content of proline rose ($P<0.05$) with increasing levels of nitrogen fertilization, as well as with water stress treatment ($P<0.05$). It is concluded that water stress on Napier grass plants lowers stomatal aperture width, but increases proline accumulation and nitrogen fertilizer increases total chlorophyll and proline accumulation. There was an interaction between nitrogen fertilizer with water stress.

Key words : Chlorophyll, Proline, Napier grass, Stomata, Water stress

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemupukan nitrogen dan stres air terhadap bukaan stomata, klorofil dan akumulasi prolin tanaman rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schum). Pengaruh stres air dan tingkat pemberian pupuk

nitrogen disusun dalam Rancangan acak lengkap pola faktorial (2x3). Peubah yang diamati terdiri dari bukaan stomata, total klorofil dan kandungan prolin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara stres air dengan tingkat pemupukan. Interaksi antara stres air dengan pemupukan nitrogen memperlihatkan bahwa bukaan stomata ($P<0,05$) lebih sempit pada tanaman yang stres air dibanding dengan tanaman yang kelebihan air dan bukaan stomata menurun tidak nyata ($P>0,05$) dengan bertambahnya level pemupukan nitrogen baik yang cukup air maupun yang stres air, kecuali pada perlakuan cukup air dengan dosis pupuk 250 kg N/ha ($P<0,05$) menurun dibanding dengan tanpa pupuk. Total klorofil tanaman rumput gajah yang diberi pupuk nitrogen meningkat dengan meningkatnya dosis pupuk nitrogen, baik yang stres air maupun yang air cukup. Pemberian stres air dengan dosis pupuk 0 kg N/ha dan 150 kg N/ha tidak meningkatkan total klorofil, tetapi dengan dosis 250 kg N/ha meningkatkan total klorofil ($P<0,05$). Interaksi antara stres air dan level pupuk nitrogen memperlihatkan bahwa kandungan prolin tanaman rumput gajah ($P<0,05$) meningkat dengan meningkatnya level pemupukan nitrogen, demikian juga pada perlakuan stres air meningkatkan kadar prolin secara nyata ($P<0,05$) untuk semua level pemupukan nitrogen. Dapat disimpulkan bahwa stres air pada tanaman rumput gajah menurunkan lebar bukaan stomata, tetapi meningkatkan akumulasi prolin dan pemberian pupuk nitrogen meningkatkan total klorofil dan akumulasi prolin. Terdapat interaksi antara pemupukan nitrogen dengan stres air.

Kata kunci : Klorofil, Prolin, Rumput gajah, Stomata, Stres air

PENDAHULUAN

Air adalah komponen yang sangat vital dan dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga tanaman yang mengalami stres air akan terbatas pertumbuhannya. Stres air dianggap faktor lingkungan utama yang membatasi pertumbuhan dan hasil (Sangakkara *et al.*, 2001), karena dapat mengurangi hasil panen rata-rata 50% (Wang *et al.*, 2003). Disamping membatasi pertumbuhan, stres air akan menyebabkan perubahan morfologi, proses fisiologi dan biokimia pada tanaman.

Penny-Packer *et al.* (1990) melaporkan bahwa salah satu respon awal tanaman yang mengalami stres air antara lain adalah penutupan stomata untuk mengurangi konsumsi air melalui transpirasi yang kemudian mempengaruhi proses fisiologis dan metabolisme tanaman. Menurut Yasemin (2005), bahwa penutupan stomata selama terjadi stres air menyebabkan penurunan laju fotosintesis, transport elektron dan kapasitas fosforilasi di dalam kloroplas daun.

Untuk meningkatkan produktivitas tanaman hijauan pada lahan kering, perlu pemahaman terhadap mekanisme respon tanaman terhadap kondisi kekeringan (Mostajeren dan Rahimi-Eichi, 2009). Kultivar yang tahan terhadap kondisi stres air dan panas memiliki kandungan klorofil lebih tinggi (Sairam *et al.*, 1997). Respon metabolismik tanaman yang mengalami stres air adalah akumulasi prolin (Rhodes, 2009). Prolin terlibat dalam mekanisme toleransi terhadap stres oksidatif dan merupakan strategi utama tanaman untuk menghindari efek merusak dari kekurangan air

(Vendruscolo *et al.*, 2007). Tanaman yang tahan terhadap kekeringan sangat penting dan telah diperhitungkan sebagai salah satu faktor pemuliaan (Talebi, 2009).

Nitrogen meningkatkan klorofil, produksi dan protein tanaman (Vanyine *et al.*, 2012), sehingga pemupukan nitrogen pada tanaman dapat meningkatkan toleransi terhadap stres air. Sehubungan dengan hal tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemupukan nitrogen dan pembatasan air terhadap bukaan stomata, klorofil dan akumulasi prolin tanaman rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schum).

MATERI DAN METODE

Penanaman

Penelitian ini dilaksanakan dalam rumah kaca, menggunakan pot yang diisi dengan media tanah regosol. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial (RAL) $2 \times 3 \times 4$. Faktor pertama adalah pemberian air (A1 = air cukup dan A2 = air terbatas) dan faktor kedua adalah level pemberian pupuk nitrogen dengan dosis masing-masing: 0 (N0), 150 (N1) dan 250 kg N/ha (N2).

Penanaman dilakukan dengan menggunakan stek batang yang telah ditumbuhkan selama 4 hari. Stek yang digunakan sebagai bahan penanaman adalah stek yang telah mempunyai satu daun dan pertumbuhannya seragam. Setiap pot yang telah diisi dengan tanah ditanami sebanyak 3 stek. Penyeragaman dilakukan seminggu setelah tanam dengan cara memilih salah satu tanaman yang pertumbuhannya relatif sama dan tanaman yang lain dikeluarkan dari pot. Tanaman yang tinggal, dipelihara dan diamati sampai berakhirnya penelitian. Pemberian pupuk sesuai dengan dosis yang ditentukan dan dilakukan seminggu setelah penyeragaman dan diberikan dengan cara membenamkan pupuk di sekeliling tanaman.

Tanaman dipelihara dan diberikan air secukupnya sampai mencapai umur satu bulan. Setelah tanaman tumbuh normal, maka tanaman yang mendapat perlakuan air terbatas, secara berangsur dikurangi pemberian airnya sehingga tanaman mengalami stres air yang ditandai dengan adanya daun yang mulai menggulung. Pada perlakuan yang mendapat air cukup, tetap diberikan air sampai mencapai kapasitas lapang. Parameter yang diamati adalah lebar bukaan stomata, total klorofil dan akumulasi prolin.

Pengambilan sampel

Bukaan stomata: Daun tanaman rumput gajah yang digunakan adalah daun pada bagian atas, tengah dan bawah yang aktif berfotosintesa. Setiap daun diolesi dengan *kutex* pada bagian bawah dengan menggunakan kuas kecil, pada jarak kurang lebih 0,5 cm dari bagian dasar. Olesan *kutex* tersebut dikelupas setelah mengering untuk mendapatkan cetakan stomata. Cetakan stomata kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40×10 kali. Jika lebar stomata menempati 2 strip, maka lebar stomata dapat dihitung yaitu : $2 \times 1/100 \text{ mm} \times 0,99 = 0,0198 \text{ mm}$, dengan pembesaran obyektif = 100 mm, okuler = 0,99 mm, 1 strip = 1/100 mm, 1 okuler = 0,99.

Total klorofil : Penentuan total klorofil dilakukan dengan mengambil sampel daun sebanyak 3 helai masing-masing pada bagian bawah, tengah dan ujung batang (daun yang masih aktif berfotosintesa). Analisis klorofil untuk menentukan total klorofil dilakukan menurut Arnon (1949). Kadar klorofil dihitung menggunakan rumus : Total klorofil = $(20,2 \times A645 + 8,2 \times A663) \times 20/1000 \times 1 \text{ mg/g}$ berat segar Satuan kadar klorofil = mg/g/berat segar daun

Kadar prolin: Prolin diekstraksi dari 0,5 g jaringan daun segar ke 10 ml asam *sulfosalicylic* 3% dan disaring dengan kertas filter *Whatman* No 2. Prolin ditentukan dengan metode *ninhydrine* (Bates *et al.*, 1973) pada spektrofotometer model Shimadzu-UV-1201, menggunakan prolin murni sebagai standar.

$$\text{Prolin} = \frac{\text{ml asam sulfosalisilat} \times \text{pengenceran}}{\frac{\mu \text{ mol prolin} \times \text{ml hasil pengenceran yang direaksikan}}{\text{g contoh}}}$$

Analisis data

Data lebar bukaan stomata, total klorofil dan kandungan prolin ditabulasi dan dianalisis dengan analisis ragam. Perlakuan yang berpengaruh nyata diuji lanjut dengan uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bukaan stomata

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bukaan stomata dipengaruhi oleh interaksi stres air dan pemupukan nitrogen. Interaksi antara stres air dengan pemupukan nitrogen memperlihatkan bahwa bukaan stomata lebih sempit ($P<0,05$) pada tanaman yang stres air dibanding dengan tanaman yang cukup air dan bukaan stomata menurun tidak nyata ($P>0,05$) dengan bertambahnya level pemupukan nitrogen baik yang cukup air maupun yang stres air, kecuali pada perlakuan cukup air dengan dosis pupuk 250 kg N/ha ($P<0,05$) menurun dibanding dengan tanpa pupuk. Penutupan stomata pada tanaman yang stres air adalah reaksi tanaman untuk mengurangi pengeluaran air melalui transpirasi. Menurut Rhodes dan Samaras (1994) bahwa salah satu tanggapan awal tanaman yang stres air antara adalah penutupan stomata untuk mengurangi konsumsi air melalui transpirasi .

Besarnya bukaan stomata secara langsung mempengaruhi konduktansi stomata (Lakitan, 1993). Stres air secara signifikan menurunkan konduktansi stomata pada rumput (Akram *et al.*, 2007). Tanaman yang tumbuh di bawah kondisi kekeringan mengalami konduktansi stomata yang lebih rendah dalam rangka untuk menghemat air (Mafakheri *et al*, 2010). Tanaman akan mengatur derajat konduktansi stomata untuk menghambat kehilangan air lewat transpirasi (Mansfield dan Atkinson, 1990). Pemberian pupuk nitrogen dengan dosis 250 Kg N/ha ($P<0,05$) menurunkan bukaan

stomata pada kondisi cukup air, sebaliknya pada kondisi stres air penurunan bukaan stomata tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Total klorofil

Interaksi antara stres air dengan pemupukan nitrogen memperlihatkan perbedaan ($P<0,05$) terhadap total klorofil rumput gajah. Total klorofil tanaman rumput gajah yang diberi pupuk nitrogen meningkat dengan meningkatnya dosis pupuk nitrogen, baik yang diberi stres air terbatas maupun yang diberi air cukup. Pemberian stres air dengan dosis pupuk 0 kg N/ha dan 150 kg N/ha tidak meningkatkan total klorofil, tetapi dengan dosis 250 kg N/ha meningkatkan total klorofil ($P<0,05$). Hal ini mendukung pernyataan Guler (2009) bahwa klorofil daun meningkat dengan meningkatnya tingkat pemberian pupuk nitrogen. Menurut Tam dan Magistad (1935) bahwa jumlah nitrogen yang tersedia menentukan besarnya jumlah klorofil terbentuk, asalkan persyaratan lainnya untuk pembentukan klorofil, seperti cahaya, pasokan zat besi dan magnesium yang hadir dalam jumlah yang cukup.

Tabel 1. Rata-rata bukaan stomata, total klorofil dan kandungan prolin tanaman rumput gajah pada level pemupukan dan pemberian air terbatas

Parameter	Perlakuan	Level pupuk nitrogen			Rata-rata
		N0	N1	N2	
Bukaan stomata (mm)	A1	0,0093 ^c	0,0085 ^{bc}	0,0079 ^{ab}	0,0086
	A2	0,0078 ^a	0,0070 ^a	0,0067 ^a	0,0084
Rata-rata		0,0086	0,0078	0,0040	
Total klorofil (mg/g daun segar)	A1	1,22 ^a	1,38 ^b	1,45 ^b	1,35
	A2	1,14 ^a	1,33 ^b	1,68 ^c	1,38
Rata-rata		1,18	1,36	1,57	
Kandungan prolin (μ mol prolin/berat segar)	A1	6,83 ^a	8,20 ^{ab}	12,04 ^c	9,02
	A2	9,78 ^b	11,68 ^c	14,51 ^d	11,99
Rata-rata		8,31	9,95	13,28	

Superkip (a.b), (b.c) pada baris yang sama berbeda nyata ($P < 0,05$) dan (a.c) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Total klorofil pada perlakuan yang mendapat air cukup pada dosis pupuk 0 kg N/ha dan 150 kg N/ha tidak berbeda ($P>0,05$), tetapi dengan dosis 250 kg N/ha, total klorofil meningkat ($P<0,05$) pada pemberian stres air. Hal ini sesuai dengan laporan Akram *et al.* (2007) bahwa total klorofil tanaman lebih tinggi dalam kondisi stres air dibandingkan dengan kondisi cukup air. Menurut Sairam *et al.* (1997) bahwa kultivar yang tahan terhadap kondisi stres air dan panas memiliki kandungan klorofil yang tinggi, sedangkan laporan lain menyatakan bahwa stres air tidak berpengaruh pada konsentrasi klorofil (Kulshreshtha *et al.*, 1987).

Kandungan prolin

Interaksi antara stres air dan level pupuk nitrogen memperlihatkan bahwa kandungan prolin tanaman rumput gajah ($P<0,05$) meningkat dengan meningkatnya level pemupukan nitrogen, demikian juga pada pemberian stres air meningkatkan kadar prolin secara nyata ($P<0,05$) untuk semua level pemupukan nitrogen. Menurut Zhoua *et al.* (2011) bahwa stres air menyebabkan peningkatan kadar prolin dan penambahan nitrogen cenderung mengurangi efek positif dari stres air pada kandungan prolin. Hal yang sama juga dilaporkan ASRP (2012) bahwa kandungan prolin tanaman yang diberi pupuk nitrogen meningkat lebih tinggi dibanding dengan tanpa pemupukan dan peningkatan pupuk nitrogen meningkatkan kandungan prolin di bawah kondisi tanah yang kekeringan.

Akumulasi prolin pada tanaman yang mengalami kekeringan berperan sebagai *osmolyte* untuk menjaga organel, sehingga daun tetap hijau saat terkena kondisi kekurangan air (Yamada *et al.*, 2005; Sankar *et al.*, 2007 dan Safarnejad, 2008). Prolin mampu bertindak sebagai agen pelindung bagi enzim-enzim sitoplasma dan enzim-enzim membran atau sebagai bahan simpanan untuk pertumbuhan setelah tanaman mengalami stress (Aspinal dan Paleg, 1981).

KESIMPULAN

Stres air pada tanaman rumput gajah menurunkan lebar bukaan stomata, tetapi meningkatkan kandungan prolin dan pemberian pupuk nitrogen meningkatkan total klorofil dan kandungan prolin. Terdapat interaksi antara pemupukan nitrogen dengan stres air.

DAFTAR PUSTAKA

- Akram, M., M. A. Malik, M. Y. Ashraf, M. F. Saleem and M. Hussain. 2007. Competitive seedling growth and K^+/Na^+ ratio in different maize (*Zea mays* L.) hybrids under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*, 39: 2553-2563.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24 (1) : 1 - 15.
- Agricultural Science Research Paper. 2012. Effect of Soil Water and Nitrogen Fertilizer on Some Physiological Characters, Yield and Quality of Pepper. Artikel online. www.agrpaper.com/_tag/nitrogen-fertilizer-rate. (15 Desember. 2012).
- Aspinal, D. and L. G. Paleg. 1981. Prolin accumulation : physiological aspects. 201-241. In L.G. Paleg and D. Aspinal (eds). *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*, Academic Press.
- Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free prolin for water-stress studies. *Plant Soil*, 39(1): 205 -207.

- Guler, S. 2009. Effect of nitrogen on yield and chlorophyll of Potato (*Solanum tuberosum* L) cultivars. *Bangladesh J. Bot.*, 38(2): 163 - 169.
- Kulshreshtha, S., D. P. Mishra and R. K. Gupta. 1987. Changes in content of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthetica*, 21(1): 65-70.
- Lakitan, B. 1993. Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan. Rajawali Pers, Jakarta.
- Mafakheri, A., A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P. C. Struik, and Y. Sohrabi. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian J. Crop Sci.*, 4(8): 580 - 585.
- Mansfield, T. A. and C. J. Atkinson. 1990. Stomatal behavior in water stressed plants. P. 241-246. In Alscher ang Cumming (Ed.). Stress respons in plant: adaptation and acclimation mechanisms. Wiley-Liss, Inc., New York.
- Mostajeran, A and V. Rahimi-Eichi. 2009. Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 5 (2): 264-272.
- Penny-Packer, B. W., K. T. Leath., W. L. Stout, and R. R. Hill. 1990. Technique for stimulating field drought stress in the green house. *J. Agr.*, 82(5): 951-957.
- Rhodes, D. and Y. Samaras. 1994. Genetic Control of Osmoregulation Inplants. In *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation*. CRC Press, Boca Raton. pp. 347-361.
- Rhodes, D. 2009. Roles of Proline in Plant Adaptation to Environmental Stress. Department of Horticulture & Landscape Architecture Horticulture Building, Purdue University.
- Safarnejad, A. 2008. Morphological and biochemical responses to osmotic stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Pak. J. Bot.*, 40: 735-746.
- Sairam, R. K., D. S. Shukla and D. C. Saxena. 1997. Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 40: 357-364.
- Sankar, B., C. A. Jaleel, P. Manivannan, A. Kishorekumar, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2007. Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Acta. Bot. Croat.*, 61: 43-56.
- Sangakkara, U. R., M. Frehner and J. Nosberger. 2001. Influence of soil moisture and fertilizer potassium on the vegetative growth of mungbean (*Vigna radiata* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *J. Agro. Crop. Sci.*, 186(2): 73-81.
- Steel, G. D. and J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi Kedua. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Talebi, R. 2009. Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *General and Applied Plant Physiology*, 35(1-2): 64-74.

- Tam, R. K and O. C. Magistad. 1935. Relationship between nitrogen fertilization and chlorophyll content in Pineapple plants. *Plant Physiol.*, 10: 159 - 168.
- Vanyine, A. S., B. Toth and J. Nagy. 2012. Effect of nitrogen doses on the chlorophyll concentration, yield and protein content of different genotype maize hybrids in Hungary. *African J. Agr. Res.*, 7(16): 2546-2552.
- Vendruscolo, A. C. G., I. Schuster, M. Pileggi, C. A. Scapim, H. B. C. Molinari, C. J. Marur, and L. G. C. Vieira. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat, *J. Plant. Physiol.*, 164(10): 1367-1376.
- Wang, W., B. Vinocur, A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218 : 1 - 14.
- Yamada, M., H. Morishita, K. Urano, N. Shiozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki and Y. Yoshioka. 2005. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *J. Exp. Bot.*, 56: 1975-1981.
- Yasemin. 2005. The Effect of Drought on Plant and Tolerance Mechanisms. G.U. Journal of Science, 18(4): 723 – 740.
- Zhoua, X., Y. Zhang, J. Xuehua, A. Downing and M. Serpe. 2011. Combined effects of nitrogen deposition and water stress on growth and physiological responses of two annual desert plants in northwestern China. *Environmental and Experimental Botany*, 74: 1-8