

**ANALISIS POLA DNA DAN KARAKTERISASI CASSAVA
(*Manihot esculenta* Crantz) LOKAL LAMPUNG RESISTEN
CEKAMAN KEKERINGAN**

(Tesis)

Oleh

**NUR AISYAH AMINI
NPM 2227021014**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ANALISIS POLA DNA DAN KARAKTERISASI CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) LOKAL LAMPUNG RESISTEN CEKAMAN KEKERINGAN

Oleh

Nur Aisyah Amini

Cassava atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman pangan penting sebagai penghasil karbohidrat terbesar ketiga di Indonesia setelah jagung dan padi. Lampung merupakan salah satu provinsi dengan produktivitas cassava yang tinggi, sehingga memerlukan pasokan air yang tepat agar skala produktivitas tercapai secara optimal. Upaya yang dilakukan untuk menghasilkan varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan yaitu dengan menggunakan senyawa *Polyethylen Glycol* (PEG) 6000 dan deteksi mutan secara molekular menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi cassava dengan pertumbuhan optimum, mengkarakterisasi ekspresi cassava hasil induksi PEG 6000 meliputi kandungan klorofil total, klorofil a, klorofil b, dan kandungan gula reduksi, membandingkan antara pola DNA cassava yang diberi perlakuan PEG 6000 dengan cassava tanpa perlakuan PEG 6000. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2023 di Laboratorium Botani dan *green house*, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu konsentrasi PEG 6000 yang dibagi atas 5 taraf, yaitu 0%, 10%, 20%, 30%, dan 40%. Masing-masing dari konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) dan uji lanjut dengan uji Tukey (Beda Nyata Jujur) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi tanaman Cassava pada pertumbuhan optimum adalah konsentrasi 40%. Terdapat penurunan klorofil dengan semakin meningkatnya konsentrasi PEG 6000. Terjadi peningkatan kandungan gula reduksi seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG 6000. Pita DNA spesifik dengan ukuran 1.100 bp dapat diprediksi sebagai kandidat marker RAPD untuk ketahanan cassava terhadap cekaman kekeringan.

Kata Kunci : Cassava, Cekaman Kekeringan, PCR, PEG 6000, Pola DNA.

ABSTRACT

DNA PATTERN ANALYSIS AND CHARACTERIZATION OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) LOCAL LAMPUNG RESISTANT DROUGHT STRESS

By

Nur Aisyah Amini

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an important food crop as the third largest carbohydrate producer in Indonesia after corn and rice. Lampung is one of the provinces with high cassava productivity, so it requires an appropriate water supply so that the productivity scale is achieved optimally. The use of superior cassava varieties that are tolerant of drought stress is necessary to maintain productivity during the long dry season. Efforts made to produce varieties that are tolerant to drought stress are by using the compound Polyethylen Glycol (PEG) 6000 and molecular mutant detection using Polymerase Chain Reaction (PCR). The aim of this research is to determine the tolerant concentration of PEG 6000 for selecting cassava with optimum growth, to characterize the expression of cassava induced by PEG 6000 including total chlorophyll content, chlorophyll a, chlorophyll b, and reducing sugar content, to compare the DNA patterns of cassava treated with PEG 6000. with cassava without PEG 6000 treatment. This research was carried out in October-December 2023 at the Botany Laboratory and green house, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with one factor, namely the concentration of PEG 6000 which was divided into 5 levels, namely 0%, 10%, 20%, 30% and 40%. Each of these concentrations was repeated 5 times. Quantitative data from each parameter was analyzed using Analysis of Variance and further tested using the Tukey test (Honestly Significant Difference) at a significance level of 5%. The research results showed that the tolerant PEG 6000 concentration for selecting Cassava plants for optimum growth was a concentration of 40%. There was a decrease in chlorophyll with increasing PEG 6000 concentration. There was an increase in reducing sugar content as PEG 6000 concentration increased. A specific DNA band with a size of 1,100 bp could be predicted as a candidate RAPD marker for cassava resistance to drought stress.

Keywords: Cassava, Drought Stress, PCR, PEG 6000, DNA Pattern.

**ANALISIS POLA DNA DAN KARAKTERISASI CASSAVA
(*Manihot esculenta* Crantz) LOKAL LAMPUNG RESISTEN
CEKAMAN KEKERINGAN**

Oleh

NUR AISYAH AMINI

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

**Judul Tesis : ANALISIS POLA DNA DAN KARAKTERISASI
CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) LOKAL
LAMPUNG RESISTEN CEKAMAN KEKERINGAN**

Nama Mahasiswa : Nur Aisyah Amini

Nomor Pokok Mahasiswa : 2227021014

Program Studi : Magister Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP. 196510311992032003

Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU.
NIP. 196102031987031002

2. Ketua Program Studi Magister Biologi

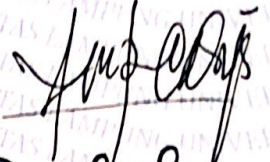
Dr. Nuning Nurcahyani, M.Si.
NIP. 196603051991032001

MENGESAIHKAN

1. Tim Penguji

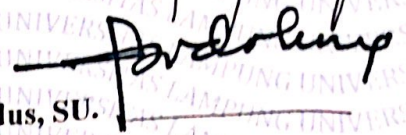
Ketua

: Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



Sekretaris

: Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU.

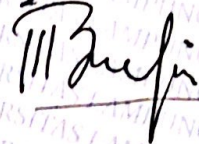


Penguji

Bukan Pembimbing I : Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si.



Bukan Pembimbing II : Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP 197110012005011002



3. Direktur Program Pascasarjana



Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si

NIP 196403261989021001



Tanggal Lulus Ujian Tesis: 05 Juni 2024

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Nama yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Nur Aisyah Amini

NPM : 2227021014

Dengan ini menyatakan apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 07 Juni 2024

Pembuat Pernyataan,




Nur Aisyah Amini
NPM. 2227021014

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Negara Tulang Bawang pada tanggal 06 Juni 1998, sebagai anak ketiga dari empat bersaudara, dari Bapak Alfani Hadi dan Ibu Jurmiati. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) Dharma Putri diselesaikan tahun 2004, Sekolah Dasar (SD) PG Bungamayang diselesaikan pada tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP PG Bungamayang pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA AL-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sarjana di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN), dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada tahun 2020. Pada tahun 2022, penulis tercatat sebagai Mahasiswa Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Rekayasa Genetika Program Studi Biologi Terapan.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT, Dzat yang maha agung yang memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan mengharap ridho dari Allah SWT maka karya ini ku persembahkan kepada:

Kedua Orang Tuaku Tercinta Bapak Alfan Hadi dan Ibu Jurmiati yang selalu memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tak henti-hentinya, memberikan dukungan moril maupun materil, serta menjadi pengajar terbaik sepanjang hayatku.

Para guru dan dosen yang telah mendidik dan mengajarku hingga hari ini dengan kesabaran, dedikasi, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu.

Rekan-rekan seperjuanganku yang selalau memberikan semangat, yang selalu memberikan dukungan, dan yang banyak memberikan pengalaman berharga

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung.

MOTTO

*"Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat."
(Q.S Al-Mujadilah: 11)*

Ilmu tanpa amal adalah kegilaan, dan amal tanpa ilmu adalah kesia-siaan." - Imam Ghazali

“Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju Syurga.”
-(HR. Muslim).

“Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan sekecil apa pun, niscaya dia akan melihat (balasan)nya.” -Q.S Al Zalzalah: 7.

"Ketahuilah bahwa kemenangan bersama kesabaran, kelapangan bersama kesempitan, dan kesulitan bersama kemudahan."
-HR Tirmidzi

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Sains pada Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dengan tesis yang berjudul “**Analisis Pola DNA dan Karakterisasi Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Lokal Lampung Resisten Cekaman Kekeringan**”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., dengan judul “**Perakitan Kultivar Cassava Unggul (*Manihot esculenta* Crantz) Lokal Lampung Resisten Cekaman Kekeringan Berbasis Bioteknologi dan Deteksi Molekular**”, yang didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung, berdasarkan Surat Perjanjian (Kontrak) Penyelenggaraan “Penelitian Terapan Universitas Lampung” Nomor : 806/UN26.21/PN/2023 Tanggal 10 April 2023.

Penulis menyadari dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari peranan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku pembimbing I sekaligus Pembimbing Akademik atas waktu dan tenaga yang telah sabar memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, arahan, saran serta masukan kepada penulis dalam proses perkuliahan, penelitian, dan penyusunan tesis ini.
2. Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU., pembimbing II yang telah

3. membimbing, memberi masukan, nasehat, kritik dan saran serta membantu penulis menyelesaikan tesis ini.
 4. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih M.Si., selaku pembahas I yang telah memberikan saran, kritik, nasehat dan koreksi selama penulis menyelesaikan tesis ini.
 5. Bapak Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku pembahas II yang telah banyak memberikan masukan, arahan, nasehat, dan waktu terhadap penulis dalam penyelesaian tesis ini.
 6. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
 7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
 8. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
 9. Bapak Dr. Jani Master, M. Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
 10. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Ketua Prodi Program Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
 11. Bapak dan Ibu Dosen serta segenap Karyawan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang tidak bisa disebutkan satu-persatu atas ilmu, bimbingan, dan bantuan kepada penulis.
 12. Kedua orang tuaku, kakak dan adikku terima kasih atas do'a, dukungan, dan nasehat kepada penulis. Teman seperjuangan penelitian Amirah Afifah Melta atas bantuan, dukungan, dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian.
- Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak baik penulis maupun pembaca.

Bandar Lampung, 05 Mei 2024
Penulis

Nur Aisyah Amini

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Kerangka Pemikiran.....	3
1.4. Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	6
2.2. Cekaman Kekeringan.....	8
2.3. <i>Polyethylene Glycol</i> (PEG)	8
2.4. Biosintesis Klorofil	9

2.5. Gula Reduksi.....	11
2.6. Deteksi Mutan dengan PCR.....	13
III. METODE PENELITIAN	15
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.3. Rancangan Percobaan	16
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	16
3.4.1 Persiapan Medium Tanam	18
3.4.2 Penanaman Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	18
3.4.3 Pembuatan PEG 6000	18
3.4.4 Pengaplikasian PEG 6000 dan Pengamatan.....	18
3.4.5 Pengamatan	19
3.4.5.1 Persentase Jumlah Tanaman yang Hidup.....	19
3.4.5.2 Visualisasi Tanaman	19
3.4.5.3 Analisis Kandungan Klorofil	19
3.4.5.4 Analisis Kandungan Gula Reduksi	20
3.4.5.5 Pola DNA Cassava dengan PCR.....	22
3.5 Analisis Data.....	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Persentase Jumlah Tanaman Hidup dan Visualisasi Tanaman	26
4.2. Analisis Kandungan Klorofil	29
4.2. Analisis Kandungan Gula Reduksi	35
4.2. Analisis Pola DNA Tanaman Cassava.....	37
V. KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Percobaan	16
2. Primer RAPD	23
3. Kondisi Reaksi PCR-RAPD	23
4. Persentase Jumlah Tanaman Cassava Hasil Seleksi dengan PEG 6000	26
5. Persentase Visualisasi Tanaman Cassava Hasil Seleksi dengan PEG 6000	27
6. Rata-rata kandungan klorofil a tanaman cassava	30
7. Rata-rata kandungan klorofil b tanaman cassava	31
8. Rata-rata kandungan klorofil total tanaman cassava	32
9. Perbandingan Konsentrasi Gula Reduksi dan Absorbansi	35
10. Rata-rata kandungan gula reduksi tanaman cassava	36
11. Jumlah Pita Hasil Amplifikasi PCR-RAPD Pada Tanaman Cassava yang berumur 45 hari dan diberi Perlakuan PEG 6000 selama 15 hari	37
12. Pola Pita DNA dengan Primer OPB_20 Tanaman Cassava	38
13. Jumlah Tanaman hidup dan Visualisasi tanaman	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia PEG	9
2. Struktur Fungsi Klorofil a dan Klorofil.....	11
3. Bagan Alir Peneltia.....	17
4. Tanaman Cassava berumur 45 hari setelah diberikan PEG	28
5. Pola pita DNA Tanaman Cassava dengan primer OPB_20	40
6. Kurva Regresi Hubungan Kandungan Klorofil a Tanaman Casaava dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	59
7. Kurva Regresi Hubungan Kandungan Klorofil b Tanaman Casaava dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	62
8. Kurva Regresi Hubungan Kandungan Klorofil total Tanaman Casaava dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi..	64
9. Kurva standar gula reduksi	64
10. Grafik Kandungan Gula Reduksi Cassava dengan Pemberian PEG 6000 pada berbagai konsentrasi	67

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cassava atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman pangan penting sebagai penghasil karbohidrat terbesar ketiga di Indonesia setelah jagung dan padi. Cassava digunakan sebagai bahan dasar dalam industri makanan dalam bentuk pati (Yuliati dkk., 2019). Ekspor komoditas tanaman pangan, seperti cassava juga berkontribusi pada devisa negara. Indonesia adalah produsen cassava terbesar ketiga di dunia, setelah Thailand dan Nigeria (Permadi dkk., 2018).

Di Indonesia, cassava digunakan tidak hanya pada bagian umbinya saja, tetapi dari umbi hingga pucuk daunnya sebagai pakan ternak, bahan baku industri, dan bahan pangan. Cassava memiliki potensi yang luar biasa, pemanfaatannya sebagai bahan pangan masih sangat rendah (Dewi dan Hapsari, 2019). Selama bertahun-tahun, cassava telah digunakan sebagai bahan pangan. Cassava juga digunakan untuk membuat bahan baku industri seperti MOCAF (*Modified Cassava Flour*) dan tepung tapioka yang rendah amilum tetapi tinggi amelopektin (Andarini dkk., 2019).

Adanya program pemerintah untuk menggunakan sumber energi pertanian alternatif (*liquid biofuel*), seperti biodiesel dan bioetanol, serta diversifikasi makanan lokal, akan memastikan bahwa peran cassava dalam industri akan terus meningkat (Sundari, 2015). Produksi tanaman cassava nasional mengalami penurunan sebesar 0,06% per tahun (Anggraini dkk., 2016). Produktivitas cassava yang menurun, sehingga perlu adanya peningkatan

kualitas cassava dan mengoptimalkan pemanfaatannya dalam masyarakat . Hal tersebut dapat meningkatkan pemanfaatan lahan kering di Indonesia yang masih sangat luas sebagai lahan tanaman pangan salah satunya cassava . Kebutuhan pangan dan industri cassava di Indonesia dapat lebih dioptimalkan lagi pemanfaatannya dalam masyarakat. Kualitas cassava dapat ditingkatkan dengan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kondisi kering (Su'udi dkk., 2022).

Kondisi kekeringan dapat menyebabkan stres pada tanaman, sehingga dapat menyebabkan penurunan kualitas produksi dan produktivitas tanaman (Ahmad *et al.*, 2020). Sejak tahun 1990-an, Lampung telah mengalami penurunan curah hujan, yang membuat wilayah tersebut tidak dapat memenuhi kebutuhan air untuk pertanian (Manik dkk., 2014). Kelangkaan air di dalam tanah menyebabkan kekeringan, yang menghambat pertumbuhan karena metabolisme yang buruk dan menyebabkan tanaman menyerap air dalam jumlah yang tidak mencukupi. Rendahnya curah hujan dapat menyebabkan kekeringan (Sujinah dan Jamil, 2016). Jika tanaman kekurangan air, potensial air dan turgor sel tanaman dapat berkurang. yang menyebabkan kegagalan reproduksi (Matondang dan Nurhayati, 2022).

Salah satu cara deteksi cekaman kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan larutan osmotikum karena dapat mengontrol potensial air pada media tanam. Salah satu jenis bahan osmotikum yang digunakan adalah polietilen glikol (PEG) 6000 (Aini *et al.*, 2019). PEG adalah polimer panjang yang stabil, non ionik, dan larut dalam air. Selain itu, PEG mengontrol potensi air dan tidak berbahaya bagi tanaman karena berfungsi sebagai matriks sub unit etilen oksida (CH -O- CH), yang mengikat 22 molekul air dengan ikatan hidrogen (Aini *et al.*, 2019).

Pemberian larutan PEG 6000 pada beberapa konsentrasi secara *invivo* dan *invitro* dapat mengakibatkan potensial osmotik terhambat dengan kondisi tanah pada kapasitas lapang pada beberapa tanaman, seperti padi (Akbar dkk., 2018), kacang tanah (Yudiwanti dkk., 2018), jewawut (Mapikasari dkk., 2017), jagung (Badami dan Amzeri, 2010), terung (Sinaga dkk., 2015),

gandum (Oztruk *et al.*, 2016), jeruk kepok batu 55 (Ashari dkk., 2018), dan buncis (Nurchayani dkk., 2019a).

Program seleksi cassava dengan menggunakan PEG 6000 dan deteksi mutan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang toleran kekeringan dinilai lebih tepat diarahkan untuk menghasilkan varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Diduga bahwa tanaman cassava yang dapat tumbuh setelah diinduksi dengan larutan PEG 6000 dalam konsentrasi yang berbeda dapat bertahan dalam kondisi kekeringan. Penggunaan PEG 6000 pada cassava dengan skala *green house* dalam konsentrasi yang toleran sejauh ini belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, maka penelitian ini perlu dilakukan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui konsentrasi PEG 6000 toleran pada cassava dengan pertumbuhan optimum.
2. Mengkarakterisasi ekspresi cassava hasil induksi PEG 6000 meliputi kandungan klorofil total, klorofil a, klorofil b, dan kandungan gula reduksi.
3. Membandingkan antara pola DNA cassava yang diberi perlakuan PEG 6000 dengan cassava tanpa perlakuan PEG 6000.

1.3 Kerangka Pikir

Cassava atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman pangan penting sebagai penghasil karbohidrat terbesar ketiga di Indonesia setelah jagung dan padi. Cassava digunakan sebagai bahan dasar dalam industri makanan dalam bentuk pati. Cassava digunakan tidak hanya pada bagian umbinya saja, tetapi dari umbi hingga pucuk daunnya sebagai pakan ternak, bahan baku industri, dan bahan pangan. Namun, meskipun memiliki

potensi yang luar biasa, pemanfaatannya sebagai bahan pangan masih sangat rendah.

Adanya program pemerintah untuk menggunakan sumber energi pertanian alternatif (*liquid biofuel*), seperti biodiesel dan bioetanol, serta diversifikasi makanan lokal, akan memastikan bahwa peran cassava dalam industri akan terus meningkat. Kebutuhan pangan dan industri cassava di Indonesia dapat lebih dioptimalkan lagi pemanfaatannya dalam masyarakat. Kualitas cassava dapat ditingkatkan dengan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kondisi kering. Kondisi kekeringan dapat menyebabkan stres pada tanaman, sehingga dapat menyebabkan penurunan kualitas produksi dan produktivitas tanaman.

Deteksi awal cekaman kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan larutan osmotikum karena dapat mengontrol potensial air pada media tanam. Salah satu jenis bahan osmotikum yang digunakan adalah polietilen glikol (PEG) 6000. Penanda molekular DNA banyak digunakan untuk mengetahui urutan genom tanaman. Meningkatkan revolusi genetika molekular dan efisiensi program pemuliaan tanaman. Penanda DNA meningkatkan informasi genetik yang belum dapat diperoleh dengan penanda protein. Kelebihan penanda DNA adalah mereka dapat digunakan untuk jumlah yang tidak terbatas mencakup seluruh genom tanaman, dan sangat baik untuk menunjukkan keragaman karakter individu. Program seleksi cassava dengan menggunakan PEG 6000 dan dengan deteksi PCR yang toleran kekeringan dinilai lebih tepat diarahkan untuk menghasilkan varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat konsentrasi PEG 6000 yang toleran pada cassava dengan pertumbuhan optimum.
2. Terdapat karakterisasi ekspresi cassava hasil induksi PEG 6000 meliputi penurunan kandungan klorofil total, klorofil a, klorofil b, dan kenaikan pada kandungan gula reduksi.
3. Terdapat perbedaan antara pola DNA cassava dan munculnya pita baru yang diberi perlakuan PEG 6000 dengan cassava tanpa perlakuan PEG 6000.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, tanaman cassava diklasifikasikan menurut Cronquist (1981) dan APG II (2003) sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Euphorbiales
Familia : Euphorbiaceae
Genus : *Manihot*
Species : *Manihot esculenta* Crantz

Tanaman cassava dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 10–700 mdpl, suhu udara 18–35 °C, curah hujan 7600–1.015 mm/tahun, kelembaban udara 60–65%, dan 10 jam penyinaran matahari per hari. Cassava memerlukan curah hujan 150–200 mm pada umur 1–3 bulan, 250–300 mm pada umur 4–7 bulan, dan 100–150 mm pada pertumbuhan selanjutnya hingga fase menjelang panen agar berproduksi dapat dihasilkan secara optimal. Perkembangan umbi yang optimal dan kemudahan pemanenan, ubi kayu lebih baik ditanam pada tanah yang gembur. pH tanah ideal untuk ubi kayu adalah 4,5–8,0, tetapi kebanyakan ubi kayu dibudidayakan di lahan masam (Saleh dkk., 2016).

Cassava adalah semak abadi yang tumbuh terutama pada akarnya yang mengandung zat tepung. Cassava banyak digunakan sebagai makanan, pakan ternak, dan sebagai sumber pati (Ayodele *et al.*, 2019). Menurut Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2022), produktivitas cassava di Provinsi Lampung dari tahun 2014 hingga 2018 mencapai 26,23 ton per ha⁻¹, dengan luas area rata-rata 259.334 ha.

Cassava mengandung banyak karbohidrat, mineral, vitamin, dan nutrisi, serta karotenoid. Profil asam amino esensial kacang-kacangan, seperti kedelai, juga sebanding. Ada hubungan antara fitokimia, yang merupakan bahan antioksidan alami, dan kandungan pada daun cassava. Kandungan nutrisinya dapat menurunkan risiko beberapa penyakit kronis. Sayuran dianggap memiliki efek terapeutik dan membantu mengatur tekanan darah, pencernaan, dan ekskresi. Nutrisi daun 9 cassava dapat berfungsi sebagai sumber protein daun alternatif untuk manusia dan hewan, menurut beberapa penulis (Jacob, 2019).

Pertumbuhan pada tanaman ubi kayu terdiri dari beberapa fase yaitu fase pertumbuhan awal yang terjadi pada saat tanaman berumur 5-15 hari setelah tanam yang ditandai dengan munculnya akar adventitious pada permukaan dasar stek, tumbuh tunas baru dan daun muda. Kemudian pada saat tanaman berumur 15-30 hari setelah tanam mulai terbentuknya daun dan calon umbi. Akar serabut dan umbi akan terbentuk pada saat tanaman berumur 3 bulan sehingga pada saat tersebut merupakan saat yang tepat untuk melakukan pemupukan pada tanaman. Pada saat tanaman berumur 3-6 bulan setelah tanam merupakan fase pertumbuhan batang dan daun secara maksimum. Periode fotosintesis maksimum dan pertumbuhan vegetatif paling aktif terjadi ketika tanaman berumur 4-5 bulan setelah tanam sehingga apabila terjadi gangguan hama atau penyakit, hara dan air pada periode tersebut akan berdampak pada kerugian hasil panen (Saleh dkk., 2016).

2.2 Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan menyebabkan ketersediaan air yang rendah, suplai air di area perakaran meningkat, yang menghambat proses penyerapan air oleh akar tanaman karena potensi air dalam tumbuhan. Faktor-faktor yang menunjukkan kondisi kekeringan adalah fase pertumbuhannya vegetatif, yang ditunjukkan dengan penurunan berat tanaman, diameter batang yang lebih kecil, dan ukuran daun yang lebih kecil (Jamaludin dan Ranchiano, 2021). Tanaman dipengaruhi oleh cekaman kekeringan dari segi morfologi, anatomi, dan fisiologi, dan cekaman ini menurunkan aktivitas fotosintesis tanaman, yang mengakibatkan penurunan produktivitas tanaman (Moonmoon dan Islam, 2017).

Pertumbuhan vegetatif tanaman dipengaruhi oleh defisit air. Tekanan turgor menentukan proses ini pada sel tanaman. Hilangnya turgiditas dapat menghentikan pertumbuhan sel, termasuk penggandaan dan pembesaran, sehingga pertumbuhan tanaman terhambat (Jumin, 2016). Selain itu, cekaman kekeringan menurunkan tinggi tanaman, berat kering, rasio tajuk akar, dan kadar air relatif daun. Cekaman kekeringan juga meningkatkan skor penggulungan dan pengeringan daun (Samyuni dkk., 2015).

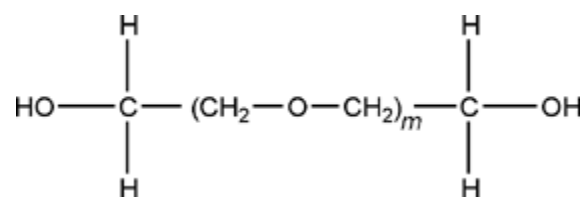
2.3 *Polyethylen Glycol (PEG) 6000*

PEG menghambat pertumbuhan tanaman dan mengurangi biomassa segar. PEG dengan berat molekul 6000 telah banyak digunakan dalam penelitian untuk mengukur bagaimana tekanan terkait air mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Ahmad *et al.*, 2018).

PEG 6000 merupakan zat kimia inert dan non toksis dengan berat molekul tinggi. Pada konsentrasi tertentu, PEG 6000 dapat menginduksi kondisi kekurangan air sebagaimana yang terjadi pada tanah kering (Mirbahar *et al.*, 2013).

PEG adalah bahan kimia yang paling umum digunakan dalam uji skala laboratorium untuk cekaman kekeringan. Ini karena PEG cepat larut dalam air dan memiliki kemampuan untuk menurunkan potensial air, sehingga digunakan sebagai media untuk mensimulasikan penurunan potensial air (Nurmalasari, 2018). PEG tidak larut dalam air yang memiliki suhu tinggi dan dapat digunakan sebagai agen penyeleksi sifat ketahanan gen terutama gen toleran terhadap kekeringan (Haris, 2017).

Struktur kimia dari molekul PEG disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia PEG
(Sumber: Rowe *et al.*, 2009)

PEG bekerja dengan cara menarik air tidak hanya dari sel tetapi juga dari dinding sel dan juga mempengaruhi ketersediaan air dalam media tanam (Gharoobi *et al.*, 2012). Diantara osmotik molekul rendah yang lainnya, PEG meniru cara yang serupa dengan tanah di bawah situasi stres kelembaban dan karenanya, telah digunakan untuk memilih genotipe toleran kekeringan di bawah kondisi laboratorium (Manonmani *et al.*, 2020).

2.4 Biosintesis Klorofil

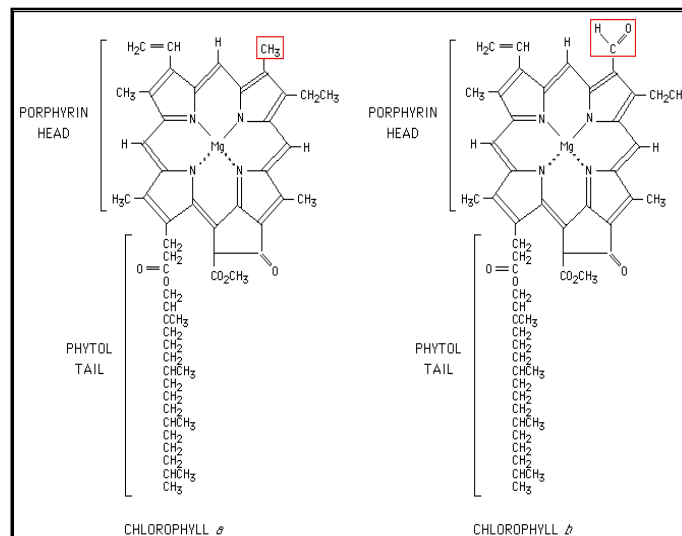
Klorofil adalah pigmen hijau yang ditemukan di sebagian besar tanaman. Berasal dari bahasa Yunani *chloros* (hijau) dan *phyllon* (daun). Klorofil a berwarna kuning kehijauan, adalah pigmen fotosintesis utama pada tanaman hijau untuk transfer energi cahaya ke akseptor kimia. Cahaya yang diserap menyediakan energi untuk fotosintesis. Pigmen fotosintetik memungkinkan tanaman menyerap energi dari cahaya, sehingga kandungan klorofil daun

adalah faktor kunci mempengaruhi kinerja fotosintesis tanaman (Inanc, 2011; Hailemichael *et al.*, 2016).

Klorofil merupakan pigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis. Pigmen tersebut ditemukan pada tanaman tingkat tinggi, pakis, lumut, alga, dan organisme prokariota, terdiri dari klorofil a dan klorofil b sebagai pigmen pelengkap. Proses fotosintesis, terdapat 3 fungsi utama dari klorofil yaitu pertama memanfaatkan energi matahari, kedua memicu fiksasi CO₂ menjadi karbohidrat dan ketiga menyediakan dasar energetik bagi ekosistem secara keseluruhan. Karbohidrat yang dihasilkan fotosintesis melalui proses anabolisme diubah menjadi protein, lemak, asam nukleat, dan molekul organik lainnya (Bahri, 2010; Inanc, 2011).

Pada tanaman tingkat tinggi ada 2 macam klorofil yaitu klorofil a (C₅₅H₇₂O₅N₄Mg) yang berwarna hijau tua dan klorofil b (C₅₅H₇₀O₆N₄Mg) yang berwarna hijau muda. Klorofil a dan klorofil b paling kuat menyerap cahaya di bagian merah (600-700 nm), sedangkan yang paling sedikit cahaya hijau (500-600 nm), serta cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid. Karotenoid membantu menyerap cahaya, sehingga spektrum cahaya matahari dapat dimanfaatkan dengan lebih baik. Energi yang diserap oleh klorofil b dan karotenoid diteruskan kepada klorofil a untuk digunakan dalam proses fotosintesis fase I (reaksi terang) yang terdiri dari fotosistem I dan II, demikian pula dengan klorofil b. Klorofil a paling banyak terdapat pada Fotosistem II sedangkan klorofil b paling banyak terdapat pada Fotosistem I (Ai, 2011).

Struktur fungsi klorofil a dan klorofil b disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Fungsi Klorofil a dan Klorofil b
(Sumber: Taiz and Zeiger, 1991)

Kedua jenis fotosistem, yaitu I dan II berisi pusat reaksi klorofil yang terkait dengan kompleks penangkapan cahaya, dan rentan terhadap stres, yang akan menyebabkan produksi radikal bebas dan merusak reaksi fotosintesis. Infeksi *Fusarium* dapat mempengaruhi reaksi terang dan gelap fotosintesis.

Pengurangan kandungan klorofil menyebabkan nekrosis dan layu pada daun. Senyawa toksik sangat merusak jaringan fotosintesis (klorofil a dan klorofil b). Karena itu, jaringan tidak dapat menangkap cahaya untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan dalam fotosintesis. Klorofil a lebih sensitif dan terjadi defisit secara drastis dibandingkan dengan klorofil b. Penetrasi patogen menyebabkan nekrosis dan klorosis akibat senyawa toksik dalam kloroplas sel inang (Dehgahi *et al.*, 2015; Dehgahi *et al.*, 2016).

2.5 Gula Reduksi

Kandungan gula reduksi pada suatu bahan dapat mempengaruhi karakteristik produk (Widiantara dkk., 2018). Gula pereduksi merupakan golongan gula karbohidrat yang dapat mereduksi senyawa – senyawa penerima elektron,

contohnya adalah glukosa dan fruktosa. Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Gula reduksi adalah gula yang memiliki gugus aldehid (aldosa) atau keton (ketosa) bebas. Aldosa mudah teroksidasi menjadi asam aldolat, sedangkan ketosa hanya dapat bereaksi dalam suasana basa. Secara umum, reaksi tersebut digunakan dalam penentuan gula secara kuantitatif. Penggunaan larutan Fehling merupakan metode pertama dalam penentuan gula secara kuantitatif. Larutan Fehling merupakan larutan alkalin yang mengandung tembaga (II) yang mengoksidasi aldosa menjadi aldolat dan dalam prosesnya akan tereduksi menjadi tembaga (I), yaitu Cu_2O yang berwarna merah bata dan mengendap. Maltosa dan laktosa adalah contoh gula reduksi. Sifat gula pereduksi ini disebabkan adanya gugus aldehida dan gugus keton yang bebas, sehingga dapat mereduksi ion-ion logam (Rohman, 2013).

Sebagai pemanis, glukosa biasanya digunakan. Selain itu, glukosa memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan panas, yang menghasilkan reaksi pencoklatan non-enzimatik, seperti reaksi Maillard dan karamelisasi. Reaksi Maillard adalah reaksi yang terjadi antara karbohidrat yang mengandung gula reduksi dengan gugus amina primer yang menghasilkan warna coklat atau melanoidin. Ini terlihat pada roti, biasanya roti yang dipanggang, karena peran gula reduksi, yaitu glukosa, dalam reaksi Maillard dan karamelisasi (Ridhani dkk., 2021).

Untuk menghitung penurunan kadar gula, metode Nelson Somogyi menggunakan pereaksi tembaga-arsenol-molibdat. Reaktan Nelson Somogyi bertindak sebagai oksidator antara kuprooksida, yang bereaksi dengan gula reduksi untuk menghasilkan endapan merah bata. Dalam kasus ini, pereaksi Somogyi adalah pereaksi tembaga alkali yang mengandung Na_2PO_4 anhidrat dengan garam K-Na-tartrat, yang juga dikenal sebagai garam Rochelle. Di sisi lain, pereaksi Nelson mengandung H_2SO_4 , amonium molibdat, dan $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Konsentrasi gula dalam sampel dapat diukur dengan membandingkannya dengan larutan standar. Dengan mengukur absorbansi

sampel, reaksi warna dapat menunjukkan konsentrasi gula dalam sampel. Salah satu metode kimiawi yang dapat digunakan untuk menganalisis karbohidrat adalah metode oksidasi kupri, yang merupakan bagian dari metode Nelson-Somogyi. Karena adanya senyawa gula yang menurun pada bahan, kupri oksida tereduksi menjadi kupro oksida, yang merupakan dasar metode ini. Biasanya, reagen yang digunakan adalah campuran kupri sulfat, asam karbonat, natrium sulfat dan K-Na-tartrat (reagen Nelson Somogy) (Rohman, 2013).

2.6 Deteksi Mutan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Penanda molekular DNA banyak digunakan untuk mengetahui urutan genom tanaman. Ini membawa revolusi genetika molekular dan meningkatkan efisiensi program pemuliaan tanaman. Penanda DNA 18 meningkatkan informasi genetik yang belum dapat diperoleh dengan penanda protein. Kelebihan penanda DNA adalah mereka dapat digunakan untuk jumlah yang tidak terbatas dan mencakup seluruh genom tanaman, tidak terpengaruh oleh regulasi perkembangan tanaman, dan sangat baik untuk menunjukkan keragaman karakter individu (Sihotang dkk., 2022).

Teknologi PCR telah meningkatkan ilmu pengetahuan di banyak bidang. Misalnya, dalam bidang pertanian, PCR digunakan untuk menganalisis keragaman genetik tanaman, membuat sidik jari DNA tanaman, melakukan seleksi berbantu marka molekular, menemukan patogen, dan melakukan rekayasa genetika tanaman (Efendi *et al.* 2015; Pardal *et al.*, 2020).

Berhasilnya proses PCR salah satunya ditentukan oleh primer yang digunakan; oleh karena itu, untuk memperoleh desain primer terbaik, kriteria tertentu harus dipenuhi (Sasmitha *et al.*, 2018). Menurut Sasamito *et al.* (2014), primer adalah molekul ligan nukleotida untai tunggal yang terdiri dari sekitar 30 basa dan memainkan peran penting dalam proses PCR. Teknik PCR dimaksudkan untuk memperbanyak, atau mengamplifikasi,

materi genetik, terutama DNA, secara *in vitro* (Bartlett & Stirling, 2003; Carson *et al.*, 2019). Menurut El Sheikha *et al.* (2018), sampel DNA atau cetakan DNA, juga dikenal sebagai template, dapat digunakan untuk menghasilkan sebagian besar segmen DNA yang memiliki panjang dan urutan basa tertentu. Wilson & Walker (2022) menyatakan bahwa PCR adalah metode yang cepat, sensitif, dan akurat untuk mengamplifikasi DNA target.

Teknik PCR memiliki banyak manfaat, jadi hingga saat ini masih digunakan. Para peneliti terus mengembangkan dan memperbaiki metode yang ada. Pada awalnya, teknik PCR dimulai dengan *thermocycler* sederhana yang dapat mengubah suhunya untuk mendukung tiga proses utama: denaturasi, annealing (penempelan primer), dan ekstensi (pemanjangan) (Budiarto. 2015).

Sintesis fragmen spesifik DNA (gen target) secara enzimatik dalam jumlah besar dilakukan melalui proses yang dikenal sebagai *polymerase chain reaction* (PCR) (Ehtisham *et al.* 2016). Metode PCR menggunakan pengulangan siklus suhu, dengan tahap denaturasi 95 derajat Celcius, tahap annealing 40 hingga 70 derajat Celcius, dan tahap ekstensi 72 derajat Celcius. Tahap ini, di mana primer menempel pada utas DNA tertentu, membutuhkan suhu ideal untuk menempel dengan sempurna pada target sekuen DNA (Erjavec). Efisiensi PCR juga harus diuji.

Temperatur annealing (T_a) adalah suhu fase kedua setelah denaturasi pada siklus temperatur PCR. Tujuannya adalah untuk mengikat utas primer dengan utas DNA target. Pada tahap amplifikasi DNA, suhu yang ideal sangat penting untuk keberhasilan proses karena penempelan primer terjadi pada area target DNA yang membutuhkan suhu yang ideal. Jika suhu ini tidak tercapai, produk DNA yang dihasilkan tidak akan maksimal (Nurjayadi *et al.*, 2019). Hasil elektroforesis dari deret suhu annealing sampel PCR dapat digunakan untuk mengukur suhu annealing ideal.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2023 di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, serta Laboratorium Rekayasa Genetika, Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah paranet, tajar bambu, sekop kecil, botol semprot, aluminium foil, pinset, scalpel, erlenmeyer berukuran 50 ml, corong, micropipet, kertas label, mikroskop, spektrofotometri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, gelas ukur, batang pengaduk, *polybag*, *waterbath*, *centrifuge*, *vortex*, *microwave*, mesin PCR, *Tube PCR*. Alat untuk elektroforesis yaitu sisir pencetak sumuran dan untuk melihat hasilnya yaitu UV transiluminator dan kamera

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman cassava yang berumur 45 hari, alkohol 96%, akuades, *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000, pupuk organik, tisu, kertas filter, tanah, sukrosa, H_2SO_4 , fenol, glukosa, regensia nelson a, regensia nelson b, regensia arsenomolybdat, buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 μ M Tris-HCl pH 8, 1.4 NaCl, 2-mercaptoethanol, 20 μ M EDTA pH 8), kloroform : isoamil alkohol (24:1), ethanol 70, akuabides steril, TE, primer OPB_14, OPB_20, Premix PCR (Kit bio line 12,5 μ L, primer 2,0 μ L pada konsentrasi 100 μ M, DNA template 2,0 μ L pada konsentrasi 40 ng/ μ L dan Nuclease Free Water 8,5 μ L). Elektroforesis dengan buffer (500 mL buffer 1x, minigel agarose 1,5% (g/v), good view).

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu konsentrasi PEG 6000 yang dibagi atas 5 taraf, yaitu 0%, 10%, 20%, 30%, dan 40%. Masing-masing dari konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali, dan pada setiap ulangan terdiri dari 1 bibit tanaman cassava dalam setiap polybag. Parameter yang diuji yaitu jumlah tanaman yang hidup, visualisasi tanaman, kandungan klorofil total, klorofil a, klorofil b, kandungan gula reduksi, dan analisis pola DNA.

Tata Letak Percobaan disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Tata Letak Percobaan

Jenis Sampel				
A2U2	A5U3	A4U1	A1U1	A3U1
A1U5	A4U5	A3U5	A2U5	A5U5
A4U3	A3U2	A1U2	A3U3	A4U4
A3U4	A2U3	A5U4	A5U1	A1U4
A1U3	A5U2	A2U1	A4U2	A2U4

Keterangan:

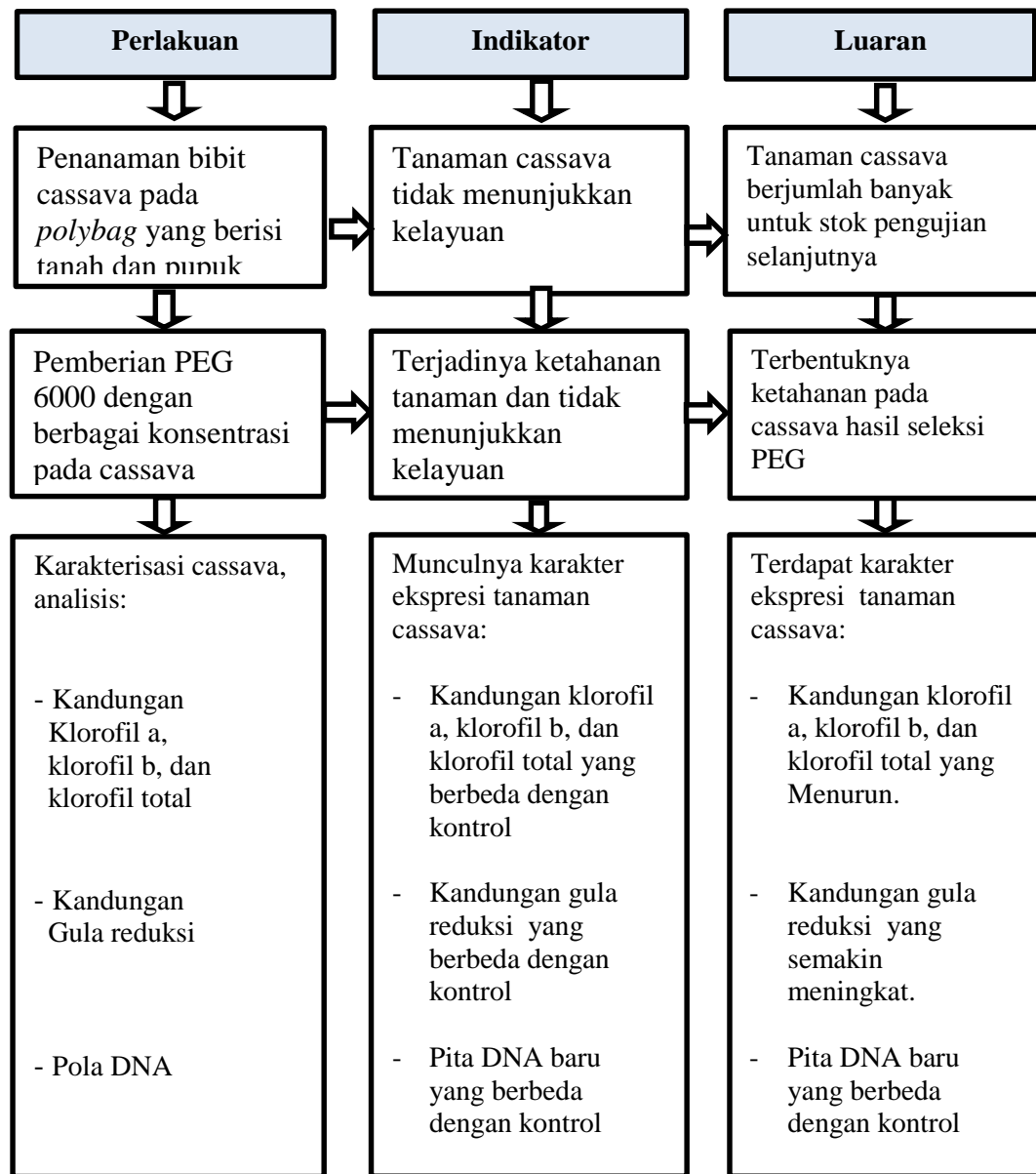
A1-A5 : Konsentrasi PEG 6000

U1-U5 : Ulangan 1-5

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu: 1) Penanaman bibit cassava ke dalam *polybag* yang berisi tanah dan pupuk organik dengan perbandingan 1:1 ; 2) Persentase jumlah tanaman cassava yang hidup dan visualisasi cassava ; 3) Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi tanaman cassava ; 4) Analisis karakter yang spesifik pada tanaman cassava resisten terhadap cekaman kekeringan meliputi analisis kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total, analisis kandungan gula reduksi, dan analisis pola DNA.

Tahapan penelitian ini disajikan dalam bentuk bagan alir pada Gambar 3.



Gambar 3. Bagan alir penelitian

Berikut ini merupakan uraian dari tahapan penelitian yang tertera pada bagan alir (Gambar 3).

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa langkah. Adapun langkah-langkah dalam penelitian ini sebagai berikut.

3.4.1. Persiapan Medium Tanam

Media tanam yang digunakan yaitu tanah dan pupuk organik dengan perbandingan 1 : 1, kemudian media yang sudah siap dimasukkan ke dalam *polybag* sebanyak 25 buah yang berukuran 1 kg dan disusun pada masing-masing petakan.

3.4.2. Penanaman Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Medium tanam yang telah disiapkan, selanjutnya ditanam bibit cassava pada 25 buah *polybag* yang tersedia.

3.4.3. Pembuatan PEG 6000

Pembuatan PEG 6000 dilakukan dengan cara melarutkan PEG 6000 dalam akuades sesuai konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, dan 40%. Pada konsentrasi 10% dilarutkan PEG sebanyak 10 gram di dalam 100 ml akuades, konsentrasi 20% dilarutkan PEG sebanyak 20 gram di dalam 100 ml akuades, lalu konsentrasi 30% dilarutkan PEG sebanyak 30 gram di dalam 100 ml akuades, dan konsentrasi 40% dilarutkan PEG sebanyak 40 gram di dalam 100 ml akuades.

3.4.4. Pengaplikasian PEG 6000 dan Pengamatan

Cassava yang berumur 30 HST diberikan larutan PEG 6000 dengan cara disiram hanya 1 kali yaitu sebanyak 200 ml pada masing-masing medium tanam sesuai dengan konsentrasi PEG 6000 yang tertera pada label *polybag*. Sedangkan pada PEG 6000 dengan konsentrasi 0% (kontrol) tetap dilakukan penyiraman menggunakan air seperti biasanya. Pengamatan dilakukan pada umur tanaman 45 HST untuk mengetahui karakterisasi tanaman cassava dan analisis pola DNA.

3.4.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada umur tanaman 45HST untuk mengetahui karakterisasi tanaman cassava meliputi parameter sebagai berikut.

3.4.5.1. Persentase Jumlah Tanaman yang Hidup

Perhitungan jumlah tanaman cassava yang hidup dengan menggunakan Rumus 1 menurut Nurcahyani dkk. (2014) adalah:

$$\text{Jumlah tanaman yang hidup} = \frac{\text{jumlah tanaman yang hidup}}{\text{jumlah seluruh tanaman}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

3.4.5.2. Visualisasi Tanaman

Visualisasi tanaman meliputi warna daun tanaman setelah diberikan perlakuan PEG 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, dan coklat (Nurcahyani dkk., 2012).

3.4.5.3. Analisis kandungan klorofil

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun tanaman cassava yang telah diseleksi dengan PEG 6000 menggunakan metode Miazek (2013) dengan spektrofotometer. Daun tanaman cassava yang seragam sebanyak 0,1 gram, kemudian digerus dengan mortar dan ditambahkan 10 ml ethanol 96%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (ethanol 96%) diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet. Setelah itu, dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang sebesar 665 nm dan 649 nm dengan tiga kali ulangan setiap sampel.

Adapun langkah kerjanya sebagai berikut. Kandungan klorofil dihitung dengan menggunakan Rumus 2, Rumus 3, dan Rumus 4, menurut Miazek and Ledakowicz (2013) sebagai berikut.

$$\text{Klorofil a} = (12,21 \times A_{665} - 2,81 \times A_{649}) \text{ mg/l} \quad (2)$$

$$\text{Klorofil b} = (20,13 \times A_{649} - 5,03 \times A_{665}) \text{ mg/l} \quad (3)$$

$$\text{Klorofil total} = (17,3 \times A_{665} + 7,18 \times A_{649}) \text{ mg/l} \quad (4)$$

Keterangan:

A_{665} = Absorbansi pada panjang gelombang 665 nm

A_{649} = Absorbansi pada panjang gelombang 649 nm

3.4.5.4. Analisis Kandungan Gula Reduksi

Bahan untuk analisis kandungan gula reduksi menggunakan daun tanaman cassava yang telah diberikan PEG 6000 dan tanpa perlakuan (kontrol). Analisis kandungan gula reduksi menggunakan metode Somogyi-Nelson (1994) dengan langkah-langkah sebagai berikut.

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi Gula Reduksi

Pembuatan larutan glukosa standar (10 mg glukosa/100 mL), dilakukan pengenceran larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/100 mL yang masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan 1 tabung berisi akuades sebagai blanko. Lalu ditambahkan 1 mL Reagensia Nelson (Nelson a 25 bagian dan Nelson b 1 bagian) ke dalam masing-masing tabung. Larutan yang telah ditambahkan Nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan tersebut kemudian didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu tabung 25° C, lalu ditambahkan 1 mL Reagensia Arsenomolybdat, kocok hingga homogen. Larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada panjang

gelombang 540 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

2. Penentuan Kandungan Gula Reduksi

Ekstrak daun cassava segar berumur 45 hari (larutan ekstrak harus jernih) masing-masing dengan konsentrasi diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml Regensia Nelson ke dalam masing-masing tabung. Larutan yang telah ditambahkan Regensia Nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan kemudian didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin hingga suhu tabung 25°C. Setelah itu, larutan ditambahkan 1 mL Regensia Arsenomolybdat kemudian kocok hingga semua sendapan larut kembali. Setelah larutan tercampur secara homogen, larutan ditambahkan 7 mL akuades lalu dikocok kembali hingga homogen. Larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada Panjang gelombang 540 nm. Selanjutnya yaitu membuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

Menurut Pujiati dan Novi (2016), kandungan gula reduksi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kandungan gula reduksi (\%)} = \frac{X \times F_p}{B_s} \times 100\% \dots \dots \dots (5)$$

Keterangan:

X : Nilai x sampel

Fp : Faktor pengenceran

3.4.5.5. Pola DNA Cassava dengan Metode PCR

1. Isolasi DNA Cassava

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan metode Doyle dan Doyle (1990). Sebanyak 0,1 gram daun cassava berumur 45 hari ditimbang dan digerus dengan menggunakan *mortar dan pestle*, ditambah 1,5 ml buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl pH 8, 1.4 M NaCl, 2-mercaptoethanol, 20 mM EDTA pH 8) dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Suspensi tersebut diinkubasi pada suhu 65 °C selama 40 menit dalam *water bath* dan dibolak-balik secara kontinyu, kemudian disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru dan ditambahkan campuran kloroform : isoamilalkohol (24:1). Tabung eppendorf divortex hingga homogen dan disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. Diambil lapisan bagian atas (supernatan), kemudian ditambahkan isopropanol dingin (-20 °C). Campuran tersebut diinkubasi pada -20 °C selama 1 jam, kemudian tabung disentrifuse pada kecepatan 14.000 rpm selama 4 menit dan supernatan dibuang. Pelet DNA yang terbentuk di dasar tabung eppendorf dicuci dengan etanol 70% lalu disentrifuse pada 14.000 rpm selama 3 menit. Cairan etanol 70% dibuang dan pelet DNA yang dihasilkan dikeringanginkan kemudian pelet DNA ditambah 100 µl air steril dan disimpan pada suhu -20 °C.

2. Analisis pola DNA Cassava dengan metode RAPD

(PCR-RAPD):

Untuk analisis PCR, disiapkan DNA *template* yang telah dilarutkan dalam TE, *ice box*, dan primer yang digunakan (Tabel 2). Premix PCR dibuat dengan komposisi: kit Bio Line sebanyak 12,5 µL, primer 2,0 µL pada konsentrasi 100 µM, DNA *template* 2,0 µL pada konsentrasi 40 ng/µL, dan Nuclease Free Water sebanyak 8,5 µL, sehingga volume totalnya adalah 25,00 µL.

Tabel 2 . Primer RAPD

No	Primer	Urutan Nukleotida (5'—3')	Referensi
1	OPB_20	GGA CCC TTA C	Minoo <i>et al.</i> , 2008; Nurchayani <i>et al.</i> , 2016

Premix diamplifikasi dengan mesin PCR (*GeneAmp 2400*). Kondisi reaksi untuk pelaksanaan proses PCR-RAPD mengikuti metode Williams *et al.* (1990) (Tabel 2).

Tabel 3. Kondisi Reaksi PCR-RAPD

Reaksi	Temperatur (°C)	Waktu (detik)	
Pre-denaturasi	95	180	} Siklus : 45 x
Denaturasi	95	15	
<i>Annealing</i>	36	15	
Elongasi	72	30	
Post-elongasi	72	420	

3. Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan pembuatan 500 mL *buffer* TBE1x dengan cara diambil 50 mL larutan *buffer* TBE10x, kemudian diencerkan pada gelas ukur 500 mL dengan ditambahkan akuades sampai tanda 500 mL lalu dihomogenkan. Minigel agarose 1,5% (g/v) dibuat dengan cara 1,5 g *agarose* dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 100 mL TBE1x lalu dihomogenkan, kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* (t= 100 °C; sekitar 2 menit) sampai semua larut.

Larutan selanjutnya didinginkan sampai suhu lebih kurang 50-55 °C, lalu ditambahkan *Good View* sebanyak 5 µL. Agarose cair tersebut dituangkan ke dalam *glassplate* dengan sisir tegak lurus. Gel ditunggu

sampai menjendal selama sekitar 30 menit dan setelah dingin sisir diangkat. Gel kemudian dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis yang telah diisi *buffer* TBE 1% (v/v). Proses *running* dilakukan pada tegangan 100 volt selama sekitar 30 menit Sampel DNA sebanyak 25 μL (hasil *running PCR*) dimasukkan ke dalam sumuran yang terdapat dalam gel tersebut dengan menggunakan mikropipet. Sebanyak 10 μL DNA *marker* selanjutnya dimasukkan pada sumuran di ujung kiri gel. Proses *running* dilakukan pada tegangan 100 volt selama sekitar 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan sinar UV dari UV *Transiluminator*.

3.5 Analisis Data

Data berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif yang didukung oleh foto. Data kuantitatif ditabulasi dengan faktor konsentrasi yang berbeda. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) dan jika terdapat beda nyata dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey (Beda Nyata Jujur) pada taraf nyata 5% (Sastrosupadi, 2000).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dalam penelitian ini yaitu:

1. Konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi tanaman cassava pada pertumbuhan optimum adalah 40%.
2. Karakter ekspresi pada tanaman cassava yang mengalami cekaman kekeringan dengan PEG 6000 secara *in vivo* meliputi:
 - a. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total tanaman cassava mengalami penurunan.
 - b. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan gula reduksi pada tanaman cassava mengalami peningkatan.
3. Terdapat pita DNA baru (spesifik) pada tanaman cassava hasil pemberian PEG 6000 tahan terhadap cekaman kekeringan, dengan ukuran 1.100 bp (OPB_20).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman cassava dengan skala lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B., Dailami, M., Listyorini, F.H., and Munarti. 2017. Genetic Variations and Relationships of Papua's Endemic Orchids Based on RAPD Markers. *Natural Science*. 9(11): 377-385.
- Afzal, S., Chaudhary N., and Singh N.K. 2021 Plant Growth Regulators: Signalling under Stress Conditions. *Springer Nature*. pp. 305–334.
- Ahmad, A., Sija, P., and Melati, R. 2020. The Evaluation of Gorontalo Local Upland Rice Against Drought Stress During Germination Phase. *FANRes*. 53–58.
- Ahmad, H., Zafar, S. A., Naeem, M. K., Shokat, S., Inam, S., Rehman, M. A. ur, Naveed, S. A., Xu, J., Li, Z., Ali, G. M., and Khan, M. R. 2018. Impact of Pre-Anthesis Drought Stress on Physiology, Yield-Related Traits, and Drought-Responsive Genes in Green Super Rice. *Frontiers in Genetics*, 13(March). 1–15.
- Ahmadikhah, A., and Marufinia, A. 2016. Effect of reduced plant height on drought tolerance in rice. *3 Biotech*. 6: 1–9.
- Ai, N.S. 2011. Biomasa dan Kandungan Klorofil Total Daun Jahe (*Zingiber officinale* L.) yang Mengalami Cekaman Kekeringan. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11: 190-195.
- Aini, S. P., Tistama, R., B., Galang, S., and Serdang, D. 2019. Early Detection Of Drought Stress Rubber Seedling (*Heveabrasiliensis*) Of Gt1 Using Polietylen Glycol 6000. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal Of Agronomy)*, 46(2), 133.
- Akbar, M. R., Purwoko, B. S., Dewi, I. S., dan Suwarno, D. W. B. 2018. Penentuan Indeks Seleksi Toleransi Kekeringan Galur Dihadap Padi Sawah Tadah Hujan Pada Fase Perkecambahan. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal Of Agronomy)*, 46 (2). 133
- Al Kayyis, H. K., dan Susanti, H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 13(2): 81-89.
- Andarini, Selian N., dan Ginting S. 2019. Karakteristik Mutu Fisik, Kimia, dan Fungsional Tepung Ubi Kayu dan MOCAF (Modified Cassava Flour)

Characteristic Quality of Physical, Chemical, and Functional Cassava Flour and Mocaf (Modified Cassava Flour) Using Conventional Drying and Mechanical Drying Methods. *Ilmu dan Teknol Pangan Jrekaayasa Pangan dan Pert.*7(2).

- Anggraini, N., Harianto, dan Anggraeni, L. 2016. Efisiensi teknis, alokatif dan ekonomi pada usahatani ubi kayu di Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. *Jurnal Agribisnis Indonesia* (Vol 4 No.1). halaman 43-56.
- APG, (Angiosperm Phylogeny Group) II. 2003. An Update of The Angiosperm Phylogeny Group Classification for The Orders and Families of Flowering Plants: APG II. *Botanical Journal of The Linnean Society*. 141: 399–436.
- Ashari, A., Nurcahyani, E., Qudus, H. I. dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco var. *crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental*. 3(1): 69-79.
- Ayodele, A.O., Mmom, and Ano. 2019. Biofertilizer Impacts on Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Rhizosphere: Crop Yield and Growth Components, Igbariam, Nigeria - Paper 1. *World Journal of Agriculture and Soil Science*. 3(5).
- Azzeme, A.M., Abdullah S.N.A., Aziz M.A., Wahab P.E.M. 2016. Oil palm leaves and roots differ in physiological response, antioxidant enzyme activities and expression of stress-responsive genes upon exposure to drought stress. *Acta Physiol Plant*. 38:52..
- Badami, K., dan Amzeri, A. 2010. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan pada Jagung (*Zea mays*) dengan *Polyethylene Glycol* (PEG). *Agrovigor*. 3(1): 77-86.
- Bahri, S. 2010. *Klorofil*. Diktat Kuliah Kapita Selektia Kimia Organik. Universitas Lampung.
- Banyo, Y.E, Nio A.S, Siahaan P., Tangapo AM.2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada saat Kekurangan Air yang diinduksi dengan Polietilen Glikol. *J Ilm Sains*. 2013;13(1):1.
- Bartlett, J. M. S. dan Stirling, D.2003. *Methods in Molecular Biology, Vol. 226 : PCR Protocols 2nd Editions*. Human Press Inc., Totowa, NJ, p. 81-604.
- Budiarto, B. R 2015. Polymerase Chain Reaction (PCR): perkembangan dan perannya dalam diagnostik kesehatan. *BioTrends* 6(2): 29-38.
- Carson, S., Miller, H. B., Witherow, D. S., and Srougi, M. C. 2019. *Molecular Biology Techniques: A Classroom Laboratory Manual*. Elsevier Inc.

- Choopeng, S., Te-chato, S., and Khawnium, T. 2019. The use of RAPD Marker for Verification of *Dendrobium* hybrid, *D. santana* x *D. friedericksianum* Orchid. *International Journal of Agricultural Technology*. 15(3): 399-408.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Daksa, W. R., Ete, A., & Adrianton. 2014. Identifikasi toleransi kekeringan padi gogo lokal tanangge pada berbagai larutan peg. *Agrotekbis*, 2(April), 114–120.
- Dalal, V. K., and Tripathy, B. C. 2012. Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant, Cell and Environment*: 1–19.
- Dehgahi, R., Latiffah, Z., Azhar, M., Alireza, J., and Sreeramanan, S. 2015. Effects of Fusaric Acid Treatment on The Protocorm-like Bodies of *Dendrobium sonia*-28. *Springer*. 253(5): 1373–1383.
- Dehgahi, R., Subramaniam, S., Zakaria, L., Joniyas, A., Firouzjahi, F.B., Haghnama, K., and Razinataj, M. 2016. Review of Research on Fungal Pathogen Attack and Plant Defense Mechanism against Pathogen. *International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences*. 2(8): 197-208.
- Dewi, I. N., dan Hapsari E. 2019. Manfaat Ubi Kayu dalam Pemenuhan Kebutuhan Hidup Petani HKM Wana Lestari I, Kecamatan Playen, Kabupaten Gunungkidul. *J Hutan Pulau-pulau Kecil*. Oct 1;3(2):136–47.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*. 12(1): 13-15.
- Dziedziński, M., Kobus-Cisowska J., Stachowiak B. 2021. Pinus species as prospective reserves of bioactive compounds with potential use in functional food—Current state of knowledge. *Plants*. 10:1306.
- Efendi, R., Musa Y., Bdr M.F., Rahim M.D., Azrai M., Pabendon M. 2015. Seleksi jagung inbrida dengan marka molekuler dan toleransinya terhadap kekeringan dan nitrogen rendah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 34(1): 43-53.
- Ehtisham, M. 2016. Polymerase chain reaction (PCR): back to basic. *Indian Journal Of Contemporary Dentistry*. 4(2): 30-34.
- El Sheikha, A. F., Levin, R., and Xu, J. 2018. *Molecular Techniques in Food Biology: Safety, Biotechnology, Authenticity, and Traceability*. John Wiley and Sons, Inc.

- Gharoobi, B. M., Ghorbani, and Ghasemi, M. N. 2012. Effects of different levels of osmotic potential on germination percentage and germination rate of barley, corn and canola Iranian. *Journal of Plant Physiology* 2 (2), 413-417.
- Gusmiaty, G., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., dan Larekeng, S. H. 2021. Polimorfisme Penanda RAPD Untuk Analisis Keragaman Genetik Kemiri (*Aleurites mollucana*) di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*. 6(1) : 22-30.
- Hailemichael, G., Catalina, A., González, M.R., and Martin, P. 2016. Relationships Between Water Status, Leaf Chlorophyll Content and Photosynthetic Performance in Tempranillo Vineyards. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 37(2): 149-156.
- Harbourne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata K dan Sudiro I. Penerbit ITB Bandung. p: 259-261.
- Haris, N., Aswidinnoor, H., Toruan-Mathius, N., dan Purwantara, A. 2003. Kemiripan Genetik Klon Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Berdasarkan Metode Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP). *Menara Perkebunan*. 71: 1-15.
- Huo, Y., Wang M., Wei Y., and Xia Z. 2016. Overexpression of the maize psbA gene enhances drought tolerance through regulating antioxidant system, photosynthetic capability, and stress defense gene expression in tobacco. *Front Plant Sci* 6: 1223.
- Ilyani, D.S., Suliansyah, I., & Dwipa, I. 2017. Pengujian resistensi kekeringan terhadap beberapa genotipe padi beras merah (*Oryza sativa*L.) lokal Sumatera Barat pada fase vegetati. *Jaguar: Jurnal Agroteknologi Universitas Andalas*,1(1),6-14.
- Inanc, A. L. 2011. Chlorophyll: Structural Properties, Health Benefits and Its Occurrence in Virgin Olive Oils. *Akademik Gıda*. 9(2): 26-32.
- Jacob, P. 2019. Proximate analysis and SDS-PAGE protein profile of Cassava leaves *MOJES*. 4 (1) : 1–5.
- Jamaludin, dan Ranchiano, G. M. 2021. Pertumbuhan Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*) dalam Polybag pada Beberapa Kombinasi Media Tanam dan Frekuensi Penyiraman Menggunakan Teknologi Irigasi Tetes. *Jurnal Agro Industri Perkebunan*. 9(2): 65-72.
- Jayaweera, J. K. P. T. P., Herath, H. M. V. G., Jayatilake, D. V., Udumulla, G. S., and Wickramasinghe, H. A. M. 2016. Physiological, biochemical and proteomic responses of rice (*Oryza sativa* L.) varieties Godaheenati and Pokkali for drought stress at the seedling stage. *Tropical Agricultural Research* 27(2): 159–170.

- Jumin, H. B. 2016. *Ekologi Tanaman Suatu Pendekatan Fisiologis*. Rajawali Press. Jakarta. 162 hlm.
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia, 2022. Luas panen ubi kayu provinsi lampung menurut data lima tahun terakhir tanaman pangan 2014-2018. <https://www.pertanian.go.id/home/?show=page&act=view&id=61>. Diakses pada 11 September 2023 pukul 20.50 WIB.
- Khoiriyah, N., Yuniastuti, E., and Purnomo, D. 2017. Genetic Diversity of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Based on Molecular Characterization using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 129.
- Larekeng, S.H., Dermawan, R., Iswoyo, H., and Mustari, K. 2019. RAPD Primer Screening for Amplification on Katokkon Pepper from Toraja, South Sulawesi, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 270.
- Li, R.P.G., M.Baum S., Grandoand.S., Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences in China*. 5(10): p.751-757.
- Maisura, M dan Junaedi, A., 2018. Padi toleran kekeringan melalui pendekatan karakter morfofisiologi. *Sefa Bumi Persada*. Aceh. pp.124.
- Manik, T. K., Rosadi B. dan Nurhayati, E. 2014. Mengkaji Dampak Perubahan Iklim Terhadap Distribusi Curah Hujan Lokal di Propinsi Lampung. *Forum Geografi*. 28(1): 71-76.
- Manonmani, K., Jeyaprakash, P., Manonmani, S.,M. R. and, Jeyakumar, P. 2020. Assessment of Drought Tolerance in Nagina 22 Rice Using Poly Ethylene Glycol (PEG) Mutants of Rice Using Poly Ethylene Glycol (PEG). *EJPB*. 11(2), 479–486.
- Mapikasari, S., Adisyahputra, A., & Indrayanti, R. 2017. Perkecambahan 4 Aksesori Jewawut (*Setaria Italica* (L.) P. Beauv) Pada Kondisi Cekaman Kekeringan Artifisial. *Bioma*, 13(1), 43–50.
- Matondang, O. C., dan Nurhayati. 2022. Pengaruh Cekaman Air Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kopi. *Biology Education Science and Technology*. 5(1): 249-254.
- Miazek, K., and Ledakowicz, S. 2013. Chlorophyll Extraction from Leaves, Needles and Microalgae: A Kinetic Approach. *Int J Agric and Biol Eng*. 6(2): 107-115.
- Minoo, D., Jayakumar, V.N., Veena, S.S., Vimala, J., Basha, A., Saji, K.V., Babu, K.N., and Peter, K.V. 2008. Genetic Variations and Interrelationships in

Vanilla planifolia and Few Related Species as Expressed by RAPD Polymorphism. *Genet. Resour Crop.* 55: 459-470.

- Mirbahar, A.A., R. Saeed, G.S., and Markhand. 2013. Effect of polyethylene glycol- 6000 on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination . *Int. J. Biol. Biotech.* 10:401-405.
- Miri, S.M., Mousavi, A., Naghavi, M.R., Mirzaii, M., Talaei, A.R., and Khiabani, B.N. 2009. Analysis of Induced Mutants of Salinity Resistant Banana (*Musa acuminata* cv. Dwarf Cavendish) using Morphological and Molecular Markers. *Iranian Journal of Biotechnology.* 7(2): 86-92.
- Moonmoon, S., and Islam M. T. 2017. Effect of Drought Stress at Different Growth Stages on Yield and Yield Components of Six Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes Fundam. *Appl Agric.* 2(3) p : 285-289.
- Nadir, M., Ansyar, I., & Khaerani, P. I. 2019. Effect of various polyethylene glycol concentrations on the growth of seedlings of *Indigofera zollingeriana*. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 43(1), 1-4.
- Nahar, S., Vemireddy, L.R., Sahoo, L., and Tanti, B. 2018. Antioxidant protection mechanisms reveal significant response in drought-induced oxidative stress in some traditional rice of Assam, India. *Rice Sci.* 25: 185–196.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry.* 153, 375-380.
- Nio, S. A., Pirade, M., & Ludong, D. P. M. 2019. Leaf chlorophyll content In North Sulawesi (Indonesia) local rice cultivars subjected to polyethylene glycol (peg) 8000-induced water deficit at the vegetative phase. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(9), 2462-2467.
- Nuradha, I. T., Yustiati, A., Handaka, A. A., dan Bangkit, I. 2021 . Genetic Relationship of Four Strains of Guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) Using RAPD-PCR Method. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, April, 15–24.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B., dan Suharyanto, E. 2012. Penekanan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum f.sp. vanillae*) melalui Seleksi Asam Fusarat secara *In Vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika. JHPTT.* 12(1): 12-22.
- Nurcahyani, E., Hadisutrisno, B., Sumardi, I., dan Suharyanto, E. 2014. *Identifikasi galur planlet vanili (Vanilla planifolia Andrews) Resisten terhadap infeksi Fusarium oxysporum f. sp. vanillae hasil seleksi in vitro dengan asam fusarat.* Prosiding Seminar Nasional: “Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan”. Perhimpunan Fitopatologi

Indonesia Komda Joglosemar Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978-60271784-0-3./2014. p: 272-279.

- Nurcahyani, E., Agustrina, R., dan Handayani, T.T. 2016. The Protein Profile of the Plantlets of *Spathoglottis plicata* Bl. Induced Resistance to *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Science*. 4(5): 102-105.
- Nurcahyani, E., Mutmainah, N.A., Farisi, S., dan Agustrina, R. 2019a. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) menggunakan Metode Fenol-Sulfur secara *In Vitro*. *Analytical Environment Chemistry*. (4)1: 73-80.
- Nurcahyani, E., Sumardi, Irawan, B., Sari, E.Y., and Sari, T.L. 2019b. In Vitro Study: Induced Resistance of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Plantlet Against *Fusarium oxysporum* Based on Analysis of Phenol Content. *WJPLS*. 5(2): 195-198.
- Nurjayadi, M., Efrianti, U.R., Azizah, N., Julio E., Nastassya L., and Saamia, V. 2019. *Optimum temperature of the amplification of the fljB gene of Salmonella typhimurium*. Empowering Science and Mathematics for Global Competitiveness. London(UK): CRC. Press.
- Nurmalasari, I. R. 2018. Kandungan Asam Amino Prolin Dua Varietas Padi Hitam Pada Kondisi Cekaman Kekeringan. *Gontor Agrotech Science Journal*. 4(1) p : 29–44.
- Nurmasari, F. 2020. Identifikasi keanekaragaman dan pola sebaran hama kutu putih dan musuh alaminya pada tanaman singkong (*Manihot Esculenta*) di Kabupaten Banyuwangi. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 8 (3): 171–77.
- Obidiegwu, J.E, Bryan, G.J., Jones, H.G., and Prashar, A.2015. Coping with drought: Stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Front Plant Sci*.6: 542.
- Ozturk, A., Taskesenligil, B., Haliloglu, K., Aydin, M., and Caglar, O. 2016. Evaluation Of Bread Wheat Genotypes For Early Drought Resistance Via Germination Under Osmotic Stress, Cell Membrane Damage, And Paraquat Tolerance. *Turkish Journal Of Agriculture And Forestry*, 40(2), 146–159.
- Pandiangan, C. A., Susilo, F. X., Hariri, A. M., dan Swibawa, I. G. 2021. Kelimpahan dan keanekaragaman arthropoda permukaan tanah pada beberapa lokasi pertanaman ubi kayu (*Manihot Esculenta* Crantz) di Lampung. *J. Agrotek Tropika* 9 (1): 17–24.
- Pardal, S.J., Rahayu, V.R., Nugroho, K., Suharsono.2020. Analisis keragaman genetik galur kedelai transgenik toleran cekaman aluminium dan varietas nontransgenik berdasarkan marka Simple Sequence Repeat (SSR). *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 4(3): 171-177.

- Permadi, M. A., Rafiqah A. L., dan Lia A.S. 2018. Virulensi beberapa isolat cendawan entomopatogen terhadap nimfa kepik hijau *Nezara Viridula* Linn. (Hemiptera: Pentatomidae). 2 (2): 52–60.
- Rahayu, S., Ghulamahdi, M., Suwarno, W. B., dan Aswidinnoor, H.. 2018. Morfologi Malai Padi (*Oryza sativa* L.) pada Beragam Aplikasi Pupuk Nitrogen. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 46(2) p : 145–152.
- Ridhani, A. M., Vidyaningrum, P. I., Akmala, N. N., Fatihatunisa, R., Azzahro, S., dan Aini, N. 2021. Potensi Penambahan Berbagai Jenis Gula Terhadap Sifat Sensori dan Fisikokimia Roti Manis. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*. 8(3): 61-68.
- Rohman, A. 2013. *Analisis Komponen Makanan*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 214 hlm.
- Rowe, R.C., Sheskey, P., Quinn, M. E., 2009. *Handbook of pharmaceutical Exipients*, 6th edition. London: pharmaceutical press, 697- 755.
- Sambrook, J., Fritsch, E. R., and Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory . New York. pp. 323-358.
- Saleh, N., Abdullah T., Yudi W., Titik S., Dadang G., Ricardo P.R., dan Samsi A.S. 2016. *Pedoman Budi Daya Singkong di Indonesia*. Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Press. Jakarta. 75 hal.
- Saleh, Z., Musa, Y., Farid BDR, M., Riadi, M., Efendi, R., & Azrai, M. 2018. Diallel Cross of Six Inbred Waxy Corn (*Zea mays* L.). *International Journal of Sciences*. 38(2), 254–261.
- Samyuni E, Purwanto, dan Supriyadi. 2015. Toleransi Varietas Padi Hitam (*Oryzasativa* L. Indica) Pada Berbagai Tingkat Cekaman Kekeringan EL-VIVO. *Jurnal Pascasarjana UNS* 3(2) p54 – 63.
- Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S., and Yowani, S. C. 2018. Desain Dna Primer Secara In Silico Sebagai Pendeteksi Mutasi Gen *GyrA* Mycobacterium Tuberculosis Untuk Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia. Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry*. 6(1), 63-69.
- Sasmito, D. E. K., Rahadian, K., dan Muhimmah, I. 2014. Karakteristik Primer Pada Polymerase Chain Reaction (PCR) Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNMed)*, 1(5), 93-102.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Malang: Kanisius.
- Sihotang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W. dan Rohmah, M. K. 2022. *Pengantar Bioteknologi*. CV. Tohar Media. Makassar.

- Sinaga, E., Sri Rahayu Dan Awang Maharijaya, M., Sri Rahayu, M., dan Awang Maharijaya. (2015). Seleksi Toleransi Kekeringan In Vitro Terhadap Enam Belas Aksesori Tanaman Terung (*Solanum Melongena* L.) Dengan Polietilena Glikol (Peg) In Vitro Selection Of Sixteen Of Eggplant (*Solanum Melongena* L.) Accessions To Drought With Tolerance Polyethylene Glycol (Peg). In *J. Hort. Indonesia* (Vol. 6, Issue 1).
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*. 195, 19–23.
- Sujinah, dan Jamil, A. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi Terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. *Iptek Tanaman Pangan*. 11(1): 1 – 8.
- Sundari, T. 2015. Petunjuk teknis pengenalan varietas unggul dan teknik budidaya ubi kayu (Materi Pelatihan Agribisnis Bagi Kmph). *Balai Penelitian Kacang-Kacanga Dan Umbi-Umbian*. No. 55.
- Su'udi, M., Agung N. P., Sattya A., Lailiyah M. H., dan Asyifa Y. A. 2022. Karakterisasi Molekuler Gen HAP3 pada Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. Volume 6, Issue 2 (2022) : page 68-76.
- Swapna, S and Shylaraj, K.S., 2017. Screening for osmotic stress responses in rice cultivars under drought condition. *Rice Science*, 24(5), pp. 253–263.
- Taiz, L., and Zeiger, E. 1991. *Plant Physiologi*. California: The Benjamin/Cumming Publishing Company.
- Verslues, P.E., Agarwal, K.S., Agarwal, and Zhu, J. 2006. Methods and Concepts in Quantifying Resistance to Drought, Salt And Freezing, Abiotik Stress That Affect Plant Water Status. *Plant Journal*. 45(4): 523-539.
- Welsh, J., and McClelland, M. 1990. *Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers*. *Nucl. Acids. Res*. 18: 7213-7218.
- Widiantara, T., Arief Z. D., dan Yuniar E. 2018. Kajian Perbandingan Tepung Kacang Koro Pedang (*Canavalia Ensiformis*) Dengan Tepung Tapioka Dan Konsentrasi Kuning Telur Terhadap Karakteristik Cookies Koro. *Pasundan Food Technology Journal*, Volume 5, No.2
- Williams, J G., Kubelik, A. R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary promoters are useful as genetic markers. *Nucl Acid Res*. 18: 6531-353.
- Wilson, K., and Walker, J. 2022. *Principles Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., and Chen, S. 2021. Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 1-36.

- Yudiwanti, P. H., Poerwanti, L., dan Manshuri, A. G. 2018. Akumulasi dan Distribusi Bahan Kering pada Beberapa Varietas Kacang Tanah. *J. Agron Indonesia*. 38(2): 100-106.
- Yuliati, L., Nasir, M. A., dan Subagiarta, I. W. 2019. Analisis Daya Sain Komoditas Singkong Kabupaten Jember Di Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat*, 452–457.
- Yustiati, A., Nuryanti, A., Suryadi, I. B. B., & Mulyani, Y. 2021. Genetic Distance of Four Strains of Guppy Fish (*Poecilia reticulata*) Using RAPD PCR Method. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 9(4), 1–8.
- Zakiah, M., Manurung, F., dan Wulandari, R. S. (2018). Kandungan klorofil daun pada empat jenis pohon di Arboretum Sylva Indonesia Pc. Universitas Tanjungpura. *Jurnal Hutan Lestari* 6(1): 48–55.