

**ANALISIS PROFIL PROTEIN DAN UJI PENENTUAN KONSENTRASI
PROTEIN DAUN TANAMAN CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz)
SETELAH DIINDUKSI DENGAN ASAM SALISILAT**

(Skripsi)

Oleh

SALMA NUR AFIFAH

2017061041



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ANALISIS PROFIL PROTEIN DAN UJI PENENTUAN KONSENTRASI PROTEIN DAUN TANAMAN CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) SETELAH DIINDUKSI DENGAN ASAM SALISILAT

Oleh

SALMA NUR AFIFAH

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman penting di Indonesia sebagai sumber karbohidrat. Cassava sering kali mendapatkan gangguan patogen salah satunya yaitu penyakit layu fusarium. Pengendalian penyakit layu fusarium dapat dilakukan dengan penggunaan kultivar unggul yang resisten melalui pengimbasan asam salisilat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai konsentrasi protein dan menganalisis profil protein pada tanaman cassava antara cassava yang telah diberi pengimbasan asam salisilat dengan kontrol. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu penambahan asam salisilat yang dibagi atas 5 taraf konsentrasi, yaitu 0 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm. Masing – masing dari konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali, dan pada setiap ulangan terdiri atas 1 tanaman cassava. Data penelitian berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif yang didukung dengan foto sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil penelitian menunjukkan beda nyata pada konsentrasi asam salisilat 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm setelah dibandingkan dengan kontrol. Taraf konsentrasi protein 0 ppm sampai 140 ppm berturut turut adalah 0,370 mg/2 µl, 0,372 mg/2µl, 0,377 mg/2 µl, 0,373 mg/2 µl, dan 0, 369 mg/2 µl. Serta terdapat pita protein hilang (*missing band*) yaitu pita pada berat molekul 115 kDa (perlakuan konsentrasi asam salisilat 140 ppm), dan juga ada kemunculan satu pitabar (new band) yaitu pada berat molekul 85 kDa (perlakuan konsentrasi asam salisilat 100 ppm).

Kata kunci : Asam salisilat, Cassava, Profil protein, *In vivo*, *Induced resistance*

ABSTRACT

PROTEIN PROFILE ANALYSIS AND CONCENTRATION DETERMINATION TEST LEAF PROTEIN OF CASSAVA PLANT (*Manihot esculenta* Crantz) AFTER INDUCED WITH SALICYLIC ACID

By

SALMA NUR AFIFAH

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an important plant in Indonesia as a source of carbohydrates. Cassava often suffers from pathogenic disorders, one of which is fusarium wilt. Control of fusarium wilt disease can be done by using superior cultivars that are resistant through the use of salicylic acid. The aim of this research was to determine the protein concentration value and analyze the protein profile in cassava plants between cassava that had been treated with salicylic acid and the control. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with one factor, namely the addition of salicylic acid which was divided into 5 concentration levels, namely 0 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, and 140 ppm. Each of these concentrations was repeated 5 times, and each repetition consisted of 1 cassava plant. Research data consists of qualitative data and quantitative data. Qualitative data is presented in comparative descriptive form supported by photos, while quantitative data is analyzed using the *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) with the Analysis of Variance (ANOVA)* method. If there is a significant difference, continue with *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* 5%. The results of the study showed a significant difference in salicylic acid concentrations of 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, and 140 ppm after being compared with the control. The protein concentration levels from 0 ppm to 140 ppm are respectively 0.370 mg/2 µl, 0.372 mg/2 µl, 0.377 mg/2 µl, 0.373 mg/2 µl, and 0.369 mg/2 µl. There was also a missing protein band, namely a band at a molecular weight of 115 kDa (treatment with a salicylic acid concentration of 140 ppm), and there was also the appearance of a new band, namely a molecular weight of 85 kDa (treatment with a salicylic acid concentration of 100 ppm).

Keywords: Salicylic acid, Cassava, Protein profile, *In vivo*, *Induced resistance*

**ANALISIS PROFIL PROTEIN DAN UJI PENENTUAN KONSENTRASI
PROTEIN DAUN TANAMAN CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz)
SETELAH DIINDUKSI DENGAN ASAM SALISILAT**

Oleh

SALMA NUR AFIFAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

**: Analisis Profil Protein dan Uji Penentuan
Konsentrasi Protein Daun Tanaman Cassava
(*Manihot esculenta* Crantz) Setelah Diinduksi
dengan Asam Salisilat**

Nama Mahasiswa

: Salma Nur Afifah

Nomor Pokok Mahasiswa : 2017061041

Jurusan/ Program Studi

: Biologi / S1- Biologi Terapan

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua


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


Prof. Dr. Bambang Irawan, M. Sc.
NIP. 196503031992031006

2. Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi FMIPA


Dr. Jani Master, S. Si., M. Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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



Anggota

: Prof. Dr. Bambang Irawan, M. Sc.



Penguji Utama

: Dr. Sri Wahyuningsih, M. Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng Heri Satria, S. Si., M. Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 22 Mei 2024

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Salma Nur Afifah

NPM : 2017061041

Dengan ini menyatakan bahwa 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, 22 Mei 2024

Pembuat pernyataan,



Salma Nur Afifah

NPM. 2017061041

RIWAYAT HIDUP



Salma Nur Afifah, dilahirkan di Sleman, Yogyakarta pada tanggal 14 Agustus 2002, dari buah kasih bapak Muhammad Eko Hermansyah dan ibu Siti Marfuah. Penulis adalah anak bungsu dari dua bersaudara. Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak – Kanak di TK An – Nur, Kebon Jeruk, Tanjung Karang Timur, Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2008. Penulis melanjutkan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Sawah Lama selama 2

tahun lalu mutasi ke SD Negeri 1 Kebon Jeruk dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun tersebut penulis melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama di SMP PGRI 6 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017, selama masa SMP Penulis aktif di berbagai kegiatan ekstrakurikuler seperti OSIS, PMR dan Pramuka. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan ke Sekolah Menengah Atas di SMK Negeri 7 Bandar Lampung, Jurusan Keperawatan dan lulus pada tahun 2020. Selama masa SMK penulis pernah menjadi Ketua Umum Palang Merah Remaja (PMR) masa bhakti 2018 -2019, dan aktif menjadi anggota FORPIS (Forum Remaja Palang Merah Indonesia) pada tahun 2018 – 2020.

Pada tahun 2020 penulis memulai pendidikan di Universitas Lampung sebagai mahasiswi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jurusan Biologi, Program Studi Biologi Terapan. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Asisten Praktikum Teknik Biomolekular, Teknik Kultur *In Vitro* Tumbuhan, Rekayasa Genetika dan Kultur Jaringan Tumbuhan. Penulis juga aktif mengikuti kegiatan pengembangan diri di Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) 2020-2021 dan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam 2020–2022. Penulis menyelesaikan Kerja Praktik di Balai Riset dan Standardisasi Industri (BSPJI) Bandar Lampung Pada tahun 2023 dengan tema “**Verifikasi Metode *Filter Membrane* Bakteri *Coliform* Pada Sampel Air Mineral di Laboratorium Mikrobiologi BSPJI Bandar Lampung**” pada tahun yang sama penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Negeri Ratu, Kec. Kota Agung Pusat, Kab. Tanggamus, Lampung. Pada tahun 2024 penulis menyelesaikan penelitian dan naskah skripsinya yang berjudul “**Analisis Profil Protein dan Uji Penentuan Konsentrasi Protein Daun Tanaman Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Setelah Diinduksi dengan Asam Salisilat**”. Penulis merupakan mahasiswa Hibah Penelitian MBKM bersama Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M. Si dalam melaksanakan penelitian dan penulisan ini.

PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, ridho, dan Karunia-Nya yang tak henti henti. Saya persembahkan karya ini sebagai tanda bakti dan cinta kasih yang tulus kepada :

Papa yang telah merawat, membesarkan, mendidik, membimbing, menjaga dan senantiasa mengusahakan apapun untuk anak perempuannya ini.

Mama dan Kakak ku yang juga selalu mendoakan dan memberikan kasih sayang, dukungan dan semangat.

Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi Universitas Lampung, yang memberikan ilmunya dengan ikhlas kepada saya hingga gelar sarjana ini dapat saya raih.

Teman – teman Program Studi Biologi Terapan Angkatan 2020, yang telah berjuang bersama sejak awal perkuliahan dan selalu memberikan semangat sampai saat ini.

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

MOTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”.

(QS. Al-Baqarah : 286)

“Tugasmu hanya memperbaiki diri, semakin kamu baik maka semakin Allah SWT hadirkan hal – hal baik dalam hidupmu, Percayalah”.

(Ust. Hanan Attaki)

“Berkali – kali kamu ingin menyerah. Tapi Lihat! Kamu masih bertahan hingga saat ini. Terus mengeluh tapi pada akhirnya terselesaikan juga. Kamu sering kali menyalahkan dirimu atas kerasnya dunia, tapi kamu tersenyum dan bangga ketika mencapai keinginanmu. Menangislah sebelum tidur, tapi esok kamu masih tertawa lepas”.

(Anonim)

“Entah akan berkarir atau menjadi ibu rumah tangga, seorang wanita wajib berpendidikan tinggi karena ia akan menjadi ibu. Ibu yang cerdas akan menghasilkan anak - anak cerdas”.

(Dian Sastrowardoyo)

SANWACANA

Alhamdulillah Puji Syukur kehadiran ALLAH SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, karena atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Analisis Profil Protein dan Uji Penentuan Konsentrasi Protein Daun Tanaman Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Setelah Diinduksi dengan Asam Salisilat”**. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M. Si. dengan judul **“Riset Berbasis Analisis Molekular Tanaman Cassava Hasil *Induced Resistance* Terhadap Penyakit Layu Fusarium Sebagai Bentuk Implementasi Penelitian MBKM”**, yang didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung berdasarkan Surat Perjanjian (Kontrak) Penyelenggaraan “Penelitian Merdeka Belajar Kampus Merdeka” Nomor : 878/UN26.21/PN/2023. 10 April 2023. Ucapan terimakasih yang tulus penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., selaku pembimbing utama yang selalu memberi masukan, arahan, dan nasihat kepada penulis. Penulis berterima kasih yang sebanyak – banyaknya karena telah diterima dalam project penelitian ini.
2. Bapak Prof. Dr. Bambang Irawan, M. Sc., selaku pembimbing kedua yang meluangkan waktunya untuk memberi bimbingan, dan nasihat kepada penulis.
3. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M. Si., sebagai dosen pembahas yang telah banyak memberikan masukan, arahan, nasihat, dan meluangkan waktu terhadap penulis dalam menyempurnakan naskah skripsi ini.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.

5. Bapak Dr. Eng Heri Satria, S. Si, M. Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
6. Bapak Dr. Jani Master, M. Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
7. Ibu Gina Dania Pratami, S. Si, M. Si., selaku Ketua Program Studi S1-Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., selaku Ketua Program Studi S1-Biologi Terapan, Jurusan Biologi msa jabatan 2019-2023 yang selalu memberikan peluang prestasi di dalam maupun di luar kampus.
9. Ibu Primasari Pertiwi, M. Si., Selaku Pembimbing Akademik yang telah memberi masukan serta nasihat kepada penulis selama menjalani perkuliahan.
10. Bapak Achmad Arifiyanto, M. Si., selaku dosen Pembimbing Akademik penulis pada tahun 2020 – 2023 atas segala jasa, ilmu, dan arahan untuk penulis. Semoga diberikan kelancaran dalam pendidikan Doktor nya, Aamiin.
11. Papa, Mama, dan Mamas tercinta yang telah memberi dorongan materil dan moril serta do'a dan kasih sayangnya selama ini yang tidak mungkin terbalasoleh apapun dan sampai kapanpun.
12. Keluarga besar Almh.Wamimah. Bude, Pakde, Sepupu, dan Keponakan - keponakan ku yang senantiasa mendukung segala proses penulis sedari masa sekolah sampai sekarang.
13. Ayi Dewa, atas segala bentuk dukungan, motivasi, do'a serta nasihat yang telah diberikan kepada penulis. Terimakasih selalu ikhlas menjadi tempat dan pendengar yang baik, bersedia meluangkan waktu disetiap hari penting penulis. Semoga Allah mebalas kebaikan mu, memberikan kelancaran bagimu dalam mengejar karir dan segala cita cita, Aamiin.

14. Sahabat masa sekolah ku, Putri Wulandari, Ditha Octaviani, dan Ika Azzahra yang sampai saat ini masih menjadi tempat berkeluh kesah, tempat mencurahkan isi hati dan menyemangati penulis.
15. Teman – teman “Cassava Gengs”, Gustiyana, Rezza Kusumma, Abellia Astary, Agung Setiawan, Resya Tamara Agustin, Lutfiah Yuniar, Nismala Bintang Pinasti, Dina Yulia Astuti, dan Enjel Septi Vebrina yang senantiasa membantu dan selalu memberikan semangat kepada penulis selama menyelesaikan penelitian.
16. Sahabat 40 hari ku di desa “Negeri Ratu”, Ikhsan Muttaqin, Ade Jiwa Pratama, Muhammad Imron Rosadi, Nurinda Sari, Puja Dwi Intan Wulandari, dan Gita Sabila Dewanti yang saling mendukung, menasehati dan menyemangati.
17. Bapak dan Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih karena telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan kepada penulis.
18. Teman-teman seperjuangan Program Studi S1 - Biologi Terapan angkatan 2020.

Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas semua bantuan selama berlangsungnya penelitian hingga sampai terselesaikannya skripsi ini. Semoga ALLAH SWT memberikan Rahmat dan Karunia-Nya kepada kita semua. Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi semua pihak, berguna bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, Mei 2024
Penulis,

Salma Nur Afifah

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA.....	v
RIWAYAT HIDUP.....	vi
PERSEMBAHAN.....	viii
MOTO HIDUP.....	ix
SANWACANA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
 I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Teoritis.....	3
1.4 Hipotesis.....	4
 II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
2.1 Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	5
2.2 Asam Salisilat.....	7
2.3 Ketahanan Terimbas (<i>Induced Resistance</i>).....	8
2.4 Konsentrasi Protein.....	10
2.5 Profil Protein.....	11

III. METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Rancangan Penelitian.....	14
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	15
3.5 Analisis Data.....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Penentuan Konsentrasi Protein Daun Tanaman Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	23
4.1.1 Hasil Absorbansi Protein	23
4.1.2 Penghitungan Nilai Konsentrasi Protein.....	24
4.2 Analisis Profil Protein Daun Tanaman Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	26
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	30
5.1 Simpulan.....	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Notasi Pelakuan Ulangan.....	14
2. Tata Urutan Satuan Percobaan.....	15
3. Komposisi Asam Salisilat Tiap Taraf Konsentrasi.....	18
4. Hasil Absorbansi Protein	23
5. Hasil Analisis Konsentrasi Protein Daun Tanaman Cassava.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Tanaman Cassava (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	6
2. Struktur Asam Salisilat	8
3. Bagan Alir Penelitian	16
4. Pola Pita Protein Daun Tanaman Cassava	26
5. Bibit Tanaman Cassava.....	43
6. Proses Penanaman Tanaman Cassava.....	43
7. Bibit Tanaman Casava Saat Ditanam	43
8. Penyiraman Bibit Tanaman Cassava	43
9. Pengimbasan Asam Salisilat.....	44
10. Tanaman Casava Setelah Diinduksi Asam Salisilat.....	44

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) umumnya ditanam oleh petani Indonesia karena merupakan makanan penting sebagai sumber karbohidrat selain nasi dan jagung. Cassava atau yang lebih sering disebut singkong sering dijadikan sebagai sumber makanan, singkong dikonsumsi dalam bentuk non-olahan (rebus, sediaan fermentasi dan digoreng dalam bentuk keripik) atau dalam bentuk olahan, tepung, dan pati diolah menjadi berbagai produk makanan (Eleazu *et al.*, 2014). Cassava merupakan komoditas pangan penting di Indonesia, dan kedepannya komoditas ini akan semakin strategis perannya bagi kehidupan masyarakat dan perekonomian negara (Fauzi dkk., 2015).

Pada pertumbuhannya, tanaman cassava mendapatkan gangguan yang cukup serius seperti timbulnya penyakit dari jamur patogen, bakteri, ataupun virus yang menyerang tanaman cassava. Salah satu jamur patogen yang sering menyerang tanaman cassava adalah *Fusarium oxysporum* (Soelistijono, 2015). Salah satu upaya untuk mengendalikan serangan penyakit layu fusarium yaitu dengan menggunakan varietas tahan berupa bibit unggul yang dapat mengendalikan penyakit layu fusarium (Juwanda dkk., 2016).

Penggunaan kultivar cassava yang tahan terhadap layu fusarium dengan hasil tinggi diharapkan menjadi alternatif pengendalian penyakit yang penting (Nurchayani *et al.*, 2016). Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum* (Fo) dapat dilakukan dengan penggunaan kultivar unggul yang resisten terhadap infeksi Fo, melalui pengimbasan asam salisilat. Asam salisilat adalah salah satu agen penginduksi ketahanan yang diketahui dapat digunakan untuk pengendalian patogen tanaman (Hayat *et al.*, 2010).

Asam salisilat merupakan senyawa fenol sederhana yang berperan penting dalam mengatur proses fisiologis dan respons imunitas tanaman. Pemanfaatan asam salisilat sebagai sinyal transduksi dalam jaringan pertahanan tanaman telah diamati dan dikarakterisasi pada sejumlah gen yang berfungsi dalam biosintesis asam salisilat (An and Mou, 2011). Mandal *et al.* (2009) menyebutkan bahwa aplikasi asam salisilat pada daun dan akar dapat menekan perkembangan penyakit layu fusarium. Asam salisilat secara eksogen dapat memengaruhi pertumbuhan tanaman, fotosintesis, transport air pada tanaman, dan aktivitas beberapa jenis protein yang menghasilkan enzim terhadap cekaman biotik dan abiotik (Zamaninejad *et al.*, 2013).

Protein berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel makhluk hidup (Rijal, 2011). Penelitian ini diharapkan adanya perbedaan profil protein yang ditandai dengan kemunculan pita baru. Munculnya pita baru diakibatkan karena terjadi mutasi, dalam hal ini asam salisilat berperan sebagai mutagen. Perubahan struktur protein karena penambahan asam salisilat diharapkan dapat mempengaruhi daya adaptasi sehingga didapat tanaman yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum*. Sejauh ini penggunaan asam salisilat untuk mendapatkan varietas tahan fusarium yang di analisis melalui hasil perbandingan konsentrasi protein dan profil protein pada daun tanaman cassava secara *in vivo* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Membandingkan nilai konsentrasi protein pada daun tanaman cassava (*Manihot esculenta* Crantz) dengan cassava yang telah diberi pengimbasan asam salisilat dan cassava tanpa pengimbasan asam salisilat (kontrol)
2. Membandingkan profil protein pada daun tanaman cassava (*Manihot esculenta* Crantz) dengan cassava yang telah diberi pengimbasan asam salisilat dan cassava tanpa pengimbasan asam salisilat (kontrol)

1.3. Kerangka Teoritis

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tumbuhan perdu tahunan tropika dan subtropika dari suku *Euphorbiaceae*. Tanaman Cassava merupakan salah satu produk yang banyak dihasilkan dari Indonesia. Petani cassava mengalami banyak kendala seperti adanya serangan jamur patogen salah satunya *Fusarium oxysporum* (Fo) yang menyebabkan layu fusarium dan pasti akan mengurangi jumlah dan kualitas dari tanaman cassava tersebut. Pengendalian penyakit layu fusarium yang tidak berdampak buruk bagi lingkungan salah satunya dapat dilakukan dengan menggunakan kultivar unggul yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum*, melalui pengimbasan asam salisilat dalam media tanah.

Tingkat asam salisilat akan mendorong transkripsi gen yang mengkode protein terkait patogenesis pada tanaman, sehingga memberikan resistensi terhadap penyakit. Protein berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel makhluk hidup (Rijal, 2011). Penelitian ini diharapkan adanya perbedaan profil protein yang ditandai dengan kemunculan pita baru. Munculnya pita baru

diakibatkan karena terjadi mutasi, dalam hal ini asam salisilat berperan sebagai mutagen. Asam salisilat dapat mengakibatkan perubahan pola DNA. DNA yang berubah akan mengakibatkan perubahan RNA dan struktur protein. (Nurchayani *et al.*, 2021b). Perubahan struktur protein karena penambahan asam salisilat diharapkan dapat mempengaruhi daya adaptasi sehingga didapat tanaman yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan nilai konsentrasi protein dari setiap taraf konsentrasi asam salisilat 0 ppm (kontrol), 80 ppm, 100 ppm, 120ppm, dan 140 ppm.
2. Terdapat perbedaan profil protein yang ditandai dengan muncul dan hilangnya pita baru antara cassava yang telah diberi pengimbasan asam salisilat dengan cassava tanpa pengimbasan asam salisilat (kontrol).

II. TINJAUAN PUSTAKA

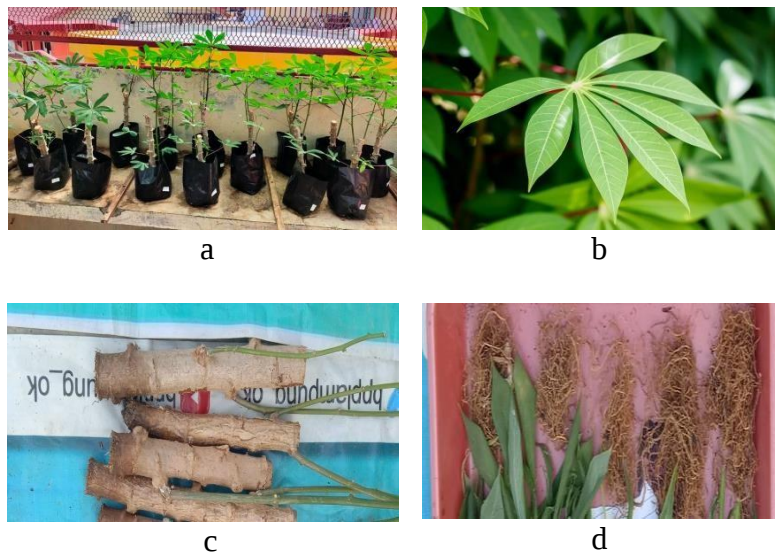
2.1. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman terpenting ketiga di dunia dan menjadi salah satu sumber pendapatan di seluruh daerah tropis. Budidaya cassava dapat menjadi mata pencaharian bagi lebih dari 500 juta petani (Amponsah *et al.*, 2014). Klasifikasi tanaman cassava menurut Cronquist (1981) dan APG II (2003) sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Manihot</i>
Species	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz

Di Indonesia cassava merupakan produksi hasil pertanian pangan terbesar kedua setelah padi, sehingga cassava mempunyai potensi sebagai bahan baku yang penting bagi berbagai produk pangan dan industri. Sebagai makanan manusia, cassava mempunyai beberapa kekurangan diantaranya kadar protein dan vitamin yang rendah serta nilai gizi yang tidak seimbang. Disamping itu, beberapa jenis cassava mengandung racun HCN yang terasa pahit. Dari dasar itulah lokal cassava dibagi menjadi cassava pahit dan cassava manis (Koswara, 2013).

Cassava merupakan tanaman yang sangat familiar dengan kondisi lingkungan bahkan ada pernyataan bahwa selama batang cassava menyentuh tanah maka dipastikan tunasnya akan tumbuh (Sarjiah dkk., 2016). Sentra lahan cassava di Indonesia dikuasai oleh Provinsi Lampung dengan luas lahan panen 366.830 ha pada tahun 2022. Produksi cassava di Lampung tercatat sebanyak 6.719.088 ton pada tahun 2022 (BPS, 2023). Morfologi cassava disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Morfologi cassava (*Manihot esculenta* Crantz)
(Dokumentasi Pribadi, 2023)

Keterangan :

- a = Cassava setelah berumur 4 minggu
- b = Daun cassava
- c = Batang cassava
- d = Akar cassava

Cassava atau yang biasa disebut umbi kayu merupakan tanaman yang mudah sekali dibudidayakan, bahkan di tanah yang marjinal tanaman ini dapat hidup dan memberikan hasil. Selain itu kandungan karbohidrat yang berasal dari umbi kayu sangat tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai pengganti beras. Menurut Subandi (2009), batang tanaman cassava berbentuk bulat diameter 2,5-4 cm, berkayu beruas-ruas dan panjang. Ketinggiannya dapat mencapai 1-4 meter. Warna batang bervariasi

tergantung kulit luar, tetapi batang yang masih muda pada umumnya berwarna hijau dan pada saat tua berubah keputih-putihan, kelabu, hijau kelabu atau coklat kelabu. Empulur batang berwarna putih, lunak, dan strukturnya empuk seperti gabus. Cassava memiliki sistem perakaran tunggang atau dikotil. Batang cassava bulat dan bergerigi yang disebabkan dari bekas pangkal tangkai daun, bagian tengahnya bergabus dan termasuk tumbuhan tingkat tinggi.

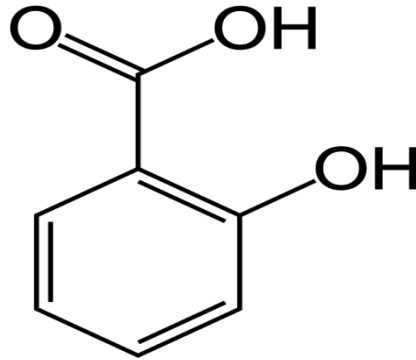
Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) adalah semak abadi yang tumbuh terutama pada akarnya yang mengandung zat tepung yang digunakan sebagai makanan, pakan ternak dan sebagai sumber pati. Cassava cenderung tumbuh pada lahan pertanian yang kering, tanpa irigasi dan dengan aplikasi terbatas dari input yang dibeli. Secara alami beradaptasi dengan baik pada kondisi ini (Ayodele *et al.*, 2019).

2.2. Asam Salisilat

Asam salisilat adalah salah satu agen penginduksi ketahanan yang dilaporkan dapat digunakan untuk pengendalian patogen tanaman. Menurut Hayat *et al.* (2010), asam salisilat merupakan senyawa fenol sederhana yang berperan penting dalam mengatur proses fisiologis dan respons imunitas tanaman. Pemanfaatan asam salisilat sebagai sinyal transduksi dalam jaringan pertahanan tanaman telah diamati dan dikarakterisasi pada sejumlah gen yang berfungsi dalam biosintesis asam salisilat. Rangkaian dari proses ini meliputi konjugasi, akumulasi, dan crosstalk hormon tanaman seperti asam jasmonat, etilen, asam absisi, auksin, giberelin, sitokinin, dan brassinosteroid (An and Mou, 2011).

Asam salisilat (AS) memiliki rumus molekul C_6H_4COOH berbentuk kristal kecil yang memiliki berat molekul sebesar 138,132 g/mol dengan titik leleh sebesar $156^{\circ}C$ dan densitas pada $25^{\circ}C$ sebesar 1,443 g/ml (Purnomo dkk., 2007).

Asam salisilat memiliki struktur bangun kimia seperti yang disajikan pada **Gambar 2** berikut.



Gambar 2. Struktur Asam Salisilat
(Sumber : NCBI, 2021)

Peningkatan pertumbuhan dan toleransi tanaman terhadap gangguan biotik dan abiotik juga dapat dilakukan dengan pemberian asam salisilat. Asam salisilat berperan sebagai zat pengatur pertumbuhan (hormon pertumbuhan tanaman) endogen yang bersifat fenotik yang terlibat di dalam beberapa proses fisiologis seperti perkecambahan, pematangan buah, pembungan, fotosintesis, konduktansi stomata, kloroplas, ketahanan hama dan penyakit serta perlindungan tanaman dari beberapa stress (tekanan) dari lingkungan (Juwanda dkk., 2016).

2.3. Ketahanan Terimbas (*Induced Resistance*)

Pengendalian penyakit secara hayati dapat melalui interaksi antara populasi patogen dan agen hayati baik secara langsung maupun tidak langsung. Interaksi langsung apabila agen hayati mampu mereduksi populasi patogen melalui parasitisme, antibiosis atau kompetisi. Interaksi tidak langsung apabila agen hayati berinteraksi dengan patogen di dalam tubuh inangnya. Interaksi tidak langsung tersebut yang menyebabkan ketahanan terimbas.

Ketahanan terimbas bersifat tidak spesifik terhadap jenis patogen, sehingga dapat lebih efisien dalam pelaksanaannya (Nurcahyani, 2022).

Ketahanan terimbas adalah salah satu cara pengendalian yang lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan pengendalian secara kimia dengan fungisida. Sel dan jaringan tumbuhan yang diberi pengimbasan berupa mikroorganisme nonpatogenik maupun bahan kimia tertentu akan bereaksi melalui serangkaian reaksi biokimia yang bertujuan menghambat perkembangan penyakit. Reaksi tersebut berkaitan dengan produksi zat fitotoksik disekeliling tempat perlakuan (Sumardiyono, 2015).

Mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat dibedakan menjadi 2 kategori yaitu ketahanan alami dan ketahanan terimbas. Ketahanan alami berkaitan erat dengan karakter normal dari tanaman seperti kutikula yang tebal, pembukaan stomata, jumlah trikoma, dan kemampuan membentuk senyawa antimikroba. Ketahanan terimbas merupakan ketahanan yang terekspresi setelah patogen menyerang dengan bentuk pertahanan pada dinding sel, biosintesis fitoaleksin dan akumulasi protein. Mekanisme ketahanan terimbas merupakan mekanisme yang sangat kompleks, meliputi pengenalan tanaman terhadap patogen (*recognition*), produksi fitoaleksin (salah satu turunan senyawa fenol), PR- protein (*Pathogenesis - Related protein*), dan lignifikasi (Nurchayani, 2022).

Agen pengimbas ketahanan, disebut juga elisitor atau induser, merupakan molekul yang mampu menstimulasi dan mengaktifkan respon ketahanan tanaman. Berdasarkan kemampuannya untuk memacu respon ketahanan (Inayati, 2016). Elisitor dapat berasal dari bakteri, jamur, maupun virus dan bahan-bahan yang dihasilkan olehnya seperti polimer karbohidrat, protein, lemak, dan mikotoksin yang dikenal sebagai elisitor biotik (Larroque *et al.*, 2013). Selain itu, terdapat pula elisitor abiotik seperti sinar UV, ion-ion dari logam maupun komponen atau bahan kimia yang dapat berperan sebagai hormon maupun molekul-molekul yang mengkode ketahanan pada tanaman (Larroque *et al.*, 2013). Elisitor biotik maupun abiotik bekerja mengaktifkan beragam enzim yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen.

Jenis pertahanan tanaman yang diaktifkan berbeda, bergantung pada elisitor yang digunakan sehingga penentuan jenis elisitor yang digunakan dan informasi mekanisme ketahanan terhadap suatu patogen sangat diperlukan untuk menjamin keberhasilan pengimbasan ketahanan. Elisitor yang sama digunakan pada patogen yang sama namun pada tanaman yang berbeda dapat memberikan dampak yang berbeda (Inayati, 2016).

2.4. Konsentrasi Protein

Protein merupakan salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari enzim yaitu biokatalisator berbagai reaksi metabolisme dalam tubuh (Mustika, 2012). Protein adalah polimer biologi berbentuk rantai molekul panjang yang tersusun atas molekul-molekul kecil asam amino yang saling berikatan dengan ikatan peptida. Protein memiliki bobot molekul besar, sehingga ketika dilarutkan akan membentuk senyawa koloid, juga protein tidak dapat melalui membran semi permeabel dikarenakan bobot molekul yang besar. Protein dapat menggumpal jika ditambah alkohol atau diberi panas karena protein akan menarik mantel air yang melingkupinya. Protein juga bisa mengalami denaturasi dan renaturasi yaitu pemutusan ikatan-ikatan molekul pada protein dan penggabungan kembali ikatan tersebut. Hal tersebut dapat terjadi karena pengaruh suhu, pH, dan logam berat. Protein juga bersifat amfoter serta memiliki titik isolistrik karena memiliki gugus karboksil sekaligus amina (Apriandi, 2013).

Protein murni ataupun yang terdapat di dalam campuran dapat ditentukan kadarnya dengan metode analisis kualitatif maupun kuantitatif. Metode kualitatif meliputi *Xantoprotein*, reaksi *Hopkins-Cole*, reaksi *Millon*, reaksi *Nitropsida*, dan reaksi *Sakaguchi*. Sedangkan secara kuantitatif meliputi metode *Kjaldahl*, metode kromatografi (cara fraksionasi), metode titrasi formol, metode spektrofotometri visible (biuret), metode spektrofotometri UV, dan metode *Bradford* (Ambarsari *et al.*, 2006).

Metode *Bradford* adalah salah satu metode dalam penentuan kadar protein suatu bahan. Prinsip kerjanya didasarkan pada peningkatan secara langsung zat warna *Coomasie Brilliant Blue G250* (CBBG) oleh protein yang mengandung residu asam amino dengan rantai samping aromatik (tirosin, triptofan, dan fenilalanin) atau bersifat basa (*arginin*, *histidin*, dan *leusin*). Reagen CBBG bebas berwarna merah kecoklatan (I maks 465 nm), sedangkan dalam suasana basa reagen CBBG akan berbentuk anion yang akan mengikat protein membentuk warna biru (I maks 595 nm).

Metode *Bradford* banyak digunakan karena cara pewarnaannya yang praktis dan memiliki nilai sensitivitas tinggi. Nilai sensitivitasnya empat kali lebih besar dibandingkan metode *Lowry*. Metode ini dapat mendeteksi sampel yang mengandung protein kurang dari 0,01 mg/mL. Selain itu metode *Bradford* lebih cepat dan akurat, melibatkan langkah- langkah pencampuran yang lebih sedikit, tidak memerlukan pemanasan, dan memberikan respon kolorimetri lebih stabil dibandingkan dengan metode lain (John, 2009).

2.5. Profil Protein

Protein merupakan produk akhir dari ekspresi gen pada organisme prokariotik dan eukariotik, dan protein dianggap molekul yang menawarkan banyak peran dan fungsi yang sangat beragam di dalam sel. Isolasi dan karakterisasi protein telah menjadi salah satu subjek yang paling menarik bagi para peneliti dari berbagai bidang area (Batista *et al.*, 2015). Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom nitrogen, karbon, dan oksigen, beberapa jenis asam amino yang mengandung sulfur (*metionin*, *sistin*, dan *sistein*) yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Pada Makhluk hidup, protein berperan sebagai pembentuk struktur sel dan beberapa jenis protein memiliki peran fisiologis (Bintang, 2010).

Protein merupakan senyawa kimia yang tidak hanya mengandung atom karbon seperti karbohidrat dan lemak. Protein juga mengandung atom karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen. Atom C, H, O dan N tersusun menjadi asam

amino, yang membentuk rantai menjadi protein. Dua puluh asam amino berbeda telah diidentifikasi sebagai pembentuk protein. Sintesis protein adalah proses pembentukan protein dari monomer peptida yang diatur susunannya oleh kode – kode genetik. Proses sintesis protein dibagi menjadi dua tahapan, yaitu transkripsi dan translasi. Transkripsi adalah proses DNA mencetak mRNA di dalam nukleus, translasi adalah penerjemahan informasi genetik berupa urutan basa nitrogen menjadi asam amino (Gillslogie, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein pada sampel daun cassava yang mengandung protein yang diekstraksi dari bagian daun lalu di elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid elektroforesis (SDS-PAGE) (Batista *et al.*, 2015). Menurut Maniatis *et al.*, (1982) metode elektroforesis protein dengan SDS-PAGE adalah salah satu metode yang digunakan untuk menganalisis protein dengan memisahkan pita-pita protein yang berada di dalam sampel berdasarkan berat molekulnya.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi gambaran pita-pita protein dalam gel diantaranya adalah konsentrasi gel, suhu, dan pH. Suhu yang tinggi akibat adanya pemanasan dapat menguraikan struktur protein menjadi lebih sederhana sehingga pita-pita protein menunjukkan berat molekul yang lebih kecil, pH yang ekstrim juga dapat menyebabkan proses denaturasi, sedangkan konsentrasi gel yang terlalu tinggi mengakibatkan pori-pori gel semakin kecil sehingga pita-pita yang nampak menunjukkan berat molekul yang lebih kecil (Nurcahyani, 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2023 di Laboratorium Botani dan Rumah Kaca Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat – alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini pada tahap persiapan dan penanaman cassava yaitu *polybag* ukuran 1 kg, sekop, *gloves* dan gembor. Pada tahap persiapan larutan asam salisilat yaitu *erlenmayer* 500 ml, botol kultur 250 mL, kertas saring, aluminium foil, neraca analitik, tissue, kertas label, gelas ukur 100 mL dan corong. Selanjutnya pada tahap penentuan konsentrasi protein dan analisis profil protein yaitu *shaker*, *hotplate*, *mikropipet*, *mikrotipe*, alat elektroforesis, dan spektrofotometer.

3.2.2. Bahan – bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit tanaman cassava (*Manihot esculenta* Crantz), asam salisilat murni, alkohol 70% dan akuades, larutan akrilamid /

bisakrilamid, *Coomasie Brilliant Blue* (CBB), *Bovine Serum Albumin* (BSA), *buffer* Tris-HCl, *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS), larutan penyangga elektroforesis, *Reducing Sample Buffer* (RSB).

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu penambahan asam salisilat yang dibagi atas 5 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm. Masing – masing dari konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali, dan pada setiap ulangan terdiri dari 1 tanaman cassava. Parameter yang dianalisis meliputi pengujian konsentrasi protein dan profil protein daun tanaman cassava. Percobaan notasi perlakuan dan ulangan disajikan dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Notasi Perlakuan Ulangan

	Ulangan	Konsentrasi Asam Salisilat				
		0	80	100	120	140
1	K1U1	K2U1	K3U1	K4U1	K5U1	
2	K1U2	K2U2	K3U2	K4U2	K5U2	
3	K1U3	K2U3	K3U3	K4U3	K5U3	
4	K1U4	K2U4	K3U4	K4U4	K5U4	
5	K1U5	K2U5	K3U5	K4U5	K5U5	

Keterangan :

K1 = Konsentrasi Asam Salisilat 0 ppm
 K2 = Konsentrasi Asam Salisilat 80 ppm
 K3 = Konsentrasi Asam Salisilat 100 ppm
 K4 = Konsentrasi Asam Salisilat 120 ppm
 K5 = Konsentrasi Asam Salisilat 140 ppm
 U1 – U5 = Ulangan 1 – Ulangan 5

Tata letak percobaan setelah pengacakan akan disajikan pada **Tabel 2**.

K5U5	K4U4	K3U3	K5U3	K1U1
K3U2	K1U1	K4U2	K3U4	K4U5
K2U1	K3U1	K5U4	K1U3	K2U4
K3U5	K4U3	K1U5	K2U2	K2U3
K4U1	K3U2	K2U5	K5U1	K1U4

Tabel 2. Tata Letak Satuan Percobaan

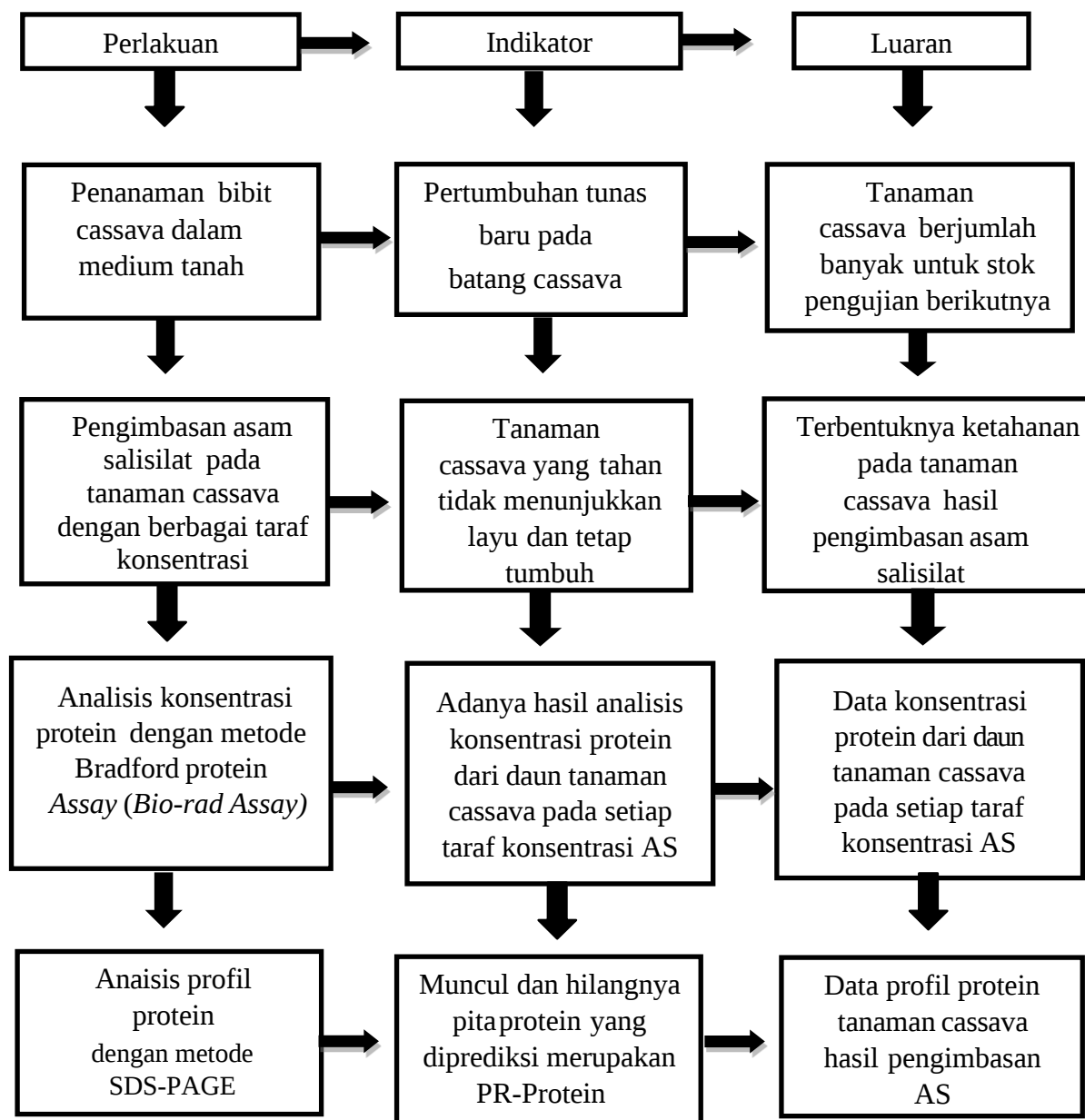
Keterangan :

K1	= Konsentrasi Asam Salisilat 0 ppm
K2	= Konsentrasi Asam Salisilat 80 ppm
K3	= Konsentrasi Asam Salisilat 100 ppm
K4	= Konsentrasi Asam Salisilat 120 ppm
K5	= Konsentrasi Asam Salisilat 140 ppm
U1 – U5	= Ulangan 1 – Ulangan 5

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu 1). Penanaman tanaman cassava ke dalam media berisi 25% tanah, 25% kompos, 25% cocopeat dan 25% arang sekam; 2). Pengimbasan asam salisilat pada tanaman cassava dengan berbagai taraf konsentrasi ; 3). Dilakukan pengujian konsentrasi protein hasil pengimbasan asam salisilat dengan metode Bradford protein Assay (*Bio-rad Assay*) ; 4). Analisis profil protein tanaman cassava hasil pengimbasan asam salisilat dengan metode SDS – PAGE.

Tahapan penelitian, disajikan dalam bentuk bagan alir pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Bagan alir penelitian

3.4.1. Penanaman Tanaman Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Penanaman tanaman cassava dilakukan dalam *greenhouse*. Batang bibit tanaman cassava yang digunakan dipotong sama panjang dengan ukuran 20 cm, kemudian ditanaman dalam *polybag* berisi campuran 25% tanah, 25% kompos, 25% cocopeat dan 25% arang sekam dengan kedalaman batang bibit cassava di dalam tanah 5 cm. Tanaman cassava disiram setiap 3 hari sekali. Masing- masing perlakuan asam salisilat dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan dan setiap ulangan terdiri dari 1 tanaman cassava dalam tiap-tiap *polybag*.

3.4.2. Pembuatan Larutan Asam Salisilat

1. Penghitungan penentuan komposisi asam salisilat tiap taraf konsentrasi

Penghitungan penentuan berat kristal asam salisilat tiap taraf konsentrasi mengacu pada konversi parts per million (ppm) berikut.

1 ppm	1 mg/L
1 ppm	0.001 g/L

Satuan parts per million (ppm) adalah satuan yang dipakai sebagai satuan nirdimensi berasal dari pecahan yang sangat kecil. Penghitungan ppm ini bertujuan untuk menghitung kadar kandungan zat yang terlarut dalam air.

Hasil penghitungan penentuan komposisi asam salisilat tiap taraf konsentrasi (Lampiran 1) disajikan dalam **Tabel 3.** sebagai berikut.

Tabel 3. Komposisi asam salisilat tiap taraf konsentrasi

Konsentrasi Asam Salisilat	Komposisi Asam Salisilat (gr/500 ml)
0 ppm	0
80 ppm	0,04
100 ppm	0,05
120 ppm	0,06
140 ppm	0,07

2. Pengenceran asam salisilat

Pengenceran bubuk asam salisilat dilakukan dengan melarutkan asam salisilat ke dalam aquades 500 ml dalam *erlenmayer* untuk tiap taraf konsentrasi 0 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm dengan 5 kali pengulangan. Larutan asam salisilat dengan konsentrasi 0 ppm berisi 100% aquades murni sebanyak 500 ml tanpa campuran kristal asam salisilat.

Larutan asam salisilat dengan konsentrasi 80 ppm dibuat dengan cara melarutkan 0.04 gram asam salisilat ke dalam 500 ml aquades, konsentrasi 100 ppm dibuat dengan melarutkan 0.05 gram asam salisilat ke dalam 500 ml aquades, selanjutnya konsentrasi 120 ppm dibuat dengan melarutkan asam salisilat 0.06 gram di dalam 500 ml aquades, dan untuk konsentrasi 140 ppm juga dilakukan hal yang sama yaitu melarutkan sebanyak 0.07 gram asam salisilat ke dalam 500 ml aquades. Setelah asam salisilat terlarut dengan aquades (*homogen*), kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Tiap konsentrasi terdiri dari 5 pengulangan dengan volume 100 ml tiap ulangan.

3. Pengimbasan Asam Salisilat

Pengimbasan asam salisilat dilakukan ketika tanaman berumur 1 bulan. Penambahan asam salisilat ke tanaman cassava dilakukan dengan cara menyiramkan larutan asam salisilat ke permukaan batang sebanyak 50 ml untuk setiap tanaman cassava dengan berbagai konsentrasi yaitu 0 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm. Setiap 1 konsentrasi terdiri 5 tanaman, maka setiap konsentrasi membutuhkan 250 ml larutan asam salisilat.

3.4.3. Pengukuran Konsentrasi Protein tanaman cassava (*Manihot esculenta* Crantz) dengan metode Bradford protein Assay (*Bio-rad Assay*)

1. Ekstraksi daun tanaman cassava

Ekstraksi protein dilakukan dengan cara menimbang 1 g daun tanaman cassava dengan masing-masing ditambahkan 300 μ L *Phosphate Buffer Saline* (PBS) (NaCl 8,55 g/L, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,33 g/L, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,34 g/L) dengan pH 7 sebagai *buffer* ekstraksi dan ditambah inhibitor protease, selanjutnya digerus menggunakan mortar dan pestle sampai homogen. Sampel yang telah digerus, disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 2 detik. Supernatan yang mengandung *crude* protein diambil dan disimpan pada suhu - 20 °C (Maniatis *et al.*, 1982).

2. Pengukuran konsentrasi protein

Setelah *crude* protein diperoleh, dilakukan pengukuran konsentrasi protein pada masing – masing sampel. Konsentrasi protein ditentukan dengan menggunakan metode Bradford protein Assay (*Bio-rad Assay*). *Bovin Serum Albumin* (BSA) digunakan sebagai standar untuk menghitung konsentrasi

protein. Sebagai blanko digunakan 200 μ L *Bio-rad dye* dan 800 μ L akuades menurut Nurcahyani *et al.*, (2021a).

Penentuan konsentrasi protein dilakukan dengan cara mengambil 2 μ L sampel protein menggunakan mikropipet ditambah 200 μ L *Bio-rad dye* dan 798 μ L akuades, kemudian dicampur dengan cara di resuspensi, selanjutnya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang (OD 595 nm) konsentrasi protein diketahui melalui persamaan fungsi kurva baku standar protein BSA ($y = ax + b$)

3.4.4. Analisis Profil Protein tanaman cassava (*Manihot esculenta* Crantz) dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis*)

1. Ekstraksi daun tanaman cassava

Ekstraksi protein dilakukan dengan cara menghitung 1 g daun tanaman cassava dengan masing-masing ditambahkan 300 μ L *Phosphate Buffer Saline* (PBS) (NaCl 8,55 g/L, Na₂HPO₄.2H₂O 1,33 g/L, NaH₂PO₄.H₂O 0,34 g/L) dengan pH 7 sebagai *buffer* ekstraksi dan ditambah inhibitor protease, selanjutnya digerus menggunakan mortar dan pestle sampai homogen. Sampel yang telah digerus, disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 2 detik. Supernatan yang mengandung *crude* protein diambil dan disimpan pada suhu - 20 °C (Maniatis *et al.*, 1982).

2. Analisis Profil Protein tanaman cassava

Penentuan berat molekul protein menggunakan metode SDS-PAGE menurut Maniatis *et al.*, (1982). Metode ini dimulai

dengan memasukkan *separating gel* 12% (akuades 3,3 mL, poliakrilamid 4 mL, 1,5 M Tris pH 8,8 2,5 mL, 10% SDS 100 μ L, 10% APS 90 μ L) ke dalam pasangan plat kaca sebagai cetakan gel dan ditunggu sampai gel terpolarisasi.

Stacking gel 6% (akuades 2,6 mL, poliakrilamid 1 mL, 0,5 M Tris pH 6,8 1,15 mL, 10% SDS 50 μ L, TEMED 10 μ L, 10% APS 90 μ L) dimasukkan di atas *separating gel* dipasang sisir untuk membuat sumuran agar dapat memasukkan sampel dari protein. Setelah *stacking gel* terpolarisasi, gel dilepaskan dari cetakan dan plat dirangkai dengan apparatus elektroforesis. *Running buffer* 0,1% (akuades 1 L, Tris Base 15 g, glisin 72g, SDS 5 g) dituangkan ke dalam bak dan sisir dilepas kemudian sampel protein sebanyak 10 μ L dicampur dengan 2 μ L sampel buffer. Larutan sampel protein dan marker. Protein dimasukkan ke dalam sumuran gel (gel akrilamid 12%). Elektroforesis pada tegangan 100 volt dilakukan selama 1,5 – 2,5 jam.

Pita protein dengan berat molekul lebih besar akan terbentuk lebih dekat dengan tempat awal pemisahan. Pewarnaan pita protein dilakukan dengan cara merendam gel hasil elektroforesis (rangkaian plat dilepas) ke dalam larutan 0,10% *Coomasie Brilliant Blue* dan dilakukan menggunakan *shaker*. Setelah diwarnai, dilakukan destaining untuk menghilangkan warna dengan cara merendam gel ke dalam larutan *destaining* (500 mL akuades, 40 mL metanol, 10 mL asam asetat glasial) hingga gel menjadi jernih dengan pita terpisah satu sama lainnya. Gel kemudian disimpan dalam 10% asam asetat glasial dan dikeringkan dengan plat kit. Pita protein yang terbentuk dalam gel setelah elektroforesis maka ditentukan berat molekulnya.

3.5. Analisis Data

Data penelitian berupa data kualitatif dan data kuantitatif . Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung dengan foto sedangkan data kuantitaif dianalisis menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Pengelompokan data dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Berdasarkan hasil penghitungan konsentrasi protein didapatkan bahwa hasil konsentrasi tiap taraf pengimbasan asam salisilat berbeda nyata setelah dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi protein dimulai dari 0 ppm (kontrol) sampai 140 ppm berturut turut adalah 0,370 mg/2 μ l, 0,372 mg/2 μ l, 0,377 mg/2 μ l, 0,373 mg/2 μ l, dan 0,369 mg/2 μ l.
2. Terdapat pita protein hilang (*missing band*) yaitu pita pada berat molekul 115 kDa (perlakuan konsentrasi asam salisilat 140 ppm), dan juga ada kemunculan satu pita baru (*new band*) yaitu pada berat molekul 85 kDa (perlakuan konsentrasi asam salisilat 100 ppm).

5.2. Saran

1. Penggunaan asam salisilat dengan konsentrasi 100 ppm dianjurkan untuk mendapatkan mutan tanaman cassava yang tahan terhadap *Fo*
2. Perspektif untuk memastikan pita protein 85 kDa adalah protein peroksidase perlu dilakukan isolasi proteinnya, analisis basa asam aminonya dengan *alignment* terhadap sequence protein peroksidase species lain, dan atau analisis *western blot*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C. J. 1996. Introduction Mycology 4th Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Amponsah, S.K. 2014. Mechanical Cassava Harvesting As Influenced by Seedbed Preparation and Cassava Variety. *Am. Soc. Agric. Biol. Eng.* 30(3) : 39 – 403.
- An, C., Mou, Z. 2011. Salicylic Acid and its function in plant immunity. *J Integrative Plant Biol.* 53(6):412–428.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG). 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(2):399-436.
- Apriandi, A. 2013. Toksisitas Akut dan Subkronis Ekstrak Air dan Metanol Kerang Lamis (*Meretix meretix* Linn.) secara *In Vivo* pada Tikus Sprague Dawley (Doctoral dissertation, Tesis S).
- Ardian., Kresna. and Agustiansyah. 2012. The Effect of Some Concentrations of Benzyl Adenine and Naphthalene Acetic Acid *In Vitro* Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan.* 12 (1) : 43 – 49.
- Ayodele, A.O., Mmom. and Ano. 2019. Biofertilizer Impacts on Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Rhizosphere: Crop Yield and Growth Components, Igbaram, Nigeria - Paper 1. *World Journal of Agriculture and Soil Science.* 3(5).
- Batista, C.R., Reis, S.P. and Castelo, L.J. 2015. An overview of protein identification studies in cassava. *Current protein & peptide science.* 16 (3) : 219–227.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian.* Jakarta : Erlangga.
- Boller, T., Gehri, A., Mauch, F. and Vogeli, U. 2009. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification properties, and possible function. *Planta.* 157: 22-31.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2023. Produksi Ubi Kayu. <https://www.bps.go.id/> . Diakses pada 16 September 2023 pukul 18.35 WIB.

- Cahyono, B. 2008. *Tomat Usaha Tani & Penanganan Pasca Panen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Campbell, N.A., Reece, J. B., Cain, M. L., Wasserman S.A., Minorsky P.V. dan Jackson R.B. 2010. *Biologi*. Edisi Kedelapan Jilid 2. Erlangga. Jakarta.
- Colombo, L., Franken, J., Koetje, E., Went, J., Dons, H. J. M. dan Angenent, G.C. 1995. The Petunia MADS Box Gene FBP11 Determines Ovule Identity. *Am. S. Plant. Phy.* 7: 1859 – 1868.
- Cosgrove, D.J. 1998. Relaxation in a High-Stress Environment. The Molecular Bases of Extensible Cells Walls and Cell Enlargement. *Plant Cell*. 9:1031-1041
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York
- Databoks. 2022. 10 Negara Produsen Singkong Terbesar di Dunia, Indonesia Masuk Daftar?.
<https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2022/04/13/10-negara-produsen-singkong-terbesar-di-dunia-indonesia-masuk-daftar#:~:text=Indonesia%20tercatat%20mampu%20memproduksi%20singkong,3%20juta%20singkong%20pada%202020.&text=Di%20Indonesia%20sentra%20produksi%20singkong,Jawa%20Barat%20dan%20DI%20Yogyakarta> . Diakses pada 16 September 2023 pukul 16.29 WIB.
- Deverall, B.J. and Baker, H.K. 1982. Introduction, p. 1 20. In J.A Bailey & J.W. Mansfield (eds.) *Phytoalexins*. Blackie & Sons Ltd. Glasgow and London
- Edvera, A. 2004. A novel strategy for plant protection: *Induced resistance*. *J. Of Cell and Molecular Biol.* 3:61-69.
- Eleazu, O.C., Eleazu, K.C. and Kolawole, S. 2014. Use of indigenous technology for the production of high quality cassava flour with similar food qualities as wheat flour. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 13: 249-256.
- Fauzi, M., Kardhinata, E.H. dan Putri, L.A. 2015. Identifikasi dan Inventarisasi Genotip Tanaman Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) di Kabupaten Serdang Bedagai Sumatera Utara. *Jurnal Online Agroteknologi*. 3 (3): 1082– 1088. ISSN No. 2337- 6597.
- Fukaki, H., Fujisawa, H. and Tasaka, M. 1997. The RGH Gene is Involved in Root and Hypocotyl Gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 38 (7): 804-810.

- Fukuda, H., Ito, M., Sugiyama, M. and Komamine, A. 1994. Mechanism and Differentiation of Plant Cell Culture System. *Int. J. Dev. Biol.* 38: 287–299.
- Gee, M.A., Hagen, G. and Guilfoyle, T.J. 1991. Tissue-Specific and Organ-Specific Expression of Soybean Auxin-Responsive Transkripts GH3 and SAURs. *The Plant Cell*. 3: 419-430.
- Gilalogie. 2015. Struktur Protein dan Fungsi Protein bagi Tubuh Manusia. <http://www.gudangbiologi.com/2015/10/strukturproteindanfungsiprotein-bagi-tubuh-manusia.html>. Diakses pada 2 Februari 2024 pukul 20.39 WIB.
- Gomes, L. C.; Alcalde, C. R.; de Lima, L. R.; de Lima, L. S.; de Souza, R.; Possamai, A. P. S., 2014. Nutritive value of diets containing inactive dry yeast for lactating Saanen goats. *Rev. Bras. Zootecn.*, 43 (1): 36-43.
- Hadi, Sutrisno. 1995. Metodologi Research. Yogyakarta: Andi offset Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of Exogenous Salicylic Acid under Changing Environment: A Review. *Environmental and Experimental Botany*, 68,14-25.
- Hibbett, D.S., *et al.* 2007. A Higher-Level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111, 509-547.
- Hidayati, R.K., Rachmadiarti, F. dan Rahayu, Y.S. 2017. Profil Protein Semanggi Air (*Marsilea crenata*) yang Ditanam pada Kombinasi Medium Tanam Lumpur Lapindo dan Tanah Alfisol. *Lentera Bio*. 6 (1) : 16 – 22.
- Inayati, A. 2016. Ketahanan Terimbas Tanaman Kacang-kacangan terhadap Penyakit *Induced Disease Resistance in Legumes*. *Iptek Tanaman Pangan*. 11 No.2
- Jacob, P. 2019. Proximate analysis and SDS-PAGE protein profile of Cassava leaves *MOJES*. 4 (1) : 1–5.
- Juwanda, M., Khotimah, K. dan Mohamad, A. 2016. Peningkatan Ketahanan Bawang Merah Terhadap Penyakit Layu Fusarium Melalui Induksi Ketahanan Dengan Asam Salisilat Secara *In Vitro*. *Agrin*. 20 (1).
- Koswara, S. 2013. *Teknologi Pengolahan Umbi-Umbian*. USAID.
- Larroque, M., E. Belmas, T. Martinez, S. Vergnes, N. Ladouce, C. Lafitte, E. Gaulin, B. Dumas. 2013. Patogen associated molecular pattern-triggered immunity and resistance to the root pathogen *Phytophthora parasitica* in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 64(12):3615–3625

- Lestari, S. 2002. *Mengenal dan Bertanam Anggrek*. Semarang: Aneka Ilmu.
- Lozano, J.C. 1986. Cassava bacterial blight-a manageable disease. *Plant Disease* 12: 1089-1093.
- Mandal, S., Mallick, N., and Mitra, A. 2009. Salicylic acid- induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici in tomato.J. *Plant Phyology and Biochestyi* 47: 642 – 649.
- Maniatis, T., Fritsch E.F. and Sambrook, J.K. (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/338> Diakses pada 28 Mei 2024, pukul 12.10 WIB
- Novita, D. 2016. Pengaruh Konsentrasi Karagnan dan Gliserol terhadap Perubahan Fisik dan Kandungan Kimia Buah Jambu Biji Varietas “Kristal” Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 5(1). 49–56.
- Nurcahyani, E., Sumardi, Hadisutrisno, B. dan Suharyanto, E. 2012. Penekananperkembangan penyakit busuk batang vanili (*Fusarium oxysporum* f.sp.*vanillae*) melalui seleksi asam fusarat secara *in vitro*. *J. HPT Tropika* 12 (1) :12 – 22.
- Nurcahyani, E., Agustrina, R. and Handayani, T.T. 2016. The Protein Profile ofthe Planlets of *Spathoglottis plicata* Bl. Induced Resistance to *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Sciences*. 4 (5) :102 – 105.
- Nurcahyani, E., Qudus, H.I., Evlin, F. 2021a. Analysis of the Protein Profile of Cassava Plantlets (*Manihot esculenta* Crantz.) Resistance to *Fusarium* Wilt Disease. *OnLine Journal of Biological Science*. 21(2): 327-333.
- Nurcahyani, E., Rasmani, R., Qudus, H.I. 2021b. In Vitro Selection and Total Phenol Analysis of Moon Orchid *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Results of Induced With Fusaric Acid. *Advances in Biological Sciences Research*. 22 : 558.
- Nurcahyani, E. 2022. *Varietas Unggul Vanili Tahan Busuk Batang Berbasis Teknik Molekular dan Induced Resistance*. Plantaxia: Yogyakarta. 68 Hal.
- Purnomo, T.W.S., Kristian, R. dan Amitra, P.S. 2007. *Asam Salisilat dari Phenol*. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (Pusdatin). 2013. *Statistik Harga Komoditas Pertanian Tahun 2013*. Jakarta : Pusdatin.

- Rijal, M. 2011. *Biokimia Dasar*. IAIN Ambon. Ambon.
- Sastrosupadi, Adji. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius: Yogyakarta.
- Sarjiah., Hariyono dan Supangkat, G. 2016. *Identifikasi Singkong Varietas Lokal Kabupaten Gunung Kidul Daerah Istimewa Yogyakarta*. Laporan Penelitian Unggulan Prodi. UM Yogyakarta.
- Sylvia D, dkk. 2021. Analisis Kandungan Protein Yang Terdapat Dalam Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Menggunakan Metode Kjeldahl & SpektrofotometriUv-Vis. *Jurnal Farmagazine* 8 : (2)
- Soelistijono. 2015. Kajian Efektifitas *Rhizoctonia* sp Mikoriza Dataran Rendahdan Sedang pada Tingkat Keparahan Penyakit (Dsi) Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap *Fusarium* sp. *Biosaintifika*. 7 (2).
- Subandi. 2009. Teknologi Budidaya Ubi Kayu. *Iptek Tanaman Pangan*. 4 (2): 131-153.
- Sumardiyono, C., Suharyanto., Suryanti., Rositasari., dan Chinta. 2015. Deteksi Pengimbasan Ketahanan Pisang Terhadap Penyakit Layu *Fusarium* DenganAsam Fusarat. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 19 (1) :40 – 44.
- Soemodihardjo, I.H. 2004. Analisis Biaya Sumberdaya Domestik: Metodologi danAplikasinya dalam Studi Efisiensi Produksi Gula di Jawa Timur. Jember: Penerbit Universitas Jember.
- Sun, Y., Huiqing, Z., Min, F., Yanjun, H. and Pingan, G. 2020. A Mutation in the IntronSplice Acceptor site of a GA3ox Gene Confers Dwarf Architecture in Watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Scientific Reports*. 10 : 14915.
- Sutedjo, M.M. 2008. Pupuk dan Pemupukan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 139 hal.
- Thurston, H.D. 1998. *Tropical Plant Diseases*. Minnesota: APS Press. Ward, E.R., Uknes, S.J., Williams, S.C., Dincher, S.S., Wiederhold, D.L., Alexander, D.C., Ahlgoy, P., Metraux, J.P. and Ryals, J.A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquiredresistance. *Plant Cell*. 3 :1085 – 1094.
- Wargiono, J. 2003. Pemupukan NPK dan Sistem Tanam Ubikayu padaTanah Ultisol Lampung. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*,22(2): 114-120.

- Wijayanti, B. 2003. Penggunaan *Serratia mercescens* DS8 untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang Panili. Skripsi pada Institut Pertanian Bogor : diterbitkan.
- Yuliarti, N. 2010. Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga. *Lily Publisher*. Yogyakarta.
- Yulita, K., Bayer and JG West. 2005. Molecular phylogenetic study of Hopea and Shorea (*Dipterocarpaceae*): Evidence from the trnL-V and internal transcribed spacers region. *Plant Species Biology*. 20,167-182
- Zamaninejad, M., Khorasani, S., Moeini, M., Heidarian, A. 2013. Effect of salicylic acid on morphological characteristics, yield and yield components of corn (*Zea mays* L.) under drought condition. *Eur J Exp Biol*. 3(2):153–161.
- Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., and Hu, H. 2018. Physiological Diversity of Orchids. *Plant Diversity*. 40 : 196-208