

**PENGARUH INFEKSI *Curvularia andropogonis* (Zimm.)
TERHADAP ENZIM *PHENYLALANINE AMMONIA LYASE*
(PAL) DAUN SERAI WANGI (*Cymbopogon nardus* L.)**

SKRIPSI



FEBIANTI DWI HAPSARI

NIM. 1903020009

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN**

2023

**PENGARUH INFEKSI *Curvularia andropogonis* (Zimm.)
TERHADAP ENZIM *PHENYLALANINE AMMONIA LYASE*
(PAL) DAUN SERAI WANGI (*Cymbopogon nardus* L.)**

SKRIPSI



FEBIANTI DWI HAPSARI

NIM. 1903020009

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN**

2023

**PENGARUH INFEKSI *Curvularia andropogonis* (Zimm.) TERHADAP
ENZIM *PHENYLALANINE AMMONIA LYASE* (PAL) DAUN SERAI
WANGI (*Cymbopogon nardus* L.)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
pada Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah
Lamongan

Febianti Dwi Hapsari

NIM. 1903020009

Disetujui oleh:

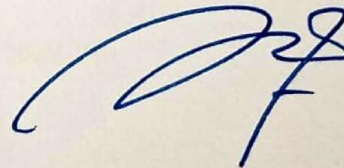
Pembimbing I,

Pembimbing II,



Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc.

NIK. 19920118 201909 120



Putri Ayu Ika Setiyowati, S.Si., M.Si.

NIK. 19930714 201909 116

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Pengaruh Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)
terhadap Enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase*
(PAL) Daun Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.)
Penyusun : Febianti Dwi Hapsari
NIM : 1903020009
Tanggal Ujian : 21 Juli 2023

Telah Diuji dan Disetujui Oleh Tim Penguji Pada Ujian Sidang Skripsi di Prodi
S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah
Lamongan

Tanggal: 28 Juli 2023

Penguji I,



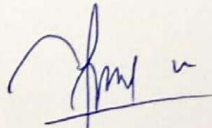
Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc.
NIK. 19920118 201909 120

Penguji II,



Putri Ayu Ika Setiyowati, S.Si., M.Si.
NIK. 19930714 201909 116

Penguji III,



M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si.
NIK. 19910427 202009 176

Mengetahui,
Dekan

Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Lamongan



Eko Handoyo, S.Kom., M.Kom
NIK. 19910217 201905 105

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Muhammadiyah Lamongan, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Muhammadiyah Lamongan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) terhadap Enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) Daun Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.)” sesuai waktu yang ditentukan.

Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh sarjana biologi di Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.

Dalam penyusunan, penulis mendapatkan banyak pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Bapak/Ibu:

1. Dr. Aziz Alimul Hidayat, S.Kep., Ns., M.Kep., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Lamongan.
2. Eko Handoyo, S.Kom., M.Kom., selaku Dekan Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.
3. Putri Ayu Ika Setiyowati, S.Si., M.Si., selaku Ka-Prodi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan sekaligus pembimbing II yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dan dorongan moril selama penyusunan skripsi ini.
4. Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc., selaku pembimbing I yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dan dorongan moril selama penyusunan skripsi ini.
5. M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si., selaku penguji I yang telah banyak memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi ini.
6. Kedua orang tua tercinta yang telah memberikan do’a, semangat, dan dukungan baik secara moril maupun materi selama penyusunan skripsi ini.
7. Semua pihak yang telah memberikan dukungan moril dan materi demi terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberi balasan pahala atas semua amal kebaikan yang diberikan. Penulis menyadari karya tulis skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan, akhirnya penulis berharap semoga karya tulis skripsi ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi semua pembaca pada umumnya.

Lamongan, 03 Juli 2023

Penyusun,

Febianti Dwi Hapsari

ABSTRAK

Penyakit bercak daun merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman serai wangi (*Cymbopogon nardus* L.), disebabkan oleh infeksi jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Infeksi jamur ini berpotensi menginduksi sistem ketahanan tanaman, terutama produksi metabolit sekunder dan aktivitas enzim-enzim ketahanan seperti enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL). Pada penelitian ini dilakukan analisis nilai aktivitas enzim PAL sebagai respon ketahanan awal tanaman untuk mengetahui pengaruh cekaman abiotik pelukaan dan cekaman biotik dari serangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Aktivitas enzimatis PAL ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. yang diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memiliki nilai tertinggi dengan rata-rata sebesar 0,121 U/mg, diikuti daun luka sebesar 0,040 U/mg, dan daun normal sebesar 0,022 U/mg. Hasil tersebut menunjukkan bahwa luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memiliki pengaruh yang signifikan terhadap nilai aktivitas spesifik enzim PAL dalam mekanisme ketahanan tanaman *Cymbopogon nardus* L. setelah cekaman abiotik pelukaan dan cekaman biotik dari serangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

Kata Kunci : Serai wangi, *Cymbopogon nardus* L., *Curvularia andropogonis* (Zimm.), *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL)

ABSTRACT

Leaf spot disease is one of the diseases that attack citronella plants (*Cymbopogon nardus* L.), caused by infection with the fungus *Curvularia andropogonis* (Zimm.). This fungal infection has the potential to induce plant resistance systems, especially the production of secondary metabolites and the activity of resistance enzymes such as *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) enzyme. In this study, the value of PAL enzyme activity was analyzed as an early plant resistance response to determine the effect of abiotic stress of wounding and biotic stress of *Curvularia andropogonis* (Zimm.) fungal attack. PAL enzymatic activity was determined using UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 280 nm. The results showed that the PAL enzyme specific activity of *Cymbopogon nardus* L. leaves infected with *Curvularia andropogonis* (Zimm.) had the highest value with an average of 0,121 U/mg, followed by wounded leaves at 0,040 U/mg, and normal leaves at 0,022 U/mg. These results indicate that wounding and *Curvularia andropogonis* (Zimm.) infection have a significant influence on the specific activity value of PAL enzymes in the resistance mechanism of *Cymbopogon nardus* L. plants after abiotic stress of wounding and biotic stress of *Curvularia andropogonis* (Zimm.) fungal attack.

Keywords : Citronella, *Cymbopogon nardus* L., *Curvularia andropogonis* (Zimm.), *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL)

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Akademisi	5
1.4.2 Bagi Praktisi	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	6
2.1 Tinjauan Pustaka.....	6
2.1.1 Serai Wangi (<i>Cymbopogon nardus</i> L.).....	6
2.1.1.1 Klasifikasi <i>Cymbopogon nardus</i> L.	6
2.1.1.2 Morfologi <i>Cymbopogon nardus</i> L.	6
2.1.1.3 Kandungan Kimia <i>Cymbopogon nardus</i> L.	7
2.1.1.4 Kendala dalam Perkembangan dan Pertumbuhan <i>Cymbopogon nardus</i> L.	7
2.1.2 <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.).....	8
2.1.2.1 Klasifikasi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.).....	8

2.1.2.2	Morfologi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.).....	9
2.1.2.3	Mekanisme Infeksi Jamur ke Tanaman	9
2.1.3	<i>Phenylalanine Ammonia Lyase</i> (PAL)	12
2.1.3.1	Enzim PAL.....	12
2.1.3.2	Respon PAL Terhadap Cekaman	13
2.2	Hipotesis	14
BAB III METODE PENELITIAN.....		16
3.1	Lokasi dan Waktu	16
3.1.1	Lokasi	16
3.1.2	Waktu	16
3.2	Bahan dan Alat	16
3.2.1	Bahan.....	16
3.2.2	Alat	16
3.3	Cara Kerja.....	17
3.3.1	Pembuatan <i>Greenhouse</i>	17
3.3.2	Persiapan Media Tanam	17
3.3.3	Uji Kesehatan Benih.....	17
3.3.4	Penanaman dan Pemeliharaan <i>Cymbopogon nardus</i> L.	18
3.3.5	Sterilisasi Bahan dan Alat.....	18
3.3.6	Pembiakan <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.).....	18
3.3.7	Perhitungan Konsentrasi Jamur <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)	18
3.3.8	Pelukaan dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)	19
3.3.9	Pengambilan Sampel.....	19
3.3.10	Ekstraksi <i>Phenylalanine Ammonia Lyase</i> (PAL)	19
3.3.11	Perhitungan Kadar Protein.....	19
3.3.12	Penentuan Aktivitas Enzim PAL.....	20
3.4	Variabel Penelitian.....	21
3.5	Cara Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		22
4.1	Hasil Penelitian.....	22

4.1.1 Data Sekunder	22
4.1.1.1 Hasil Uji Kesehatan Benih	22
4.1.1.2 Hasil Penanaman dan Pemeliharaan <i>Cymbopogon nardus</i> L.	22
4.1.1.3 Morfologi Daun <i>Cymbopogon nardus</i> L. Normal, Luka, dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.).....	23
4.1.2 Data Primer	23
4.1.2.1 Pengaruh Luka dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) Terhadap Kadar Protein	23
4.1.2.2 Pengaruh Luka dan Infeksi Terhadap Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik Enzim PAL	24
4.2 Pembahasan	25
4.2.1 Uji Kesehatan Benih	25
4.2.2 Penanaman dan Pemeliharaan <i>Cymbopogon nardus</i> L.	26
4.2.3 Morfologi Daun <i>Cymbopogon nardus</i> L. Normal, Luka, dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)	27
4.2.4 Pengaruh Luka dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) Terhadap Kadar Protein	29
4.2.5 Pengaruh Luka dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) Terhadap Aktivitas Enzim <i>Phenylalanine Ammonia Lyase</i> (PAL)	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Cymbopogon nardus</i> L. (Dokumentasi Pribadi, 2023)	6
Gambar 2.2 Morfologi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.): a) Makroskopis <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) di media PDA; b) Mikroskopis hifa dan konidia <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	9
Gambar 2.3 Mekanisme penetrasi dan invasi oleh jamur (Modifikasi dari Agrios, 2005)	10
Gambar 2.4 Jalur biosintesis phenilpropanoid (Dehghan <i>et al.</i> , 2014)	12
Gambar 2.5 Mekanisme korelasi enzim PAL dan asam salisilat terhadap patogenesis (Marwa, 2012).....	14
Gambar 4.1 Hasil uji kesehatan benih <i>Cymbopogon nardus</i> L. (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	22
Gambar 4.2 Pertumbuhan <i>Cymbopogon nardus</i> L. : a) saat penanaman, b) setelah 7 hari penanaman, dan c) setelah 2 bulan penanaman (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	22
Gambar 4.3 Morfologi daun <i>Cymbopogon nardus</i> L.: a) normal, b) luka, c) infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	23
Gambar 4.4 Grafik kadar ekstrak kasar protein daun <i>Cymbopogon nardus</i> L. normal, luka, dan infeksi (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	24
Gambar 4.5 Grafik aktivitas enzim PAL pada daun <i>Cymbopogon nardus</i> L. normal, luka, dan infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	24
Gambar 4.6 Grafik aktivitas spesifik Enzim PAL pada Daun <i>Cymbopogon nardus</i> L. Normal, Luka, dan infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023).....	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Keterangan
1	Pembuatan <i>Greenhouse</i>
2	Persiapan Media Tanam dan Uji Kesehatan Benih
3	Penanaman dan Pemeliharaan <i>Cymbopogon nardus</i> L.
4	Pembiakan <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)
5	Perhitungan Konsentrasi Jamur <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) dengan Menggunakan <i>Haemocytometer</i>
6	Pelukaan dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) serta Pengambilan Sampel
7	Ekstraksi PAL
8	Perhitungan Kadar Protein
9	Penentuan Aktivitas Enzim PAL
10	Jadwal Pelaksanaan Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam, salah satunya yaitu keanekaragaman flora yang beberapa diantaranya dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat secara turun-temurun seperti serai wangi (*Cymbopogon nardus* L.) (Halim dan Fitri, 2020). *Cymbopogon nardus* L. sangat prospektif untuk dikembangkan karena memiliki banyak manfaat dalam bidang kehidupan, mulai dari industri kosmetik, sabun, parfum, farmasi, insektisida, nematisida, fungisida, dan bakterisida (Gustiar dkk., 2020).

Cymbopogon nardus L. merupakan golongan Poaceae seperti padi, jagung, tebu, gandum, dan lain-lain (Nursanti dkk., 2020). *Cymbopogon nardus* L. memiliki batang berwarna merah keunguan yang lunak, bergerombol, dan tumbuh tegak lurus di atas tanah dengan akar serabut dan daun bertepi tajam yang semakin ke ujung semakin runcing, panjang daun sekitar 50-100 cm dan lebar daun sekitar 2 cm, serta apabila daun diremas akan menghasilkan bau citrus (Arifin, 2014; Mangelep, 2018; Nuraida dkk., 2022). *Cymbopogon nardus* L. mengandung senyawa saponin, triterpenoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan flavonoid di seluruh bagian tubuhnya (Solekha dkk., 2022). *Cymbopogon nardus* L. menghasilkan minyak atsiri yang tersusun atas senyawa utama berupa sitronelal, geraniol, dan sitronelol (Halim dan Fitri, 2020; Wijayanti, 2015). Minyak atsiri *Cymbopogon nardus* L. termasuk salah satu komoditas agribisnis ke berbagai negara yang dipandang memiliki prospek strategis dalam menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi di industri, dikenal dengan nama *citronella oil* (Aidah, 2020). Direktorat Jenderal Perkebunan (2020) menyebutkan bahwa permintaan kebutuhan *citronella oil* di dunia mencapai 2.000-2.500 ton/tahun, tetapi hanya 50-60% saja yang terpenuhi dikarenakan berbagai kendala dalam perkembangan dan pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L. yang berdampak pada rendahnya produktivitas daun segar serta kualitas minyak yang dihasilkan (Nabila dan Nurmawati, 2019).

Kendala dalam perkembangan dan pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L. terbagi menjadi dua, yaitu cekaman abiotik dan cekaman biotik. Cekaman abiotik seperti kekeringan, kondisi angin, salinitas, UV, dan pelukaan (Rudin, 2020), sedangkan cekaman biotik seperti serangan patogen yang menyebabkan penyakit melalui serangkaian proses penimbunan penyakit atau patogenesis (Soenartiningih dkk., 2013).

Jenis patogen yang umumnya menyerang *Cymbopogon nardus* L. meliputi *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp., dan *Curvularia* sp. Ketiga patogen ini menyerang daun *Cymbopogon nardus* L. serta dinilai terlibat dalam penurunan produktivitas dan mutu *citronella oil* (Idris dan Nurmansyah, 2015). Dari ketiga patogen tersebut, *Curvularia* sp. memiliki dampak paling serius dikarenakan jamur ini memiliki kisaran inang yang luas dan bersifat terbawa benih (Suganda dan Wulandari, 2018; Vandana dan Lakpale, 2020). Patogen terbawa benih pada tanaman dapat mengakibatkan penurunan jumlah produksi tanaman, penurunan daya perkecambahan, perubahan biokimia dan sifat fisik benih, serta kematian bibit tanaman dalam skala yang luas (Naqvi *et al.*, 2013). Salah satu spesies dari genus *Curvularia* yang menyebabkan penyakit bercak daun pada *Cymbopogon nardus* L. adalah *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Zhang *et al.*, 2020). *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sebelumnya telah dilaporkan sebagai kendala utama dalam produksi *Cymbopogon winterianus* yang mempengaruhi kualitas minyak dan kuantitas daun sehingga menyebabkan penipisan komponen minyak utama (Pandey *et al.*, 2018). *Curvularia andropogonis* (Zimm.) juga disebutkan sebagai penyakit penting pada daun *Cymbopogon flexuosus* yang menyebabkan kerusakan parah dan berdampak pada hilangnya minyak dan kandungan citral (Vandana *et al.*, 2020).

Curvularia andropogonis (Zimm.) adalah jamur yang memiliki karakteristik makroskopis berupa koloni berbentuk bulat dan berwarna coklat abu-abu hingga abu-abu tua dengan pertumbuhan rata dan tebal, tetapi tepinya tidak rata dan berwarna putih keabu-abuan. Permukaannya menyerupai kapas dengan miselium yang teratur (Vandana *et al.*, 2020), sedangkan karakteristik mikroskopisnya berupa hifa bersekat yang ujungnya terdapat konidia coklat tunggal atau lebih dan

bersepta yang lebarnya mencapai 3-4 μm , panjangnya bervariasi, tidak bercabang, dan melengkung, serta bagian sel konidianya yang ketiga lebih besar daripada bagian sel yang lainnya (Pandey *et al.*, 2018). Jamur ini menyerang daun dan memunculkan gejala awal berupa bercak kecil berwarna coklat kemerahan dan berbentuk lingkaran sampai bulat telur yang kemudian menyatu dan membesar menjadi bercak-bercak panjang di sepanjang ujung serta tepi daun menyebabkan seluruh daun menjadi kering dan mati (Vandana *et al.*, 2020). Jamur ini juga mengakibatkan penurunan yang cukup besar pada kualitas minyak dan kuantitas daun (Mondal *et al.*, 2018).

Secara umum, jamur menginfeksi tanaman dengan tiga cara, yaitu penetrasi secara langsung, masuk melalui bagian organ alami yang terbuka (stomata, lentisel, dan hidatoda), serta luka (Agrios, 2005). Infeksi jamur pada setiap tanaman akan menghasilkan respon ketahanan tanaman yang berbeda. Respon tersebut tidak hanya ditentukan melalui morfologi tanaman melainkan dapat ditentukan melalui ketahanan biokimia, seperti melalui senyawa fenol yang dikeluarkan tanaman sebagai indikator peningkatan ketahanan tanaman (Vagiri *et al.*, 2017).

Tanaman yang berada dalam cekaman, baik biotik maupun abiotik akan mengalami peningkatan produksi metabolit sekunder sebagai respon awal ketahanan tanaman yang dipengaruhi oleh enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) (Marwa, 2012; Perangin-Angin dkk., 2019; Rudin, 2020). Enzim PAL adalah enzim yang berperan penting dalam pembentukan senyawa fenol, seperti lignin, asam salisilat, flavonoid, dan turunannya. Enzim ini akan bereaksi dengan fenilalanin yang telah dihasilkan sebelumnya dari jalur asam shikimat (Ar-Raihani, 2022). Reaksi enzimatik PAL ini yang kemudian menghasilkan senyawa intermediet berupa asam *trans* sinamat yang selanjutnya diubah menjadi senyawa fenol dan turunannya sebagai pertahanan melalui metabolisme jalur phenilpropanoid (Marwa, 2012), sehingga apabila semakin banyak fenilalanin yang diserap maka enzim PAL akan mengalami peningkatan kemudian mempengaruhi pembentukan senyawa fenol yang lebih tinggi untuk menekan perkembangan patogen (Permanasari dkk., 2015; Solekha *et al.*, 2019).

Selama ini, cekaman abiotik dan biotik berpengaruh penting terhadap produksi metabolit sekunder. Cekaman tersebut dapat digunakan sebagai strategi untuk mengoptimalkan pembentukan metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan tanaman (Rudin, 2020). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan alternatif untuk mengetahui pengaruh cekaman abiotik pelukaan dan cekaman biotik dari serangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) melalui analisis nilai aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. sebagai respon awal ketahanan tanaman. Hal inilah yang melatarbelakangi adanya penelitian ini, yaitu untuk mengetahui nilai aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. pada kondisi normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.), sehingga diharapkan bisa dijadikan sebagai acuan dasar para peneliti untuk memecahkan permasalahan ketahanan *Cymbopogon nardus* L. setelah luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapa perbedaan nilai aktivitas enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. diantara kelompok normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui mekanisme pertahanan tanaman melalui analisis nilai aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. setelah dilukai dan diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sebagai respon awal ketahanan tanaman.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui perbedaan nilai aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. diantara kelompok normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Akademisi

1. Sebagai ilmu pengetahuan khususnya mengenai hal penggalan respon enzim PAL dalam metabolisme ketahanan awal tanaman *Cymbopogon nardus* L. terhadap cekaman luka dan serangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.).
2. Sebagai sarana pembandingan bagi dunia ilmu pengetahuan dalam memperkaya informasi tentang mekanisme pertahanan tanaman.

1.4.2 Bagi Praktisi

1. Sebagai wawasan bagi peneliti, praktisi atau petani serai mengetahui respon enzim PAL dalam metabolisme ketahanan awal tanaman *Cymbopogon nardus* L. terhadap luka dan serangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.).
2. Sebagai acuan bagi peneliti lain untuk mengembangkan penelitian sejenis dengan menggunakan bahan penelitian yang berbeda.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dalam penelitian ini adalah pengukuran nilai aktivitas enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. yang normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

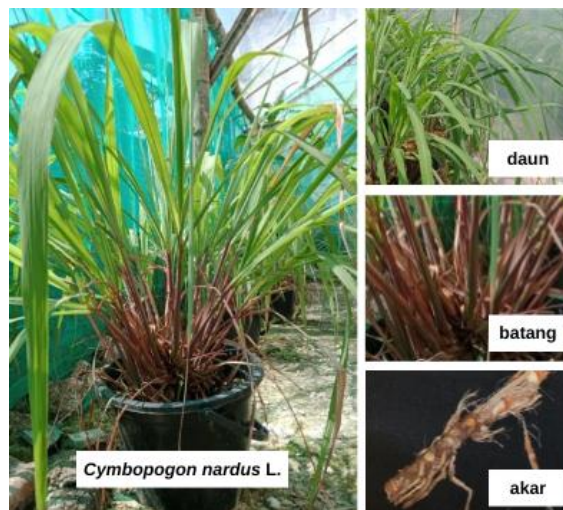
2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.)

2.1.1.1 Klasifikasi *Cymbopogon nardus* L.

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Cyperales
Famili : Poaceae
Genus : *Cymbopogon*
Spesies : *Cymbopogon nardus* L. (Arengo, 2022)

2.1.1.2 Morfologi *Cymbopogon nardus* L.



Gambar 2.1 Morfologi *Cymbopogon nardus* L. (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Cymbopogon nardus L. merupakan golongan Poaceae seperti padi, jagung, tebu, gandum dan lain-lain (Nursanti dkk., 2020). *Cymbopogon nardus* L. memiliki batang berwarna merah keunguan, bergerombol, lunak, serta berongga yang tumbuh tegak lurus di atas tanah sehingga bersifat kaku dan mudah patah (Arifin, 2014; Nuraida dkk., 2022). Daunnya sejajar, bertepi tajam yang semakin ke ujung semakin runcing dengan panjang daun sekitar 50-100 cm dan lebarnya sekitar 2 cm serta apabila daun diremas akan menghasilkan bau citrus. Daging daunnya tipis yang dilengkapi bulu halus di bagian permukaan dan bawah daun (Mangelep, 2018). *Cymbopogon nardus* L. berakar serabut dan jarang sekali

memiliki bunga, apabila ada bunganya maka tidak memiliki mahkota, berwarna putih, dan berbentuk bulir (Gambar 2.1) (Anwar dkk., 2022; Nadirah dkk., 2022).

2.1.1.3 Kandungan Kimia *Cymbopogon nardus* L.

Cymbopogon nardus L. mengandung senyawa saponin, triterpenoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan flavonoid di seluruh bagian tubuhnya. Saponin berfungsi sebagai antimikroba. Triterpenoid berfungsi sebagai antibakteri (Solekha dkk., 2022). Alkaloid berfungsi mengatur kerja hormon, menguatkan tumbuhan, dan melindungi tumbuhan dari serangan hama (Solekha dkk., 2021). Tanin berfungsi sebagai pertahanan terhadap jamur, bakteri, virus, dan serangga herbivora (Saputra dan Anggraini, 2016). Terpenoid dan flavonoid pada *C. nardus* berpotensi sebagai antioksidan (Widiantara dkk., 2021).

Cymbopogon nardus L. menghasilkan minyak atsiri yang terdiri dari senyawa utama berupa sitronelal, geraniol, dan sitronelol (Halim dan Fitri, 2020; Wijayanti, 2015). Minyak atsiri *Cymbopogon nardus* L. termasuk salah satu komoditas agribisnis ke berbagai negara yang dipandang memiliki prospek strategis dalam menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi di industri, dikenal dengan nama *citronella oil* (Aidah, 2020). Direktorat Jenderal Perkebunan (2020) menyebutkan bahwa permintaan kebutuhan *citronella oil* di dunia mencapai 2.000-2.500 ton/tahun, tetapi hanya 50-60% saja yang terpenuhi dikarenakan berbagai kendala dalam perkembangan dan pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L. yang berdampak pada rendahnya produktivitas daun segar serta kualitas minyak yang dihasilkan (Nabila dan Nurmalina, 2019).

2.1.1.4 Kendala dalam Perkembangan dan Pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L.

Kendala dalam perkembangan dan pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L. terbagi menjadi dua, yaitu cekaman abiotik dan cekaman biotik. Cekaman abiotik seperti kekeringan, kondisi angin, salinitas, UV, dan pelukaan (Rudin, 2020), sedangkan cekaman biotik seperti serangan patogen yang menyebabkan penyakit melalui serangkaian proses penimbunan penyakit atau patogenesis (Soenartingsih dkk., 2013).

Jenis patogen yang umumnya menyerang *Cymbopogon nardus* L. meliputi *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp., dan *Curvularia* sp. Ketiga patogen ini menyerang daun *Cymbopogon nardus* L. serta dinilai terlibat dalam penurunan produktivitas dan mutu *citronella oil* (Idris dan Nurmansyah, 2015). Dari ketiga patogen tersebut, *Curvularia* sp. memiliki dampak paling serius dikarenakan jamur ini memiliki kisaran inang yang luas dan bersifat terbawa benih. Patogen terbawa benih pada tanaman dapat mengakibatkan penurunan jumlah produksi tanaman, penurunan daya perkecambahan, perubahan biokimia dan sifat fisik benih, serta kematian bibit tanaman dalam skala yang luas (Naqvi *et al.*, 2013). *Curvularia* sp. dapat menyebar melalui tanah, angin, percikan air, dan kemungkinan infeksi dari serangga serta perantara manusia (Soenartiningih dkk., 2013; Sunarko, 2014). Salah satu spesies dari genus *Curvularia* yang menyebabkan penyakit bercak daun pada *Cymbopogon nardus* L. adalah *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Zhang *et al.*, 2020). *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sebelumnya telah dilaporkan sebagai kendala utama dalam produksi *Cymbopogon winterianus* yang mempengaruhi kualitas minyak dan kuantitas daun sehingga menyebabkan penipisan komponen minyak utama (Pandey *et al.*, 2018). *Curvularia andropogonis* (Zimm.) juga disebutkan sebagai penyakit penting pada daun *Cymbopogon flexuosus* yang menyebabkan kerusakan parah dan berdampak pada hilangnya minyak dan kandungan citral (Vandana *et al.*, 2020).

2.1.2 *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

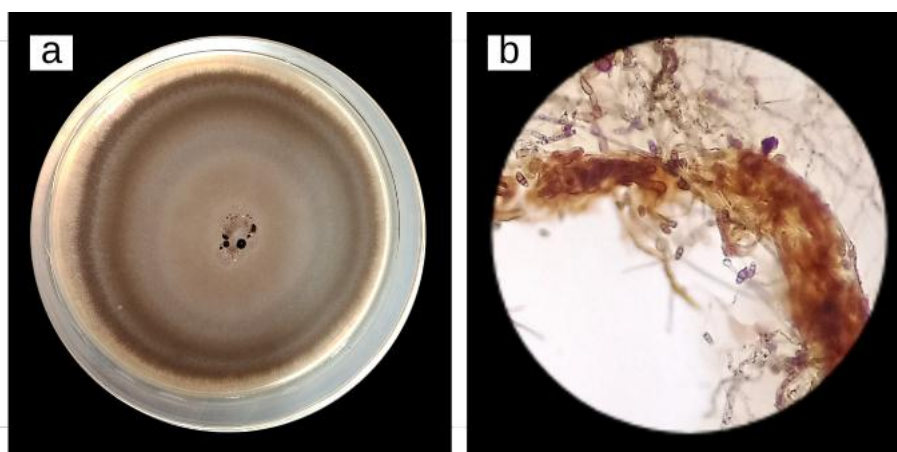
2.1.2.1 Klasifikasi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Curvularia andropogonis (Zimm.) dalam *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycota
Sub Divisi	: Pezizomycota
Kelas	: Dothideomycetes
Sub Kelas	: Pleosporomycetidae
Ordo	: Pleosporales
Famili	: Pleosporaceae
Genus	: <i>Curvularia</i>
Spesies	: <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) (Boedijn, 1993)

2.1.2.2 Morfologi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Curvularia andropogonis (Zimm.) memiliki karakteristik makroskopis berupa koloni berbentuk bulat dan berwarna coklat abu-abu hingga abu-abu tua dengan pertumbuhan rata dan tebal, tetapi tepinya tidak rata dan berwarna putih keabu-abuan. Permukaannya menyerupai kapas dengan miselium yang teratur (Vandana *et al.*, 2020) (Gambar 2.2 (a)).



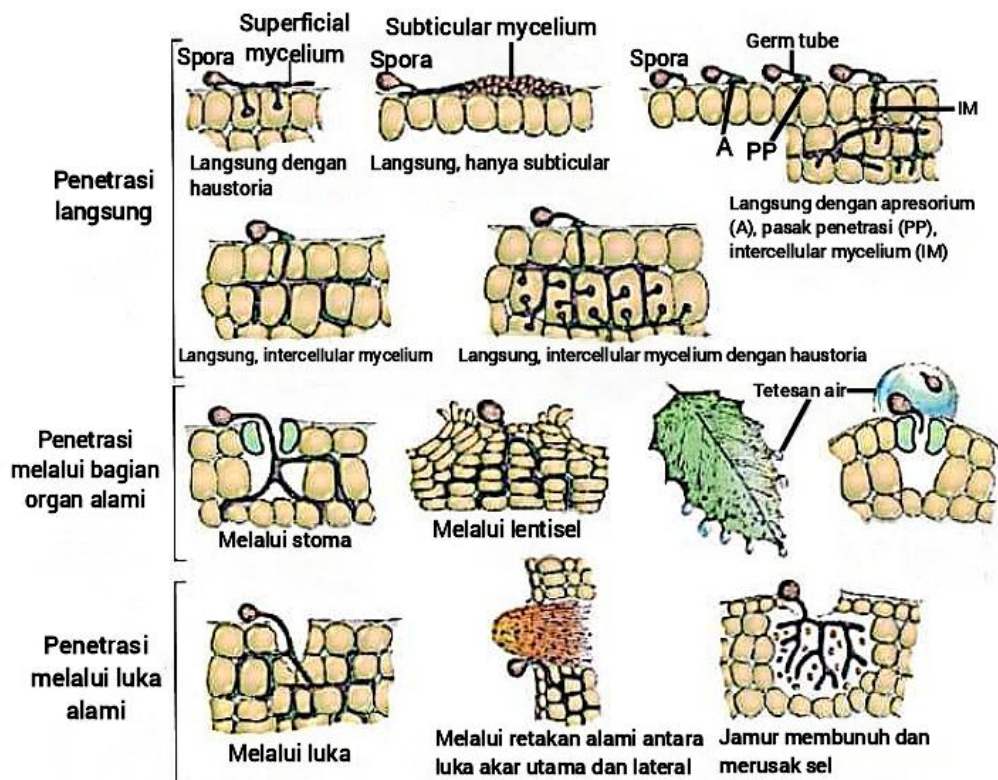
Gambar 2.2 Morfologi *Curvularia andropogonis* (Zimm.): a) Makroskopis *Curvularia andropogonis* (Zimm.) di media PDA; b) Mikroskopis hifa dan konidia *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Curvularia andropogonis (Zimm.) memiliki karakteristik mikroskopis berupa hifa bersekat yang ujungnya terdapat konidia coklat tunggal atau lebih dan bersepta yang lebarnya mencapai 3-4 μm , panjangnya bervariasi, tidak bercabang, dan melengkung, serta bagian sel konidianya yang ketiga lebih besar daripada bagian sel yang lainnya (Pandey *et al.*, 2018) (Gambar 2.2 (b)). Jamur ini menyerang daun dan memunculkan gejala awal berupa bercak kecil berwarna coklat kemerahan dan berbentuk lingkaran sampai bulat telur yang kemudian menyatu dan membesar menjadi bercak-bercak panjang di sepanjang ujung serta tepi daun menyebabkan seluruh daun menjadi kering dan mati (Vandana *et al.*, 2020). Jamur ini juga mengakibatkan penurunan yang cukup besar pada produksi minyak dan kuantitas daun (Mondal *et al.*, 2018).

2.1.2.3 Mekanisme Infeksi Jamur ke Tanaman

Patogen merupakan organisme yang menyebabkan penyakit melalui serangkaian proses penimbunan penyakit yang disebut dengan patogenesis

(Soenartiningih dkk., 2013), contohnya jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Secara umum, jamur menyerang tanaman melalui tabung kecambah yang dihasilkan dari diferensiasi konidia menjadi struktur infeksius khusus yang disebut apresorium. Apresorium melekat erat dan menembus permukaan tanaman akibat tekanan turgor yang tinggi sehingga memacu PAMP untuk mengaktifasi respon imun bawaan dengan penguatan dinding sel pada tanaman melalui pembentukan papilla. Apresorium yang telah masuk akan berdiferensiasi menjadi hifa dan haustoria yang menyebabkan kerusakan protein dan DNA yang dipicu oleh DAMP dengan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), selanjutnya ROS mengaktifasi enzim-enzim sebagai mekanisme ketahanan (Kaur *et al.*, 2022). Adapun jamur dapat menginfeksi tanaman dengan tiga cara, yaitu penetrasi secara langsung, masuk melalui bagian organ alami yang terbuka (stomata, lentisel, dan hidatoda), serta luka (Gambar 2.3) (Agrios, 2005).



Gambar 2.3 Mekanisme penetrasi dan invasi oleh jamur (Modifikasi dari Agrios, 2005)

- 1. Penetrasi secara langsung**, merupakan mekanisme paling umum pada jamur. Jamur menembus tanaman inang secara langsung melalui apresorium yang

terbentuk pada miselium dengan permukaan tanaman. Apresorium ini tumbuh ke arah permukaan tanaman dan menembus kutikula serta dinding sel melalui kekuatan mekanis dan pelunakan enzimatis sel (Agrios, 2012).

2. Melalui bagian organ alami yang terbuka, seperti stomata, lentisel, dan hidatoda (Agrios, 2012). Spora atau konidia yang jatuh di epidermis daun akan berkecambah, apabila menemui bagian organ alami yang terbuka maka:

- a. Jamur yang masuk melalui stomata, miseliumnya akan membentuk apresorium yang tepat di atas stoma, satu hifa tumbuh darinya ke dalam stoma. Dalam rongga substomata, hifa membesar dan darinya tumbuh hifa-hifa kecil (haustoria) yang menyerang sel tumbuhan (Sharma, 2013).
- b. Jamur yang masuk melalui lentisel (bagian organ alami yang terbuka pada batang), miseliumnya akan membentuk apresorium yang tumbuh satu hifa darinya, selanjutnya hifa membesar dan tumbuh hifa-hifa kecil (haustoria) yang menyerang sel tumbuhan (Sharma, 2013).
- c. Jamur yang masuk melalui hidatoda dengan jalan terbukanya pori-pori di tepi dan ujung daun. Pori-pori ini berperan sebagai sarana/penghubung jamur ke pembuluh daun (Agrios, 2012).

3. Melalui luka. Jamur memanfaatkan jaringan luka segar atau luka lama berupa sel-sel tumbuhan yang rusak atau mati oleh vektornya. Spora berkecambah dan berkembang biak dalam getah luka atau lapisan air yang ada pada luka menjadi haustoria yang selanjutnya menyerang sel-sel tanaman (Sharma, 2013).

Infeksi jamur pada setiap tanaman akan menghasilkan respon ketahanan tanaman yang berbeda-beda. Respon ketahanan tanaman tersebut tidak hanya ditentukan melalui morfologi tanaman melainkan dapat ditentukan melalui ketahanan biokimia, seperti melalui senyawa fenol yang dikeluarkan tanaman sebagai indikator peningkatan ketahanan tanaman (Vagiri *et al.*, 2017).

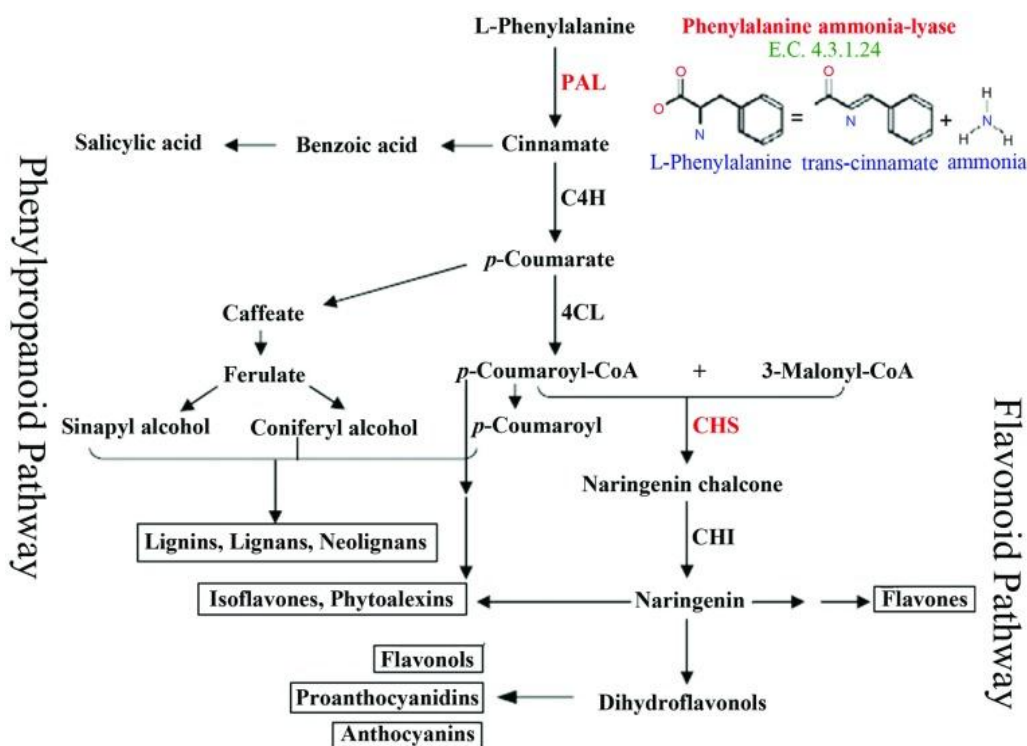
Mekanisme ketahanan tanaman terhadap patogen terbagi menjadi 2, yaitu mekanisme ketahanan pasif dan mekanisme ketahanan aktif (Fitria dan Masnilah, 2020). Mekanisme ketahanan pasif sudah ada pada tanaman sebelum terinfeksi patogen serta berfungsi mencegah patogen masuk dan berkembang lebih jauh ke tanaman, misalnya tumbuhan yang epidermisnya berkutikula tebal dan

mempunyai jumlah stomata yang sedikit. Sedangkan mekanisme ketahanan aktif baru muncul setelah tanaman terinfeksi patogen, misalnya senyawa fenolik yang pembentukannya dipengaruhi oleh enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) (Khasanati dkk., 2014; Permanasari dkk., 2015).

2.1.3 *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL)

2.1.3.1 Enzim PAL

Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) adalah enzim yang berperan penting dalam pembentukan berbagai senyawa fenol dan turunannya (Julianti dkk., 2021). Enzim PAL diekspresikan ketika tumbuhan berada dalam cekaman (Sopandie, 2013). Enzim ini termasuk enzim pertama atau enzim kunci yang mengkatalisator senyawa asam amino aromatik, seperti fenilalanin (Musman, 2017).



Gambar 2.4 Jalur biosintesis phenilpropanoid (Dehghan *et al.*, 2014)

Fenilalanin merupakan salah satu prekursor yang dihasilkan di jalur asam shikimat melalui kombinasi fosfoenolpiruvat dari jalur glikosidik dan eritrosa-4-fosfat dari jalur pentosa fosfat (Idroes dkk., 2019). Fenilalanin digunakan dalam jalur biosintesis phenilpropanoid untuk menghasilkan senyawa fenol dengan kerangka dasar karbon tersusun atas cincin benzena (C6) yang terikat pada ujung

rantai karbon propana (C3), membentuk susunan C6-C3 (Gambar 2.4) (Kristanti dkk., 2019).

Jalur phenilpropanoid mengarah pada beberapa percabangan, seperti pembentukan turunan asam benzoat, kumarin, dan prekursor untuk pembentukan lignin (Browsher dan Tobin, 2021). Jalur ini diawali dengan pelepasan NH_3 (amonia) dari fenilalanin menjadi asam *trans*-sinamat oleh enzim PAL, selanjutnya terjadi kondensasi satu molekul CoA-ester asam sinamat atau turunannya, seperti asam kumarat atau ferulic dengan tiga molekul malonil CoA menghasilkan produk utama berupa naringenin chalcone. Reaksi tersebut dikatalisis oleh enzim chalcone synthase (CHS). Naringenin chalcone diisomerisasi oleh enzim chalcone isomerase (CHI) menjadi naringenin kemudian menyimpang menjadi beberapa percabangan yang menghasilkan kelas flavonoid yang berbeda, seperti flavon, isoflavon, dan dihydroflavon (Gambar 2.4) (Ar-Raihani, 2022; Dehghan *et al.*, 2014).

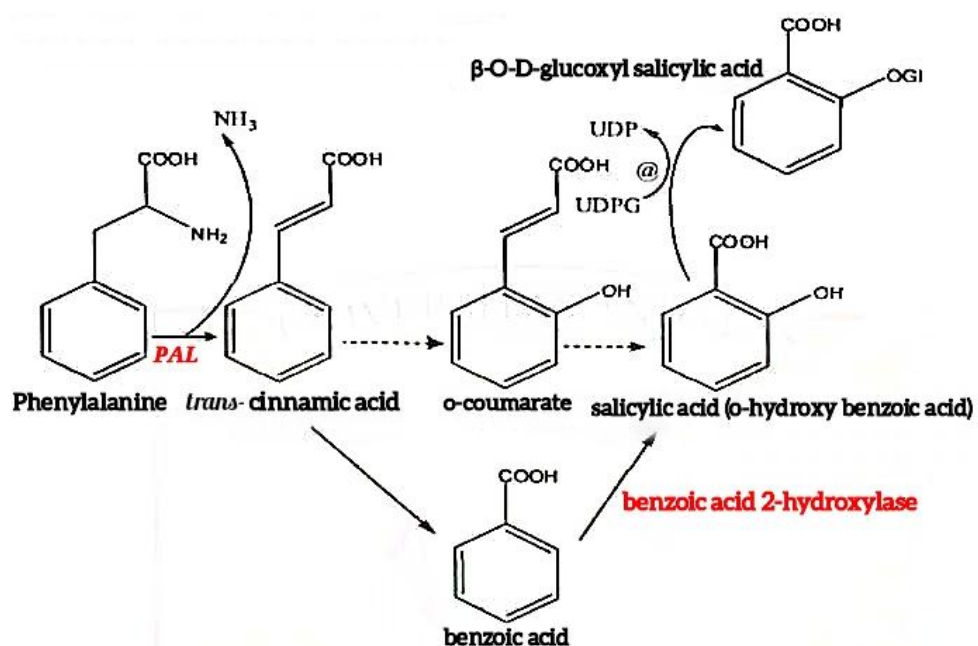
Flavonoid merupakan metabolit sekunder turunan dari senyawa fenol terbesar yang ditemukan pada tanaman sebagai respon terhadap serangan patogen dengan kemampuan bioaktifnya, seperti anti-inflamasi dan antioksidan (Wang *et al.*, 2016). Flavonoid memiliki 15 atom karbon yang terdiri atas dua gugus cincin benzena (C6) yang disambungkan oleh rantai alifatik propana (C3) sehingga membentuk konfigurasi C6-C3-C6 (Putri dkk., 2019).

2.1.3.2 Respon PAL Terhadap Cekaman

Secara umum, tanaman yang berada dalam cekaman, baik biotik maupun abiotik akan mengalami peningkatan senyawa fenol yang dipicu oleh adanya infeksi, peristiwa ini disebut *Systemic Acquired Resistance* (SAR). SAR mengakibatkan aktivasi enzim PAL sebagai respon awal ketahanan tanaman (Marwa, 2012; Perangin-Angin dkk., 2019).

Enzim PAL bereaksi dengan substratnya (L-fenilalanin) dalam metabolisme jalur phenilpropanoid, menghasilkan senyawa intermediet berupa asam *trans* sinamat yang diubah menjadi asam benzoat dan kumarin (Dehghan *et al.*, 2014). Selanjutnya asam benzoat diubah oleh asam benzoat 2-hidroksilase menjadi asam salisilat yang berperan penting sebagai pemberi sinyal respon yang lebih cepat

terhadap serangan patogen dengan menghambat perkembangan konidium (Gambar 2.5) (Marwa, 2012), sedangkan kumarin menghasilkan beberapa percabangan kelas flavonoid yang berfungsi sebagai pertahanan tanaman terhadap patogen (Ar-Raihani, 2022; Dehghan *et al.*, 2014). Oleh karena itu, apabila semakin banyak fenilalanin yang diserap maka enzim PAL akan mengalami peningkatan aktivitas dalam menghasilkan senyawa fenol dan turunannya yang lebih tinggi untuk menekan perkembangan patogen (Permanasari dkk., 2015).



Gambar 2.5 Mekanisme korelasi enzim PAL dan asam salisilat terhadap patogenesis (Marwa, 2012)

2.2 Hipotesis

Penelitian terdahulu oleh Marwa (2012) menyebutkan bahwa nilai aktivitas enzim PAL pisang jantan (*Musa paradisiaca* cv. Jantan) mengalami kenaikan setelah diinfeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Penelitian lain oleh Solekha *et al.* (2019) menyebutkan bahwa enzim PAL berkontribusi terhadap ketahanan padi hitam dengan meningkatkan aktivitasnya di dalam sel setelah terinfeksi *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Dari penelitian tersebut maka hipotesis yang dapat dikembangkan adalah nilai aktivitas enzim PAL daun serai wangi

(*Cymbopogon nardus* L.) mengalami kenaikan setelah diberi pelukaan dan diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

Adapun hipotesis statistik penelitian ini sebagai berikut:

H0 : tidak terdapat perbedaan nilai aktivitas enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. yang normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

H1 : terdapat perbedaan nilai aktivitas enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. yang normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu

3.1.1 Lokasi

Penelitian aktivitas enzim PAL dilakukan di Laboratorium Biologi, Laboratorium Kimia, dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Lamongan.

3.1.2 Waktu

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan, yaitu pada bulan Februari – Mei 2023.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan di dalam penelitian ini meliputi benih serai wangi (*Cymbopogon nardus* L.), rangka bambu, plastik UV, waring hijau, tanah, pupuk urea, KCl, fosfat, pupuk kandang (kotoran kambing), sekam bakar, plastik tahan panas, kertas label, *polybag*, kresek, tali rafia, plastik wrap, kapas, kertas saring, larutan bayclin 1%, jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.), *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquadest, spirtus, alkohol 70%, aluminium foil, kertas roti, plastik zip, nitrogen cair, buffer borat 0,2 M, pH meter, tube 15 ml, tube eppendorf 1,5 ml, spidol permanen, reagen bradford, *Bovine Serum Albumin* (BSA), Tris-HCl 100 mM, L-fenilalanin 10 mM, HCl 6M, dan asam sinamat.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk membuat *green house*, *sprayer*, tong, nampan stainless, erlenmeyer 250 ml, cawan petri, *micropipet*, *microtip*, *hot plate stirrer*, batang pengaduk, sendok, neraca analitik, kaca arloji, autoklaf, inkubator, kulkas, blender, pot, jarum ose, *Laminar Air Flow* (LAF), botol kaca, *beaker glass*, tabung reaksi, mortar, gunting, *centrifuge*, dan spektrofotometri UV-Vis.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Pembuatan *Greenhouse*

Pembuatan *greenhouse* bertujuan untuk memberikan lingkungan yang lebih mendekati kondisi optimum dalam pertumbuhan tanaman serta melindungi tanaman dari pengaruh luar yang merugikan (Helmida dkk., 2021). Pembuatan *greenhouse* berukuran 3×7 m berupa atap dari kerangka bambu, dinding dari waring hijau, dan sekat dari plastik UV. Sekatnya membagi ruang menjadi 2 yaitu ruang 1 berukuran 2×7 m untuk tanaman *Cymbopogon nardus* L. normal dan luka, sedangkan ruang 2 berukuran 1×7 m untuk *Cymbopogon nardus* L. yang terinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Lampiran 1).

3.3.2 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan berisi campuran tanah, pupuk kandang (kotoran kambing), dan sekam bakar dengan perbandingan 1:1:1 (Dakiyo dkk., 2022). Tanah yang akan digunakan sebagai media tanam dibersihkan dari akar atau kotoran lain serta disterilisasi terlebih dahulu agar terhindar dari patogen tanah yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Tanah dimasukkan ke dalam *polybag*, selanjutnya *polybag* dimasukkan ke dalam plastik kresek dan diikat menggunakan tali rafia. Proses sterilisasi ini dengan sterilisasi fisik/sterilisasi uap yaitu menggunakan tong untuk mengukus tanah selama 8 jam (Lampiran 2). Tanah yang sudah steril diinkubasi selama 7 hari sebelum penanaman (Nuraini dkk., 2022).

3.3.3 Uji Kesehatan Benih

Uji kesehatan benih dilakukan dengan metode inkubasi pada kertas (Rahayu, 2016). Benih didisinfektan menggunakan larutan bayclin 1% selama 5 menit, dicuci/direndam dengan aquadest steril selama 5 menit dan ditiriskan. Setelah itu disiapkan nampan stainless yang dialasi dengan kapas yang telah dibasahi dengan aquadest steril sampai lembab, kemudian dilapisi atasnya menggunakan kertas saring yang telah dicelupkan air. Benih *Cymbopogon nardus* L. ditata di atas kertas saring dengan jarak 4 cm per benih, kemudian benih tersebut diinkubasi di bawah sinar NUV (*Near Ultra Violet*) selama 7-8 hari. Setelah inkubasi selesai, benih diamati untuk memastikan apakah terinfeksi jamur atau bakteri. Benih

tanaman yang sehat dan normal secara fisik bersih (bebas dari segala kotoran), mulus, tidak berserat, dan tidak ada bercak (Lampiran 2).

3.3.4 Penanaman dan Pemeliharaan *Cymbopogon nardus* L.

Penanaman benih *Cymbopogon nardus* L. menggunakan media tanam yang telah disiapkan sebelumnya dalam 9 pot tanaman, 6 pot tanaman ditempatkan di dalam ruang 1 dan 3 pot tanaman ditempatkan dalam ruang 2. Setiap pot berisi 3 benih tanaman *Cymbopogon nardus* L varietas sitrona agribun 2. Tanaman disiram sehari sekali di waktu pagi, dipupuk satu kali di umur 2-3 minggu dengan dosis pupuk urea 75 kg/ha, KCl 60 kg/ha, dan phospat 60 kg/ha, serta diperbaiki struktur tanahnya dengan cara menekan rata tanah di sekeliling lubang tanaman (Lampiran 3). Tanaman juga dikontrol setiap hari dengan pengukuran suhu 24 – 25°C, intensitas cahaya 75 – 100%, dan kelembaban >75% (Candra, 2019 dan Anggraini dkk., 2010).

3.3.5 Sterilisasi Bahan dan Alat

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi sesuai dengan prosedur pada suhu 121°C selama 15 menit. *Laminar Air Flow* (LAF) dibersihkan menggunakan alkohol 70% sebagai media kerja aseptis.

3.3.6 Pembiakan *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Pembiakan *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dilakukan dengan metode gores satu ose penuh ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Lampiran 4). *Potato Dextrose Agar* (PDA) dibuat dari 39 gr PDA dalam 1000 ml aquadest (Azzahra dkk., 2020). Media yang telah diisolasi kemudian diinkubasi pada suhu 28-30°C selama kurang lebih 10 hari (Hanif dkk., 2012).

3.3.7 Perhitungan Konsentrasi Jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Perhitungan konsentrasi jamur dimulai dengan metode pengenceran seri 10^{-5} , sebanyak 10 g jamur disuspensikan ke dalam 90 ml aquadest steril lalu dihomogenkan. Hasil dari pengenceran seri tersebut kemudian dihitung kerapatan sporanya menggunakan *haemocytometer* sebanyak 1 ml dan diamati di bawah mikroskop (Lampiran 5). Kerapatan spora dihitung menggunakan rumus (Ardiyati dkk., 2015; Hartati dkk., 2022):

$$S = \frac{t}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan: S = kerapatan spora per ml larutan (CFU/ml)

t = jumlah total spora yang diamati dalam kotak sampel

n = jumlah kotak sampel (5 kotak besar \times 16 kotak kecil)

0,25 = faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada *haemocytometer*

10^6 = standar kerapatan spora

3.3.8 Pelukaan dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Tanaman *Cymbopogon nardus* L. yang telah ditanam selama 2 bulan dilakukan pelukaan dan infeksi (Lampiran 6). Tanaman yang diberi perlakuan luka dilakukan pelukaan menggunakan metode guntingan daun (Solekha *et al.*, 2019), yaitu daun digunting dibagian ujungnya sepanjang 2 cm menggunakan gunting steril. Sedangkan tanaman yang diberi perlakuan infeksi dilakukan metode guntingan daun dan inokulasi jamur dengan kerapatan spora 10^5 CFU/ml. Inokulasi dilakukan selama 8 jam dengan mencelupkan daun ke dalam botol kaca hasil preparasi (Saia *et al.*, 2019; Suganda dan Wulandari, 2019).

3.3.9 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun *Cymbopogon nardus* L. berjumlah 9 rumpun tanaman dengan 3 perlakuan, yaitu normal, luka, dan infeksi yang masing-masing terdiri dari 3 ulangan (Lampiran 6). Sampel dimasukkan ke dalam plastik zip, diberi label, dan disimpan dalam *freezer* pada suhu 0 – 4°C sampai tahap ekstraksi dilakukan (Setyaningsih dkk., 2014).

3.3.10 Ekstraksi *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL)

Sampel daun ditumbuk dengan nitrogen cair menggunakan mortar sebanyak 100 mg sampai menjadi serbuk halus. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml dan diekstraksi dengan menambahkan 1 ml buffer borat 0,2 M pH 8,8 (Lampiran 7). Kemudian dilakukan sentrifugasi pada 12.000 g pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan (ekstrak kasar protein) dipindahkan ke tabung yang baru untuk disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan (Solekha *et al.*, 2019).

3.3.11 Perhitungan Kadar Protein

Kadar protein dihitung menggunakan metode Bradford, yaitu dengan cara menambahkan sebanyak 0,1 ml ekstrak kasar protein ke dalam 4,9 ml reagen

Bradford kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit (Aziz dkk., 2021). Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm dengan BSA (*Bovine Serum Albumin*) sebagai larutan standar pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/ml (Lampiran 8). Masing-masing 2,5 ml larutan standar direaksikan dengan 2,5 ml pereaksi Bradford selama 5 menit pada suhu ruang, kemudian sebagai blanko digunakan 2,5 ml aquadest ditambah dengan 2,5 ml pereaksi Bradford (Telussa dkk., 2022).

3.3.12 Penentuan Aktivitas Enzim PAL

Penentuan aktivitas enzim PAL dilakukan dengan mencampurkan 2 ml Tris-HCl 100 mM (pH 8,5), 1 ml L-fenilalanin 10 mM, 0,8 ml aquadest steril, dan 0,2 ml ekstrak kasar protein. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit menggunakan *waterbath*, selanjutnya reaksi dihentikan dengan menambahkan 1 ml HCl 6M. Hasil reaksi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm dengan asam sinamat sebagai standar pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/ml, kemudian sebagai blanko dibuat campuran larutan yang sama tetapi tanpa fenilalanin (Lampiran 9) (Aziz dkk., 2021; Piechowiak dan Balawejder, 2019).

Rumus perhitungan aktivitas enzim PAL (Aini dkk., 2020) sebagai berikut:

$$AE = \frac{C}{BM \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan : AE = aktivitas enzim (U/ml)

C = konsentrasi asam sinamat (µg/ml)

BM = berat molekul asam sinamat (148 g/mol atau 148 µg/µmol)

t = waktu inkubasi (menit)

H = volume total enzim-substrat (ml)

E = volume enzim (ml)

Rumus perhitungan aktivitas spesifik enzim PAL (Ramadhani dkk., 2015):

$$AS = \frac{AE}{\text{Kadar Protein}}$$

Keterangan : AS = aktifitas Spesifik Enzim (U/mg)

AE = aktivitas enzim (U/ml)

Kadar protein = mg/ml protein

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel Dependen

Variabel dependen merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah nilai aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L.

2. Variabel Independen

Variabel independen atau variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi variabel dependen. Variabel independen dalam penelitian ini adalah luka dan *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang faktornya dikontrol oleh peneliti untuk menetralisasi pengaruhnya. Jika tidak dikontrol maka variabel tersebut akan mempengaruhi gejala yang sedang dikaji. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah varietas, cahaya, suhu, dan kelembaban udara.

3.5 Cara Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan, yaitu normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Analisis data menggunakan SPSS. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji normalitas dan uji homogenitas, selanjutnya uji *Analysis of Variance* (ANOVA), apabila terdapat perbedaan yang signifikan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=5\%$), maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda secara signifikan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Data Sekunder

4.1.1.1 Hasil Uji Kesehatan Benih



Gambar 4.1 Hasil uji kesehatan benih *Cymbopogon nardus* L. (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Hasil uji kesehatan benih *Cymbopogon nardus* L. menunjukkan bahwa 40 benih sehat dan normal berdasarkan parameter uji kesehatan benih (Lampiran 2). Parameter tersebut meliputi benih bersih (bebas dari segala kotoran), mulus, tidak ada serat, tidak keriput, dan tidak ada bercak (Gambar 4.1).

4.1.1.2 Hasil Penanaman dan Pemeliharaan *Cymbopogon nardus* L.

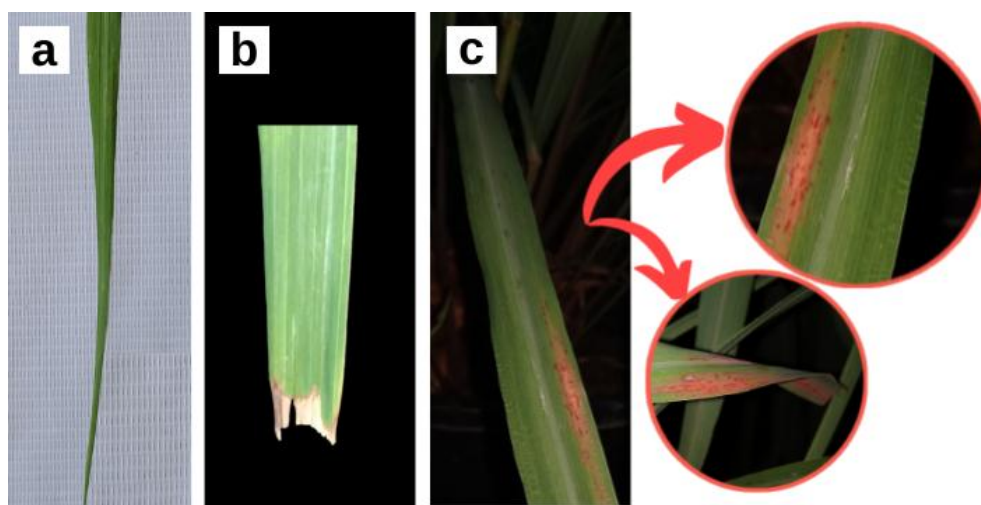


Gambar 4.2 Pertumbuhan *Cymbopogon nardus* L. : a) saat penanaman, b) setelah 7 hari penanaman, dan c) setelah 2 bulan penanaman (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Hasil penanaman menunjukkan bahwa pada awal penanaman terdapat 3 benih *Cymbopogon nardus* L. varietas sitrona agribun 2 dalam setiap pot (Gambar 4.2

(a). Pada hari ke-7, muncul tanaman baru pada benih (Gambar 4.2 (b)), kemudian pada hari ke-60 atau setelah 2 bulan penanaman, tanaman sudah berumpun dengan daun yang panjang dan runcing (± 75 cm) serta batang yang lunak berwarna merah keunguan.

4.1.1.3 Morfologi Daun *Cymbopogon nardus* L. Normal, Luka, dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)



Gambar 4.3 Morfologi daun *Cymbopogon nardus* L.: a) normal, b) luka, c) infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023)

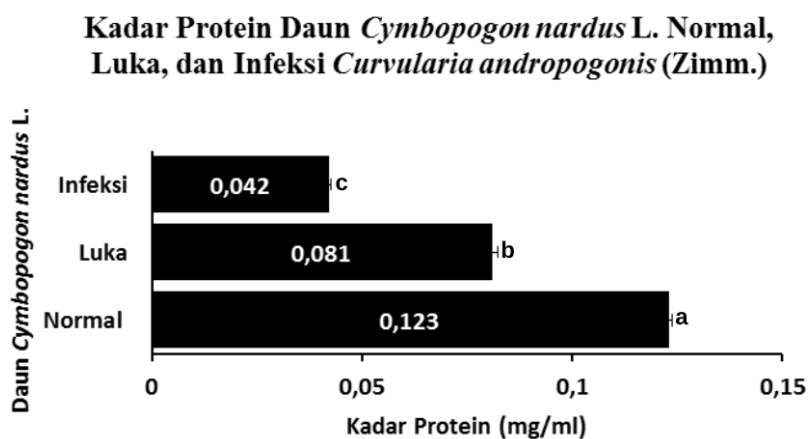
Hasil pengamatan morfologi daun menunjukkan bahwa daun *Cymbopogon nardus* L. normal, luka, dan infeksi memiliki morfologi daun yang berbeda. Morfologi daun *Cymbopogon nardus* L. normal berwarna hijau merata tanpa bercak (Gambar 4.3 (a)), sedangkan daun *Cymbopogon nardus* L. luka mengalami kecoklatan di bagian ujungnya (Gambar 4.3 (b)), serta daun *Cymbopogon nardus* L. infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memunculkan bercak-bercak kecil berwarna merah yang kemudian menyatu dan memanjang dari ujung daun (Gambar 4.3 (c)).

4.1.2 Data Primer

4.1.2.1 Pengaruh Luka dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) Terhadap Kadar Protein

Hasil uji kadar ekstrak kasar protein daun *Cymbopogon nardus* L. menunjukkan bahwa daun normal memiliki kadar protein tertinggi, diikuti daun luka dan daun infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Gambar 4.4).

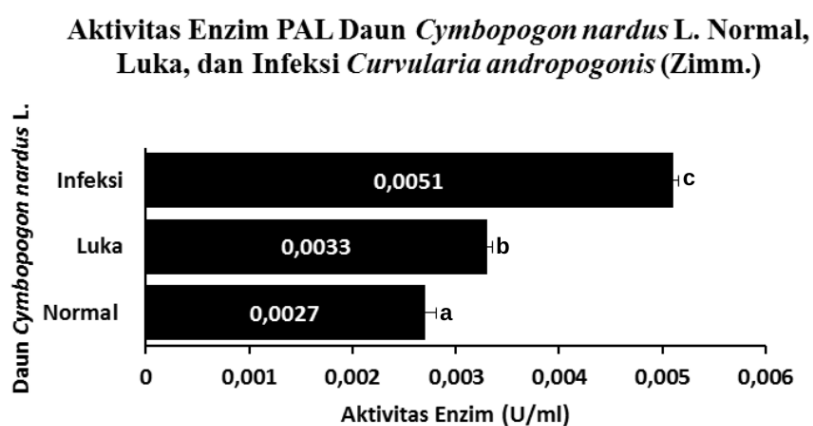
Berdasarkan uji statistik, ketiga kelompok daun ini memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji BNT didapatkan nilai signifikansi $<0,005$ yaitu $0,00$ atau $0,00 < 0,05$ yang artinya luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar ekstrak kasar protein daun *Cymbopogon nardus* L. (Gambar 4.4).



ket: huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT dengan taraf kepercayaan 95%

Gambar 4.4 Grafik kadar ekstrak kasar protein daun *Cymbopogon nardus* L. normal, luka, dan infeksi (Dokumentasi Pribadi, 2023)

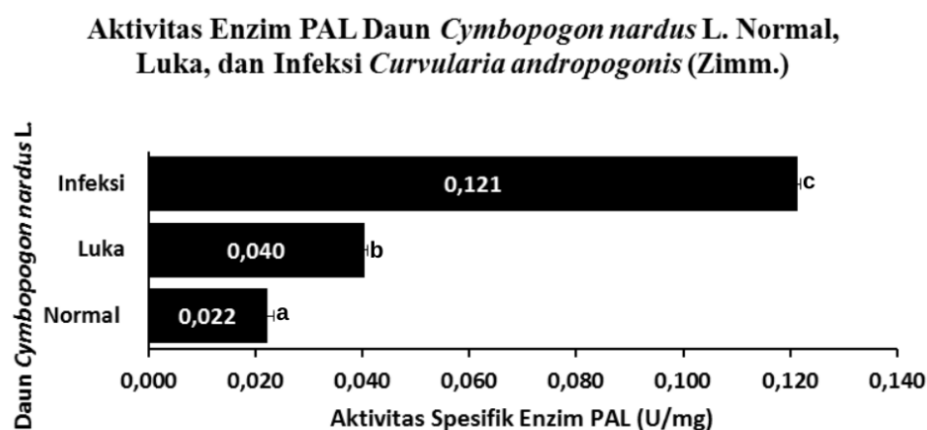
4.1.2.2 Pengaruh Luka dan Infeksi Terhadap Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik Enzim PAL



ket: huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT dengan taraf kepercayaan 95%

Gambar 4.5 Grafik aktivitas enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Hasil uji aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. menunjukkan bahwa daun infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memiliki nilai tertinggi, diikuti daun luka dan daun normal (Gambar 4.5 dan Gambar 4.6)). Berdasarkan uji statistik, ketiga kelompok daun ini memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji BNT didapatkan nilai signifikansi $<0,005$ yaitu $0,00$ atau $0,00 < 0,05$ yang artinya luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L.



ket: huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT dengan taraf kepercayaan 95%

Gambar 4.6 Grafik aktivitas spesifik enzim PAL pada daun *Cymbopogon nardus* L. normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) (Dokumentasi Pribadi, 2023)

4.2 Pembahasan

4.2.1 Uji Kesehatan Benih

Uji kesehatan benih pada penelitian ini penting dilakukan untuk menghilangkan partikel-partikel tanah, debu, dan partikel lain dalam benih serta membersihkan benih dari mikroorganisme seperti *Curvularia andropogonis* (Zimm.) yang dapat merugikan tanaman. Hal ini sejalan dengan Suganda & Wulandari (2018) yang menyebutkan bahwa *Curvularia* sp. termasuk patogen

terbawa benih. Sependapat juga dengan Sunarko (2014) yang menyebutkan bahwa *Curvularia* sp. dapat menyebar melalui tanah.

Uji kesehatan benih pada penelitian ini menghasilkan 40 benih yang sehat dan normal (Lampiran 2). Hal ini dapat diamati secara fisik dengan melihat parameter uji kesehatan benih. Parameter tersebut meliputi benih bersih (bebas dari segala kotoran), mulus, tidak ada serat, tidak keriput, dan tidak ada bercak (Gambar 4.1) (Rahayu, 2016).

4.2.2 Penanaman dan Pemeliharaan *Cymbopogon nardus* L.

Pengaturan penanaman dan pemeliharaan tanaman *Cymbopogon nardus* L. pada penelitian ini penting dilakukan untuk menghindari berbagai kesalahan yang mungkin terjadi di dalam penelitian sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengontrolan mulai saat penanaman sampai tanaman dilukai dan diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) pada umur 2 bulan. Hal ini sejalan dengan Candra (2019), yang menyebutkan bahwa tanaman serai wangi yang baik adalah tanaman yang cukup dalam perawatannya.

Berdasarkan Gambar 4.2 yang telah disajikan, dapat dilihat pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada saat penanaman sampai tanaman dilukai dan diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Gambar 4.2 (a) merupakan gambar pada saat penanaman yang memperlihatkan adanya 3 benih *Cymbopogon nardus* L. varietas sitrona agribun 2 dalam pot. Tanaman ini kemudian dilakukan penyiraman setiap sehari sekali dan pengontrolan lingkungan (suhu, intensitas cahaya, dan kelembaban udara). Gambar 4.2 (b) merupakan gambar *Cymbopogon nardus* L. setelah 7 hari penanaman dimana muncul tanaman baru. Tanaman baru ini dilakukan perbaikan struktur tanah dengan cara menekan rata tanah di sekeliling lubang tanaman serta dilakukan pemupukan. Hal ini sependapat dengan Candra (2019), bahwa tanaman serai wangi yang masih muda perlu dilakukan pembubunan agar aerasi dan drainase dapat diatur dengan baik serta pemupukan untuk menjaga kesuburan tanah dan menyediakan unsur hara tanaman. Gambar 4.2 (c) merupakan gambar *Cymbopogon nardus* L. setelah 2 bulan penanaman, dimana sudah berumpun dengan daun yang panjang dan runcing serta batang yang lunak berwarna merah keunguan. Selain itu, terlihat tidak ada daun atau batang

yang kering karena telah dilakukan penyiangan. Menurut Candra (2019), penyiangan bertujuan untuk memacu pertumbuhan daun baru yang lebih baik lagi.

4.2.3 Morfologi Daun *Cymbopogon nardus* L. Normal, Luka, dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Pada penelitian ini, hasil pengamatan morfologi daun *Cymbopogon nardus* L. yang normal tidak mengalami perubahan (Gambar 4.3 (a)). Daun tetap berwarna hijau cerah yang merata tanpa adanya bercak. Hal ini sejalan dengan Kaur *et al.* (2022), yang menyebutkan bahwa tumbuhan pada kondisi yang normal atau tidak ada cekaman akan dapat tumbuh dan berkembang secara optimal, sedangkan tumbuhan pada kondisi yang tercekam akan terganggu metabolisemenya sehingga menginduksi sejumlah besar perubahan biokimia yang terkait dengan persinyalan stres dan mengakibatkan pengaktifan jalur pertahanan yang melibatkan enzim PAL. Contoh kondisi tumbuhan yang tercekam yaitu pada saat luka dan diinfeksi jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.).

Pelukaan dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dalam penelitian ini dilakukan selama 8 jam untuk melihat respon ketahanan biokimia tanaman. Penelitian terdahulu oleh Saia *et al.* (2019) menyebutkan bahwa metabolik seperti asam amino, asam lemak, asam organik, fenolik, dan gula akan memunculkan respon biokimia akibat cekaman setelah 8 jam. Sependapat dengan penelitian tersebut, hasil pengamatan daun *Cymbopogon nardus* L. yang dilukai dan diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) mengalami perubahan morfologi akibat dari respon biokimia tanaman sebagai mekanisme ketahanan terhadap cekaman.

Pelukaan daun pada penelitian ini dilakukan dengan menggunting ujung daun sepanjang 2 cm menggunakan gunting steril, hal ini bertujuan untuk memantau respon enzim PAL karena efek luka (dari cekaman abiotik) bukan dari infeksi patogen (Solekha *et al.*, 2019). Cekaman pelukaan ini diasumsikan paling signifikan dibandingkan dari cekaman abiotik lain sebagai pembanding terhadap cekaman biotik infeksi patogen. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa daun *Cymbopogon nardus* L. yang dilukai mengalami kecoklatan atau *browning* di bagian ujungnya (Gambar 4.3 (b)). Sependapat dengan Hu *et al.* (2022) dalam

penelitiannya tentang *Biosynthesis of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Fresh-Cut Fruits and Vegetables* bahwa metode pelukaan adalah metode yang efektif untuk meningkatkan kandungan fenolik buah dan sayuran, semakin besar luka pada buah dan sayuran maka semakin besar intensitas kerusakan sel sehingga perubahan fisiologis dan biokimia lebih signifikan. Perubahan dan reaksi fisiologis ini akan menyebabkan reaksi metabolisme yang cepat seperti peningkatan respirasi, terutama dalam akumulasi fenolat. Penelitian terdahulu oleh Rismayanti dan Nafi'ah (2021) menyebutkan bahwa luka pada tumbuhan akan memacu stres dan menyebabkan aktivitas enzim PAL serta produksi fenilpropanoid meningkat yang berakibat pada degradasi klorofil sehingga terjadi perubahan warna coklat atau *browning*. Perubahan warna tersebut melibatkan dua jalur utama, yaitu jalur phenilpropanoid dan polifenol oksidase (PPO) (Hunter *et al.*, 2017). PPO mengkatalisator senyawa fenolik menjadi kuinon, selanjutnya kuinon bereaksi dengan asam amino dan protein untuk menghasilkan pigmen warna (pencoklatan). Oleh karena itu, peningkatan aktivitas PAL karena cekaman luka tidak hanya meningkatkan senyawa fenolik tetapi juga meningkatkan aktivitas PPO untuk merangsang pencoklatan atau *browning*.

Infeksi jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) pada penelitian ini dilakukan dengan metode guntingan daun dan metode celup. Ujung daun digunting sepanjang 2 cm kemudian dicelupkan ke dalam botol preparasi kaca yang berisi suspensi jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dengan kerapatan konidia 10^5 CFU/ml selama 8 jam. Pengguntingan ujung daun dimaksudkan agar jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) mudah masuk dan menginfeksi daun melalui pelukaan yang disengaja serta pencelupan ke dalam suspensi jamur, sehingga diasumsikan bahwa kedua metode ini akan menguntungkan untuk diterapkan karena penginfeksian ke daun yang lebih mudah serta suspensi yang dibutuhkan lebih sedikit. Sejalan dengan Sastrahidayat (2019), bahwa jamur dapat menyerang jaringan daun melalui penetrasi secara langsung, tetapi apabila terdapat luka pada tanaman maka proses infeksi akan lebih mudah. Menurut (Kaur *et al.*, 2022), jamur menyerang tanaman melalui pelekatan apresorium dengan permukaan tanaman pada tekanan turgor yang tinggi sehingga memacu PAMP untuk

mengaktivasi respon imun bawaan dengan membentuk papilla. Selanjutnya apresorium yang telah masuk akan berdiferensiasi menjadi hifa dan haustoria yang menyebabkan kerusakan protein dan DNA yang dipicu oleh DAMP dengan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengaktivasi enzim-enzim sebagai mekanisme ketahanan. Berdasarkan pengamatan, daun *Cymbopogon nardus* L. yang diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memunculkan bercak-bercak kecil berwarna merah yang menyatu dan memanjang dari ujung daun (Gambar 4.3 (c)). Hal ini sejalan dengan Vandana *et al.*, (2020) dalam penelitiannya yang mengungkapkan bahwa infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) terhadap *Cymbopogon flexuosus* memunculkan gejala berupa bercak kecil berwarna coklat kemerahan dan berbentuk lingkaran sampai bulat telur yang kemudian menyatu dan membesar menjadi bercak-bercak panjang di sepanjang ujung serta tepi daun menyebabkan seluruh daun menjadi kering dan mati. Penelitian terdahulu oleh Suganda dan Wulandari (2018) tentang sawi yang terserang *Curvularia* sp. mengemukakan bahwa perubahan warna kuning pada daun sawi yang terinfeksi *Curvularia* sp. disebabkan karena jamur ini memproduksi toksin sebagai alat patogenitasnya. Toksin ini diasumsikan memiliki aktivitas dalam mendegradasi klorofil daun sehingga menyebabkan daun berubah warna menjadi kuning dengan bercak-bercak kecil berwarna hitam.

4.2.4 Pengaruh Luka dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) Terhadap Kadar Protein

Kadar protein adalah konsentrasi protein total dalam suatu larutan (mg/ml) (Estrada dkk., 2018). Pada penelitian ini, kadar protein diukur menggunakan metode Bradford dengan standar BSA. Menurut Estrada dkk. (2018), prinsip metode Bradford yaitu didasarkan pada pengikatan zat warna *Commassie Brilliant Blue* (CBB) dengan protein yang mengandung residu asam amino sampai rantai aromatik (fenilalanin, triptofan, dan tirosin) atau basa (arginin, histidin, dan leusin) yang dapat diukur nilai absorbansinya dengan membentuk kompleks berwarna biru pada panjang gelombang 595 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penelitian terdahulu oleh Aziz dkk. (2021) juga menggunakan metode ini dengan panjang gelombang 595 nm untuk menghitung kadar protein dalam

penelitiannya tentang peningkatan kadar *capsaicin* tanaman *Capsicum annuum* cv. Lado pada kondisi kekeringan menggunakan kitosan.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.4, cekaman luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) berpengaruh nyata terhadap kadar ekstrak protein daun *Cymbopogon nardus* L setelah diuji statistik. Daun normal memiliki kadar ekstrak protein tertinggi dengan rata-rata sebesar 0,123 mg/ml, diikuti daun luka sebesar 0,081 mg/ml, dan daun infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sebesar 0,042 mg/ml. Hal ini mungkin disebabkan karena daun yang dilukai dan diinfeksi mengalami stres akibat cekaman biotik dan abiotik sehingga metabolisme proteinnya terhambat dan kadar ekstrak proteinnya mengalami penurunan. Ketika berada dalam cekaman, kadar protein pada tanaman akan lebih banyak digunakan tanaman sebagai bentuk pertahanan terhadap cekaman luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sehingga nilainya akan lebih kecil dibandingkan kadar protein daun normal. Sependapat dengan Marwa (2012) dalam penelitiannya tentang infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) terhadap pisang jantan bahwa pisang jantan yang normal memiliki kadar protein sebesar 1,828 g/L sedangkan pisang jantan yang telah diinfeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) selama 24 jam memiliki kadar protein sebesar 1,750 g/L, penurunan kadar protein ini disebabkan oleh rusaknya dinding sel tumbuhan akibat infeksi jamur sehingga mekanisme kerja tumbuhan terganggu, salah satunya yaitu metabolisme protein.

Kadar protein daun yang diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm) lebih rendah dibandingkan daun yang dilukai, hal ini dimungkinkan karena komponen protein tidak hanya digunakan untuk pertahanan terhadap luka tetapi juga digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) atau melakukan serangan balik. Sejalan dengan Maftuhah (2014) dalam penelitiannya tentang konsentrasi protein tanaman kedelai setelah terinfeksi CPMMV (*Cowpea Mild Mottle Virus*) mengungkapkan bahwa penurunan konsentrasi protein disebabkan karena penggunaan komponen protein, seperti enzim, asam amino, dan ribosom untuk sintesis protein virus yang mengakibatkan penurunan pada sintesis protein tanaman. Penelitian terdahulu

oleh Hanif dkk. (2012) menyebutkan bahwa tanaman yang terinfeksi jamur akan memanfaatkan enzim kitinase untuk mendegradasi kitin (komponen utama dinding sel jamur).

Kadar protein pada daun *Cymbopogon nardus* L. dalam penelitian ini merupakan ekstrak kasar protein, dimana tidak semua protein merupakan enzim. Oleh karena itu, perlu dilakukan perhitungan melalui perbandingan nilai aktivitas enzim PAL (U/ml) dengan kadar protein (mg/ml) untuk mengetahui nilai aktivitas spesifik enzim PAL (U/mg).

4.2.5 Pengaruh Luka dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) Terhadap Aktivitas Enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL)

Aktivitas enzim adalah banyaknya reaksi yang mampu dikatalis oleh enzim menjadi produk dalam periode waktu tertentu. Satu unit aktivitas enzim dinyatakan sebagai banyaknya enzim yang dapat membebaskan 1 μmol substrat per menit pada kondisi yang optimum (Pratama dkk., 2020).

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas enzim PAL menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm dengan asam sinamat sebagai larutan standar pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 $\mu\text{g/ml}$ untuk menganalisis ketahanan tanaman *Cymbopogon nardus* L. setelah pelukaan dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.). Sejalan dengan Kaur *et al.* (2022), bahwa enzim PAL berperan penting dalam mekanisme ketahanan tanaman, enzim ini merupakan enzim utama dalam metabolisme phenilpropanoid yang mengkatalisis prekursor fenilalanin dari jalur asam shikimat menjadi senyawa asam *trans* sinamat. Asam *trans* sinamat merupakan senyawa intermediet yang digunakan untuk membentuk berbagai metabolit sekunder seperti turunan asam benzoat dan turunan senyawa fenol, dimana senyawa-senyawa ini nanti akan berperan penting dalam pertahanan tanaman. Oleh karena itu, pengukuran konsentrasi asam *trans sinamat* perlu dilakukan dalam penentuan aktivitas enzim PAL.

Berdasarkan tabel data konsentrasi asam sinamat dalam ekstrak kasar protein daun *Cymbopogon nardus* L. (Lampiran 9) menunjukkan bahwa luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) berpengaruh nyata terhadap konsentrasi asam

sinamat. Daun *Cymbopogon nardus* L. yang normal memiliki konsentrasi asam sinamat terendah sebesar 1,956 – 2,062 µg/ml, diikuti daun luka sebesar 2,402 – 2,432 µg/ml, dan daun infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) sebesar 3,732 – 3,778 µg/ml. Hal ini sejalan dengan Parnidi dkk. (2021) bahwa tanaman yang mengalami gangguan stres dapat menstimulasi metabolisme senyawa fenol. Senyawa fenol dibentuk sebagai respon tanaman ketika luka yang ditunjukkan dengan peningkatan sintesis turunan-turunan asam sinamat.

Konsentrasi asam sinamat yang diperoleh selanjutnya disubstitusikan ke dalam rumus untuk menghitung aktivitas enzim. Berdasarkan grafik pada Gambar 4.5, cekaman luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L setelah diuji statistik. Daun normal memiliki nilai aktivitas enzim terendah dengan rata-rata sebesar 0,0027 U/ml, kemudian mengalami peningkatan setelah dilukai menjadi 0,0033 U/ml dan terus mengalami peningkatan setelah diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) menjadi 0,0051 U/ml. Meskipun perlakuan luka mengalami peningkatan nilai aktivitas enzim PAL, tetapi peningkatannya tidak setinggi perlakuan infeksi. Hal ini diasumsikan karena perlakuan infeksi juga mendapatkan perlakuan pelukaan daun sebelumnya sehingga cekaman yang didapat lebih tinggi dan tingkat kerusakannya lebih besar dimana akan memacu pembentukan senyawa fenolik yang lebih tinggi. Luka menginduksi perubahan biokimia pada tanaman *Cymbopogon nardus* L. yang terkait dengan persinyalan stres dengan mengaktifkan jalur pertahanan yang melibatkan enzim PAL dalam merangsang pencoklatan. Sementara infeksi pada tanaman akan menginduksi SAR yang mencakup akumulasi protein PR dan asam salisilat sebagai respon yang lebih cepat terhadap serangan patogen dengan menghambat perkembangan konidium. Sejalan dengan Solekha *et al.* (2019) dalam penelitiannya tentang aktivitas enzim PAL yang mengalami peningkatan secara signifikan dalam mekanisme resistensi padi hitam setelah diinfeksi *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Sependapat dengan Kaur *et al.* (2021) dalam penelitiannya, bahwa aktivitas enzim PAL pada daun kultivar resisten genotipe barley meningkat terhadap infeksi *Bipolaris sorokiniana*. Penelitian lain oleh Marwa (2012)

mengemukakan bahwa infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* (FOC) terhadap pisang jantan menyebabkan kenaikan aktivitas enzim PAL. Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekspresi PAL yang berlebih pada tanaman mengindikasikan ketahanan tanaman yang tinggi terhadap cekaman (Kaur *et al.*, 2022). Ketika tanaman berada dalam cekaman biotik maupun abiotik maka akan mengalami peningkatan senyawa fenol yang melibatkan enzim PAL sebagai respon awal ketahanan tanaman (Perangin-Angin dkk., 2019).

Nilai aktivitas enzim PAL yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai aktivitas spesifik enzim PAL (Lampiran 9), dapat dilihat bahwa aktivitas spesifik enzim PAL memiliki pola yang sama dengan nilai aktivitas enzim PAL (unit/ml) atau sebanding, tetapi berbanding terbalik dengan kadar protein (unit/mg) (Gambar 4.6). Dari grafik ini juga dapat dilihat uji statistik yang menunjukkan bahwa cekaman luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) berpengaruh nyata terhadap aktivitas spesifik enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L setelah diuji statistik. Aktivitas spesifik enzim PAL daun yang diinfeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) memiliki nilai tertinggi dengan rata-rata sebesar 0,121 U/mg, diikuti daun yang dilukai sebesar 0,040 U/mg; dan daun yang normal sebesar 0,022 U/mg. Daun yang diinfeksi memiliki nilai aktivitas spesifik enzim PAL tertinggi karena kadar protein yang dimiliki bernilai kecil sementara aktivitas enzim PAL bernilai tinggi. Sejalan dengan pendapat Hapsari dkk. (2021), bahwa perbedaan aktifitas spesifik enzim dipengaruhi oleh dua faktor yaitu aktivitas enzim (U/ml) dan kadar protein (U/mg). Nilai aktivitas spesifik enzim yang tinggi mengindikasikan bahwa enzim tersebut murni dan semakin efisien enzim tersebut bekerja, hal ini dikarenakan kadar protein (mg) semakin kecil, tetapi laju reaksinya tetap sama atau meningkat karena berkurangnya interferensi dari inhibitor enzim. Penelitian terdahulu oleh Purba dkk. (2020) menyebutkan bahwa aktivitas enzim yang tinggi belum tentu menghasilkan aktivitas spesifik yang tinggi tergantung pada kadar protein yang dihasilkan dikarenakan aktifitas spesifik diperoleh dari perbandingan aktivitas enzim dengan kadar protein, sehingga semakin besar kadar protein maka aktivitas spesifik enzim akan semakin kecil. Penelitian lain oleh Herasari dkk. (2022) juga menyebutkan

bahwa aktivitas spesifik enzim dipengaruhi oleh kadar protein, semakin tinggi aktivitas spesifik enzim maka semakin tinggi kemurnian enzim tersebut. Hal ini menunjukkan terjadinya pemisahan protein lain yang tidak diinginkan, penurunan kadar protein dan peningkatan aktivitas enzim mengindikasikan bahwa kemurnian enzim yang diperoleh semakin meningkat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Nilai aktivitas spesifik enzim PAL daun *Cymbopogon nardus* L. memiliki perbedaan yang signifikan diantara kelompok normal, luka, dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dikarenakan enzim PAL berkontribusi pada mekanisme ketahanan tanaman *Cymbopogon nardus* L. setelah luka dan infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dengan meningkatkan nilai aktivitasnya. Nilai aktivitas spesifik enzim PAL daun normal memiliki rata-rata sebesar 0,022 U/mg, daun luka sebesar 0,040 U/mg, dan daun infeksi sebesar 0,121 U/mg.

5.2 Saran

Dengan melihat simpulan di atas, maka ada beberapa saran dari peneliti yakni sebagai berikut:

1. Bagi Akademik

Sebaiknya lebih menggali lagi mengenai ilmu pengetahuan khususnya mengenai respon enzim-enzim ketahanan tanaman dalam metabolisme ketahanan awal tanaman *Cymbopogon nardus* L. terhadap cekaman abiotik pelukaan dan cekaman biotik dari serangan jamur.

2. Bagi Peneliti

Perlu dilakukan analisis terhadap senyawa metabolit sekunder lain yang terlibat dalam sistem ketahanan tanaman sebagai pembanding.

3. Bagi Peneliti Selanjutnya

Perlu dilakukan pembandingan dengan penelitian terhadap jenis serai wangi yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology Fifth Edition*. Belanda: Elsevier Science.
- Agrios, G.N. 2012. *Plant Pathology*. Britania Raya: Elsevier Science.
- Aidah, S.N. 2020. *Ensiklopedi Serai: Deskripsi, Filosofi, Manfaat, Budidaya, dan Peluang Bisnisnya*. Yogyakarta: KBM Indonesia.
- Aini, R., Wirajana, I. N., & Ratnayani, K. 2020. Optimasi Suhu, pH dan Amobilisasi Selulase dari Konsorsium Mikroba Selulolitik (KMS.UU1a) pada Kalsium Alginat. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, **8**(2), 66–72.
- Anggraini, D. D., Nurcahya, I., Yuniati, S., Ridhwan, M., Kartikasari, M. N. D., & Jawang, U. P. 2022. *Tanaman Obat Keluarga*. Padang: Get Press.
- Anwar, C., Riswanda, R., & Ghifari, A. 2022. *Determinan Pediculosis capitis*. Pekalongan: PT. Nasya Expanding Management.
- Ar-Raihani, F. D. 2022. Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep. *Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim*.
- Ardiyati, A. T., Mudjiono, G., & Himawan, T. 2015. Uji Patogenisitas Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin pada Jangkrik (*Gryllus* sp.) (Orthoptera: Gryllidae). *Jurnal HPT*, **3**(3), 43–51.
- Arengo, E. 2022. *Cymbopogon nardus* (citronella grass), CABI Compendium. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.120396>. 18 Januari 2023.
- Arifin, M. N. 2014. Pengaruh Ekstrak N-Heksan Serai Wangi *Cymbopogon nardus* (L.) Randle pada Berbagai Konsentrasi terhadap Periode Menghisap Darah dari Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi. Universitas Hasanuddin*.
- Aziz, M. A., Wahyuni, S., Dwivanny, F. M., & Esyanti, R. R. 2021. Peningkatan Kadar Capsaicin Tanaman *Capsicum annum* cv. Lado pada Kondisi Kekeringan Menggunakan Kitosan. *E-Journal Menara Perkebunan*, **89**(2), 91–99.
- Azzahra, N., Jamilatun, M., & Aminah, A. 2020. Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi *Carrot Sucrose Agar* dan *Potato Dextrose Agar*. *Jurnal Mikologi Indonesia*, **4**(1), 168–174.

- Boedijn, K. B. 1993. *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1917186>. 18 Januari 2023.
- Browsher, C. & Tobin, A. *Plant Biochemistry*. Amerika Serikat: CRC Press.
- Candra, R. 2019. *Budidaya Serai Wangi*. <http://cybex.pertanian.go.id/mobile/artikel/77376/BUDIDAYA-SERAI-WANGI/#:~:text=%2D%20Dosis%20pemupukan%20tanaman%20serai%20wangi,125%20kg%20%E2%80%93%20250%20kg%20KCl.&text=Tahapan%20II%20diberikan%20%20kali,25%20kg%20%E2%80%93%2050%20kg%20TSP>. 18 Januari 2023.
- Dakiyo, N., Gubali, H., & Musa, N. 2022. Respon Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa* L.) pada Tingkat Naungan dan Media Tanam yang Berbeda. *Jurnal Agroteknotropika*, **11**(1), 24–32.
- Dehghan, S., Sadeghi, M., Oppel, A. P., Fischer, R., Lakes-Harlan, R., Kavousi, H. R., Vilcinskis, A., & Rahnamaeian, M. 2014. Differential Inductions of *Phenylalanine Ammonia-Lyase* and *Chalcone Synthase* During Wounding, Salicylic Acid Treatment, and Salinity Stress in Safflower, *Carthamus tinctorius*. *Bioscience Reports*, **34**(3), 273–282.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2020. <https://ditjenbun.pertanian.go.id/serai-wangi-kaya-akan-manfaat-dan-peluang-yang-menjanjikan/>. 18 Januari 2023.
- Estrada, R., Kartika, R., & Astuti, W. 2018. Isolasi dan Penentuan Kondisi Kerja Optimum Amilase dari Talas Bogor (*Colocasia esculenta* (L.) shoot). *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2018 Kimia FMIPA UNMUL*, 60–66.
- Fitria, & Masnilah, R. 2020. Respon Ketahanan dan Kandungan Senyawa Fenol Enam Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang (*Sclerotium rolfsii* Sacc.). *Berkala Ilmiah Pertanian*, **3**(1), 27–32.
- Gustiar, F., Munandar, Negara, Z. P., & Efriandi. 2020. Pemanfaatan Limbah Serai Wangi Sebagai Pakan Ternak dan Pupuk Organik di Desa Payakabung, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan. *Abdihaz: Jurnal Ilmiah Pengabdian Pada Masyarakat*, **2**(1), 16–23.
- Halim, R., & Fitri, A. 2020. Aktivitas Minyak Sereh Wangi Sebagai Anti Nyamuk. *Jurnal Kesmas Jambi (JKMJ)*, **4**(1), 28–34.
- Hanif, A., Suryanto, D., & Nurwahyuni, I. 2012. Pemanfaatan Bakteri Kitinolitik dalam Menghambat Pertumbuhan *Curvularia* Sp. Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Mentimun. *Saintia Biologi*, **1**(1), 33–39.

- Hapsari, M. W., Anggraeni, N., Kusumaningtyas, N., & Wuryanti. 2021. Isolasi, Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim *L-Asparaginase* dari Bawang Putih (*Allium sativum*). *Science Technology and Management Journal*, **1**(2), 71–79.
- Hartati, S., Utari, E. D., Rasiska, S., & Istifadah, N. 2022. Capability of Three Yeast Species in Suppressing Green Mold (*Penicillium digitatum*) on Siam Citrus Fruit (*Citrus nobilis*). *Journal of Plant Protection*, **5**(2), 61–70.
- Helmida, B. E., Khotmi, H., Syakhbani, B., Chair, A. F., & Mustaan. 2021. Keberlanjutan Usaha Hidroponik Dengan Menggunakan Teknologi *Green House* Di Pondok Pesantren Darul Qur'an (Bengkell, Lombok Barat). *Alamtana: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, **2**(3), 67–74.
- Herasari, D., Salsabilla, A. R., Parwath, I., Laila, A., Mulyono, & Suharso. 2022. Karakterisasi Enzim Protease dari Bakteri *Klebsiella* sp. Indigen Tanah Tercemar Minyak di Bandar Lampung. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, **7**(1), 35.
- Hu, W., Sarengaowa, W., Guan, Y., & Feng, K. 2022. Biosynthesis of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *Frontiers in Microbiology*, **13**, 1–8.
- Hunter, P. J., Atkinson, L. D., Vickers, L., Lignou, S., Oruna-Concha, M. J., Pink, D., Hand, P., Barker, G., Wagstaff, C., & Monaghan, J. M. 2017. Oxidative Discolouration in Whole-Head and Cut Lettuce: Biochemical and Environmental Influences on a Complex Phenotype and Potential Breeding Strategies to Improve Shelf-Life. *Euphytica*, **213**(8), 1–16.
- Idris, H., & Nurmansyah. 2015. Ketahanan Empat Klon Serai Wangi Terhadap *Fusarium* sp, *Pestatiola* sp, dan *Curvularia* sp Patogen Penyebab Bercak Daun. *Bul. Litro*, **26**(2), 125–132.
- Idroes, R., Khairan, & Nurisma, N. W. 2019. *Skrining Aktivitas Tumbuhan yang Berpotensi sebagai Bahan Anti Mikroba di Kawasan Ie Brök (Upflow Geothermal Zone) Aceh Besar*. Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Julianti, R. F., Nurchayati, Y., & Setiari, N. 2021. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dalam Medium MS terhadap Kandungan Flavonoid pada Kalus Tomat (*Solanum lycopersicum* syn. *Lycopersicon esculentum*). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, **8**(1), 141–149.
- Kaur, S., Bhardwaj, R. D., Kaur, J., & Kaur, S. 2021. Induction of Defense-Related Enzymes and Pathogenesis-Related Proteins Imparts Resistance to Barley Genotypes Against Spot Blotch Disease. *Journal of Plant Growth Regulation*, **41**(2), 682–696.

- Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, M., Choudhary, M., Pandey, A. K., Sharma, A., & Thakur, J. 2022. How do Plants Defend Themselves Against Pathogens-Biochemical Mechanisms and Genetic Interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **28**(2), 485–504.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kumiadi, B. 2019. *Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Khasanati, H. K., Amurwanto, A., & Dwiputranto, U. 2014. Pengaruh Perendaman Etil Metan Sulfonat (EMS) terhadap Daya Tahan Tanaman Kecipir *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC Polong Pendek dari Serangan Patogen *Rhizoctonia solani*. *Scripta Biologica*, **1**(3), 203–207.
- Maftuhah, L. 2014. Profil Protein Tanaman Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merrill) Terinfeksi CPMMV (*Cowpea Mild Mottle Virus*). *Doctoral Issertation, UIN Maulana Malik Ibrahim*.
- Mangelep, D. N. O. 2018. Efektivitas Sari Batang Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Larvasida *Aedes* sp. *Skripsi. Politeknik Kesehatan Kendari*, 1–49.
- Marwa, R. 2012. Pengaruh dari Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp cubense Terhadap Aktivitas Enzim *Phenilalanine Ammonia-Lyase* (PAL) dan Kadar Asam Salisilat pada Pisang Jantan (*Musa paradisiaca* cv. Jantan. *Skripsi. Universitas Andalas*.
- Mondal, G., Dasgupta, B., & Sharma, R. 2018. Diseases of Medicinal and Aromatic Plants and Their Management. *Recent Approaches for Management of Plant Diseases*, 251–283.
- Musman, M. 2017. *Kimia Organik Bahan Alam*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Nabila, W. F., & Nurmalina, R. 2019. Analisis Kelayakan Usaha Minyak Serai Wangi pada Kondisi Risiko (Studi Kasus Pt. Musim Panen Harmonis). *Forum Agribisnis*, **9**(2), 143–159.
- Nadirah, P., Destiara, M., & Istiqamah. 2022. Etnobotani Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) Desa Batang Kulur Kecamatan Kelumpang Barat Kotabaru. *Al Kawnu: Science and Local Wisdom Journal*, **1**(2), 63–68.
- Naqvi, S. D. Y., Shiden, T., Merhawi, W., & Mehret, S. 2013. Identification of Seed Borne Fungi on Farmer Saved Sorghum (*Sorghum bicolor* L.), Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* L.) and Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Seeds. *Agricultural Science Research Journals*, **3**(4), 107–114.

- Nuraini, L., Lukiwati, D. R., & Fuskah, E. 2022. Respon Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) Akibat Inokulasi Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) dan Pemupukan Fosfat Alam Lifta. *JURNAL AGROPLASMA*, **9**(2), 109–112.
- Nursanti, I., Nasamsir, & Maduwu, J. T. 2020. Respon Bibit Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) pada Pemberian Pupuk Kompos Solid Dengan Dosis Berbeda di Polibag. *Jurnal Media Pertanian*, **5**(2), 65–70.
- Pandey, S., Kumar, R., & Giri, K. 2018. In Vitro Antagonism of Trichoderma Isolates Against *Curvularia andropogonis* Causing Leaf Blight of Java Citronella. *National Academy Science Letters*, **42**(3), 259–263.
- Parnidi, Soetopo, L., Damanhuri, & Marjani. 2021. Ketahanan Beberapa Genotipe *Hibiscus cannabinus* terhadap *Meloidogyne incognita*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, **17**(3), 103–112.
- Perangin-Angin, Y., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M. S., & Nurhayati. 2019. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder yang Dihasilkan Tanaman pada Cekaman Biotik. *Agriland*, **7**(1), 39–47.
- Permanasari, Y., Jadid, N., & Prasetya, E. N. 2015. Pengaruh Asam Salisilat dan Fenilalanin Terhadap Kandungan Total Asam Fenol pada Kultur Suspensi Sel *Moringa olifera* Lam. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, **4**(1), 1–6.
- Piechowiak, T., & Balawejder, M. 2019. Impact Of Ozonation Process On The Level Of Selected Oxidative Stress Markers In Raspberries Stored At Room Temperature. *Food Chemistry*, 1–4.
- Pratama, W. W., Nursyam, H., Hariati, A. M., & Hutagalung, R. A. 2020. Komposisi Proksimat, Aktivitas Enzim Protease dan Lipase Ikan Toman (*Channa micropeltes*) Ukuran yang Berbeda Asal Kalimantan Barat. *Manfish Journal*, **1**(2), 83–89.
- Purba, N., Gunam, I. B. W., & Wijaya, I. M. M. 2020. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri B2S8 menggunakan Substrat Brangkas Jagung dengan Perlakuan Konsentrasi Inokulum dan Komposisi Media yang berbeda. *Jurnal Rekayasa Dan Management Agroindustri*, **8**(2), 267–278.
- Putri, A. H., Putriyana, R. S., & Silviani, N. 2019. Isolasi dan Ekstraksi Kelompok Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*). *Fullerene Journal of Chemistry*, **4**(2), 28.
- Rahayu, M. 2016. Patologi Dan Teknis Pengujian Kesehatan Benih Tanaman Aneka Kacang. *Buletin Palawija*, **14**(2), 78–88.

- Ramadhani, P., Rukmi, I., & Pujiyanto, S. 2015. Produksi Enzim Protease dari *A.Niger* PAM18A dengan Variasi pH dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Biologi*, **4**(2), 25–34.
- Rismayanti, A. Y., & Nafi'ah, H. H. 2021. Modifikasi Media Pada Induksi Kalus Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Berbuah Kuning. *Jurnal Agro Wiralodra*, **4**(2), 42–49.
- Rudin, N. A. 2020. Pengaruh Cekaman Abiotik terhadap Ekspresi Gen dan Konsentrasi Metabolit Sekunder pada *Catharanthus roseus*. *Jurnal Pro-Life*, **7**(3), 262–274.
- Saia, S., Fragasso, M., Vita, P. De, & Beleggia, R. 2019. Metabolomics Provides Valuable Insight for the Study of Durum Wheat: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **67**(11), 3069–3085.
- Saputra, O., & Anggraini, N. 2016. Khasiat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penyembuhan Acne Vulgaris. *Majority*, **5**(1), 76–80.
- Sastrahidayat, I. R. 2019. *Penyakit pada Tanaman Kacang-Kacangan*. Malang: UB Press.
- Setyaningsih, D., Pandji, C., & Perwatasari, D. D. 2014. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Fraksi dan Ekstrak Dari Daun Dan Ranting Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) serta Pemanfaatannya pada Produk Personal Hygiene. *AGRITECH*, **34**(2), 126–137.
- Sharma, P. D. 2013. *Plant Pathology*. India: Rastogi: Publications.
- Soenartiningih, Fatmawati, & Adnan, A. M. 2013. Identifikasi Beberapa Penyakit Utama pada Tanaman Sorgum dan Jagung di Sulawesi Tengah. *Seminar Nasional Serealia*, 420–432.
- Solekha, R., Setiyowati, P. A. I., Mahaputra, S. B. S., Kusumanegara, & Sari, C. T. U. 2022. Phytochemical Screening of Ethanol Extract on Stems, Leaves, and Roots of Citronella Grass (*Cymbopogon nardus* L.). *BEST JOURNAL (Biology Education, Science, & Technology)*, **5**(1), 141–147.
- Solekha, R., Setiyowati, P. A. I., Nugraha, D. A., & Rachmadani, K. A. 2021. Uji Ketahanan dan Total Alkaloid Tembakau (*Nicotiana tabaccum*) Setelah Infeksi *Ralstonia solanacearum*. *BEST JOURNAL (Biology Education, Science, & Technology)*, **4**(1), 19–24.
- Solekha, R., Susanto, F. A., Joko, T., Nuringtyas, T. R., & Purwestri, Y. A. 2019. *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) Contributes to The Resistance of Black Rice Against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal of Plant*

Pathology, **102**(2), 359–365.

- Suganda, T., & Wulandari, D. Y. 2018. *Curvularia* sp. Jamur Patogen Baru Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Sawi. *Jurnal Agrikultura*, **29**(3), 119–123.
- Suganda, T., & Wulandari, D. Y. 2019. Keefektifan Beberapa Senyawa Kimia Sebagai Agen Penginduksi Resistensi Tanaman Sawi Terhadap Penyakit Bercak Daun *Curvularia*. *Jurnal Agro*, **6**(2), 86–94.
- Sunarko, 2014. *Budidaya Kelapa Sawit di Berbagai Jenis Lahan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Telussa, I., Souhoka, F. A., & Sahalessy, A. 2022. Eksplorasi Senyawa Bioaktif pada Sayur Meti (*Ulothrix* sp.) dari Perairan Desa Liliboi, Propinsi Maluku. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya*, **6**(1), 9–16.
- Vagiri, M., Johansson, E., & Rumpunen, K. 2017. Phenolic Compounds in Black Currant Leaves-An Interaction Between The Plant and Foliar Diseases? *Journal of Plant Interactions*, **12**(1), 193–199.
- Vandana, & Lakpale, N. 2020. Studies on Toxin and Enzymatic Effect of *Curvularia andropogonis* in Lemon Grass. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **9**(7), 940–944.
- Vandana, Singh, H. K., & Lakpale, N. 2020. Leaf blight of lemon grass incited by *Curvularia andropogonis* (Zimm) Boedjini: A New Record from Chhattisgarh State. *Journal of Mycopathological Research*, **58**(3), 203–205.
- Wang, Q., Jin, J., Dai, N., Han, N., Han, J., & Bao, B. 2016. Anti-Inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification, and High-Performance Liquid Chromatography Isolation of The Total Flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of Food and Drug Analysis*, **24**(2), 385–391.
- Widiantara, I. P., Pathiassan, M. T., & Wahab, J. A. 2021. Aktivitas Antioksidan dan Mutu Organoleptik Masker Bubuk Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Penambahan Bubuk Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.). *AGRITEPA*, **8**(2), 175–191.
- Wijayanti, L. W. 2015. Isolasi Sitronellal dari Minyak Sereh Wangi (*Cymbopogon winterianus* Jowit) dengan Destilasi Fraksinasi Pengurangan Tekanan. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, **12**(1), 22–29.
- Zhang, Q., Yang, Z. F., Cheng, W., Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Chen, Z., & Wang, Y. (2020). Diseases of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) in China: *Curvularia nanningensis* sp. nov. *MycKeys*, **63**, 49–67.

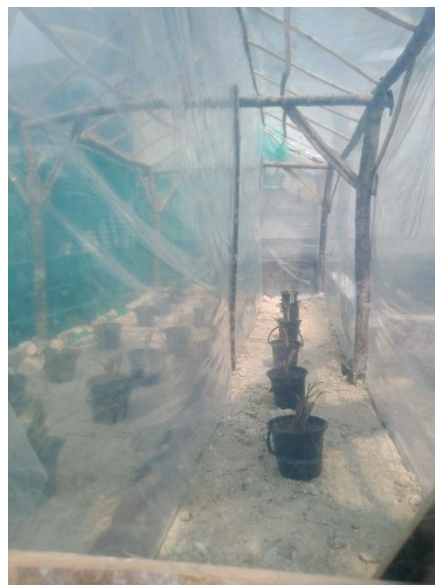
LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan *Greenhouse*



***Greenhouse* tampak luar:**

terbagi menjadi 2 ruang dengan masing-masing ruang memiliki pintu. Ruang 1 berdinding waring hijau untuk perlakuan normal dan luka, sementara ruang 2 berdinding plastik UV untuk perlakuan infeksi



***Greenhouse* tampak dalam:**

Memiliki sekat antara 2 ruang yang terbuat dari plastik UV

Lampiran 2. Persiapan Media Tanam dan Uji Kesehatan Benih

A. Persiapan Media Tanam



Media tanah yang digunakan adalah tanah sawah



Pengukusan tanah selama 8 jam



Pot yang digunakan adalah ember yang telah dilubangi bagian bawahnya



Media tanam berisi campuran tanah, pupuk kandang (kotoran kambing), dan sekam bakar dengan perbandingan 1:1:1

B. Uji Kesehatan Benih



Nampan dialasi dengan kapas dan tisu yang sudah dibasahi aquadest steril



Penataan benih untuk diinkubasi di bawah sinar NUV



Diambil tanaman yang tidak terserang jamur

Tabel Uji Kesehatan Benih *Cymbopogon nardus* L.

Benih ke-	Parameter fisik				
	Bersih (bebas dari kotoran)	Mulus	Serat	Keriput	Bercak
1	✓	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	✓	✓
3	✓	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓	✓
7	✓	✓	✓	✓	✓
8	✓	✓	✓	✓	✓
9	✓	✓	✓	✓	✓
10	✓	✓	✓	✓	✓
11	✓	✓	✓	✓	✓
12	✓	✓	✓	✓	✓
13	✓	✓	✓	✓	✓
14	✓	✓	✓	✓	✓
15	✓	✓	✓	✓	✓
16	✓	✓	✓	✓	✓
17	✓	✓	✓	✓	✓
18	✓	✓	✓	✓	✓
19	✓	✓	✓	✓	✓
20	✓	✓	✓	✓	✓
21	✓	✓	✓	✓	✓
22	✓	✓	✓	✓	✓
23	✓	✓	✓	✓	✓
24	✓	✓	✓	✓	✓
25	✓	✓	✓	✓	✓
26	✓	✓	✓	✓	✓
27	✓	✓	✓	✓	✓
28	✓	✓	✓	✓	✓
29	✓	✓	✓	✓	✓
30	✓	✓	✓	✓	✓
31	✓	✓	✓	✓	✓
32	✓	✓	✓	✓	✓
33	✓	✓	✓	✓	✓
34	✓	✓	✓	✓	✓
35	✓	✓	✓	✓	✓
36	✓	✓	✓	✓	✓
37	✓	✓	✓	✓	✓
38	✓	✓	✓	✓	✓
39	✓	✓	✓	✓	✓
40	✓	✓	✓	✓	✓

Lampiran 3. Penanaman dan Pemeliharaan *Cymbopogon nardus* L.

A. Penanaman



Benih tanaman:
Cymbopogon nardus L.
varietas Sitrona Agribun 2
dari BALITRO



Penanaman dalam 1 pot yaitu 3 benih, dengan penataan dalam *greenhouse* terdiri dari 3 ulangan ditambah 1 cadangan untuk setiap perlakuannya

B. Pemeliharaan

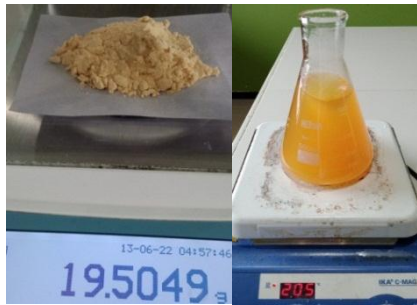


Penyiraman tanaman
setiap sehari sekali



Pemupukan setelah 10 hari penanaman:
pupuk urea 75 kg/ha, KCl 60 kg/ha, dan
phospat 60 kg/ha

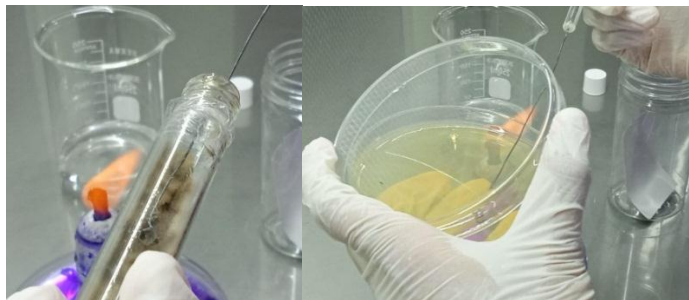
Lampiran 4. Pemiakan *Curvularia andropogonis* (Zimm.)



Pembuatan media PDA



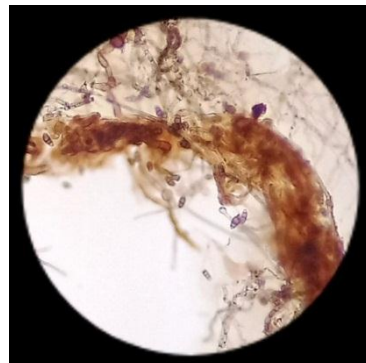
Platting media ke cawan petri dan tabung reaksi



Isolasi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) ke media PDA: metode *streak plate*



Hasil biakan *Curvularia andropogonis* (Zimm.) secara makroskopis

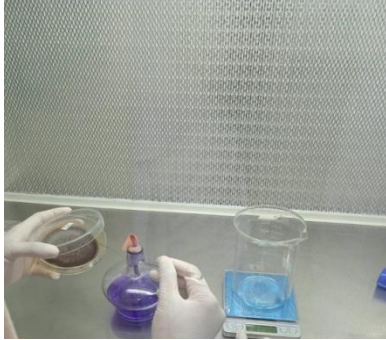


Hasil biakan *Curvularia andropogonis* (Zimm.) secara mikroskopis

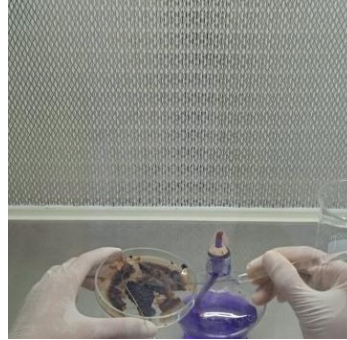


Hasil isolasi *Curvularia andropogonis* Zimm. dari daun *Cymbopogon nardus* L. untuk validasi

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.) dengan Menggunakan *Haemocytometer*



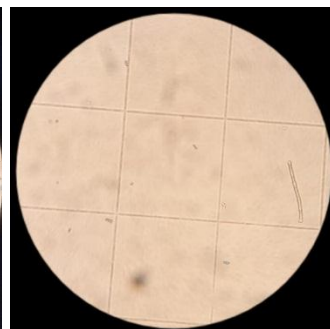
Penimbangan 10 g jamur untuk disuspensikan ke 90 ml aquadest steril



Metode pengenceran seri 10^{-5}



Perhitungan kerapatan konidia dengan *haemocytometer*



Pengamatan mikroskopis kerapatan jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Tabel Data Perhitungan Kerapatan Jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Suspensi	Jumlah Konidia					
	Kotak 1	Kotak 2	Kotak 3	Kotak 4	Kotak 5	Jumlah Total
10^{-1}	87	114	102	96	99	498
10^{-2}	51	39	32	66	43	231
10^{-3}	7	9	10	21	12	59
10^{-4}	2	3	6	4	3	18
10^{-5}	2	1	3	1	0	7

Tabel Data Perhitungan Konsentrasi Jamur *Curvularia andropogonis* (Zimm.)

Suspensi	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Konsentrasi CFU/ml	$2,49 \times 10^7$	$1,15 \times 10^7$	$2,95 \times 10^6$	9×10^5	$8,75 \times 10^4$

Keterangan: Angka yang dicetak tebal merupakan konsentrasi jamur yang digunakan untuk infeksi.

Lampiran 6. Pelukaan dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.) serta Pengambilan Sampel

A. Pelukaan dan Infeksi *Curvularia andropogonis* (Zimm.)






Pelukaan dengan menggunting ujung daun



Infeksi pada daun yang telah dilukai dengan metode celup ke suspensi jamur


B. Pengambilan Sampel

No.	Perlakuan Daun	Gambar
1.	Normal	
2.	Luka	
3.	Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)	

Lampiran 7. Ekstraksi PAL



Pelisisan sampel daun menggunakan nitrogen cair

	<p>Pembuatan buffer borat 0,2 M pH 8,8</p> $M = \frac{\text{massa}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$ $0,2 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{61,83 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{50 \text{ ml}}$ $\text{massa} = \frac{0,2 \text{ M} \times 61,83 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 50 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$ $\text{massa} = 0,6183 \text{ g}$ <p>(0,6183 gr asam borat dalam 50 ml aquabidest) pH 8,8</p>
--	--



Sentrifugasi ekstrak daun pada 12.000 g pada suhu 4°C selama 15 menit

Lampiran 8. Perhitungan Kadar Protein

A. Pembuatan Larutan Standar BSA



Pembuatan stok BSA 100 µg/ml dengan menimbang 0,01 g BSA



Pengenceran stok BSA 100 µg/ml menjadi variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/ml

A.1 Pembuatan Larutan Stok BSA 100 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} = \frac{100 \mu\text{g}}{1 \text{ ml}} = \frac{0,1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Larutan BSA 100 µg/ml dibuat dengan mengambil 10 mg atau 0,01 gram padatan BSA kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquadest

A.2 Pembuatan Larutan Standar BSA dari Stok BSA 100 µg/ml

Diketahui: Larutan stok BSA (M1) = 100 µg/ml, Volume (V2) = 10 ml

Rumus: $M1 \times V1 = M2 \times V2$

a) Larutan Standar BSA Konsentrasi 2 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 2 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

(Diambil 0,2 ml stok BSA + aquadest sampai 10 ml)

b) Larutan Standar BSA Konsentrasi 4 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 4 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{4 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$$

(Diambil 0,4 ml stok BSA + aquadest sampai 10 ml)

c) Larutan Standar BSA Konsentrasi 6 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 6 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{6 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

(Diambil 0,6 ml stok BSA + aquadest sampai 10 ml)

d) Larutan Standar BSA Konsentrasi 8 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 8 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{8 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

(Diambil 0,8 ml stok BSA + aquadest sampai 10 ml)



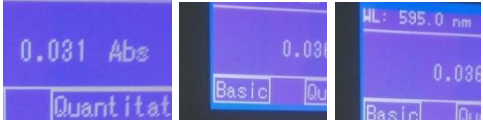
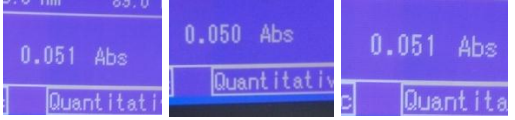
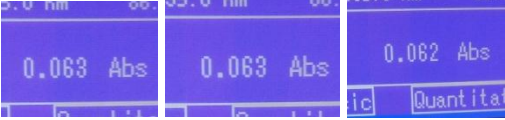
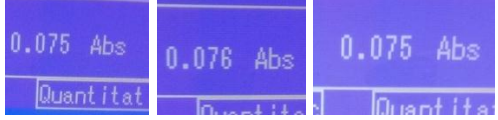
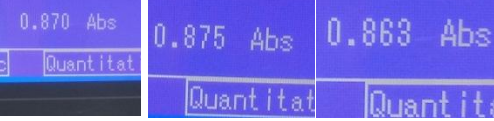
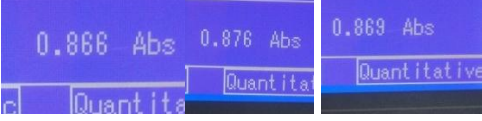
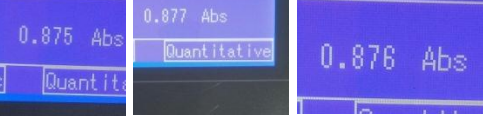
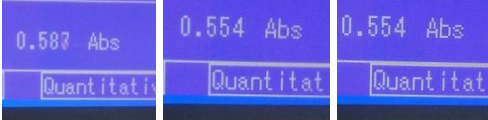
e) Larutan Standar BSA Konsentrasi 10 µg/ml


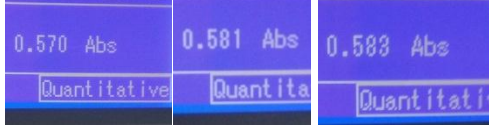
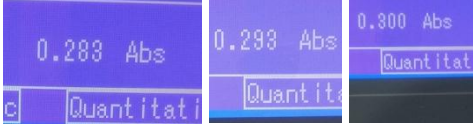
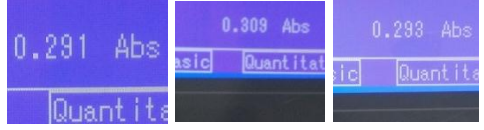
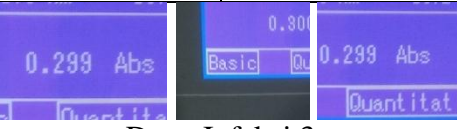
$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 10 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{10 \times 10}{100} \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

(Diambil 1 ml stok BSA + aquadest sampai 10 ml)

B. Kurva Standar BSA untuk Perhitungan Kadar Ekstrak Kasar Protein Daun *Cymbopogon nardus* L.

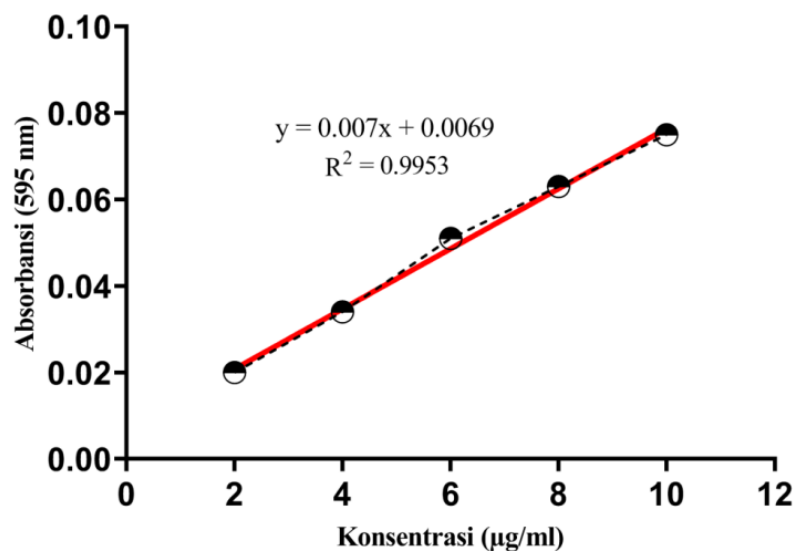
 <p>Blanko</p>	 <p>BSA 2 µg/ml</p>
 <p>BSA 4 µg/ml</p>	 <p>BSA 6 µg/ml</p>
 <p>BSA 8 µg/ml</p>	 <p>BSA 10 µg/ml</p>
 <p>Daun Normal 1</p>	 <p>Daun Normal 2</p>
 <p>Daun Normal 3</p>	 <p>Daun Luka 1</p>

 <p>Daun Luka 2</p>	 <p>Daun Luka 3</p>
 <p>Daun Infeksi 1</p>	 <p>Daun Infeksi 2</p>
 <p>Daun Infeksi 3</p>	

Tabel Data Konsentrasi dan Absorbansi BSA untuk Mengukur Kadar Ekstrak Kasar Protein Daun *Cymbopogon nardus* L.

	Konsentrasi BSA ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			
		1	2	3	Rata-Rata
Blanko	0	0	0	0	0
1	2	0,019	0,020	0,020	0,020
2	4	0,031	0,035	0,035	0,034
3	6	0,051	0,050	0,051	0,051
4	8	0,063	0,063	0,062	0,063
5	10	0,075	0,075	0,076	0,075

Kurva Standar BSA



Gambar Kurva Standar BSA

Tabel Data Absorbansi dan Kadar Protein Ekstrak Kasar Daun *Cymbopogon nardus* L. dengan standar BSA

Serai Wangi	Ulangan ke-	Absorbansi				Kadar Protein (mg/ml)
		1	2	3	Rata-rata	
Normal	1	0,870	0,875	0,863	0,869	0,123
	2	0,866	0,876	0,869	0,870	0,123
	3	0,875	0,878	0,876	0,876	0,124
Luka	1	0,588	0,554	0,552	0,565	0,08
	2	0,571	0,572	0,556	0,567	0,08
	3	0,570	0,581	0,583	0,578	0,082
Infeksi	1	0,283	0,293	0,300	0,292	0,041
	2	0,291	0,309	0,293	0,298	0,042
	3	0,299	0,303	0,299	0,300	0,042

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT $\alpha = 0,05$


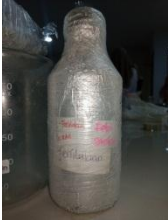

Tabel Data Uji Statistik Kadar Ekstrak Kasar Protein Daun *Cymbopogon nardus* L.

Serai Wangi	Kadar Protein (mg/ml)
Normal	0,123 ^a ± 0,001
Luka	0,081 ^b ± 0,001
Infeksi	0,042 ^c ± 0,001

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT $\alpha = 0,05$

Lampiran 9. Penentuan Aktivitas Enzim PAL

A. Pembuatan Larutan Uji Enzim PAL

1. Pembuatan Tris HCl (100 mM)	
	$M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V}$ $0,1 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{121,14 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{50 \text{ ml}}$ $\text{massa} = \frac{0,1 \text{ M} \times 121,14 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 20 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 0,24228 \text{ g}$ <p>0,24228 g Tris dalam 20 ml aquabidest + HCl atau NaOH) pH 8,5</p>
2. Pembuatan L-Fenilalanin 10 mM	
	$M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V}$ $0,01 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{165,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$ $\text{massa} = \frac{0,01 \text{ M} \times 165,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 0,1652 \text{ g}$ <p>(0,1652 g L-fenilalanin dalam 100 ml aquabidest)</p>
3. Pembuatan HCL 6M	
	<p>Diketahui: HCL 37% = 37 gr dalam 100 ml Mr HCl = 36,5 g/mol</p> $\text{Maka } M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V} = \frac{37 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 10,14 \text{ M}$ <p>Untuk mendapatkan HCL 6 M sebanyak 100 ml dari HCL 37%, maka rumus pengencerannya sebagai berikut:</p> $V1 \times C1 = V2 \times C2$ $100 \text{ ml} \times 6 \text{ M} = V2 \times 10,14 \text{ M}$ $V2 = \frac{600}{10,14} \text{ ml}$ $V2 = 59 \text{ ml}$

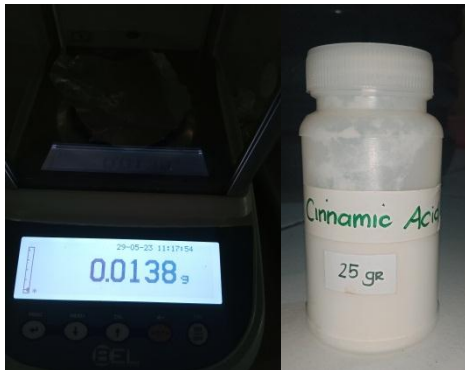
B. Inkubasi Campuran Reaksi



Inkubasi campuran reaksi pada suhu 30°C selama 30 menit menggunakan

waterbath

C. Pembuatan Larutan Standar Asam Sinamat



Pembuatan stok Asam Sinamat 100 µg/ml dengan menimbang 0,01 g Asam Sinamat



Pengenceran stok BSA 100 µg/ml menjadi variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/ml

C.1 Pembuatan Larutan Stok Asam Sinamat 100 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} = \frac{100 \mu\text{g}}{1 \text{ ml}} = \frac{0,1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Larutan asam sinamat 100 µg/ml dibuat dengan mengambil 10 mg atau 0,01 gram asam sinamat kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquadest

C.2 Pembuatan Standar Asam Sinamat dari Stok Asam Sinamat 100 µg/ml

Diketahui: Larutan stok Asam sinamat (M1) = 100 µg/ml

$$\text{Volume (V2)} = 10 \text{ ml}$$

Rumus: $M1 \times V1 = M2 \times V2$

f) Larutan Standar Asam Sinamat Konsentrasi 2 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 2 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

(Diambil 0,2 ml stok asam sinamat + aquadest sampai 10 ml)

g) Larutan Standar Asam Sinamat Konsentrasi 4 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 4 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{4 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$$

(Diambil 0,4 ml stok asam sinamat + aquadest sampai 10 ml)

h) Larutan Standar Asam Sinamat Konsentrasi 6 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 6 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{6 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

(Diambil 0,6 ml stok asam sinamat + aquadest sampai 10 ml)

- i) Larutan Standar Asam Sinamat Konsentrasi 8 µg/ml

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 8 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{8 \times 10}{100} \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

(Diambil 0,8 ml stok asam sinamat + aquadest sampai 10 ml)


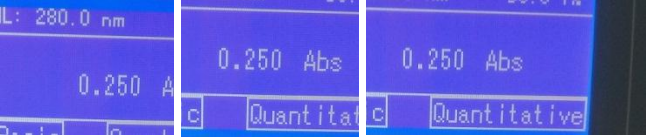

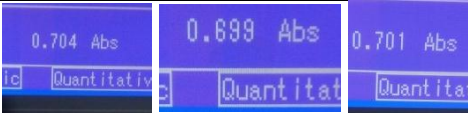
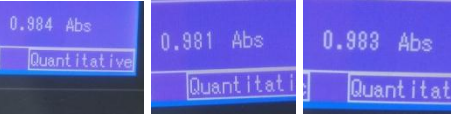
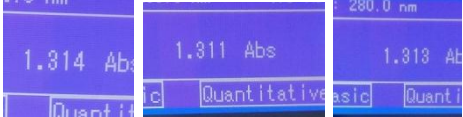
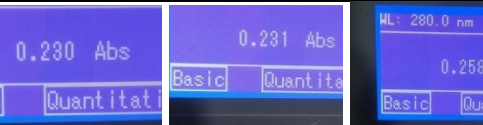
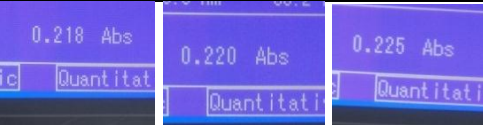
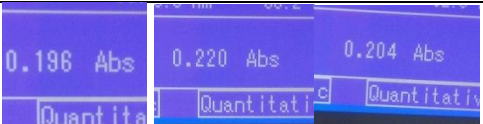
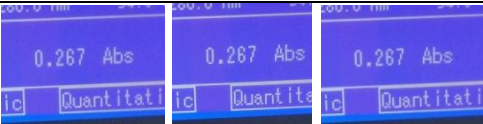
- j) Larutan Standar Asam Sinamat Konsentrasi 10 µg/ml

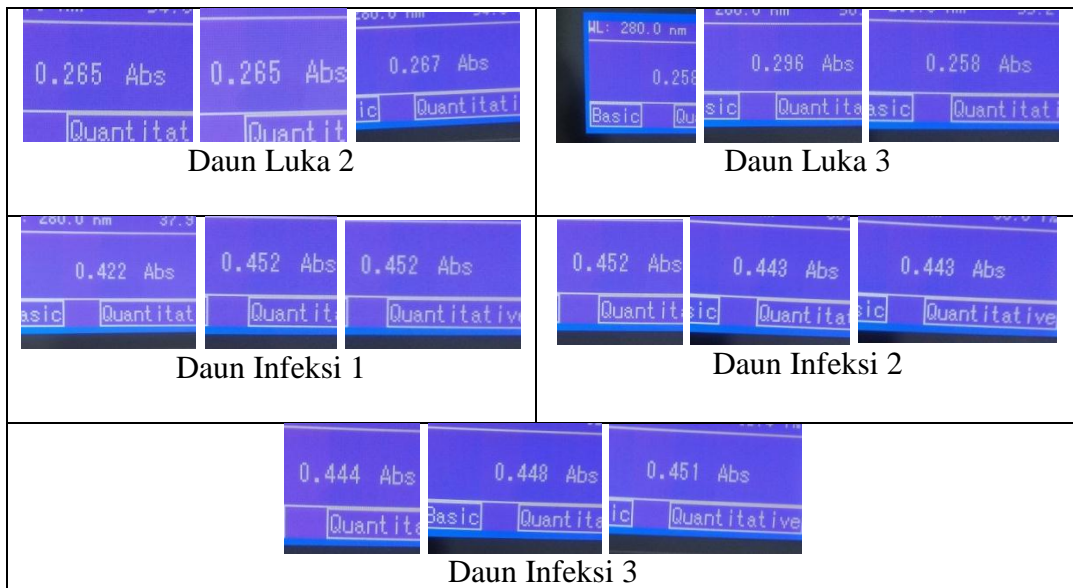
$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 10 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{10 \times 10}{100} \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

(Diambil 1 ml stok asam sinamat + aquadest sampai 10 ml)

D. Kurva Standar Asam Sinamat untuk Perhitungan Kadar Ekstrak Kasar Protein Daun *Cymbopogon nardus* L.

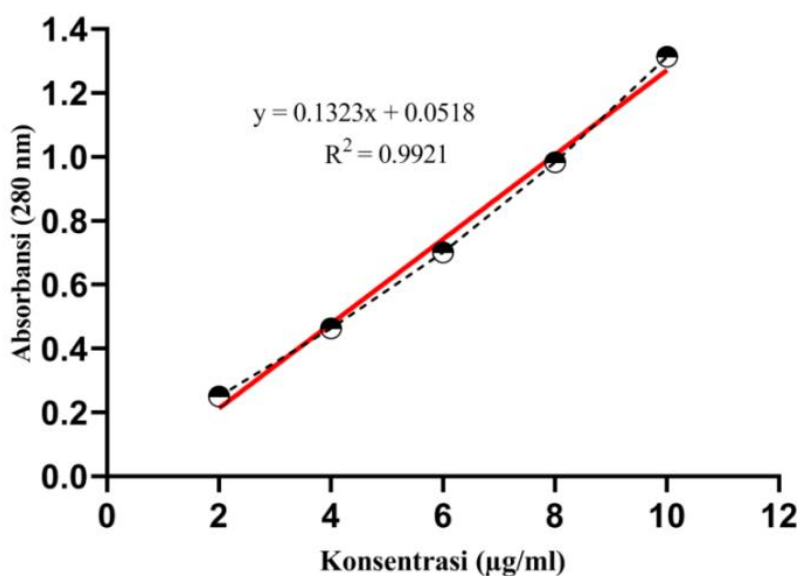
 <p>0.000 Abs</p>	 <p>L: 280.0 nm 0.250 Abs 0.250 Abs</p>
Blanko	BSA 2 µg/ml
 <p>0.466 Abs 0.462 Abs 0.462 Abs</p>	 <p>0.704 Abs 0.699 Abs 0.701 Abs</p>
BSA 4 µg/ml	BSA 6 µg/ml
 <p>0.984 Abs 0.981 Abs 0.983 Abs</p>	 <p>1.314 Abs 1.311 Abs 1.313 Abs</p>
BSA 8 µg/ml	BSA 10 µg/ml
 <p>0.230 Abs 0.231 Abs 0.258</p>	 <p>0.218 Abs 0.220 Abs 0.225 Abs</p>
Daun Normal 1	Daun Normal 2
 <p>0.196 Abs 0.220 Abs 0.204 Abs</p>	 <p>0.267 Abs 0.267 Abs 0.267 Abs</p>
Daun Normal 3	Daun Luka 1



Tabel Data Konsentrasi dan Absorbansi Asam Sinamat

	Konsentrasi Asam Sinamat (µg/ml)	Absorbansi			
		1	2	3	Rata-Rata
Blanko	0	0	0	0	0
1	2	0,250	0,250	0,250	0,250
2	4	0,466	0,462	0,462	0,463
3	6	0,704	0,699	0,701	0,701
4	8	0,984	0,981	0,983	0,983
5	10	1,314	1,311	1,313	1,313

Kurva Standar Asam Sinamat



Gambar Kurva Standar Asam Sinamat

Tabel Data Absorbansi dan Konsentrasi Asam Sinamat dalam Ekstrak Kasar Protein Daun *Cymbopogon nardus* L.

Serai Wangi	Ulangan ke-	Absorbansi				Konsentrasi Asam sinamat
		1	2	3	Rata-rata	µg/ml
Normal	1	0,230	0,231	0,255	0,222	2,039 ^a
	2	0,217	0,220	0,225	0,221	2,062 ^a
	3	0,196	0,220	0,204	0,207	1,956 ^a
Luka	1	0,267	0,267	0,267	0,267	2,410 ^b
	2	0,265	0,265	0,267	0,266	2,402 ^b
	3	0,255	0,296	0,258	0,270	2,432 ^b
Infeksi	1	0,422	0,452	0,452	0,442	3,732 ^c
	2	0,452	0,443	0,443	0,446	3,763 ^c
	3	0,444	0,448	0,451	0,448	3,778 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT $\alpha = 0,05$

Tabel Data Perhitungan Aktivitas Enzim PAL

Serai Wangi	Ulangan ke-	Perhitungan	Aktivitas Enzim (unit/ml)
Normal	1	$\frac{2,039}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0028
	2	$\frac{2,062}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0028
	3	$\frac{1,956}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0026
Luka	1	$\frac{2,410}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0033
	2	$\frac{2,402}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0032
	3	$\frac{2,432}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0033
Infeksi	1	$\frac{3,732}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,005
	2	$\frac{3,763}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0051
	3	$\frac{3,778}{148 \times 30} \times \frac{1,2}{0,2}$	0,0051

Tabel Data Perhitungan Aktivitas Spesifik Enzim PAL

Serai Wangi	Ulangan ke-	Perhitungan	Aktivitas Spesifik Enzim (unit/mg)
Normal	1	$\frac{0,0028}{0,123}$	0,023
	2	$\frac{0,0028}{0,123}$	0,023
	3	$\frac{0,0026}{0,124}$	0,0021
Luka	1	$\frac{0,0033}{0,08}$	0,041
	2	$\frac{0,0032}{0,08}$	0,040
	3	$\frac{0,0033}{0,082}$	0,040
Infeksi	1	$\frac{0,005}{0,041}$	0,122
	2	$\frac{0,0051}{0,042}$	0,121
	3	$\frac{0,0051}{0,042}$	0,121

Tabel Data Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik Enzim PAL Daun *Cymbopogon nardus* L.

Serai Wangi	Ulangan ke-	Aktivitas Enzim (U/ml)	Aktivitas Spesifik Enzim (U/mg)
Normal	1	0,0028	0,023
	2	0,0028	0,023
	3	0,0026	0,021
Luka	1	0,0033	0,041
	2	0,0032	0,040
	3	0,0033	0,040
Infeksi	1	0,005	0,122
	2	0,0051	0,121
	3	0,0051	0,121

Tabel Data Uji Statistik Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik Enzim PAL Daun *Cymbopogon nardus* L.

Serai Wangi	Aktivitas Enzim (U/ml)	Aktivitas Spesifik Enzim (U/mg)
Normal	$0,0027^a \pm 0,0001$	$0,022^a \pm 0,001$
Luka	$0,0033^b \pm 0,0001$	$0,040^b \pm 0,001$
Infeksi	$0,0051^c \pm 0,0001$	$0,121^c \pm 0,001$

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNT $\alpha = 0,05$

Lampiran 10. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Tahap Penelitian (2023)	Februari				Maret				April				Mei			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pembuatan <i>greenhouse</i>	■	■														
Persiapan media tanam		■														
Uji kesehatan benih		■														
Penanaman dan pemeliharaan <i>Cymbopogon nardus</i> L.			■	■	■	■	■	■	■	■						
Pembiakan <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)				■	■	■	■	■	■	■						
Perhitungan Konsentrasi Jamur <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)										■						
Pelukaan dan Infeksi <i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.)										■						
Pengambilan sampel										■						
Ekstraksi enzim PAL										■	■					
Perhitungan total protein											■	■				
Penentuan aktivitas enzim PAL													■	■	■	■