



Pengaruh Aplikasi Pupuk Nitrogen terhadap Ketahanan Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo') pada Cekaman Kekeringan

Effect of Nitrogen Fertilizer Application on the Drought Tolerance of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo')

Maharani Pratiwi Salsabila Ardadi¹, Siti Nurbaiti¹, Diah Rachmawati^{1*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara, Yogyakarta, 55281

Email: drachmawati@ugm.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) is one of Indonesia's leading crops that contributes significantly to the national economy. However, climate change can trigger various abiotic stresses, such as drought, which may inhibit plant growth. One approach to enhance plant tolerance to drought is through the application of nitrogen fertilizer. This study aims to analyze the effect of nitrogen fertilizer application on the drought tolerance of tobacco (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo'). The research was conducted using a Randomized Complete Block Design with treatments consisting of a combination of three levels of water availability (100%, 75% and 50% of field capacity) and three nitrogen fertilizer doses (0.6; 1.2; and 1.8 g/polybag). Observed parameters included the degree of damage and the activity of enzymatic antioxidants. Data were analyzed using ANOVA and DMRT test at a 95% confidence level. The results showed that nitrogen fertilizer application increased the activity of antioxidant enzymes, particularly APX. Higher nitrogen doses were positively correlated with improved drought tolerance, as indicated by reduced electrolyte leakage and MDA levels, as well as increased APX activity. This research is expected to provide valuable insights into the role of nitrogen fertilization in enhancing tobacco resilience under drought conditions.

Keywords: Drought, 'Manilo', nitrogen fertilizer, tobacco, tolerance

Abstrak

Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan salah satu tanaman unggulan yang berkontribusi dalam perekonomian Indonesia. Namun, perubahan iklim dapat memicu berbagai cekaman abiotik, seperti kekeringan yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan adalah melalui pemberian pupuk nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian pupuk nitrogen terhadap ketahanan tembakau (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo') pada cekaman kekeringan. Penelitian dilakukan menggunakan metode Rancangan Blok Acak Lengkap dengan perlakuan kombinasi tiga tingkat ketersediaan air (100%, 75%, dan 50% kapasitas lapang) serta tiga dosis pupuk nitrogen (0,6; 1,2; dan 1,8 g/polybag). Parameter yang diamati meliputi respons tingkat kerusakan serta aktivitas antioksidan enzimatis. Analisis data dilakukan menggunakan ANOVA dan uji DMRT pada taraf kepercayaan 95%. Hasil menunjukkan aplikasi pupuk nitrogen mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, terutama APX. Peningkatan dosis pupuk nitrogen berkorelasi positif dengan ketahanan tanaman terhadap kekeringan yang ditunjukkan melalui penurunan kebocoran elektrolit dan MDA, serta peningkatan aktivitas APX. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ketahanan tembakau dengan pemberian pupuk nitrogen terhadap kondisi kekeringan.

Kata kunci: Kekeringan, ketahanan, 'Manilo', pupuk nitrogen, tembakau

Disubmit: 06 Juli 2024; Direvisi: 24 Oktober 2025; Diterima: 30 Oktober 2025



Pendahuluan

Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan komoditas pertanian penting di Indonesia yang memberikan kontribusi ekonomi dan membuka lapangan kerja bagi masyarakat (Dianawati & Hamdani, 2022). Salah satu lokasi produksi tembakau berada di Jombang, Jawa Timur dengan berbagai varietas lokal seperti Manilo, Krupuk Kebo, dan Genjah Wedus (Utari & Slamet, 2019). Tembakau dikenal cukup toleran terhadap kondisi kekurangan air, namun perubahan iklim yang ekstrem, terutama kekeringan menjadi tantangan serius yang berdampak pada produktivitas dan kualitas tanaman (Prasetyo et al., 2016). Kekeringan dapat memicu peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berpotensi merusak sel tanaman dan menurunkan pertumbuhan melalui gejala seperti klorosis dan nekrosis (Violita & Hamim, 2010; Khan et al., 2020). Dalam mengatasi cekaman tersebut, tanaman mengaktifkan sistem pertahanan internal berupa enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), dan peroksidase (POD) (Violita & Hamim, 2010; Khan et al., 2020; Novarini et al., 2022). Selain itu, tanaman juga mengakumulasi zat terlarut kompatibel sebagai bentuk pertahanan dan adaptasi dari cekaman kekeringan. Zat terlarut kompatibel tersebut meliputi prolin, antosianin, dan glisinbetain (Close & Beadle, 2003; Silva et al., 2011). Zat terlarut kompatibel berperan penting dalam menjaga keseimbangan osmotik, melindungi sel tanaman dari kerusakan, serta berfungsi sebagai antioksidan (Close & Beadle, 2003).

Untuk mengurangi dampak negatif kekeringan pada tanaman, terdapat berbagai cara yang bisa dilakukan, salah satunya adalah dengan memberikan pupuk nitrogen. Nitrogen berperan dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian dari Susanti et al. (2021) menunjukkan bahwa pemupukan nitrogen dapat memperluas ukuran daun dan taju tanaman, serta menambah bobot segar dan kering tanaman. Kemudian, beberapa penelitian lain menyebutkan bahwa nitrogen juga berperan dalam proses pembentukan nikotin, yaitu senyawa metabolit sekunder khas

tanaman tembakau yang memiliki nilai ekonomi penting, sehingga pemupukan nitrogen yang tepat tidak hanya mendukung pertumbuhan, akan tetapi juga kualitas hasil panennya (Xiao-Tang et al., 2008). Beberapa penelitian sebelumnya telah membahas pengaruh kekeringan terhadap pertumbuhan dan fisiologi tanaman tembakau varietas Besuki Na-Oogst, Deli-4, dan Prancak (Herawati, 2004; Kurniawan et al., 2014; Nurhayati et al., 2020). Namun, penelitian-penelitian tersebut belum mengkaji secara mendalam peran nitrogen dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan. Hingga saat ini, studi mengenai respons ketahanan tembakau varietas 'Manilo' terhadap cekaman kekeringan serta pengaruh pemberian pupuk nitrogen terhadap mekanisme pertahanan fisiologisnya masih terbatas.

Liu et al. (2022) melaporkan bahwa penambahan nitrogen dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan hingga batas tertentu. Pada spesies pohon berdaun lebar hijau, penambahan nitrogen mampu meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan dalam jangka pendek dengan menurunkan cekaman osmotik dan melindungi sistem fotosintesis melalui peningkatan produksi osmolit seperti prolin, serta dengan menstimulasi aktivitas fotosintesis dan transpirasi. Namun, dalam jangka waktu yang lebih panjang, efek tersebut dapat berubah menjadi kurang menguntungkan karena peningkatan laju transpirasi dan konsumsi air justru memperburuk kondisi defisiensi air pada tanaman. Dengan demikian, pengaruh nitrogen dalam meningkatkan ketahanan tanaman pada kondisi kekeringan bersifat kompleks dan sangat bergantung pada jenis tanaman, dosis pemberian, serta durasi cekaman.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian pupuk nitrogen dengan berbagai dosis terhadap ketahanan tanaman tembakau pada cekaman kekeringan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan informasi terkait respons dan ketahanan tembakau terhadap kondisi kekeringan melalui pengaplikasian pupuk nitrogen, sehingga dapat dijadikan acuan dalam penerapan strategi pemupukan yang tepat untuk meningkatkan hasil dan kualitas produksi tembakau.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Stasiun Penelitian Biodiversitas II Karanggayam, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Analisis respons ketahanan tembakau dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Fasilitas Penelitian Bersama (FALITMA), Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Percobaan menggunakan Rancangan Blok Acak Lengkap (RBAL) dengan perlakuan dosis pupuk nitrogen dan tingkat ketersediaan air. Perlakuan dosis pupuk nitrogen terdiri atas N1 (0,6 g/polybag), N2 (1,2 g/polybag), dan N3 (1,8 g/polybag), sedangkan tingkat ketersediaan air meliputi K1 (100% kapasitas lapang), K2 (75% kapasitas lapang), dan K3 (50% kapasitas lapang).

Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo'). Media tanam yang digunakan berupa campuran tanah dan kompos "Green Value". Perlakuan nitrogen diberikan menggunakan pupuk urea produksi Kujang, sementara pupuk *Triple Super Phosphate* (TSP) dan KCl Mahkota ditambahkan sebagai sumber nutrisi pendukung. Untuk analisis aktivitas enzim, digunakan berbagai bahan seperti aluminium foil, buffer kalium fosfat, Na-EDTA, *polyvinylpyrrolidone* (PVP), buffer Tris-HCl, buffer Na-EDTA, pyrogallol, ddH₂O, H₂O₂ 3% dan 10%, buffer natrium fosfat, asam askorbat, serta tisu dan berbagai jenis pipet tip. Untuk pengukuran kadar ROS, digunakan bahan tambahan seperti *trichloroacetic acid* (TCA), *thiobarbituric acid* (TBA), larutan kalium iodida (KI), dan buffer kalium fosfat.

Berbagai peralatan digunakan dalam penelitian ini. Pada tahap penanaman, digunakan sekop kecil, polybag berukuran 35×35 cm, dan gelas ukur. Pada tahap pengamatan, digunakan alat tulis dan kamera. Pada proses persiapan sampel, digunakan mortar dan alu. Sementara dalam tahap analisis laboratorium, digunakan tabung reaksi, tabung conical, gelas beaker, mikropipet, pipet ukur, pipet *pump*, setrifus Hettich Universal 320 R, botol semprot, kuvet kuarsa, spektrofotometer Thermo Scientific Genesys 10 UV-Vis, serta EC-meter.

Cara Kerja

Benih tembakau ditanam menggunakan metode perkecambahan dalam polybag kecil yang telah diisi media tanam, kemudian diletakkan di dalam *green house* dengan kondisi lingkungan rata-rata kelembapan 76% dan suhu 29°C. Penyiraman dilakukan secara teratur pada sore hari. Setelah mencapai umur empat minggu, bibit dipindahkan ke polybag buntu berisi campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 4:1 dengan total berat media tanam sebanyak 5 kg. Pupuk nitrogen dalam bentuk urea ditambahkan sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan, yaitu N1 (0,6 g/polybag), N2 (1,2 g/polybag), dan N3 (1,8 g/polybag), serta ditambah pupuk fosfor (P) dan kalium (K) berdasarkan dosis anjuran pada kemasan. Tanaman kemudian diaklimatisasi selama dua minggu sebelum dilakukan perlakuan cekaman kekeringan dengan kapasitas lapang berbeda, yaitu K1 (100%), K2 (75%), dan K3 (50%) selama enam minggu.

Pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman dilakukan setiap minggu setelah pemindahan tanam. Analisis respons ketahanan tembakau terhadap kekeringan dilakukan pada minggu kelima setelah perlakuan kekeringan, sejalan dengan waktu pengamatan setelah pemberian pupuk nitrogen. Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi tingkat kerusakan tanaman melalui pengukuran kadar MDA, H₂O₂, dan kebocoran elektrolit, serta aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan askorbat peroksidase (APX) pada minggu ke-5.

Pengujian Tingkat Kerusakan Tanaman

Pengujian kadar malondialdehid (MDA) dilakukan dengan metode yang dimodifikasi dari Hodges et al. (1999) dan Salsinha et al. (2022). Sebanyak 100 mg daun segar dihancurkan, lalu diekstraksi menggunakan larutan TBA 0,25% yang mengandung TCA 10%. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu 95°C selama 30 menit. Setelah didinginkan ke suhu ruang, sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm, dan supernatan yang dihasilkan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Pengukuran absorbansi non-spesifik juga dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Nilai kadar MDA dihitung menggunakan rumus berikut.

$$MDA \left(\frac{nmol}{g \text{ FW}} \right) = \left[\frac{1000 \times (Abs \ 532 - Abs \ 600)}{155} \right] \times \text{Faktor Dilusi}$$

Pengukuran kadar hidrogen peroksida (H_2O_2) dilakukan menggunakan metode dari Gong et al. (2005). Sampel daun diekstraksi menggunakan TCA 0,1%, kemudian disentrifugasi pada 12.000 xg selama 15 menit. Selanjutnya, 0,5 mL supernatan direaksikan dengan buffer kalium fosfat 10 mM dan larutan KI 1 M. Lalu, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 390 nm menggunakan spektrofotometer. Nilai kadar H_2O_2 ditentukan berdasarkan kurva standar yang telah disiapkan sebelumnya.

Pengukuran kebocoran elektrolit dilakukan dengan metode modifikasi dari Su et al. (2017) dan Yadav et al. (2012). Sampel daun dipotong kecil, kemudian direndam dalam ddH₂O dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah itu, konduktivitas larutan diukur sebagai nilai awal (EC1). Larutan kemudian dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 95°C selama 30 menit dan setelah didinginkan, konduktivitas diukur kembali sebagai EC2. Berikut rumus perhitungan kebocoran elektrolit:

$$EL (\%) = \frac{EC1}{EC2} \times 100\%$$

Pengujian Aktivitas Antioksidan Enzimatik

Aktivitas enzim antioksidan, yaitu superoksida dismutase (SOD) dan askorbat peroksidase (APX), dianalisis menggunakan sampel ekstrak enzim yang sama. Proses ekstraksi dilakukan dengan menimbang 0.1 g daun, kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan alu, lalu diekstrak menggunakan buffer kalium fosfat 50 mM yang mengandung Na-EDTA 1 mM dan PVP 1%. Ekstrak disentrifugasi dan supernatannya digunakan untuk analisis enzimatik serta disimpan dalam *coolbox* selama pengujian berlangsung (Elavarthi & Martin, 2010; Salsinha et al., 2022).

Aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dianalisis menggunakan metode autooksidasi pyrogallol yang dimodifikasi dari Marklund & Marklund (1974) serta Li (2012). Sampel yang telah diekstraksi, dicampurkan dengan larutan buffer pereduksi (buffer Tris-HCl 50 mM dan buffer Na-EDTA 1 mM) dan larutan pyrogallol 10×, kemudian absorbansi larutan diukur secara kinetik menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 325 nm. Pengukuran dilakukan terhadap sampel dan kontrol (blanko) untuk memperoleh aktivitas enzim SOD. Kemudian, aktivitas SOD dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\text{Aktivitas SOD} \left(\frac{\mu}{L} \right) = \frac{\Delta Abs \text{ Uji}}{\Delta Abs \text{ Koreksi}} \times 100\% \times Vol. Total \times \frac{1}{Vol. Sampel}$$

Pengujian aktivitas enzim askorbat peroksidase (APX) dilakukan berdasarkan metode Nakano & Asada (1981) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 100 μ L ekstrak enzim direaksikan dengan Na-EDTA 0,1 mM, buffer natrium fosfat 50 mM, dan asam askorbat, kemudian ditambahkan larutan H_2O_2 100 mM. Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290 nm secara kinetik selama 3 menit dengan pembacaan setiap satu menit untuk menentukan aktivitas enzim APX. Kemudian, aktivitas APX dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\text{Aktivitas APX} \left(\frac{\mu mol \text{ Asam Askorbat}}{min \text{ g FW}} \right) = \frac{|\Delta Abs| \times total \ volume \ reaksi}{\Delta t \times e \times L \times volume \ sampel \ enzim}$$

Analisis Data

Data yang diperoleh selama penelitian dianalisis menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan tingkat signifikansi 5% melalui *software IBM SPSS Statistics* 25. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil analisis kemudian disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Respons Tingkat Kerusakan Tanaman

Pengaruh variasi ketersediaan nitrogen terhadap respons ketahanan tanaman tembakau ‘Manilo’ pada kondisi kekeringan dianalisis melalui pengukuran akumulasi MDA, H_2O_2 , tingkat kebocoran elektrolit, dan aktivitas enzim antioksidan (SOD dan APX).

Berdasarkan Tabel 1, kadar MDA tertinggi berada di perlakuan kombinasi pupuk nitrogen 1,2 g/polybag dengan kapasitas lapang 50%. Sebaliknya, kadar MDA terendah berada

pada kombinasi perlakuan pupuk nitrogen 1,8 g/polybag dengan kapasitas lapang 75%. Pemberian pupuk nitrogen 1,2 g/polybag tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan di kapasitas lapang 100%, 75%, dan 50%. Hasil ini juga menunjukkan bahwa semakin tinggi cekaman kekeringan, maka semakin tinggi juga akumulasi MDAnya. Kemudian, hasil kadar H_2O_2 dengan kombinasi perlakuan dosis pupuk nitrogen 1,8 g/polybag pada kapasitas lapang 50% menunjukkan akumulasi H_2O_2 tertinggi. Sebaliknya, kadar H_2O_2 terendah terlihat pada perlakuan dengan dosis pupuk nitrogen 1,2 g/polybag pada kapasitas lapang 100%. Secara umum, hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan tingkat cekaman kekeringan berkorelasi positif dengan naiknya kadar H_2O_2 .

Malondialdehid (MDA) merupakan senyawa yang terbentuk sebagai hasil akhir dari proses peroksidasi lipid yang terjadi pada asam lemak tak jenuh ganda di dalam sel, sehingga MDA sering digunakan sebagai penanda tingkat kerusakan oksidatif akibat cekaman lingkungan pada tanaman (Morales & Munné-Bosch, 2019). Berdasarkan hasil pada Tabel 1, kadar MDA menunjukkan kecenderungan meningkat seiring dengan meningkatnya tingkat cekaman kekeringan. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Yao et al. (2023) yang menunjukkan bahwa peningkatan cekaman kekeringan pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) menyebabkan akumulasi MDA yang semakin meningkat. Peningkatan kadar MDA tersebut menunjukkan adanya kerusakan struktur membran sel yang terjadi secara bertahap akibat kekurangan air. Hasil penelitian Wang et al. (2022) juga menunjukkan pola yang sama pada tanaman kedelai, yaitu semakin tinggi tingkat cekaman, maka semakin besar juga akumulasi MDA sebagai bentuk respons tanaman.

Penggunaan pupuk nitrogen dalam dosis tertentu terbukti dapat mengurangi akumulasi MDA yang dipicu oleh kekeringan. Penelitian oleh Noor et al. (2023) menunjukkan bahwa aplikasi nitrogen dalam dosis tertentu mampu menurunkan kadar MDA pada tanaman gandum yang mengalami kekeringan. Hal serupa juga ditemukan pada penelitian Zhang & Liu (2001) yang menyatakan bahwa nitrogen berperan penting dalam mendukung aktivitas enzim antioksidan serta mengatur laju peroksidasi lipid. Berdasarkan hasil Tabel 1,

peningkatan dosis pupuk nitrogen menunjukkan tren penurunan kadar MDA. Meskipun cekaman kekeringan yang berlangsung lama dapat meningkatkan kadar MDA, akan tetapi aplikasi nitrogen dalam dosis yang sesuai mampu menekan akumulasinya. Pernyataan tersebut diperkuat oleh Illes et al. (2021) yang menyatakan bahwa pemupukan nitrogen dalam dosis yang tepat dapat memperkuat sistem enzim antioksidan dan menekan kerusakan akibat peroksidasi lipid. Sebaliknya, dosis nitrogen yang terlalu rendah maupun terlalu tinggi justru dapat mengganggu fungsi enzim dan menyebabkan peningkatan MDA.

Sebagian besar ROS memiliki sifat yang merusak, tetapi H_2O_2 memiliki peran dalam molekul pensinyalan penting dalam tanaman. H_2O_2 membantu mengatur respons pertahanan terhadap cekaman, menjaga keseimbangan hormon, serta mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Simbolon et al., 2020). Hasil pengukuran kadar H_2O_2 (Tabel 1) menunjukkan bahwa kadar H_2O_2 meningkat seiring lamanya tanaman mengalami kekeringan. Semakin berat tingkat cekaman, maka semakin tinggi juga akumulasi H_2O_2 nya. Pernyataan tersebut sejalan dengan hasil penelitian Turan et al. (2023) pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dan Boy et al. (2020) pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) yang melaporkan bahwa cekaman kekeringan memicu peningkatan produksi H_2O_2 sebagai bentuk adaptasi. Namun demikian, apabila H_2O_2 diproduksi secara berlebihan, dapat menjadi toksik dan menyebabkan kerusakan sel.

Pemberian cekaman kekeringan menunjukkan peningkatan signifikan terhadap tingkat kebocoran elektrolit di seluruh perlakuan, yang mengindikasikan terjadinya kerusakan membran sel akibat akumulasi cekaman oksidatif (Tabel 2). Kebocoran elektrolit tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan pupuk nitrogen 1,8 g/polybag dengan kapasitas lapang 50%, yaitu sebesar $75,67 \pm 2,28^b$. Sebaliknya, kebocoran elektrolit terendah ditemukan pada kombinasi perlakuan yang sama namun dengan kapasitas lapang 100%. Secara umum, peningkatan dosis pupuk nitrogen menunjukkan kecenderungan menurunkan kebocoran elektrolit pada seluruh tingkat kapasitas lapang.

Tabel 1. Kadar MDA dan H₂O₂ pada umur 5 minggu setelah perlakuan (MSP) kekeringan dan dosis pupuk N

Variasi Perlakuan		Kadar MDA (nmol/g.FW)	Kadar H ₂ O ₂ (ppm)
Level Kapasitas Lapang (%)	Dosis Pupuk N (g/polybag)		
100	0,6	32,04 ± 3,36 ^b	42,26 ± 4,69 ^a
	1,2	30,00 ± 6,64 ^b	37,42 ± 1,06 ^a
	1,8	28,80 ± 3,09 ^b	49,09 ± 10,33 ^{abc}
75	0,6	26,19 ± 2,42 ^{ab}	59,93 ± 10,88 ^{bc}
	1,2	29,57 ± 0,16 ^b	47,30 ± 6,19 ^{ab}
	1,8	21,87 ± 2,94 ^a	66,11 ± 18,27 ^c
50	0,6	31,91 ± 1,69 ^b	52,55 ± 3,36 ^{abc}
	1,2	32,95 ± 5,83 ^b	61,94 ± 1,39 ^{bc}
	1,8	32,77 ± 2,91 ^b	66,21 ± 10,97 ^c

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata atau tidak signifikan pada uji DMRT dengan tingkat kepercayaan p<0,05. Masing-masing polybag berisi 5 kg media tanam.

Tabel 2. Kebocoran elektrolit pada umur 5 minggu setelah perlakuan (MSP) kekeringan dan dosis pupuk N

Variasi Perlakuan		Kebocoran Elektrolit (%)
Level Kapasitas Lapang (%)	Dosis Pupuk N (g/polybag)	
100	0,6	51,99 ± 2,69 ^a
	1,2	49,11 ± 6,20 ^a
	1,8	45,64 ± 6,35 ^a
75	0,6	70,03 ± 2,54 ^b
	1,2	69,84 ± 6,13 ^b
	1,8	67,84 ± 4,44 ^b
50	0,6	74,34 ± 3,63 ^b
	1,2	66,81 ± 8,57 ^b
	1,8	75,67 ± 2,28 ^b

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata atau tidak signifikan pada uji DMRT dengan tingkat kepercayaan p<0,05. Masing-masing polybag berisi 5 kg media tanam.

Kebocoran elektrolit menjadi salah satu indikator penting dalam mendeteksi cekaman fisiologis yang dialami tanaman, khususnya pada tingkat seluler. Kondisi ini menunjukkan adanya kerusakan pada membran sel yang sering kali dipicu oleh cekaman lingkungan seperti infeksi patogen, kekeringan, salinitas, logam berat, suhu ekstrem, hingga cekaman oksidatif. (Demidchik et al., 2014). Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian Assaha et al. (2016) pada tanaman huckleberry (*Solanum scabrum*) yang menunjukkan peningkatan kebocoran elektrolit seiring dengan bertambahnya tingkat cekaman kekeringan. Kondisi tersebut juga berhubungan erat dengan peningkatan kadar MDA sebagai indikator peroksidasi lipid. Kerusakan membran akibat proses tersebut membuat sel kehilangan stabilitas, sehingga menyebabkan mineral dan metabolit penting bocor keluar

secara tidak terkendali, yang pada akhirnya memicu kerusakan jaringan dan memperburuk kondisi fisiologis tanaman (Gill & Tuteja, 2010; Assaha et al., 2016).

Peningkatan dosis pupuk nitrogen menunjukkan tren penurunan kebocoran elektrolit di seluruh tingkat kapasitas lapang. Hal ini sejalan dengan penelitian Astaneh et al. (2021) yang melaporkan bahwa pemberian nitrogen pada tanaman gandum saat kekeringan dapat meningkatkan kadar air relatif dan menurunkan kebocoran elektrolit. Penelitian lain dilakukan oleh Qian et al. (2023) juga mendukung bahwa penyerapan nitrogen yang lebih baik dapat membantu mempertahankan stabilitas membran sel dengan cara mengatur tekanan osmotik dan menekan akumulasi ROS serta pembentukan MDA (Li et al., 2020).

Berdasarkan data pada Tabel 3, rata-rata tingkat kerusakan tanaman menunjukkan

bahwa kadar MDA dan kebocoran elektrolit cenderung meningkat seiring dengan bertambahnya tingkat cekaman kekeringan yang ditandai dengan perbedaan yang signifikan. Sementara itu, peningkatan dosis pupuk nitrogen terlihat mampu menurunkan kadar MDA dan kebocoran elektrolit meskipun penurunan tersebut tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Namun, apabila perlakuan kapasitas lapang dikombinasikan dengan dosis pupuk nitrogen, maka terjadi interaksi yang menghasilkan perbedaan signifikan antar perlakuan.

Sementara itu, hasil pengukuran kadar H_2O_2 (Tabel 3) menunjukkan tren peningkatan seiring dengan meningkatnya tingkat cekaman kekeringan dengan perbedaan yang signifikan antar tingkat kapasitas lapang. Peningkatan dosis pupuk nitrogen juga berpengaruh terhadap kenaikan kadar H_2O_2 yang juga berbeda nyata. Kemudian, kombinasi antara tingkat kapasitas lapang dan dosis pupuk nitrogen menunjukkan adanya interaksi yang berbeda nyata.

Kerusakan membran akibat cekaman kekeringan dipicu oleh peningkatan produksi ROS yang menyebabkan peroksidasi lipid (Oraee & Tehranifar, 2020). ROS yang dihasilkan selama kondisi tercekam dapat merusak berbagai biomolekul penting seperti lipid, protein, dan asam nukleat, serta meningkatkan permeabilitas membran plasma yang berujung pada kebocoran isi sel (Zhang et al., 2021). Ketersediaan nitrogen yang cukup berperan penting dalam menjaga stabilitas

metabolisme tanaman selama menghadapi cekaman dengan meningkatkan sintesis protein, termasuk enzim pelindung membran dan komponen pigmen fotosintetik, sehingga struktur membran menjadi lebih tahan terhadap serangan oksidatif (Rachmawati et al., 2010; Ullah et al., 2022). Pernyataan tersebut diperkuat oleh hasil penelitian Wang et al. (2022) yang menunjukkan bahwa nitrogen berperan dalam memperkuat sistem antioksidan pada tanaman padi serta membantu menjaga keseimbangan proses redoks secara keseluruhan. Oleh karena itu, tanaman dengan ketersediaan nitrogen yang optimal menunjukkan tingkat kebocoran elektrolit yang lebih rendah dan respons ketahanan yang lebih baik dibandingkan tanaman dengan defisiensi nitrogen.

Tingkat kerusakan yang terjadi tidak hanya bergantung pada tingkat cekaman kekeringan kekeringan, tetapi juga pada lamanya periode tanaman berada dalam kondisi tercekam (Pourghayoumi et al., 2017). Pemberian pupuk nitrogen diketahui dapat memperkuat sistem pertahanan tanaman dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yang berperan dalam menetralkan ROS, sehingga membantu menjaga integritas membran sel (Muhammad et al., 2022). Namun, jika cekaman berlangsung terlalu lama, kemampuan nitrogen dalam mendukung sistem antioksidan akan menurun. Akibatnya, akumulasi ROS menjadi tidak terkendali dan berpotensi menyebabkan kerusakan sel yang lebih parah.

Tabel 3. Rata-rata respons tingkat kerusakan pada umur 5 minggu setelah perlakuan (MSP)

Variasi Perlakuan	Kadar MDA (nmol/g.FW)	Kadar H_2O_2 (ppm)	Kebocoran Elektrolit (%)
Level Kapasitas Lapang (%)	*	*	*
100	30,28 ± 4,27 ^y	42,92 ± 7,63 ^x	48,91 ± 5,39 ^x
75	25,88 ± 3,85 ^x	57,78 ± 13,84 ^y	69,24 ± 4,13 ^y
50	32,54 ± 3,34 ^y	60,23 ± 8,37 ^y	72,27 ± 6,33 ^y
Dosis Pupuk N (g/polybag)	TS	*	TS
0,6	30,05 ± 3,66 ⁿ	51,58 ± 9,85 ^{no}	65,46 ± 10,59 ⁿ
1,2	30,84 ± 4,70 ⁿ	48,89 ± 11,16 ⁿ	61,93 ± 11,46 ⁿ
1,8	27,81 ± 5,43 ⁿ	60,47 ± 14,60 ^o	63,05 ± 14,08 ⁿ
K×N	*	*	*

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata atau tidak signifikan pada uji DMRT dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Masing-masing polybag berisi 5 kg media tanam. K×N: Interaksi; *: Signifikan; TS: Tidak signifikan.

Aktivitas Antioksidan Enzimatik

Pada kondisi lingkungan yang kurang mendukung, seperti kekeringan, kelebihan air, suhu ekstrem, salinitas, atau pencemaran logam berat, tanaman diharuskan untuk beradaptasi guna mempertahankan pertumbuhannya. Cekaman lingkungan tersebut dapat mengganggu proses fisiologis tanaman dan sering kali memicu cekaman oksidatif yang berdampak negatif terhadap pertumbuhan dan perkembangan (Berwal & Ram, 2019). Salah satu bentuk cekaman lingkungan yang paling umum adalah cekaman kekeringan. Kekeringan dapat mengganggu keseimbangan antara produksi ROS dan kapasitas sistem antioksidan tanaman. ketika produksi ROS melebihi kemampuan mendetoksifikasi alami tanaman, maka akan terjadi kerusakan sel akibat peroksidasi lipid pada membran sel (Anjum et al., 2012). Apabila akumulasi ROS tidak segera dikendalikan, akan memicu dampak negatif berupa enzim-enzim penting terganggu, struktur sel mengalami kerusakan, dan dalam kasus yang parah dapat menyebabkan kematian sel tanaman (Phung et al., 2011).

Mekanisme perlindungan diri tanaman dari bahaya ROS adalah dengan mengandalkan sistem pertahanan internal, salah satunya melalui aktivitas enzim antioksidan. Enzim-enzim ini berperan dalam menetralkan ROS sebelum menyebabkan kerusakan lebih lanjut. Beberapa enzim antioksidan utama yang berperan penting dalam proses ini antara lain

askorbat peroksidase (APX), superoksida dismutase (SOD), glutathione reduktase (GR), katalase (CAT), dan peroksidase (POX) (Hasanuzzaman et al., 2012).

Hasil pengukuran aktivitas enzim SOD (Tabel 4) menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi berada pada perlakuan pupuk nitrogen 0,6 g/polybag dengan kapasitas lapang 75%. Sebaliknya, aktivitas SOD terendah berada di kombinasi dosis pupuk 1,8 g/polybag dengan kapasitas lapang 50%. Interaksi antara pemberian pupuk nitrogen 0,6 g/polybag dan 1,8 g/polybag tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan di seluruh kapasitas lapang (100%, 75%, dan 50%). Selain itu, terlihat adanya kecenderungan menurunnya aktivitas SOD seiring dengan peningkatan dosis pupuk nitrogen pada masing-masing kapasitas lapang.

Tabel 4. juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim APX tertinggi berada pada kombinasi perlakuan pupuk nitrogen 0,6 g/polybag dengan kapasitas lapang 75% serta pada dosis 1,8 g/polybag dengan kapasitas lapang 50%. Sebaliknya, aktivitas terendah berada pada perlakuan dosis pupuk nitrogen 1,2 g/polybag dengan kapasitas lapang 100%. Aplikasi dosis pupuk nitrogen 0,6 g/polybag tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan antar kapasitas lapang (100%, 75%, dan 50%). Selain itu, semakin lama tanaman berada dalam kondisi kekeringan, maka aktivitas enzim APXnya cenderung meningkat sebagai respons adaptif terhadap cekaman lingkungan.

Tabel 4. Aktivitas SOD dan APX pada umur 5 minggu setelah perlakuan (MSP) kekeringan dan dosis pupuk N

Variasi Perlakuan		Aktivitas SOD (μL)	Aktivitas APX ($\mu\text{mol Asam Askorbat/min/g.FW}$)
Level Kapasitas Lapang (%)	Dosis Pupuk N (g/polybag)		
100	0,6	$1,80 \pm 0,32^{ab}$	$0,028 \pm 0,004^{abc}$
	1,2	$1,64 \pm 0,46^{ab}$	$0,021 \pm 0,001^a$
	1,8	$1,86 \pm 0,19^b$	$0,025 \pm 0,005^{ab}$
75	0,6	$1,89 \pm 0,16^b$	$0,037 \pm 0,008^c$
	1,2	$1,67 \pm 0,11^{ab}$	$0,033 \pm 0,004^{bc}$
	1,8	$1,84 \pm 0,18^b$	$0,036 \pm 0,004^{bc}$
50	0,6	$1,58 \pm 0,07^{ab}$	$0,034 \pm 0,003^{bc}$
	1,2	$1,45 \pm 0,24^{ab}$	$0,029 \pm 0,009^{abc}$
	1,8	$1,32 \pm 0,36^a$	$0,037 \pm 0,008^c$

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata atau tidak signifikan pada uji DMRT dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Masing-masing polybag berisi 5 kg media tanam.

Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan utama yang secara luas ditemukan di berbagai jenis sel tanaman. enzim ini tergolong ke dalam kelompok metalloenzim karena dalam aktivitasnya melibatkan ion logam seperti tembaga (Cu), mangan (Mn), dan seng (Zn) yang berperan penting dalam proses katalitiknya (Mccords & Fridovich, 1969; Berwal & Ram, 2019). SOD dikenal sebagai garis pertahanan pertama tanaman dalam menghadapi cekaman oksidatif dengan fungsi utama melindungi sel dari kerusakan akibat akumulasi ROS seperti radikal superoksida(O_2^-) (Zheng et al., 2023).

Enzim SOD tersebar di berbagai bagian sel, termasuk mitokondria, kloroplas, nukleus, sitoplasma, peroksisom, hingga ruang antar sel (apoplas). Peran utamanya adalah mengubah radikal superoksida menjadi molekul yang lebih stabil, yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Dalam jumlah terbatas, H_2O_2 berfungsi sebagai sinyal penting dalam mengaktifkan berbagai mekanisme pertahanan terhadap cekaman lingkungan, baik biotik maupun abiotik. Namun, apabila kadar H_2O_2 terus meningkat dan melampaui batas toleransi sel, senyawa ini dapat memicu kerusakan serius bahkan kematian sel secara terprogram (apoptosis) (Stephenie et al., 2020).

Hasil aktivitas SOD (Tabel 4) menunjukkan kecenderungan menurun seiring meningkatnya tingkat cekaman kekeringan. Penurunan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rensburg & Krüger (1994) yang melaporkan bahwa pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.), aktivitas SOD meningkat pada tahap awal cekaman sebagai respons terhadap akumulasi ROS. Namun, seiring berjalannya waktu dan lamanya tanaman berada dalam kondisi tercekam, aktivitas enzim SOD cenderung menurun secara bertahap (Liu et al., 2024). Hasil serupa juga ditemukan oleh Sharma et al. (2018) pada tanaman gandum kuda (*Fagopyrum esculentum*), yaitu aktivitas SOD meningkat baik di akar maupun daun pada fase awal cekaman. Namun, penurunan selanjutnya kemungkinan besar disebabkan oleh ketidakmampuan SOD mengimbangi akumulasi ROS yang terus meningkat seiring lamanya cekaman berlangsung. Dalam kondisi ini, sistem pertahanan tanaman umumnya melibatkan enzim antioksidan lain seperti

askorbat peroksidase (APX) dan katalase (CAT) yang berfungsi menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan produk samping dari aktivitas SOD guna menjaga keseimbangan redoks di dalam sel (Palma et al., 2020; Corpas et al., 2024).

Selain pengaruh tingkat cekaman, dosis pupuk nitrogen juga memengaruhi aktivitas SOD. Data pada Tabel 4. menunjukkan bahwa peningkatan dosis pupuk nitrogen cenderung menurunkan aktivitas SOD. Kondisi ini menunjukkan bahwa peran nitrogen dalam mendukung sistem antioksidan tanaman. Pada dosis yang optimal, nitrogen dapat meningkatkan efisiensi sistem pertahanan, termasuk kerja enzim SOD. Namun, saat dosis nitrogen ditingkatkan lebih tinggi, tanaman cenderung mengalami penurunan tingkat cekaman oksidatif, sehingga tidak membutuhkan aktivasi enzim SOD dalam jumlah besar. Akibatnya, aktivitas SOD terlihat lebih rendah pada tanaman dengan dosis pupuk nitrogen tinggi dibandingkan yang menerima dosis yang lebih sedikit. Pernyataan tersebut diperkuat oleh penelitian Wang et al. (2022) yang menunjukkan bahwa nitrogen membantu memperkuat sistem antioksidan pada tanaman padi dan mendukung keseimbangan proses redoks secara keseluruhan. Namun, jika cekaman kekeringan berlangsung dalam jangka panjang, akumulasi ROS tetap akan meningkat, dan enzim SOD tidak lagi cukup bekerja menghadapi ROS berlebih. Pada situasi tersebut, tanaman akan mengaktifkan enzim antioksidan lanjutan seperti APX dan CAT untuk membantu menetralkan ROS yang tersisa dan mencegah kerusakan sel lebih lanjut (Palma et al., 2020; Corpas et al., 2024).

Askorbat peroksidase (APX) merupakan salah satu enzim antioksidan yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan alga tingkat tinggi (Afzal et al., 2014). Enzim APX memiliki beberapa bentuk (isoform) yang tersebar di berbagai kompartemen sel, seperti tilakoid (tAPX), membran glioksisomal (gmAPX), stroma (sAPX), dan sitosol (cAPX). Isoform yang berada di kloroplas, seperti tAPX dan sAPX, memiliki peran penting dalam menjaga kelangsungan proses fotosintesis, baik pada fase terang maupun gelap (Afzal et al., 2014). Peran utama APX adalah melindungi sel dari kerusakan akibat cekaman oksidatif dengan menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan senyawa reaktif yang terbentuk

sebagai hasil aktivitas enzim SOD. Dalam proses ini, APX memanfaatkan askorbat (AA) sebagai sumber elektron sekaligus agen pereduksi untuk menetralkan H_2O_2 . Reaksi ini merupakan bagian dari mekanisme pertahanan tanaman yang dikenal sebagai siklus askorbat-glutation (ASH/GSH) (Celi et al., 2023). Hasil dari reaksi tersebut adalah perubahan H_2O_2 menjadi air (H_2O), sementara askorbat teroksidasi menjadi monodehidroaskorbat (MDHA) (Corpas et al., 2024).

Aktivitas enzim askorbat peroksidase (APX) mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya tingkat cekaman kekeringan dan lama periode tanaman berada di kondisi tercekam (Tabel 4). Pernyataan ini sesuai dengan penelitian Sofo et al. (2015) yang menyatakan bahwa kekeringan yang lebih berat cenderung memicu peningkatan aktivitas APX pada tanaman almond liar (*Prunus* spp.). Hasil serupa juga ditemukan pada penelitian Çelik et al. (2017) pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*), dimana enzim-enzim dalam siklus askorbat-glutation, termasuk APX menunjukkan aktivitas yang meningkat saat kekeringan berlangsung lebih lama dan intens.

Peningkatan aktivitas APX, terutama pada tanaman yang menerima dosis pupuk nitrogen tinggi menunjukkan bahwa pupuk nitrogen dalam jumlah tersebut belum sepenuhnya mampu mengendalikan cekaman oksidatif. Akibatnya, tanaman tetap mengaktifkan APX dalam jumlah besar untuk menetralkan ROS yang berlebih. Namun, ketika

kekeringan berlangsung terus-menerus, kemampuan tanaman untuk mempertahankan produksi enzim antioksidannya juga mulai menurun walaupun didukung oleh pupuk nitrogen. Penurunan ini berdampak pada produktivitas tanaman secara keseluruhan. Al-Taey & Hussain (2023) melaporkan bahwa kekeringan dapat menghambat pertumbuhan dan hasil tanaman, seperti berkurangnya massa kering umbi kentang (*Solanum tuberosum*). Dampak tersebut berkaitan erat dengan penurunan laju fotosintesis akibat terganggunya penyerapan air dan karbon dioksida karena penutupan stomata. Selain itu, akumulasi ROS yang berlebihan juga dapat merusak membran sel, menonaktifkan enzim, mengganggu keseimbangan hormon, dan secara umum mengganggu metabolisme tanaman (Turan et al., 2023).

Data pada Tabel 5. menunjukkan aktivitas enzim SOD mengalami penurunan seiring meningkatnya tingkat cekaman kekeringan dengan perbedaan yang signifikan. Sebaliknya, aktivitas enzim APX mengalami peningkatan yang signifikan seiring dengan bertambahnya tingkat cekaman kekeringan. Peningkatan dosis pupuk nitrogen mampu membantu menekan dampak cekaman terhadap aktivitas SOD dan APX, meskipun tidak berbeda nyata. Namun, ketika pemberian dosis pupuk nitrogen dikombinasikan dengan kapasitas lapang, terdapat interaksi antara keduanya menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Tabel 5. Rata-rata aktivitas enzimatis pada umur 5 minggu setelah perlakuan (MSP)

Variasi Perlakuan	Aktivitas SOD (μ L)	Aktivitas APX (μ mol Asam Askorbat/min/g.FW)
Level Kapasitas Lapang (%)	*	*
100	1,76 $\pm$ 0,31 ^y	0,024 $\pm$ 0,005 ^x
75	1,80 $\pm$ 0,16 ^y	0,035 $\pm$ 0,005 ^y
50	1,45 $\pm$ 0,25 ^x	0,033 $\pm$ 0,007 ^y
Dosis Pupuk N (g/polybag)	TS	TS
0,6	1,76 $\pm$ 0,23 ⁿ	0,033 $\pm$ 0,006 ⁿ
1,2	1,59 $\pm$ 0,28 ⁿ	0,028 $\pm$ 0,007 ⁿ
1,8	1,67 $\pm$ 0,34 ⁿ	0,032 $\pm$ 0,008 ⁿ
K×N	*	*

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata atau tidak signifikan pada uji DMRT dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Masing-masing polybag berisi 5 kg media tanam. K×N: Interaksi; *: Signifikan; TS: Tidak signifikan.

Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 5. sejalan dengan penelitian Cunhua et al. (2010) pada tanaman *pigweed* (*Chenopodium album* L.) bahwa enzim-enzim antioksidan seperti SOD, CAT, dan POD cenderung menunjukkan pola naik-turun ketika tanaman mengalami cekaman kekeringan pada berbagai tingkat. Puncak aktivitas enzim antioksidan tersebut terlihat pada hari ke-25 hingga ke-40 setelah terpapar cekaman. Pola fluktuatif ini diduga berkaitan dengan aktivitas ekspresi gen pertahanan di awal masa cekaman yang bertujuan untuk memperkuat sistem enzim pertahanan dalam mengatasi akumulasi ROS dan menjaga stabilitas struktur serta fungsi membran sel. Proses ini menjadi bagian dari sistem pertahanan alami tanaman terhadap cekaman oksidatif. Namun, jika cekaman terus berlanjut dan intensitasnya semakin tinggi, metabolisme enzim di dalam sel mulai terganggu. Ekspresi gen pelindung terhambat, sintesis enzim menurun, bahkan struktur enzim dapat mengalami kerusakan. Akibatnya, kemampuan enzim pelindung seperti SOD menurun dan tidak lagi cukup untuk menangkal kerusakan akibat ROS. Perbedaan pola aktivitas antara SOD, POD, dan CAT menunjukkan adanya potensi interaksi atau kerja sama sinergis antar enzim tersebut dalam menghadapi cekaman kekeringan.

Di sisi lain, peningkatan dosis pupuk nitrogen cenderung menurunkan aktivitas enzim SOD dan APX, meskipun tidak secara signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa tanaman telah mengaktifkan strategi pertahanan yang lebih efisien dalam menghadapi kekeringan. Penelitian yang dilakukan oleh A. Kurniawan et al. (2024) pada tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) menunjukkan bahwa aplikasi pupuk nitrogen mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan melalui peningkatan efisiensi penggunaan air, menjaga keseimbangan kadar air dalam jaringan, dan menjaga kestabilan sistem enzim antioksidan (Agami et al., 2018). Nitrogen yang tersedia dalam jumlah sedang hingga tinggi memungkinkan tanaman mengalihkan penggunaannya untuk sintesis senyawa pelindung non-enzimatik seperti prolin yang efektif dalam mengurangi pembentukan ROS. Dengan menurunnya produksi ROS, aktivasi enzim antioksidan akan semakin berkurang. Mekanisme tersebut

menunjukkan respons adaptif tanaman yang lebih efisien dalam menghadapi cekaman lingkungan (Cechin et al., 2022).

Simpulan dan Saran

Simpulan

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L. 'Manilo') memberikan respons terhadap cekaman kekeringan melalui meningkatnya kadar H_2O_2 , MDA, dan kebocoran elektrolit akibat akumulasi ROS. Aplikasi pupuk nitrogen berperan dalam membantu tembakau menghadapi kondisi kekeringan dengan cara meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, terutama askorbat peroksidase, meskipun aktivitas enzim superoksida dismutase cenderung menurun. Selain itu, peningkatan dosis pupuk nitrogen memiliki korelasi positif dengan ketahanan tembakau terhadap cekaman kekeringan yang ditunjukkan dengan penurunan kebocoran elektrolit dan MDA, serta meningkatnya aktivitas enzim APX.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi dosis pupuk nitrogen yang paling efektif dalam meningkatkan ketahanan tembakau terhadap kondisi kekeringan. Selain itu, dikaji secara lebih mendalam berbagai aktivitas antioksidan enzimatik berkaitan mekanisme pertahanan tanaman tembakau terhadap cekaman kekeringan.

Daftar Pustaka

- Afzal, F., Khurshid, R., Ashraf, M., & Gul Kazi, A. (2014). Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling: *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Response to Pathogens and Wounding* (pp. 397–424). Elsevier Inc. Dutch. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00013-7>.
- Agami, R. A., Alamri, S. A. M., Abd El-Mageed, T. A., Abousekken, M. S. M., & Hashem, M. (2018). Role of exogenous nitrogen supply in alleviating the deficit irrigation stress in wheat plants. *Agricultural Water Management* 210: 261–270.

- <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.08.034>.
- Al-Taey, D. K. A., & Hussain, A. J. (2023). Drought's impact on growth and strategies to mitigate its effects on potato cultivation: a review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1262(4). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1262/4/042070>.
- Anjum, S. A., Saleem, M. F., Wang, L.-C., Faisal Bilal, M., & Saeed, A. (2012). Protective role of glycinebetaine in maize against drought-induced lipid peroxidation by enhancing capacity of antioxidative system. *576 AJCS* 6(4).
- Assaha, D. V. M., Liu, L., Ueda, A., Nagaoka, T., & Saneoka, H. (2016). Effects of drought stress on growth, solute accumulation and membrane stability of leafy vegetable, huckleberry (*Solanum scabrum* Mill.). *Journal of Environmental Biology* 37(1). www.jeb.co.in.
- Astaneh, N., Bazrafshan, F., Zare, M., Amiri, B., & Bahrani, A. (2021). Nano-fertilizer prevents environmental pollution and improves physiological traits of wheat grown under drought stress conditions. *Scientia Agropecuaria* 12(1): 41–47. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.005>.
- Boy, R., Indradewa, D., Putra, E. T. S., & Kurniasih, B. (2020). Drought-induced production of reactive oxygen species and antioxidants activity of four local upland rice cultivars in Central Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas* 21(6): 2555–2565. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210628>.
- Carvalho, M. H. C. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior* 3(3): 156–165.
- Cechin, I., da Silva, L. P., Ferreira, E. T., Barrochelo, S. C., de Melo, F. P. de S. R., Dokkedal, A. L., & Saldanha, L. L. (2022). Physiological responses of *Amaranthus cruentus* L. to drought stress under sufficient- and deficient-nitrogen conditions. *PLoS ONE* 17(7): 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270849>.
- Celi, G. E. A., Gratao, P. L., Lanza, M. G. D. B., & Reis, A. R. dos. (2023). Physiological and biochemical roles of ascorbic acid on mitigation of abiotic stresses in plants. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 202). Elsevier Masson s.r.l. French. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107970>.
- Çelik, Ö., Ayan, A., & Atak, Ç. (2017). Enzymatic and non-enzymatic comparison of two different industrial tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties against drought stress. *Botanical Studies* 58(1): 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0186-6>.
- Close, D. C., & Beadle, C. L. (2003). The ecophysiology of foliar anthocyanin. *The Botanical Review* 69(2): 149–161.
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., & Palma, J. M. (2024). Ascorbate peroxidase in fruits and modulation of its activity by reactive species. *Journal of Experimental Botany* 75(9): 2716–2732. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae092>.
- Cunhua, S., Wei, D., Xiangling, C., Xinna, X., Yahong, Z., Dong, S., & Jianjie, S. (2010). The effects of drought stress on the activity of acid phosphatase and its protective enzymes in pigweed leaves. *African Journal of Biotechnology* 9(6): 825–833. <http://www.academicjournals.org/AJB>.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., & Yurin, V. (2014). Stress-induced electrolyte leakage: The role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany* 65(5): 1259–1270. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru004>.
- Dianawati, M., & Hamdani, K. K. (2022). Produksi beberapa varietas tembakau lokal pada tanah regosol di Kabupaten Garut. *Jurnal Bioindustri* 4(2):1–9.
- Elavarthi, S., & Martin, B. (2010). Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 639: 273–281. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_16.

- Emami Bistgani, Z., Barker, A. V., & Hashemi, M. (2024). Physiology of medicinal and aromatic plants under drought stress. *Crop Journal* 12(2): 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2023.12.003>.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(12): 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., & Zhang, C. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science* 169(2): 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.023>.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., Da Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2012). Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies* 9789400722200: 261–315. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2220-0_8.
- Herawati, D. (2004). *Pengaruh Cekaman Kekeringan dan Dosis Pemupukan Nitrogen Terhadap Pertumbuhan Tanaman Tembakau Besuki* (VO (*Nicotiana tabacum* L.) [Skripsi]. Universitas Jember.
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604–611.
- Illes, A., Bojtor, C., Szeles, A., Mousavi, S. M. N., Toth, B., & Nagy, J. (2021). Effect of nitrogen fertiliser on the rate of lipid peroxidation of different maize hybrids in a long-term multifactorial experiment. *Acta Alimentaria* 50(3): 162–169. <https://doi.org/10.1556/066.2020.00177>.
- K. Berwal, M., & Ram, C. (2019). Abiotic and Biotic Stress in Plants: *Superoxide Dismutase: A Stable Biochemical Marker for Abiotic Stress Tolerance in Higher Plants*. IntechOpen. London. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82079>.
- Khan, R., Ma, X., Shah, S., Wu, X., Shaheen, A., Xiao, L., Wu, Y., & Wang, S. (2020). Drought-hardening improves drought tolerance in *Nicotiana tabacum* at physiological, biochemical, and molecular levels. *BMC Plant Biology* 20(1): 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02688-7>.
- Kurniawan, A., Udayana, C., Meiana M, N. I., Salsabila, S., & Barunawati, N. (2024). Accurate nitrogen and water deficit trigger flavonoid and proline accumulation in celery (*Apium graveolens* L.). *Jurnal Ecosolum* 13(1): 1–13. <https://doi.org/10.20956/ecosolum.v13i1.33280>.
- Kurniawan, B. A., Fajriani, S., & Ariffin. (2014). The effect of giving water levels to response of the growth and yield for tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Jurnal Produksi Tanaman* 2(1): 59–64.
- Li, S., Zhou, L., Addo-Danso, S. D., Ding, G., Sun, M., Wu, S., & Lin, S. (2020). Nitrogen supply enhances the physiological resistance of Chinese fir plantlets under polyethylene glycol (PEG)-induced drought stress. *Scientific Reports* 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64161-7>.
- Li, X. (2012). Improved pyrogallol autoxidation method: A reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(25): 6418–6424. <https://doi.org/10.1021/jf204970r>.
- Liu, F., Zhou, Y., Zhang, S., & Liu, N. (2022). Inorganic nitrogen enhances the drought tolerance of evergreen broad-leaved tree species in the short-term, but may aggravate their water shortage in the mid-term. *Frontiers in Plant Science* 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.875293>.
- Liu, M., Liu, X., Song, Y., Hu, Y., Yang, C., Li, J., Jin, S., Gu, K., Yang, Z., Huang, W., Su, J., & Wang, L. (2024). Tobacco production under global climate change: combined effects of heat and drought stress and coping strategies. *Frontiers in Plant*

- Science (15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1489993>.
- Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47(3): 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>.
- Mccords, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry* 244(22).
- Morales, M., & Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant Physiology* 180(3): 1246–1250. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>.
- Mudhor, M. A., Dewanti, P., Handoyo, T., & Ratnasari, T. (2022). Pengaruh cekaman kekeringan terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman padi hitam varietas jeliteng. *Jurnal Agrikultura* 33(3): 247–256.
- Muhammad, I., Yang, L., Ahmad, S., Farooq, S., Al-Ghamdi, A. A., Khan, A., Zeeshan, M., Elshikh, M. S., Abbasi, A. M., & Zhou, X. B. (2022). Nitrogen fertilizer modulates plant growth, chlorophyll pigments and enzymatic activities under different irrigation regimes. *Agronomy* 12(4). <https://doi.org/10.3390/agronomy12040845>.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiol* 22(5): 867–880. <https://academic.oup.com/pcp/article-abstract/22/5/867/1835201>.
- Noor, H., Ding, P., Ren, A., Sun, M., & Gao, Z. (2023). Effects of nitrogen fertilizer on photosynthetic characteristics and yield. *Agronomy* 13(6): 1–20. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061550>.
- Novarini, T., Indrayati, A., & Purwaningsih, D. (2022). Uji aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dalam ekstrak temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) dengan metode water soluble tetrazolium Salt-1 (WST-1). *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 4(5): 464–472. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i5.1285>.
- Nurhayati, ., Akbar, D. F., & Rahayu, M. S. (2020). *Growth and Physiology of Deli Tobacco (Nicotiana tabacum) Varieties of Deli-4 on Drought*. International Conference on Multidisciplinary Research (ICMR 2018). Universitas Islam Sumatera Utara. Medan. <https://doi.org/10.5220/0008887602120215>.
- Orade, A., & Tehranifar, A. (2020). Evaluating the potential drought tolerance of pansy through its physiological and biochemical responses to drought and recovery periods. *Scientia Horticulturae*, 265. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109225>.
- Palma, J. M., Mateos, R. M., López-Jaramillo, J., Rodríguez-Ruiz, M., González-Gordo, S., Lechuga-Sancho, A. M., & Corpas, F. J. (2020). Plant catalases as NO and H₂S targets. *Redox Biology* 34. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101525>.
- Phung, T. H., Jung, H. il, Park, J. H., Kim, J. G., Back, K., & Jung, S. (2011). Porphyrin biosynthesis control under water stress: Sustained porphyrin status correlates with drought tolerance in transgenic rice. *Plant Physiology* 157(4): 1746–1764. <https://doi.org/10.1104/pp.111.188276>.
- Pourghayoumi, M., Bakhshi, D., Rahemi, M., Kamgar-Haghighi, A. A., & Aalami, A. (2017). The physiological responses of various pomegranate cultivars to drought stress and recovery in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae* 217: 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.044>.
- Prasetyo, A., Djajadi, & Sudarto. (2016). Kajian produktivitas dan mutu tembakau temanggung berdasarkan nilai indeks erodibilitas dan kepadatan tanah. *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan* 3(2): 389–399. <http://jtsl.ub.ac.id>.

- Qian, L., Zakriya, M., Pervez, M., Waqar, I., Song, Z., Younis, U., Ahmed, N., Azeem, M., Alarfaj, A. A., & Iftikhar Hussain, M. (2023). Assessing the synergistic effect of acidified carbon, inorganic fertilizer, and biofertilizer on fenugreek antioxidant levels, and quality traits. *Journal of King Saud University – Science* 35(7). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102848>.
- Rachmawati, D., Dan, M., & Setyaningsih, T. (2010). Pengaruh pupuk nitrogen dan ethephon terhadap pertumbuhan, pembungaan dan hasil padi lokal (*Oryza sativa* L. cv. Rojolele). *Biota* 15(3): 448–458.
- Salsinha, Y. C. F., Nurbaiti, S., Sebastian, A., Indradewa, D., Purwestri, Y. A., & Rachmawati, D. (2022). Proline-related gene expression contribute to physiological changes of East Nusa Tenggara (Indonesia) local rice cultivars during drought stress. *Biodiversitas* 23(7): 3573–3583. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230734>.
- Sharma, A. J., Puri, S., Bhattacharya, S., & Navdeep, D. R. (2018). Drought stress-mediated consequences on enzymatic antioxidants of *Fagopyrum esculentum* moench experiment findings. *Asian J. Adv. Basic Sci* 6(1): 22–27. www.ajabs.org.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- Silva, R. L. O., Neto, J. R. C. F., Pandolfi, V., Chabregas, S. M., Burnquist, W. L., Benko-Iseppon, A. M., & Kido, E. A. (2011). *Plants and Environment: Transcriptomics of Sugarcane Osmoprotectants Under Drought*. IntechOpen. London. <https://doi.org/10.5772/23726>.
- Simbolon, E., Suedy, S. W. A., & Darmanti, S. (2020). Hydrogen peroxide and water availability effect on vegetative growth of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Variety Deja 1. *Agric* 32(1): 39–50. <https://doi.org/10.24246/agric.2020.v32.i1.p39-50>.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences* 16(6): 13561–13578). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>.
- Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., & Gnanaraj, C. (2020). An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. In *Journal of Functional Foods* 68. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917>.
- Su, X., Wei, F., Huo, Y., & Xia, Z. (2017). Comparative physiological and molecular analyses of two contrasting flue-cured tobacco genotypes under progressive drought stress. *Frontiers in Plant Science* 8(827): 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00827>.
- Susanti, R., Rugayah, R., Widagdo, S., & Pangaribuan, D. H. (2021). Pengaruh dosis pupuk urea terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kailan (*Brassica oleracea* var. Alboglabra). *Jurnal Agrotek Tropika* 9(1): 137–144. <https://doi.org/10.23960/jat.v9i1.4776>.
- Turan, M., Ekinici, M., Argin, S., Brinza, M., & Yildirim, E. (2023). Drought stress amelioration in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings by biostimulant as regenerative agent. *Frontiers in Plant Science* 14: 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1211210>.
- Ullah, A., Tian, Z., Xu, L., Abid, M., Lei, K., Khanzada, A., Zeeshan, M., Sun, C., Yu, J., & Dai, T. (2022). Improving the effects of drought priming against post-anthesis drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) using nitrogen. *Frontiers in Plant Science* 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.965996>.
- Utari, D., & Slamet. (2019). *Keragaman Karakter Kuantitatif dan Produksi Tembakau Lokal Di Kabupaten Jombang*. Temu Teknis

- Jabatan Fungsional Non Peneliti .
Kementerian Pertanian. Malang.
- van Rensburg, L., & Krüger, G. H. J. (1994). Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use in selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology* 143(6): 730–737. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81166-1](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81166-1).
- Violita, & Hamim. (2010). Sistem pertahanan tanaman kedelai yang mendapat perlakuan cekaman kekeringan. *EKSAKTA* 2: 103–112.
- Wang, S., Zhou, H., Feng, N., Xiang, H., Liu, Y., Wang, F., Li, W., Feng, S., Liu, M., & Zheng, D. (2022). Physiological response of soybean leaves to uniconazole under waterlogging stress at R1 stage. *Journal of Plant Physiology* 268. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153579>.
- Wang, W., Shen, C., Xu, Q., Zafar, S., Du, B., & Xing, D. (2022). Grain yield, nitrogen use efficiency and antioxidant enzymes of rice under different fertilizer n inputs and planting density. *Agronomy* 12(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy12020430>.
- Xiao-Tang, J. U., Feng-Chun, C., Li, C.-J., Rong-Feng, J., Christie, P., Fu-Suo, Z., Ju, C. :, Chao, X. T., Li, F. C., Jiang, C. J., Christie, R. F., & Zhang, P. (2008). Yield and nicotine content of flue-cured tobacco as affected by soil nitrogen mineralization. *Pedosphere* 18(2): 227–235.
- Yadav, N. S., Shukla, P. S., Jha, A., Agarwal, P. K., & Jha, B. (2012). The SbSOS1 gene from the extreme halophyte *Salicornia brachiata* enhances Na⁺ loading in xylem and confers salt tolerance in transgenic tobacco. *BMC Plant Biology* 12(188): 1–18. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-188>.
- Yao, P., Li, Y., Ali, K., Zhang, C., Qin, T., Bi, Z., Liu, Y., Liu, Z., Kear, P., Sun, C., & Bai, J. (2023). Study on root hydraulic lift of drought-tolerant and drought-sensitive potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomy* 13(2): 1–15. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020443>.
- Zhang, S. G., & Liu, G. L. (2001). Plant nutrition and drought resistance of crops. *Chinese Bulletin of Botany* 18(1): 64–69.
- Zhang, Y., Luan, Q., Jiang, J., & Li, Y. (2021). Prediction and utilization of malondialdehyde in exotic pine under drought stress using near-infrared spectroscopy. *Frontiers in Plant Science* 12(735275): 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.735275>.
- Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q. (2023). The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. *Antioxidants* 12(9): 1–20. <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>.