

**IDENTIFIKASI MOLEKULER PATOGEN BULAI JAGUNG DI
PROVINSI LAMPUNG**

(Skripsi)

Oleh

Mega Fitria



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER PATOGEN BULAI JAGUNG DI PROVINSI LAMPUNG

Oleh

MEGA FITRIA

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies patogen bulai jagung secara tepat dan akurat di tiga daerah Provinsi Lampung yaitu Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Maret – Agustus 2016. Konidia bulai didapatkan dengan cara pengumpulan konidia langsung dan induksi kemunculan konidia. Ekstraksi DNA menggunakan 2 jenis bufer ekstraksi DNA. Digunakan lima pasang primer untuk PCR yang terdiri dari 1 pasang primer spesifik untuk *P. maydis*, 2 pasang primer spesifik untuk *P. sorghi*, 1 pasang primer spesifik untuk *P. philipinensis* dan 1 pasang primer untuk amplifikasi *Peronosclerospora* spp. yang dibuat berdasarkan sekuen gen *Cytochrome Oxidase subunit II (COX2)*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan spesies *Peronosclerospora* di tiga daerah Provinsi Lampung (Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang) dan diketahui penyebab penyakit tersebut ialah *Peronosclerospora australiensis*.

Kata kunci : Bulai, identifikasi molekuler, *P. australiensis*, primer.

**IDENTIFIKASI MOLEKULER PATOGEN BULAI JAGUNG DI
PROVINSI LAMPUNG**

Oleh

MEGA FITRIA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

Pada

Jurusan Agroteknologi



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI MOLEKULER PATOGEN
BULAI JAGUNG DI PROVINSI LAMPUNG**

Nama Mahasiswa : *Mega Fitria*


Nomor Pokok Mahasiswa : 1214121124

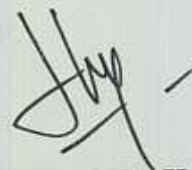
Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian


MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.
NIP 198106212005011005



Ivayani, S.P., M.Si.
NIP 198812292015042001

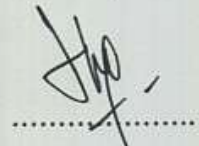
2. Ketua Jurusan Agroteknologi



Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

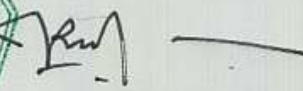
Ketua : **Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.** 

Sekretaris : **Ivayani, S.P., M.Si.** 

Penguji
Bukan Pembimbing : **Ir. Joko Prasetyo, M.P.** 

2. Dekan Fakultas Pertanian




Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **14 Februari 2017**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "Identifikasi Molekuler Patogen Bulai Jagung di Provinsi Lampung" merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Februari 2017

Yang membuat pernyataan




(Mega Fitria)

NPM 1214121124

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 07 Maret 1995. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara, pasangan Bapak Drs. Sarniadi Maja dan Ibu Yulianah.

Pada tahun 2000 penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-Kanak Kartika II-28. Menyelesaikan pendidikan sekolah dasar pada tahun 2006 di SDN 1 Enggal Bandar Lampung, sekolah menengah pertama di SMP Utama 3 Bandar Lampung pada tahun 2009, dan sekolah menengah atas di SMAN 4 Bandar Lampung yang diselesaikan pada tahun 2012. Pada tahun 2012, penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung Program Studi S1 Agroteknologi.

Pada tahun 2015 penulis telah melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Karantina Pertanian Kelas 1 Bandar Lampung. Pada tahun 2016 penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gedung Aji, Kecamatan Selagai Lingga, Lampung Tengah. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Bioteknologi Penyakit Tumbuhan pada tahun 2015. Penulis juga pernah aktif pada organisasi LS-MATA FP UNILA dan BEM FP UNILA.

“Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalatmu sebagai penolongmu. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.”
(Q.S Al-Baqarah: 153)

Provision would not be friends with an idleness
(Anonim)

“Sesuatu mungkin mendatangi mereka yang mau menunggu, namun hanya didapatkan oleh mereka yang bersemangat mengejarnya”
(Abraham Lincoln)

Do not consider ourselves not able to before trying,
learning, and practice
(Anonim)

Bismillahirrahmannirrahim

Karya sederhana ini kupersembahkan kepada

Allah SWT

Segala puji dan syukur kuucapkan atas segala karunia dan nikmat, serta atas segala ridha dan rahmatnya yang telah diberikan untukku

Untuk Kedua Orang Tuaku Tercinta, Drs. Sarniadi Maja dan Yulianah

Yang telah mencurahkan perhatian, kasih sayang, serta senantiasa memberikan doa dan dukungannya untuk setiap keberhasilanku

Dan Untuk Kakak-kakakku, Anggi Purnamasari Putri dan Imam Ahmad Reza Syahputra
Yang tiada hentinya memberikan kasih sayang dan dukungannya kepadaku

Serta

Almamater Tercinta
Universitas Lampung

SANWACANA

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, nikmat, dan karunia yang senantiasa dicurahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Molekuler Patogen Bulai Jagung di Provinsi Lampung”.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan berhasil disusun dengan baik tanpa adanya bantuan, bimbingan, dan saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Bapak Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk serta mengarahkan penulis dengan penuh kesabaran selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ibu Ivayani, S.P., M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan nasihat dan saran selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Bapak Ir. Joko Prasetyo, M.P., selaku pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, dan saran kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan benar.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Muhammad Kamal, M.Sc., selaku pembimbing akademik atas motivasi dukungannya.

5. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
6. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku Ketua Bidang Hama Penyakit Tanaman.
8. Papa dan Mama tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, doa dan dukungan dalam bentuk motivasi serta bantuannya baik secara moril maupun materil yang diberikan selama ini.
9. Kakak-kakakku yang selalu menghibur dikalaku lelah.
10. Adam, Bihikmi, Dea, Diny, Dwi, Emmy, Lisa atas kebersamaan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian bulai jagung ini.
11. Niken, Gusty, Ghani, Diyan, Dina, Darwin, Apriandi, Anindita yang tak pernah lelah membantu dan menemani penulis menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
12. Hairani, Isma, Karisma, Mutia, Nia A, Nia El, Opi, Puji, Puji AR, Rani, Tanti, Uci atas doa, dukungan dan semangatnya.
13. Kak Eko dan teman-teman di Laboratorium Bioteknologi yang telah membantu dalam penelitian ini.
14. Teman-teman Agroteknologi angkatan 2011, 2012, dan 2013 terimakasih atas kebersamaan, keceriaan dan kebahagiaan selama ini.

Bandar Lampung, 2017
Penulis

Mega Fitria

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Jagung	6
2.1.1 Taksonomi Tanaman Jagung	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Jagung	6
2.2 Penyakit Bulai pada Jagung.....	7
2.2.1 Siklus Penyakit	8
2.2.2 Gejala Penyakit	8
2.2.3 Persebaran Penyakit	9
2.3 Identifikasi Molekuler Patogen.....	9
2.3.1 Elektroforesis	10
III. BAHAN DAN METODE	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan	12
3.3 Pelaksanaan Penelitian	13
3.3.1 Persiapan Konidia Jamur.....	13
3.3.1.1 Pengumpulan konidia langsung.....	13
3.3.1.2 Induksi kemunculan konidia	14
3.3.2 Ekstraksi DNA.....	15
3.3.2.1 Ekstraksi DNA dengan buffer ekstraksi 1	15
3.3.2.2 Ekstraksi DNA dengan buffer ekstraksi 2	17
3.3.3 Amplifikasi DNA dengan PCR	18
3.3.3.1 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR	20
3.3.4 Sequensing dan Analisis Hasilnya	20

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Pengumpulan Konidia	21
4.1.1 Induksi Kemunculan Konidia	21
4.1.2 Pengumpulan Konidia secara Langsung	22
4.2 Ekstraksi DNA	23
4.2.1 Ekstraksi DNA menggunakan Konidia Hasil Induksi	23
4.2.2 Ekstraksi DNA menggunakan Konidia Hasil Pengumpulan Konidia secara Langsung.....	25
4.3 Visualisasi Hasil PCR	28
4.4 Sekuensing dan Analisis	31
4.4.1 Analisis Sekuensing COX2.....	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi bufer ekstraksi DNA 1.....	15
2. Komposisi bufer TE.....	16
3. Komposisi bufer ekstraksi DNA 2.....	17
4. Primer yang digunakan.....	19
5. Hasil PCR.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun tanaman jagung yang bergejala bulai	22
2. Hasil ekstraksi DNA menggunakan konidia hasil induksi.....	24
3. Benang-benang tipis DNA.....	25
4. Visualisasi DNA1 (P,M,T) dan DNA2 (P,M,T)	26
5. Hasil PCR yang teramplifikasi pada 16SrDNA.....	26
6. Visualisasi DNA3 (P,M,T)	27
7. Hasil PCR ke-10.....	30
8. Hasil PCR DNA3 (P,T,M) yang teramplifikasi dengan menggunakan primer COX2.....	31
9. Persiapan sampel untuk sekuensing	32
10. Dendogram hasil analisis ini dilakukan dengan aplikasi MEGA4 dengan metode Neighbor-Joining dan model Jukes-Cantor.....	33

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Jagung merupakan komoditas tanaman pangan utama di Indonesia yang banyak digunakan sebagai bahan baku pangan dan pakan. Jagung digunakan juga untuk bahan baku minyak nabati (*corn oil*), gula rendah kalori, tepung jagung (*maizena*), makanan kecil, mie jagung, dan jagung dibutuhkan pula untuk bahan baku alternatif industri *biofuel* (Sarasutha, 2002).

Daerah Jawa Timur, Jawa Tengah, Lampung, Sulawesi Selatan, Nusa Tenggara, Sumatera Utara, Jawa Barat, dan Gorontalo termasuk daerah yang menjadi sentra produksi jagung yang terdapat di Indonesia. Di Lampung, jagung banyak ditanam di kabupaten Lampung Selatan, Lampung Timur dan Lampung Tengah. Produksi jagung Lampung pada tahun 2012 sebesar 1,75 juta ton dan mengalami penurunan sebanyak 67 ribu ton dibanding produksi pada tahun 2011 (BPS Provinsi Lampung, 2012).

Menurut BPTPH (2012), salah satu penyebab menurunnya produksi jagung di Lampung dikarenakan infeksi penyakit bulai. Areal pertanaman jagung yang terinfeksi bulai pada tahun 2011 yaitu 599 hektar, dan pada tahun 2012 meningkat mencapai 1.138 hektar. Kerusakan akibat penyakit pada jagung ini dapat

mencapai 90%, dikarenakan patogen bulai menimbulkan gejala sistemik pada tanaman jagung tersebut.

Tanda penyakit bulai yang terlihat pada tanaman jagung yaitu pada daun permukaan atas dan bawah terdapat warna putih seperti tepung yang merupakan konidia jamur patogen tersebut dan sangat jelas jika dilihat pada pagi hari. Gejala khas penyakit bulai yang terdapat di tanaman jagung biasanya terlihat adanya warna klorotik memanjang sejajar tulang daun dengan batas yang jelas antara daun sehat. Selanjutnya pertumbuhan tanaman jagung akan terhambat, termasuk pembentukan tongkol, bahkan tongkol tidak terbentuk, daun-daun menggulung dan terpuntir serta bunga jantan berubah menjadi massa daun yang berlebihan (Semangun, 2004).

Melihat besarnya kerugian ekonomi yang ditimbulkan, maka perlu adanya tindakan pengendalian yang tepat sasaran. Sebelum menentukan tindakan pengendalian, perlu diketahui secara pasti identitas patogen tanaman tersebut agar dapat mengetahui semua informasi terkait dengan patogen tersebut. Beberapa penyebab penyakit bulai pada jagung yang dilaporkan di Lampung ialah *Peronosclerospora maydis*, *P. sorghi* dan *P. philippinensis* (Rustiani dkk., 2015).

Peronosclerospora terbagi menjadi 11 spesies, yaitu *P. dichanthiicola*, *P. eriochloae*, *P. heteropogonis*, *P. maydis*, *P. miscanthi*, *P. noblei*, *P. philippinensis*, *P. sacchari*, *P. sorghi*, *P. spontanea* dan *P. westonii*. Laporan temuan spesies baru dari Australia menyebutkan bahwa terdapat dua spesies yang dikenali penyakit bulai di Australia bagian utara, yaitu *Peronosclerospora*

australiensis dan *Peronosclerospora sargae*. Untuk *P. australiensis* dilaporkan telah menginfeksi tanaman sorgum dan jagung, sedangkan *P. sargae* baru hanya menginfeksi tanaman sorgum di Australia bagian utara (Shivas dkk., 2012).

Selama ini, identifikasi penyebab penyakit bulai di Indonesia dilakukan berdasarkan hasil pengamatan morfologi konidiofor dan konidia. Namun begitu, identifikasi spesies secara morfologi memiliki berbagai kelemahan yang tergantung oleh subjektivitas dan ketelitian peneliti. Untuk itu, identifikasi secara molekuler perlu dilakukan. Dengan identifikasi secara molekuler diharapkan akan menghasilkan informasi genetik dengan ketepatan yang lebih akurat dan relatif lebih cepat yang hasilnya tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Hikmawati dkk., 2011).

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies patogen bulai jagung secara tepat dan akurat di tiga daerah Provinsi Lampung yaitu Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang.

1.3 Kerangka Pemikiran

Penyakit bulai di Indonesia yang telah diidentifikasi disebabkan oleh tiga spesies yaitu *P. maydis*, *P. philippinensis* dan *P. sorghi*. Hasil penelitian identifikasi yang telah dilakukan Muis dkk. (2013), *P. maydis* ditemukan menyerang tanaman jagung di Jawa Timur, Lampung, dan Kalimantan Barat, *P. sorghi* ditemukan di

Sumatera Utara dan Jawa Barat, sedangkan *P. philippinensis* ditemukan di Sulawesi Selatan.

Beberapa penelitian identifikasi morfologi yang dilakukan pada Provinsi yang sama memperlihatkan bentuk konidia yang berbeda-beda. (Rahamma dkk., 1998 dalam Hikmawati dkk., 2011) menemukan bahwa *Peronosclerospora* sp. yang menyerang tanaman jagung di Maros dan Sidrap (Sulawesi Selatan) memiliki bentuk konidia bulat yang merupakan ciri dari spesies *P. maydis* sedangkan menurut Wakman dan Kontong (2003) bentuk konidia asal Sidrap (Sulawesi Selatan) berbentuk lonjong seperti yang ditemukan pada spesies *P. Philippinensis* dan pada penelitian Hikmawati dkk. (2011) menemukan *Peronosclerospora* sp. yang menyerang tanaman jagung di Maros memiliki bentuk konidia lonjong yang merupakan ciri dari spesies *P. philippinensis*.

Selama ini keragaman struktur populasi *Peronosclerospora* telah diidentifikasi secara konvensional berdasarkan karakter morfologi dan patotipenya. Perbedaan patotipe ditandai dengan adanya perbedaan respon penyakit pada beberapa kultivar inang yang berbeda. Metode konvensional untuk mendeteksi perbedaan patotipe bulai yang menyerang tanaman sereal tidak cukup akurat untuk digunakan di dalam mengkarakterisasi organisme parasit obligat seperti pada patogen tanaman bulai ini, yang tidak dapat dikulturkan, karena gejala dari *Peronosclerospora* sulit dibedakan (Bock dkk., 2000).

Adanya perbedaan patotipe, gejala yang sulit dibedakan dan perbedaan beberapa hasil penelitian pada identifikasi morfologi menunjukkan adanya kelemahan pada

metode identifikasi konvensional, akibat adanya pengaruh perubahan-perubahan lingkungan. Menurut Smith dkk. (1997) karakter-karakter morfologi sering tidak menggambarkan hubungan genetik akibat adanya interaksi lingkungan dan sejumlah kontrol genetik yang tidak diketahui. Sehingga identifikasi karakterisasi molekuler perlu dilakukan untuk lebih mendapatkan hasil yang akurat di dalam mengkarakterisasi terhadap perbedaan spesies dan struktur populasi *Peronosclerospora* di Indonesia khususnya Lampung.

Kemajuan di bidang bioteknologi utamanya di bidang biologi molekuler menyebabkan variabilitas genetik suatu populasi dapat diamati pada tingkat protein, isoenzim, dan tingkat DNA. Analisis DNA memiliki efisiensi dan keakuratan yang tinggi sehingga dapat membantu dalam identifikasi jamur *Peronssclerospora* (Artama, 1991).

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan spesies *Peronosclerospora* penyebab penyakit bulai pada tiga daerah (Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang) di Provinsi Lampung.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jagung

Jagung merupakan salah satu tanaman pangan utama di Indonesia. Sebagai bahan pangan, jagung mengandung protein, lemak, mineral, dan vitamin (vitamin E, vitamin A, dan vitamin B1). Selain sebagai bahan pangan, jagung juga digunakan untuk pakan ternak dan bahan dasar industri, seperti industri minyak jagung dan gula jagung sehingga kebutuhan akan jagung meningkat di segala kalangan (Anonim, 2011).

2.1.1 Taksonomi Tanaman Jagung

Dalam taksonomi tumbuhan, berikut taksonomi dari tanaman jagung (Malti dkk., 2011) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monokotiledon
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Zea</i>
Spesies	: <i>Zea mays</i> L.

2.1.2 Morfologi Tanaman Jagung

Daun jagung adalah daun sempurna, daun pada tanaman jagung terbentuk dari pelepah dan daun (*leaf blade & sheath*). Daun muncul dari ruas-ruas batang dan pelepah daun muncul sejajar dengan batang. Batang tanaman jagung tegak lurus

dan kokoh. Batang tanaman jagung beruas-ruas dengan jumlah 10-40 ruas. Akar pada tanaman jagung memiliki akar serabut dengan mencapai kedalaman sekitar 8 m, meski demikian rata-rata akar pada tanaman jagung hanya berada pada kisaran 2 m. Selain serabut, akar adventif juga akan muncul ketika tanaman jagung berumur dewasa yang berfungsi membantu mengkokohkan tegaknya batang jagung. Tanaman jagung memiliki bunga jantan dan betina yang letaknya terpisah. Bunga jantan terdapat pada malai bunga di ujung tanaman, sedangkan bunga betina terdapat pada tongkol jagung. Maka dari itu penyerbukan pada tanaman jagung memerlukan bantuan angin, serangga dan bahkan bisa juga manusia. Buah jagung berwarna kuning muda saat sebelum dewasa atau putih susu dalam keadaan pembentukan, setiap batang tanaman jagung memiliki setidaknya satu tongkol jagung, walau sekarang adanya pembaharuan peningkatan mutu jagung jenis hibrida namun umumnya setiap batang hanya satu tongkol saja, dan saat buah jagung dewasa akan berubah bentuk menjadi kekuningan (Anonim, 2011).

2.2 Penyakit Bulai pada Jagung

Penyakit bulai telah dikenal di Indonesia pertama kali di Jawa pada tahun 1897, yaitu di Jawa tengah (Raciborski, 1897 dalam Hikmawati dkk., 2011), Jawa timur dan Yogyakarta (Raciborski, 1900 dalam Hikmawati dkk., 2011). Selain di Jawa dan Madura penyakit ini juga dilaporkan menyerang di Aceh, Sumatera Utara, Palembang, Ternate, Ambon, Flores dan Timor. Penyakit bulai yang ditemukan di Lampung diketahui pada musim tanam tahun 1973 (Tantera, 1975 dalam Hikmawati dkk., 2011). Dari identifikasi dan pengamatan tentang penyakit bulai

di Indonesia maka dapat diketahui lebih dalam tentang cendawan

Peronosclrospora sp. Berikut taksonominya (Syahputra, 2016) :

Kingdom : Fungi
Filum : Oomycota
Kelas : Oomycetes
Ordo : Sclerosporales
Famili : Peronosporaceae
Genus : *Peronosclerospora*
Spesies : *Peronosclerospora* sp.

2.2.1 Siklus Penyakit

Pada proses infeksi jamur patogen dimulai dari konidia yang terlepas pada konidiofor, kemudian konidia bulai jatuh dan tumbuh di permukaan daun jagung serta berkembang membentuk apresoria lalu masuk kedalam jaringan tanaman muda melalui stomata, selanjutnya terjadi luka lokal dan berkembang sampai ke titik tumbuh, menyebabkan infeksi sistemik sehingga terbentuk gejala bulai.

Proses infeksi terjadi jika konidia disebarkan dini hari sekitar pukul 02.00 - 04.00 karena sporalisasi maksimum terjadi pada saat itu. Infeksi dilakukan oleh konidia melalui stomata. Pada siang hari tidak terjadi infeksi karena pelepasan konidia terhenti, diduga konidia tersebut tidak tahan terhadap cahaya matahari (Talanca, 2013).

2.2.2 Gejala Penyakit

Gejala bulai terlihat ketika adanya warna klorotik memanjang sejajar tulang daun dengan batas yang jelas antara daun sehat. Pada daun permukaan atas serta bawah terdapat warna putih seperti tepung dan sangat jelas ketika dilihat pagi hari.

Selanjutnya pertumbuhan tanaman jagung akan terhambat, termasuk pembentukan tongkol, bahkan tongkol tidak terbentuk, daun-daun menggulung dan terpuntir serta bunga jantan berubah menjadi massa daun yang berlebihan (Semangun, 2004).

2.2.3 Persebaran Penyakit

Penyakit bulai sudah tersebar luas diseluruh dunia, meliputi Afrika, Amerika, Asia, Australia, dan Eropa dengan penyebaran spesies berbeda-beda. Alat perbanyakan atau penyebaran utamanya adalah spora vegetatif yang disebut konidia, penyebaran konidia dilakukan oleh angin. Konidia dapat bertahan bertahun-tahun sebelum tumbuh kembali (Burhanudin dan Wakman, 2007).

2.3 Identifikasi Molekuler Patogen

Kemajuan di bidang bioteknologi utamanya di bidang biologi molekuler menyebabkan variabilitas genetik suatu populasi dapat diamati pada tingkat protein dan DNA. Analisis DNA memiliki efisiensi dan keakuratan yang tinggi sehingga dapat membantu dalam identifikasi *Peronosclerospora*. Menurut Albert dkk. (2002), untuk identifikasi dan determinasi jamur yang lebih detail dapat menggunakan penciri DNA. Penanda molekuler dapat memberi gambaran hubungan kekerabatan yang akurat antarspesies, patotipe, maupun kerabat jauhnya, karena analisis DNA sebagai material genetik tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Penanda molekuler merupakan teknik yang efektif dalam

analisis genetik dan telah diaplikasikan secara luas dalam program pemuliaan tanaman.

2.3.1 Elektroforesis

Metode-metode dasar atau standar yang dipakai dalam biologi molekuler untuk memisahkan, mengidentifikasi, mengkarakterisasi dan purifikasi dari molekul DNA atau RNA yaitu menggunakan elektroforesis dengan *Agarose* atau *Acrylamid*. Cara pemisahan dengan elektroforesis ini merupakan alat pendukung yang sangat pokok dalam teknologi DNA rekombinan, dengan aplikasi yang begitu luas baik untuk fraksinasi dari untai tunggal ataupun untai ganda molekul DNA. Pada pH mendekati netral, DNA bermuatan negatif dan akan bermigrasi dari katoda ke anoda dengan mobilitas yang terutama ditentukan oleh ukuran serta konformasi fragmen DNA, elektron bufer dan *gradien voltage* yang diberikan. Gel poliakrilamida (tanpa denaturasi) dapat digunakan untuk memisahkan fragmen DNA (*double strand*) mulai dari 6 bp (20% akrilamid) sampai 1000 bp (3% akrilamid), sedangkan penggunaan *agorase gel* mempunyai kemampuan pemisahan dengan jangkauan yang lebih luas, yaitu fragmen-fragmen DNA antara 70 bp (3% *agarose*) dan 800.000 bp (0,1% *agarose*).

Elektroforesis dengan *agarose gel* termasuk teknik yang sederhana, mudah penanganannya, cepat dikerjakan, murah, dan memerlukan sampel yang relatif sedikit (1 ng DNA dapat dideteksi dalam gel). *Agarose* merupakan polimer molekul (polisakarida) yang terdiri dari sakarida dengan tandem berulang, tersusun dari β -D- galaktopyranosa dan 3,6 anhydro-L-galaktosa dengan ikatan β -glikosidik 1-3. Penggunaan *agarose gel* juga mempunyai keuntungan lain, dimana

lokasi dari DNA (DNA fragmen) dalam gel dapat diamati langsung secara *in situ* dengan menggunakan *ethidium bromide* sebagai pewarna baik dengan mencampur langsung dalam gel, gel bufer ataupun kemudian setelah elektroforesis berakhir. Pemakaian *ethidium bromide*, dengan melarutkan langsung dalam bufer dapat mempengaruhi mobilitas DNA dalam gel. Warna ini berinteraksi dengan basa dari molekul DNA dan memberikan warna *orange fluorescence* dibawah lampu ultra violet (UV). Disamping faktor-faktor yang telah disebutkan, kecepatan migrasi dari DNA dalam *agarose gel* ditentukan pula oleh konsentrasi agar, komposisi basa DNA dan temperatur (Artama, 1991).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Maret – Agustus 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikropipet 0 – 1000 μ l, tip 0 – 1000 μ l, *pcr tube* 100 μ l, *micro tube* 1,5 ml, mikrosentrifus, mesin PCR, alat elektroforesis, gunting, ember, plastik, kuas, *sprayer*, gelas ukur, *vortex*, timbangan elektrik, mortar, gelas ukur dan inkubator.

Bahan yang digunakan antara lain konidia jamur *Peronosclerospora*, alkohol, bufer ekstraksi DNA 1, bufer ekstraksi DNA 2, *ethidium bromide* (ETBr), *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB), isopropanol, *chloroform*, *isoamyl alcohol*, *phenol*, primer (Tabel 4), *loading dye*, marker DNA, bufer TE, gula, aquades dan *agarose*.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Persiapan Konidia

Konidia jamur *Peronosclerospora* sebagai bahan ekstraksi DNA diambil dari daun tanaman jagung yang bergejala bulai dari tiga daerah produksi jagung di Provinsi Lampung yaitu Kabupaten Lampung Selatan (Tanjung Bintang), Pesawaran (Negeri Sakti) dan Lampung Timur (Metro Kibang).

3.3.1.1 Pengumpulan Konidia Langsung

Pengumpulan konidia langsung ini dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan menggunakan alat bantu kuas dan tidak menggunakan kuas. Daun jagung yang bergejala dialiri air steril mulai dari pangkal daun dan di tampung dalam wadah plastik ukuran 16 x 16 x 6,5 cm. Untuk pengumpulan konidia menggunakan alat bantu kuas, bagian yang dialiri air disapu menggunakan kuas untuk menurunkan konidia ke dalam wadah penampung. Sedangkan pengumpulan konidia tanpa alat bantu kuas, menggunakan ibu jari dan telunjuk untuk menjepit daun dan mengusap bawah permukaan daun agar membantu menurunkan konidia ke dalam wadah.

Kemudian konidia yang tertampung di dalam wadah dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml atau wadah lainnya dan disimpan di laboratorium untuk tahap ekstraksi. Pengumpulan konidia secara langsung ini dilakukan pada pukul 05.00 pagi.

3.3.1.2 Induksi Kemunculan Konidia

Lima helai sampel daun yang bergejala diambil dari satu lahan pertanaman jagung yang terserang bulai. Daun tanaman jagung yang diambil merupakan daun ketiga dari atas yang menunjukkan gejala penyakit bulai yang disertai adanya kumpulan konidia berwarna putih seperti tepung di bawah permukaan daun. Selanjutnya daun tanaman jagung yang bergejala dipotong, lalu dimasukkan ke dalam wadah berisi air dengan pangkal daun terendam sedalam 1-2 cm dan dibawa ke laboratorium untuk diinduksi kemunculan konidia.

Metode induksi dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Rustiani dkk. (2015) dengan beberapa modifikasi. Setelah sampai di laboratorium, daun dibersihkan dari kotoran yang ada dengan daun dialiri air dan dijepit dengan dua jari tangan kemudian diusap dengan perlahan agar daun bersih. Daun yang telah dibersihkan kemudian dikeringkan menggunakan kertas tisu dan dimasukkan ke dalam gelas beker yang telah berisi larutan gula 2% dengan posisi pangkal daun terendam 1-2 cm. Gelas beker yang berisi daun tersebut kemudian disungkup dengan plastik agar kelembapannya terjaga dan diinkubasi selama 6 jam.

Setelah 6 jam, daun dikeluarkan dan bagian pangkal daun dikeringkan menggunakan tisu. Daun kemudian ditata di atas alas plastik di ruang terbuka berumput dengan posisi permukaan daun bagian atas berada di bawah dan permukaan daun bagian bawah berada di atas, lalu dibiarkan selama 6 jam. Konidia dipanen dengan menyemprotkan air steril di bawah permukaan daun yang terdapat konidia dan diusap menggunakan kuas agar konidia turun kedalam

wadah. Suspensi konidia yang telah tertampung dalam wadah penampung konidia disimpan di laboratorium untuk dilakukan ekstraksi DNA.

3.3.2 Ekstraksi DNA

Metode ekstraksi dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Sireesha dan Velazhahan (2015) dengan beberapa modifikasi. Pada tahap ini dilakukan 2 metode ekstraksi dengan bufer ekstraksi yang berbeda dan beberapa tahapan yang berbeda.

3.3.2.1 Ekstraksi DNA dengan Bufer Ekstraksi 1

Suspensi konidia yang telah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml lalu disentrifus dengan kecepatan 12.000 g atau 14.000 rpm selama 10 menit. Kemudian supernatan yang ada dibuang dan pelet yang didapat ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 µl. Pelet tersebut disentrifus kembali dengan kecepatan 12.000 g selama 5 menit, setelah itu supernatan dibuang dan pelet ditambahkan 500 µl larutan bufer ekstraksi DNA 1 (Tabel 1). Pelet yang telah ditambah bufer dihomogenkan dengan rotamixer hingga pelet tersuspensi merata dalam larutan lalu diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam.

Tabel 1. Komposisi bufer ekstraksi DNA 1

Nama Senyawa	Konsentrasi
Tris-HCL (<i>tris(hydroxymethyl) aminomethane</i> -HCL)(pH 8.0)	50 mM
SDS	1 %
NaCl (<i>Natrium chloride</i>)	0,7 M

Setelah itu *phenol*, *chloroform*, *isoamyl alcohol* dengan perbandingan (25 : 24: 1) ditambahkan dengan volume yang sama dari larutan sebelumnya, disentrifus

kembali pada kecepatan 12.000 g selama 10 menit. Setelah disentrifus terbagi menjadi 2 larutan, larutan atas yang bening diambil sebanyak 500 µl lalu dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml yang baru lalu *chloroform*, *isoamyl alcohol* dengan perbandingan (24:1) ditambahkan dengan volume yang sama dari larutan hasil sebelumnya, disentrifus dengan kecepatan 12.000 g selama 10 menit, lalu diambil larutan bagian atasnya sebanyak 500 µl dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 ml baru, ditambahkan isopropanol dingin dengan volume yang sama, dicampur atau dikocok agar tercampur. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu -20°C selama 10 menit, disentrifus dengan kecepatan 12.000 g selama 10 menit untuk mendapatkan pelet dan supernatannya dibuang.

Pelet ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 µl, disentrifus dengan kecepatan 12.000 g selama 5 menit. Kemudian supernatan dibuang dan pelet yang didapatkan dikering anginkan selama 1 – 2 hari. Selanjutnya pelet ditambahkan 50 µl larutan bufer TE (Tabel 2). DNA genom dijalankan dengan elektroforesis gel *agarose* (untuk mengecek ada atau tidaknya genom), *agarose* yang digunakan sebesar 0,5% yang sudah ditambah 1 µl *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/ml). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 V selama 80 menit. Marker DNA yang digunakan adalah marker 1 kb *Ladder* sebanyak 3 µl, DNA setiap sumur diberikan sebanyak 3 µl dengan dicampur *loading dye* sebanyak 1 µl sebagai pemberat. Kemudian divisualisasikan hasilnya dengan *Digi-Doc-Imaging System* (Major Science).

Tabel 2. Komposisi buffer TE

Nama Senyawa	Konsentrasi
Tris-HCL (<i>tris(hydroxymethyl) aminomethane</i> -HCL)(pH 8.0)	10 mM
EDTA (<i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>)(pH 8.0)	1 mM

3.3.2.2 Ekstraksi DNA dengan Buffer Ekstraksi 2

Konidia yang telah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml disentrifus dengan kecepatan 12.000 g atau 14.000 rpm selama 10 menit. Kemudian supernatan yang ada dibuang dan pelet yang didapat ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 μ l, disentrifus kembali dengan kecepatan 12.000 g selama 5 menit. Setelah itu supernatan dibuang dan pelet ditambahkan 600 μ l larutan bufer ekstraksi DNA 2 (Tabel 3).

Tabel 3. Komposisi bufer ekstraksi DNA 2

Nama Senyawa	Konsentrasi
Tris-HCL (<i>tris(hydroxymethyl) aminomethane</i> -HCL)(pH 8.0)	50 mM
EDTA (<i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>)(pH 8.0)	100 mM
NaCl (<i>Natrium chloride</i>)	1,4 M
Mercaptoethanol	1 %
SDS	1 %

Pelet yang telah tercampur dengan bufer ekstraksi 2 ditumbuk menggunakan mortar yang steril sampai benar-benar halus, kemudian dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml dan ditambahkan CTAB sebanyak 400 μ l. Pelet yang telah ditambah bufer dan CTAB diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Tahapan selanjutnya sama seperti metode ekstraksi menggunakan buffer ekstraksi 1. Namun pada inkubasi yang dilakukan setelah penambahan isopropanol pada metode ini menggunakan waktu inkubasi selama 1 hari.

3.3.3 Amplifikasi DNA dengan PCR

PCR dilakukan menggunakan Master Mix PCR kit dengan komposisi sesuai dengan rekomendasi pihak perusahaan. Amplifikasi dilakukan menggunakan mesin CFX Connect Real-Time PCR (Bio-RAD).

Sebanyak 5 pasang primer digunakan dalam penelitian ini. Lima pasang primer tersebut terdiri dari 1 pasang primer spesifik untuk *P. maydis*, 2 pasang primer spesifik untuk *P. sorghi*, 1 pasang primer spesifik untuk *P. philipinensis* (Rustiani dkk., 2015) dan 1 pasang primer untuk amplifikasi *Peronosclerospora* spp. (Suharjo, 2016) yang dibuat berdasarkan sekuen gen *Cytochrome Oxidase subunit II (COX2)*. Secara rinci, primer yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat di Tabel 4.

PCR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut : inisiasi dilakukan pada suhu 94°C dengan waktu selama 5 menit, dilanjutkan dengan 30 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer atau annealing selama 1 menit pada suhu 57°C (PmUF/PmUR), 60°C (PsUF/PsUR), 64°C (PsrUF/PsrUR), 58°C (PpUF/PpUR), dan 51°C (PCOX2F/PCOX2R), ekstensi dengan suhu 72°C selama 1 menit. Dilanjutkan dengan satu siklus elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit dan diakhiri dengan satu siklus pada suhu 4°C selama 1 menit.

Tabel 4. Primer yang digunakan

No	Nama Primer	Urutan Basa	Panjang Amplikon	Organisme Target
1	PmUF	TCGTTATAGAAAGCTAT(T/C)CATTAG		
	PmUR	GCCATCGAGTAATCCATTGTT	304	<i>P. maydis</i>
2	PsUF	CCAGCAACTCCAGTTATGGAA		
	PsUR	CATGTACAATGGT(A/G)CTTGGAA	154	<i>P. sorghi</i>
3	PsrUF	AGCAACTCCAGTTATGGAAGG		
	PsrUR	CCTAATGAAAGGTATGGCCCATG	500	<i>P. sorghi</i>
4	PpUF	TTTCCGTGTATTCGGTGGAG		
	PpUR	ATGCTTTTCGAGGGGAAGAGA	117	<i>P. philippinensis</i>
5	PCOX2F	TCCAGCAACTCCAGTTATGG		
	PCOX2R	ACCTGGACAAGCATCTAATT	529	<i>Peronosclerospora spp.</i>

3.3.3.1 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Elektroforesis dilakukan menggunakan gel *agarose* 0,5% yang sudah ditambah 1 μ l *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/ml). Elektroforesis dihidupkan pada tegangan 50 volt selama 65 menit. Marker DNA yang digunakan adalah marker 1 kb *Ladder* sebanyak 3 μ l, DNA setiap sumur diberikan sebanyak 3 μ l dan *loading dye* sebanyak 1 μ l sebagai pemberat. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan *Digi-Doc-Imaging System*, yang hasilnya disimpan dalam komputer.

3.3.4 Sekuensing dan Analisis Hasilnya

Hasil PCR untuk gen *COX2* kemudian dikirim ke PT. Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Analisis hasil sekuensing dilakukan menggunakan program MEGA4 (Tamura dkk., 2007).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Identifikasi molekuler yang telah dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan spesies *Peronosclerospora* penyebab penyakit bulai di daerah Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang.
2. Penyebab penyakit bulai di Tanjung Bintang, Negeri Sakti, dan Metro Kibang adalah *Peronosclerospora australiensis*.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut di daerah-daerah berbeda dengan identifikasi molekuler agar dapat mengetahui tentang keberadaan dan persebaran *P. australiensis* di Provinsi Lampung dan Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, dan P. Walter. 2002. *Molecular Biology of the Cell, 4th edition*. Garland Science. New York.
- Anonim. 2011. Jagung. <http://id.wikipedia.org/wiki/Jagung>. Diakses Pada 13 Desember 2015.
- Artama, W.T. 1991. *Rekayasa Genetika*. PAU - Bioteknologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Badan Pusat Statistik (BPS) Provinsi Lampung. 2012. *Tanaman Pangan*. BPS. Bandar Lampung.
- Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultur (BPTPH). 2012. *Laporan UPTD Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura*. BPTPH. Provinsi Lampung.
- Bock, C.H., J.J. Jeger, L.K. Mughogho, K.F. Cardwell, E. Mtisi, G. Kaula, dan D. Mukansabimana. 2000. Variability of *Peronosclerospora sorghi* isolates from different geographic locations and hosts in Africa. *Mycological Research* 104: 61- 68.
- Burhanuddin dan W. Wakman. 2007. *Pengelolaan Penyakit Prapanen Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros.
- Hikmawati, T. Kuswinanti, Melina, dan M.B. Pabendon. 2011. Keragaman genetik dan karakterisasi molekuler isolat-isolat penyebab bulai (*Peronosclerospora spp.*) pada tanaman jagung berbasis Simple Sequence Repeat (SSR). *Jurnal Fitomedika* 7(3): 159-161.
- Malti, R.K., S.K. Ghosh, S. Koushik, A. Ramasamy, D. Rajkumar, dan P. Vidyasagar. 2011. Comparative anatomy of maize and its application. *International Journal of Bio-resorces and Stress Management* 2(3): 250-256.
- Muis, A., M.B. Pabendon, N. Nonci, dan W. Wakman. 2013. Keragaman genetik *Peronosclerospora maydis* penyebab bulai pada jagung berdasarkan analisis marka SSR. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 32(3): 139-147.

- Rinanda, T. 2011. Analisis sekuensing 16SrRNA di bidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 11(3): 172-177.
- Rustiani, U.S., M.S. Sinaga, S.H. Hidayat, dan S. Wiyono. 2015. Tiga spesies *Peronosclerospora* penyebab penyakit bulai jagung di Indonesia. *Berita Biologi* 14(1): 29-37.
- Sarasutha. 2002. Kinerja usaha tani dan pemasaran jagung di sentra produksi. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 21(2): 39-47.
- Semangun. 2004. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shivas, R.G., M.J. Ryley, S. Telle, J.R. Liberato, dan M. Thines. 2012. *Peronosclerospora australiensis* sp. nov. and *Peronosclerospora sargae* sp. nov., two newly recognised downy mildews in northern Australia, and their biosecurity implications. *Australasian Plant Pathol.* 41: 125-130.
- Sireesha, Y., dan R. Velazhahan. 2015. Assessing genetic diversity in *Peronosclerospora sorghi* causing downy mildew on maize and sorghum. *Indian Phytopath.* 68(1): 73-77.
- Smith, J., E. Chin, H. Shu, O. Smith, S. Wall, M. Senior, S. Mitchell, S. Kresovich, dan J. Ziegler. 1997. An Evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea Mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 95: 163-173.
- Syahputra, Ade. 2016. Evaluasi Metode Isolasi Asam Nukleat Dalam Deteksi Pcr Untuk Patogen Antraknosa, Bulai, Huanglongbing Dan Mosaik. *Tesis*. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Talanca, A. H. 2013. Status penyakit bulai pada tanaman jagung dan pengendaliannya. *Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian*. 76-87hlm.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, dan S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis. Software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 24: 1596-1599.
- Telle, S., R.G. Shivas, M.J. Ryley, dan M. Thines. 2011. Molecular phylogenetic analysis of *Peronosclerospora* (Oomycetes) reveals cryptic species and genetically distinct species parasitic to maize. *Eur. J. Plant Pathol.* 130: 521-528.
- Thines, M., S. Telle, Y.J. Choi, Y.P. Tan, dan R.G. Shivas. 2015. Baobabopsis, a new genus of graminicolous downy mildews from tropical Australia, with an updated key to the genera of downy mildew. *IMA Fungus* 6(2): 483-491.

- Wakman, W., dan M. Kontong. 2003. Pengendalian penyakit bulai pada tanaman jagung dengan varietas tahan dan aplikasi fungisida metalaksil. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 19(2): 38-42.
- Weisburg, W. G., S.M. Barns, D.A. Pelletier, dan D.J. Lane. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol* 173: 697-703.
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.