

**ANALISIS *Single Nucleotide Polymorphysm* (SNP) GEN *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA DELAPAN VARIETAS JAGUNG (*Zea mays*, L.)  
PADA FASE PERKECAMBAHAN**

(Skripsi)

Oleh

**MIKHA SELINA PUTRI**

**NPM 1714161034**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

**ANALISIS *Single Nucleotide Polymorphysm* (SNP) GEN *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA DELAPAN VARIETAS JAGUNG (*Zea mays*, L.)  
PADA FASE PERKECAMBAHAN**

**Oleh**

**MIKHA SELINA PUTRI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN

Pada

Jurusan Agronomi dan Hortikultura  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**JURUSAN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### **ANALISIS *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) GEN *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA DELAPAN VARIETAS JAGUNG (*Zea mays*, L.) PADA FASE PERKECAMBAHAN**

Oleh

**MIKHA SELINA PUTRI**

Peningkatan produksi jagung dapat didukung dengan penerapan inovasi Pengelolaan Tanaman Terpadu (PTT), salah satunya yaitu pengendalian hama dan penyakit tanaman. Ketahanan tanaman terhadap suatu cekaman termasuk serangan hama melibatkan gen *Resistance Gene Analogue* (RGA). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan viabilitas dan vigor perkecambahan benih delapan varietas jagung dan mengetahui *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA delapan varietas jagung. Delapan varietas jagung diuji (NK 7328, Pertiwi 5, Bisi 321, Bisi 18, P36, NK Super, Eksotik, dan Lokal) menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 3 ulangan. Data dianalisis dengan *software online GerminaQuant*, dianalisis ragam, dan dilakukan uji lanjut Duncan Test menggunakan aplikasi R-Studio. Sampel diekstraksi dengan metode kit Qiagen, kemudian sekuen DNA jagung diamplifikasi menggunakan primer PMW 1 (RGA 1) dan PMW 2 (RGA 2). Hasil amplifikasi divisualisasi dengan alat elektroforesis digital Qiaxcel Advanced dari Qiagen. Sekuensing menggunakan *Sanger Sequencing Method*. Analisis sekuensing menggunakan aplikasi Mega XI. Pengujian viabilitas dan vigor daya kecambah benih jagung mengikuti standard *International Seed Testing Association* (ISTA) sampai 7 HST dengan metode UKDdP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas dan vigor perkecambahan delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) menunjukkan hasil yang berbeda, varietas P-36 dan Bisi 321 lebih unggul dibandingkan varietas uji lainnya. Hasil analisis penyejajaran sekuen nukleotida adanya perbedaan SNP gen RGA DNA. Terdapat 3 titik SNP untuk hasil sekuensing menggunakan primer PMW 1 dan 6 titik SNP untuk hasil sekuensing menggunakan primer SNP PMW 2.

**Keywords:** Jagung, Perkecambahan, DNA, *Resistance Gene Analogue* (RGA), *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Judul Skripsi : **ANALISIS *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) GEN *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA DELAPAN VARIETAS JAGUNG (*Zea mays*, L.) PADA FASE PERKECAMBAHAN**

Nama Mahasiswa : **Mikha Selina Putri**

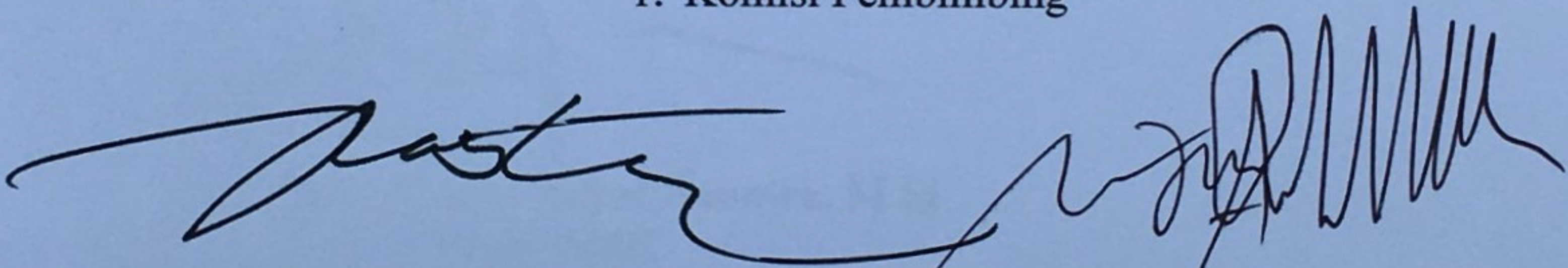
No. Pokok Mahasiswa : 1714161034

Program Studi : Agronomi

Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

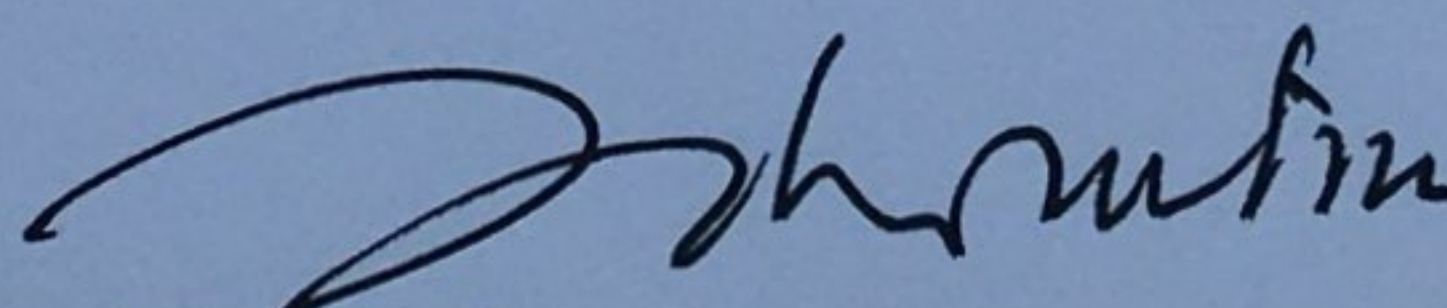
1. Komisi Pembimbing



**Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu M.S**  
NIP 19620928198703 1 001

**Wawan A. Setiawan, S.Si, M.Si.**  
NIP 19791230 200812 1 001

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



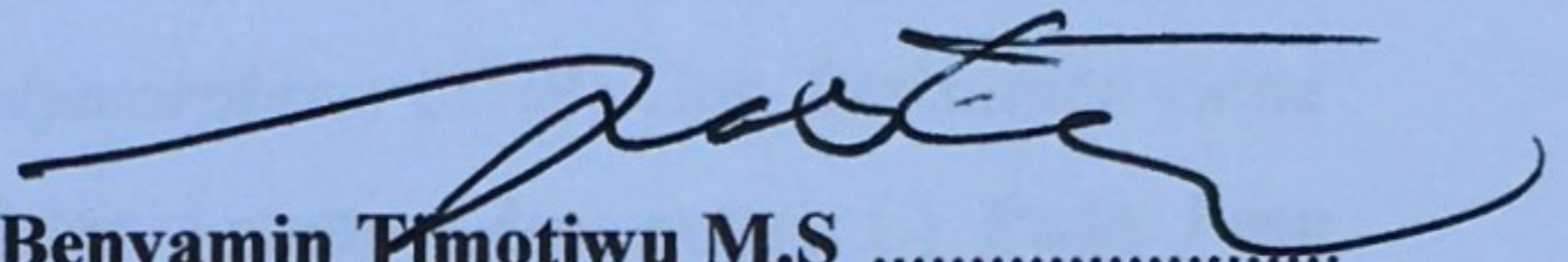
**Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M. Sc.**  
NIP 196110211985031002

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

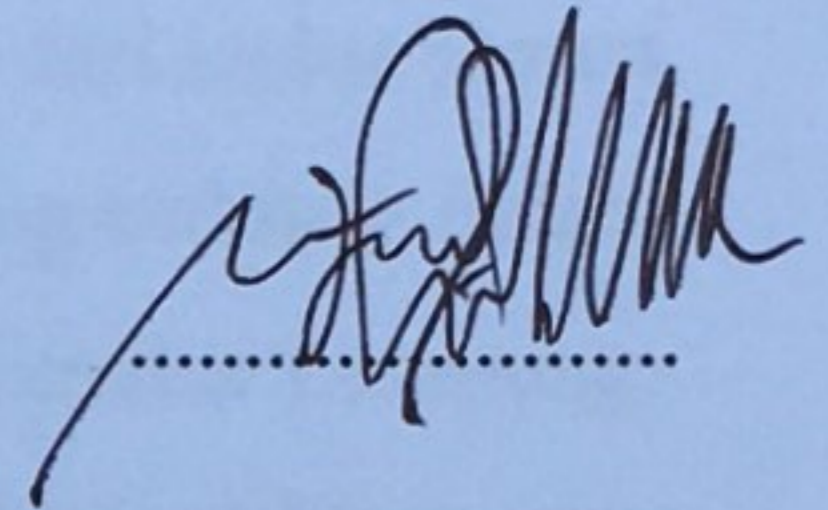
Ketua

: **Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu M.S** .....



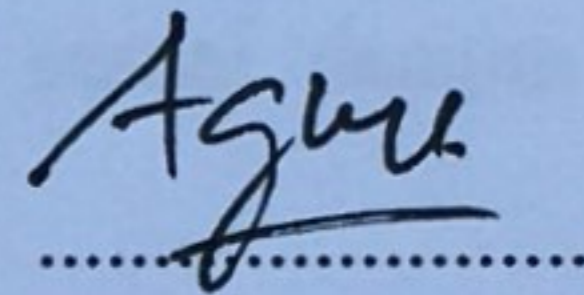
Sekretaris

: **Wawan A. Setiawan, S.Si, M.Si.** .....



Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. Agustiansyah, S.P, M.Si** .....



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **21 Maret 2023**

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) Gen *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA Delapan Varietas Jagung (*Zea mays*, L) Pada Fase Perkecambahan” merupakan hasil saya sendiri dengan supervisi dari kedua Dosen Pembimbing dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Bila 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, April 2023  
Penulis



Mikha Selina Putri  
NPM 1714161034

## RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Mikha Selina Putri dilahirkan di Gunung Pasir Jaya pada tanggal 05 Maret 1999. Penulis merupakan anak kedua dari empat bersaudara pasangan Bapak Supriyanto dan Ibu Hana Tuminingrum. Penulis menyelesaikan pendidikan di SD Kristen 12 Gunung Pasir Jaya pada tahun 2010, kemudian melanjutkan ke SMP Negeri 1 Pasir Sakti lulus pada tahun 2013, selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Pasir Sakti lulus pada tahun 2016. Tahun 2016 penulis lolos jalur seleksi PMDKPN di D3 Produksi Tanaman Pangan, Jurusan Budidaya Tanaman Pangan, Politeknik Negeri Lampung dan menyelesaikan studi selama 2,75 tahun dengan predikat *Cumlaude*. Menyelesaikan sekolah informal di *Holistic Learning Center* Lampung Tahun 2020. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Program Alih Jenjang pada Tahun 2020 di semester genap.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi II, Biologi Molekuler dan Bioteknologi Pertanian. Penulis pernah mengikuti Magang Penelitian di Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi, Jawa Barat, kemudian penulis juga pernah mengikuti KKN Nasional anak program Kemenkomarves RI di Pulau Pisang, Lampung Barat dan Pulau Sebira, Kepulauan Seribu untuk Penyuluhan Hidroponik dan Pemanfaatan Limbah Organik Rumah Tangga, kemudian penulis juga mengikuti KKN Universitas Lampung di Desa Purworejo, Pasir Sakti, Lampung Timur. Penulis juga mengikuti aktivitas organisasi, pernah terpilih mengikuti Pendidikan Kader Pemimpin Muda Nasional perwakilan Provinsi Lampung yang di selenggarakan oleh Kemenpora RI Tahun 2020. Saat ini aktif di Pengurus Pusat Forum

Pemimpin Muda Nasional menjadi Bendahara Umum. Aktif di Gerakan Mahasiswa Kristen Indonesia Cabang Bandar Lampung dengan menjadi Sekretaris Fungsi Pemberdayaan Perempuan Tahun 2020, Tim Caretaker Cabang Tahun 2022, dan Ketua Badan Pemeriksa Keuangan GMKI Bandar Lampung Tahun 2022-2024, kemudian juga pernah aktif menjadi *announcer* di *Broadcaster Academy* RRI Bandar Lampung.

Pada tahun 2022 penulis mendapat kesempatan untuk menjadi *Presenter Oral* yang memaparkan hasil penelitian tentang “Analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) Gen *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA Delapan Varietas Jagung (*Zea mays*, L) Pada Fase Perkecambahan” di Seminar Nasional Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia ke XXV dalam rangka Dies Natalis Universitas Lampung ke 57. Selain itu, penulis pernah membuat paper ilmiah lainnya yang sedang *on-going* menjadi jurnal nasional seperti Prosedur Uji Ketahanan Galur Padi terhadap Wereng Coklat (*Nilaparvata Lugens Stal*) Biotipe 3 di Balai Besar Penelitian Tanaman Padi Sukamandi, Subang, Jawa Barat dan Analisis Usaha Tani Pengaruh Penggunaan Pupuk Hayati Mikoriza terhadap Hasil Tanaman Jagung Manis Varietas Bonanza (*Zea Mays Saccharata L.Sturt*). Penulis juga belajar menulis opini di beberapa media online seperti website RRI Bandar Lampung, Aliansi Jurnalistik Bandar Lampung, Kompasiana, Piramida, Nagea News, Labora News, Pikiran Rakyat dan Coretan Pena Papua. Buku pertama yang dimiliki adalah hasil menulis bersama peserta KKN Nasional dengan judul “Cerita dari Pulau Terluar Indonesia (2021)”, kemudian belajar menjadi *solois book* dengan judul “Tapak Tilas Perjuangan” yang diterbitkan oleh Jendela Sastra Indonesia (2022).



Kupersembahkan karya tulis ini sebagai tugas akhir teruntuk keluargaku dan almamater tercinta selama menjalani studi di Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Ucapan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan Kasih Karunia dan Anugerah-Nya. Dan kuucapkan terimakasih teruntuk keluargaku tersayang dan orang-orang yang membantu dan mendukung penulis selama ini

Untuk memperoleh ilmu sejati, pertama-tama orang harus mempunyai rasa hormat dan takut kepada TUHAN. Orang bodoh tidak menghargai hikmat dan tidak mau diajar

**(Amsal 1:7 versi BIS 1985)**

Dan siapapun yang memaksa engkau berjalan sejauh satu mil, berjalanlah bersama dia sejauh dua mil

**(Matius 5:41 versi TB 1974)**

Mungkin arah-arah gerak ini tak pasti, ketika kita memutuskan untuk melangkah bisa saja ada hasil atau bisa saja tak ada hasil. Tetapi, jikalau kita tidak melangkah sudah pasti tidak ada hasil. Jadi, selama masih ada kesempatan di usia muda, mencoba banyak hal, salah dan gagal berulang kali. Karena dengan kesalahan itu, kamu tidak berhenti belajar. Bumi akan berakhir ketika kita berhenti belajar.

**(Mikha Selina Putri)**

## SANWACANA

Puji syukur dan terimakasih kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan rahmat dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini dengan baik. Penulis menyadari bahwa bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak baik berupa bimbingan, dukungan, petunjuk, dan saran yang diberikan sangat penting dan sangat penulis hargai. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mendukung, membantu dan memfasilitasi penyusunan tugas akhir yang berjudul “Analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) Gen *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA Delapan Varietas Jagung (*Zea mays*, L) Pada Fase Perkecambahan” sehingga berjalan dengan lancar. Diantaranya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. sebagai Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir . Setyo Dwi Utomo, M.Sc. sebagai Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura.
3. Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S. selaku Dosen Pembimbing Pertama yang senantiasa memberi motivasi, mencurahkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan gagasan penelitian, bimbingan, arahan, dan kritikan kepada penulis sejak perencanaan penelitian sampai terwujudnya laporan akhir ini.
4. Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk membimbing dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini dan menjadi ayah di kampus yang memberi nasehat dalam pekerjaan, penelitian juga kehidupan nyata.
5. Dr. Agustiansyah, S.P., M.Si. selaku Dosen Pembahas yang memberikan bimbingan, dukungan, masukan dan saran bagi penulis.

6. Dr. Hidayat Pujiswanto, S.P., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selama ini telah membimbing, memberi nasehat, dan motivasi penulis sampai studi ini dapat terselesaikan.
7. Bapak dan ibu dosen Jurusan Agronomi dan Hortikultura yang telah membekali ilmu yang sangat bermanfaat dalam memperluas wawasan pemikiran dalam menunjang penulisan skripsi ini.
8. Teristimewa untuk Bapak, Ibu, Bunda, Kakak, Adik-adik, Kakek, Nenek, Pakde, Paman dan Tante yang selalu memberikan kasih sayang, doa, motivasi, kesabaran, dan pengorbanan yang selalu diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan studi saat ini.
9. Fery Lee, Bu Won, Alex, Megi, Sinta, dan teman-teman RBF yang selalu mendukung, memberi nasehat, doa, motivasi dan saran kepada penulis untuk menyelesaikan studi alih jenjang dan penyusunan skripsi ini.
10. Dr. Dulbari, S.P., M.P, Destieka Ahyuni, S.P., M.Si, Dr. Rahmini, S.Si., M.Si dan H. Subagio, S.P. yang memberikan semangat, dukungan, bimbingan, nasehat dan motivasi untuk melanjutkan studi alih jenjang hingga akhirnya menyelesaikan skripsi ini.
11. Artinus Hulu yang menemani penulis menjadi *partner* terbaik di saat *down*, minder, sedih dan senang, memberi perhatian, dukungan, semangat, nasehat, dan motivasi.
12. Teman penelitian Ketut, Adinda, Dian dan teman-teman UPT LTSIT Riski, Desi, Dona, Anug, Syakilla, dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih atas waktu, dukungan, dan masukan sampai penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari atas segala kekuarangan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi yang membutuhkan, Amin.

Bandar Lampung, April 2023

Penulis

Mikha Selina Putri

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xviii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Kerangka Pemikiran .....	3
1.5 Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Botani Tanaman Jagung ( <i>Zea mays</i> , L.).....	6
2.2 Perkecambahan Benih .....	7
2.3 Viabilitas dan Vigor Benih.....	9
2.4 Gen Ketahanan Tanaman <i>Resistant Gen Analogue</i> (RGA).....	11
2.5 <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP).....	11
2.6 Signifikansi <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP) pada Tumbuhan	13
2.7 Analisis DNA .....	13
2.7.1 <i>Ekstraksi DNA</i> .....	13
2.7.2 <i>Analisis kemurnian dan kuantifikasi hasil ekstraksi DNA</i> .....	14
2.7.3 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	14
2.7.4 <i>Elektroforesis</i> .....	16
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	18
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18

3.2	Alat dan Bahan .....	18
3.3	Metode Penelitian .....	19
3.4	Pelaksanaan Penelitian .....	20
3.4.1	<i>Perkecambahan tanaman jagung</i> .....	20
3.4.2	<i>Ekstraksi DNA</i> .....	21
3.4.3	<i>Analisis kemurnian dan kuantifikasi hasil ekstraksi DNA</i> .....	23
3.4.4	<i>Amplifikasi DNA dengan PCR</i> .....	23
3.4.5	<i>Elektroforesis hasil PCR</i> .....	25
3.4.6	<i>Sekuensing hasil PCR</i> .....	25
3.5	Variabel Pengamatan .....	25
3.6	Analisis Data .....	27
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>28</b>
4.1	Hasil .....	28
4.1.1	<i>Pengaruh vigor dan viabilitas terhadap perkecambahan delapan varietas jagung</i> .....	28
4.1.1.1.1	<i>Munculnya radikula</i> .....	28
4.1.1.1.2	<i>Daya berkecambah (DB)</i> .....	30
4.1.1.1.3	<i>Indeks vigor (IV)</i> .....	31
4.1.2	<i>Analisis keragaman SNP Gen RGA DNA delapan varietas jagung</i> .....	31
4.1.2.1.1	<i>Hasil ekstraksi DNA jagung</i> .....	31
4.1.2.1.2	<i>Amplifikasi DNA menggunakan PCR dan elektroforesis hasil PCR</i> .....	32
4.1.2.1.3	<i>Analisis hasil sekuensing SNP delapan varietas jagung</i> .....	34
4.1.3	<i>Hubungan munculnya radikula, daya berkecambah dan indeks vigor terhadap Single Nucleotide Polymorphism</i> .....	39
4.2	Pembahasan .....	43
4.2.1	<i>Pengaruh vigor dan viabilitas terhadap perkecambahan delapan varietas jagung</i> .....	43
4.2.2	<i>Analisis keragaman SNP Gen RGA DNA delapan varietas jagung</i> .....	45
4.2.3	<i>Hubungan munculnya radikula, daya berkecambah dan indeks vigor terhadap Single Nucleotide Polymorphism</i> .....	49
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>53</b>
5.1	Kesimpulan .....	53
5.2	Saran .....	54

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	55
<b>LAMPIRAN</b> .....	64

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Kerangka pemikiran .....	5
2. Perkecambahan dan pemunculan benih jagung .....	8
3. Proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	15
4. Tata letak percobaan perkecambahan delapan varietas jagung .....	19
5. Prosedur ekstraksi DNA delapan varietas jagung .....	22
6. Kurva perbandingan laju munculnya radikula delapan varietas jagung .....	29
7. Hasil elektroforesis enam varietas jagung non optimasi menggunakan primer PMW1 .....	33
8. Hasil elektroforesis enam varietas jagung non optimasi menggunakan primer PMW2 .....	34
9. Perbandingan gelombang sekuen gen dengan menggunakan primer PMW1 (a) dan PMW2 (b) .....	36
10. Hasil penyejajaran primer PMW1 <i>full-length</i> ( <i>forward dan reverse</i> ) sekuen gen RGA dari DNA delapan varietas jagung menunjukkan adanya polimorfisme basa nukleotida tunggal (SNP) pada tiga titik lokasi yaitu urutan sekuen ke 786, 981 dan 1005 .....	37
11. Hasil penyejajaran primer PMW2 <i>full-length</i> ( <i>forward dan reverse</i> ) sekuen gen RGA dari DNA delapan varietas jagung menunjukkan adanya polimorfisme basa nukleotida tunggal (SNP) pada tiga titik lokasi yaitu urutan sekuen ke 786, 981 dan 1005 .....	38
12. Hubungan munculnya radikula dengan polimorfisme PMW 1 .....	39
13. Hubungan daya berkecambah dengan polimorfisme PMW 1 .....	40
14. Hubungan indeks vigor dengan polimorfisme PMW 1 .....	40



15. Hubungan munculnya radikula dengan polymorfisme PMW 2 .....	41
16. Hubungan daya berkecambah dengan polymorfisme PMW 2 .....	42
17. Hubungan indeks vigor dengan polymorfisme PMW 2 .....	42

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Primer yang digunakan dalam proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	23
2. Rerata laju munculnya radikula delapan varietas jagung .....	29
3. Uji duncan munculnya radikula delapan varietas jagung .....	29
4. Uji duncan daya berkecambah delapan varietas jagung .....	30
5. Uji duncan indeks vigor terhadap delapan varietas jagung .....	31
6. Hasil kuantifikasi dan kemurnian DNA delapan varietas jagung .....	32
7. Perbandingan perlakuan perkecambahan dan molekuler menggunakan primer PMW 1 dan PMW 2 .....	39

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Peningkatan produksi jagung dipengaruhi oleh intensifikasi pertanian, salah satunya dengan penerapan teknologi inovasi Pengelolaan Tanaman Terpadu (PTT). Komponen penerapan teknologi tersebut dilakukan dengan penggunaan benih varietas unggul bermutu dan berlabel, pengoptimalan populasi tanaman dan melaksanakan pemupukan berdasarkan status hara yang sesuai kebutuhan tanaman. Komponen teknologi inovasi dimulai dari proses penyiapan lahan dengan teknologi tanpa olah tanah (TOT), pembuatan saluran drainase, penggunaan bahan organik, pembumbunan tanaman, penyiangan, pengendalian hama dan penyakit tepat sasaran, penanganan panen hingga pascapanen (Argo dkk., 2009). Komponen tersebut sangatlah penting, apabila terjadi masalah pada satu bagian proses dapat berakibat pada penurunan produksi jagung. Misalnya pada komponen penggunaan benih bermutu. Benih bermutu meliputi mutu genetis, fisik, fisiologis, dan patologis. Benih yang bermutu rendah berpotensi tidak seragam dan menjadi sumber inokulum bagi penyakit *seedborne* tertentu. Apabila benih mudah terserang inokulum, maka dikhawatirkan tanaman tidak mampu tumbuh dengan baik pada saat awal pertumbuhan dilapangan, sehingga tanaman akan rentan terhadap cekaman lingkungan dan serangan organisme pengganggu lainnya seperti *Spodoptera frugiperda*.

Berdasarkan catatan global, serangan *Spodoptera frugiperda* dapat menyebabkan kerusakan serius pada beberapa tanaman budidaya yang penting secara ekonomi, salah satunya tanaman jagung (CABI, 2018). Serangan *Spodoptera frugiperda* pada tanaman jagung di Indonesia diketahui terjadi mulai tahun 2019, salah satu daerah yang terserang adalah Provinsi Lampung (CABI, 2018; Sudarsono dkk.,

2019; Lestari dkk., 2020). Baudron dkk. (2019) melaporkan bahwa intensitas serangan *Spodoptera frugiperda* pada taraf 26,4 persen sampai 50 persen dapat menurunkan hasil panen sebesar 11,57%. Hruska and Gould (1997) melaporkan tentang intensitas serangan *Spodoptera frugiperda* selama pertengahan hingga akhir perkembangan jagung pada taraf 55 persen sampai 100 persen dapat menyebabkan kehilangan hasil sebesar 15 persen sampai 73 persen.

Tanaman memiliki mekanisme ketahanan untuk mampu bertahan hidup menghadapi cekaman lingkungan dan serangan hama penyakit. Ketahanan dan toleransi tanaman terhadap hama secara umum dipengaruhi oleh ekspresi gen-gen ketahanan yang dimiliki oleh tanaman (Yulong *et al.*, 2006). Salah satu gen ketahanan yang penting adalah *Resistance Gen Analogue* (Yaish *et al.*, 2004) yang juga terdapat pada tanaman jagung (Wenxai *et al.*, 2007). Identifikasi keberadaan gen RGA pada tanaman jagung dapat dilakukan dengan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) yaitu mengidentifikasi terjadinya polimorfisme basa nitrogen akibat proses substitusi satu basa pada nukleotida di dalam genom tanaman (Syvänen, 2001 dalam Timotiwi dkk., 2021). Keberadaan SNP diketahui menyebar di seluruh bagian dari genom tanaman (Gupta *et al.*, 2001). SNP ditemukan pada daerah ekson dan intron. Perbedaan SNP pada daerah ekson berpotensi mengubah polipeptida hasil ekspresi (Putri dan Wathon, 2018). Disisi lain, SNP dapat diidentifikasi setelah melakukan ekstraksi DNA. Fase tanaman yang lebih mudah untuk mengisolasi DNA adalah fase perkecambahan. Apabila viabilitas dan vigor benih tinggi maka benih mampu berkembang secara normal dikondisi terkontrol (Widajati dkk., 2013). Benih yang bermutu memiliki viabilitas dan vigor tinggi yang diuji pada fase perkecambahan (Ilyas, 2012) alasannya karena fase perkecambahan benih memiliki sifat kompleks yang dikendalikan pada tingkat transkripsi, translasi dan metabolisme (Rajjou *et al.*, 2012 dalam Hatzig *et al.*, 2015), diduga ada peran genetik yang memengaruhi ketahanan tanaman terhadap cekaman. Namun belum diketahui apakah ada hubungannya dengan kontrol genetik tanaman. Masih menjadi pertanyaan terbuka apakah benih yang berkinerja baik dalam kondisi optimal juga memiliki keunggulan dalam kondisi stres misalnya jika terserang hama tanaman tertentu

dan apakah hal tersebut ada hubungannya dengan keberadaan gen ketahanan RGA pada masing-masing varietas jagung. Selain itu, informasi SNP gen RGA tanaman jagung yang dibudidaya di masyarakat belum diketahui, untuk itu perlu dilakukan penelitian tentang analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen *Resistance Gen Analogue* (RGA) DNA delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) pada fase perkecambahan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu;

1. Apakah terdapat perbedaan viabilitas dan vigor perkecambahan benih dari delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.)?
2. Apakah delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) yang berbeda menghasilkan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen *Resistance Gen Analogue* (RGA) DNA yang berbeda?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakan penelitian ini sebagai berikut;

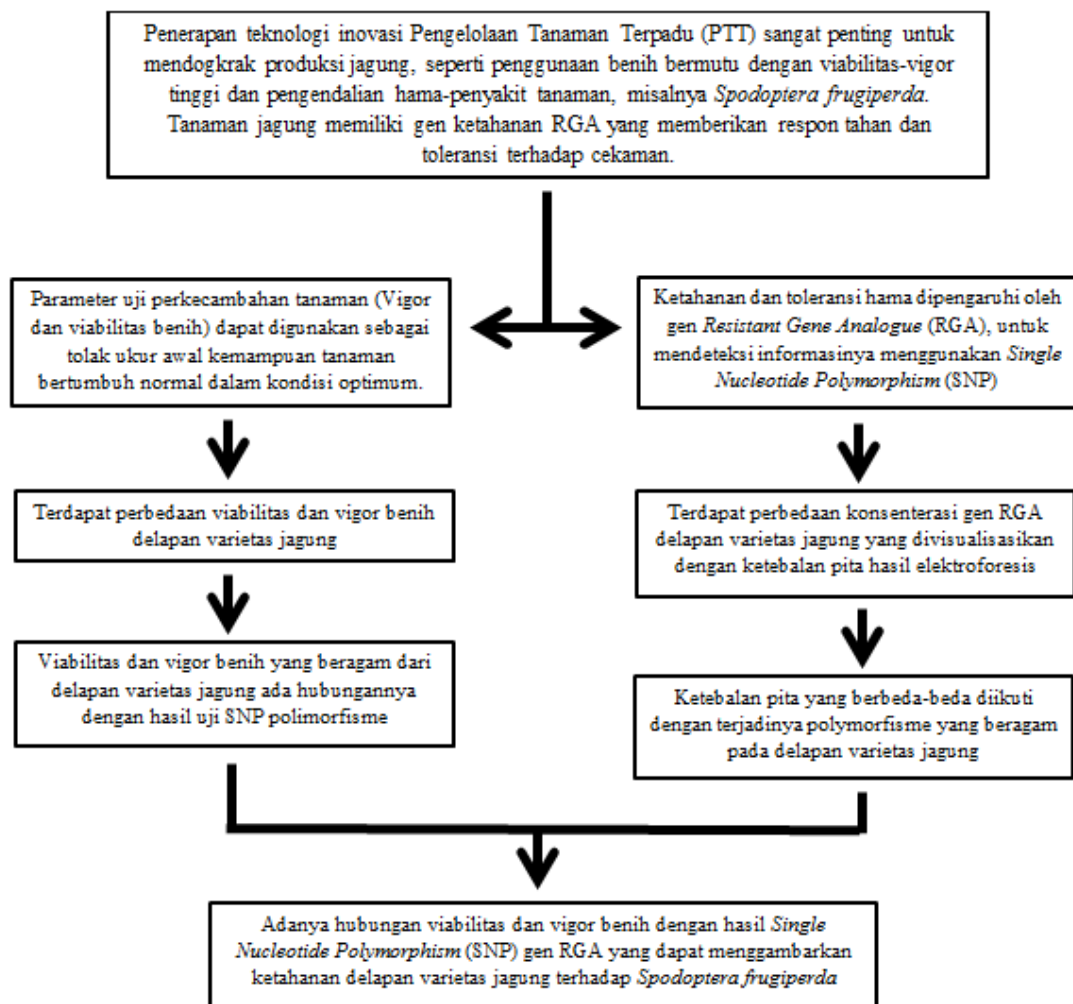
1. Mengetahui perbedaan viabilitas dan vigor perkecambahan benih dari delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.).
2. Mengetahui *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen *Resistance Gen Analogue* (RGA) DNA delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) yang berbeda.

## 1.4 Kerangka Pemikiran

Peningkatan produksi jagung dipengaruhi oleh intensifikasi pertanian, salah satunya dengan penerapan teknologi inovasi Pengelolaan Tanaman Terpadu (PTT). Penerapan teknologi tersebut sangat penting seperti penggunaan benih bermutu dengan viabilitas-vigor tinggi dan pengendalian hama-penyakit tanaman, misalnya *Spodoptera frugiperda*. Serangan *Spodoptera frugiperda* ditemukan di

Lampung untuk pertama kalinya pada tahun 2018. Hama ini mulai menyerang tanaman jagung pada fase vegetatif, tepatnya pada bagian titik tumbuh tanaman yang menyebabkan pembentukan pucuk tanaman mengalami kegagalan dan tanaman tidak bisa tumbuh, sehingga berakibat pada penurunan produktivitas tanaman jagung. Oleh sebab itu, penting untuk mengetahui berbagai upaya untuk pengendalian hama ini.

Pengendalian hama dan penyakit tanaman berhubungan dengan ketahanan tanaman. Secara alami, setiap tanaman memiliki mekanisme ketahanan dikarenakan terdapat kandungan gen RGA, namun perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut tentang gen RGA yang ada pada tanaman jagung budidaya dengan menggunakan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Penggunaan SNP dapat mendeteksi apakah terdapat keragaman tingkat gen pada varietas yang diuji. Penelitian ini menggunakan delapan varietas jagung yang banyak digunakan petani di Lampung yaitu varietas jagung NK7328 (SUMO), Pertiwi 5, Bisi 321, Bisi 18, P36, NK Super, Eksotik dan varietas lokal, selanjutnya hasil polimorfisme dari analisis SNP akan dibandingkan dengan vigor dan viabilitas jagung pada fase perkecambahan, apakah terdapat hubungan antara vigor dan viabilitas benih delapan varietas jagung dengan hasil polimorfisme dalam lingkup molekuler. Pengujian vigor dan viabilitas dapat menjadi tanda awal untuk melihat kualitas hidup tanaman tumbuh normal dalam kondisi optimum atau suboptimum yang diduga apabila vigor dan viabilitas tinggi berpengaruh pada daya ketahanan tanaman dan keragaman SNP pada varietas uji. Berikut gambar kerangka pemikiran penelitian ini:



Gambar 1. Kerangka Pemikiran

### 1.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini antara lain;

1. Terdapat perbedaan viabilitas dan vigor perkecambahan benih dari delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) yang dapat menggambarkan ketahanan jagung terhadap
2. Terdapat *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen *Resistance Gen Analogue* (RGA) DNA delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) yang berbeda.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Jagung (*Zea mays*, L.)

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan tanaman *monoecious* yaitu bunga jantan terpisah dari bunga betina bukan pada satu tanaman yang sama. Jagung merupakan tanaman C4 yang mampu beradaptasi dengan baik terhadap faktor pembatas pertumbuhan dan hasil. Daun tanaman C4 sebagai agen penghasil fotosintesis untuk didistribusikan, kemudian memiliki sel-sel selubung pembuluh darah yang mengandung klorofil. Sifat menguntungkan jagung sebagai C4 yaitu aktivitas fotosintesis dalam kondisi normal yang relatif tinggi, fotorespirasi sangat rendah, transpirasi rendah dan efisien dalam penggunaan air. Karakteristik ini bersifat fisiologis dan anatomi yang membantu dalam memperoleh hasil (Muhadjir, 2018). Secara umum klasifikasi tanaman jagung seperti berikut (Purwono dan Rudi, 2005) :

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Spermatophyta*  
Subdivisi : *Angiospermae*  
Kelas : *Monocotyledone*  
Ordo : *Graminae*  
Famili : *Graminaceae*  
Genus : *Zea*  
Spesies : *Zea mays*, L.



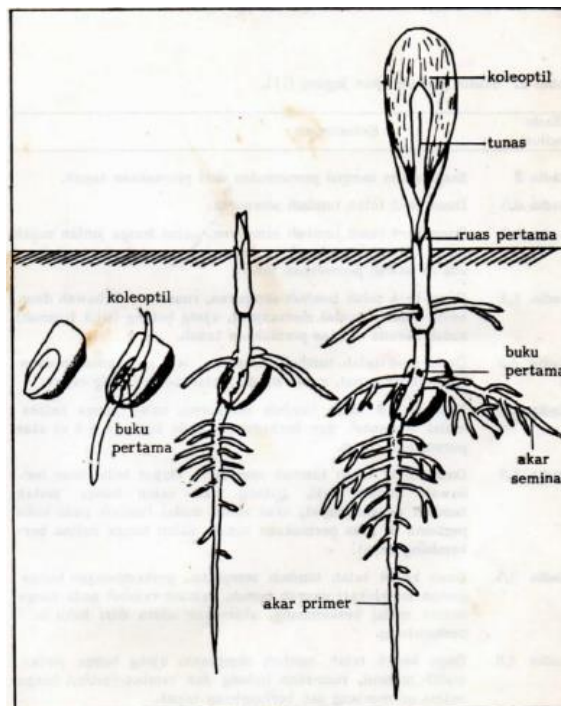
Jagung memiliki 10 kromosom sel seksual (*haploid*), 20 kromosom dalam sel somatik (*diploid*) dan 30 kromosom dalam sel *endosperm* (*triploid*). Secara umum semua jenis tanaman jagung memiliki 10 pasang kromosom (Muhadjir, 2018).

## 2.2 Perkecambahan Benih

Perkecambahan merupakan komponen utama dari kekuatan benih, yang didefinisikan sebagai jumlah dari sifat-sifat benih yang menentukan tingkat potensi aktivitas dan kinerja banyak benih dengan daya kecambah yang dapat diterima di bawah berbagai lingkungan (Perry, 1978 dalam Hatzig *et al.*, 2015). Benih dikelilingi sel-sel yang disebut integumen benih. Pada biji yang masak, dinding sel telur (*pericarp*) melekat erat pada kulit biji, sehingga dinding sel telur dan kulit biji seperti membentuk selaput tunggal. Embrio dan endosperma merupakan sumber makanan benih yang terdiri dari dua bagian yaitu eksternal dan internal. Bagian luar adalah endosperma sedangkan bagian dalam adalah kotiledon atau skutelum. Skutelum adalah penghubung yang letaknya di tengah kotiledon. Secara umum, endosperma terbagi menjadi dua yaitu endosperma lunak dan endosperma keras. Kotiledon dikelilingi oleh lapisan sel tipis yang disebut epitel yang terletak di antara kotiledon dan endosperma. Koleoptil merupakan calon daun yang berfungsi menembus permukaan tanah selama proses perkecambahan (Muhadjir, 2018).

Perkecambahan adalah muncul dan berkembangnya struktur esensial embrio yang menunjukkan kemampuan menghasilkan tanaman normal pada kondisi optimum (Ilyas, 2012). Proses perkecambahan diawali dengan penanaman benih ditanam, kemudian benih melakukan imbibisi dan calon tanaman mulai tumbuh. Akar radikal memanjang dengan diikuti oleh plumula dan akar seminalis. Akar radikal muncul dari ujung benih dan berlawanan arah dengan tajuk potensial. Akar seminal biasanya muncul 2-5 dari ujung biji dekat dengan tajuk. Semua akar, kecuali akar radikal, tumbuh miring 25-300 sehubungan dengan horizontal. Segmen pertama meluas mencapai tanah. Jika ujung koleoptil muncul dari tanah,

maka perpanjangan ruas pertama berhenti dan daun mulai muncul dari koleoptil. Dalam kondisi panas lembab, ujung koleoptil muncul 4-5 hari setelah tanam. Sebaliknya dalam kondisi dingin dan kering, koleoptil hanya muncul dua minggu atau lebih. Selain kondisi lingkungan, perkecambahan juga dipengaruhi oleh kedalaman tanam dan jenis tanah (Muhadjir, 2018). Fase VE (Perkecambahan) berlangsung saat tanaman berumur 4 – 5 HST dengan kondisi lingkungan tumbuh lembab, atau berumur 14 HST saat kondisi lingkungan kering (Sirusa, 2020).



Gambar 2. Perkecambahan dan pemunculan benih jagung  
 Sumber: Muhadjir, F. (<http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2018/08/3karakter.pdf>)

Perkecambahan adalah proses fisiologis untuk memulai dan mengembangkan bibit dengan memicu kaskade reaksi biologis dan biokimia. Pada tahap awal perkecambahan, yang dikenal sebagai imbibisi, biji menyerap air dengan cepat, menyebabkan kulit biji mengembang dan melunak pada suhu optimal. Selanjutnya, aktivitas fisiologis bagian dalam benih diaktifkan, dan respirasi benih dimulai. Akhirnya, kulit biji yang pecah memungkinkan inisiasi radikula dan plumula. Oleh karena itu, dimulai dengan pengambilan air oleh biji kering diam

dan diselesaikan dengan munculnya radikula melalui pemanjangan sumbu embrio. Proses ini melibatkan serangkaian proses fisiologis dan morfogenetik yang terorganisir, termasuk transfer energi benih, konsumsi nutrisi endospermik, dan perubahan fisiologis dan metabolisme. Indikasi utama perkecambahan adalah pemulihan aktivitas kritis, seperti transkripsi, translasi, dan perbaikan DNA, diikuti oleh pemanjangan dan pembelahan sel (Hussein *et al.*, 2021).

Perkecambahan mempengaruhi baik produksi akhir dan kualitas jagung. Pada dasarnya, tanaman tumbuh dari biji tunggal menjadi tanaman. Perkecambahan dikendalikan oleh interaksi faktor lingkungan, status fisiologis benih, dan benih. Kebutuhan akan berbagai faktor abiotik tergantung terutama pada genotip dalam menanggapi faktor-faktor abiotik di sekitarnya dan faktor-faktor abiotik ini secara kolektif. Perkecambahan jagung membutuhkan kondisi lingkungan yang menguntungkan dan kisaran spesifik dari faktor-faktor ini diperlukan untuk perkecambahan yang optimal. Kondisi ini termasuk suhu, cahaya, dan ketersediaan air yang mempengaruhi perkecambahan. Reaksi fisiologis benih terhadap faktor abiotik ekstrinsik yang tumpang tindih menentukan keberhasilan perbanyakan. Dengan demikian, perkecambahan biji mencerminkan ukuran populasi, distribusi, dan kelimpahan. Perkecambahan tidak memerlukan variabel-variabel abiotik ini secara individual karena permintaan untuk satu komponen bergantung pada kebutuhan komponen lain, seperti yang ditunjukkan untuk suhu tumpang tindih cahaya. Produksi yang sukses membutuhkan pertumbuhan bibit yang kokoh dan berkembang dengan baik, dan salah satu tujuan utama produksi bibit adalah untuk menghasilkan tanaman yang layak dari biji tunggal manapun. Ketersediaan dan mobilitas sumber penyimpanan endosperma merupakan penentu penting dalam pembentukan bibit (Hussein *et al.*, 2021).

### **2.3 Viabilitas dan Vigor Benih**

Viabilitas benih menunjukkan daya hidup benih aktif secara metabolit dan memiliki enzim yang dapat mengkatalisis reaksi metabolisme untuk perkecambahan dan pertumbuhan perkecambahan. Gejala pertumbuhan dari

viabilitas benih dapat dilihat melalui perkecambahan. Gejala metabolisme daya berkecambah benih adalah kemampuan benih untuk berkecambah normal pada lingkungan yang memadai dalam suatu periode pengujian tertentu yang diperkirakan akan mampu membentuk tanaman tertentu yang normal di lapangan yang optimum (memadai). Pengamatan viabilitas benih dapat dilakukan dengan menguji jumlah radikula yang muncul, daya berkecambah benih, dan kecepatan tumbuh. Uji daya berkecambah bertujuan untuk mengetahui daya berkecambah benih (Pramono *et al.*, 2019). Berikut kriteria perkecambahan pada benih (Widajati dkk., 2013) :

1. Kecambah normal

Kecambah normal adalah perkecambahan yang menunjukkan kemampuan untuk tumbuh dan berkembang menjadi bibit tanaman yang baik dan normal, sedangkan untuk lingkungan sendiri adalah kondisi kelembaban, temperatur, oksigen yang sesuai dan kadang untuk benih tertentu yang memerlukan cahaya (Kartasapoetra, 1986). Kecambah dinyatakan normal apabila semua bagiannya (Akar, hipokotil, plumula, dan kotiledone) menunjukkan kesempurnaan dan lengkap (ISTA, 2009 dalam Widajati dkk., 2013). Berikut akar dan plumula perkecambahan normal tanaman padi yaitu akar primer panjang disertai dengan banyak akar sekunder, beberapa akar permanen keluar dari nodus pertama harus ada apabila kecambah tidak dibuang sampai akhir periode perkecambahan. Bagian plumula pertumbuhan daun utama baik. Koleoptil pecah, sehingga daun utama tumbuh normal atau hanya sedikit terbuka (Kamil, 1982).

2. Kecambah abnormal

Kecambah dinyatakan abnormal apabila salah satu bagiannya tidak muncul, atau muncul tetapi rusak atau tidak sempurna. Bagian akar tidak ada akar primer lemah hanya sedikit atau tidak ada akar sekunder. Bagian plumula tidak ada daun utama, hanya ada koleoptil yang tidak berwarna. (Kamil, 1982).

3. Benih mati

Benih dinyatakan mati apabila sampai akhir periode perkecambahan tidak menunjukkan adanya gejala perkecambahan dan bukan merupakan benih keras (Widajati dkk., 2013).

Vigor benih didefinisikan sebagai sifat benih yang menentukan pemunculan kecambah yang cepat, seragam dan perkembangan kecambah normal pada kondisi lapang suboptimum (Ilyas, 2012). Parameter pengamatan yang dapat dilakukan adalah dengan mengukur berat kering kecambah normal, keserempakan tumbuh benih dan indeks vigor benih.

#### **2.4 Gen Ketahanan Tanaman *Resistance Gene Analogue* (RGA)**

Beberapa penanda DNA yang dikembangkan dari sekuen RGA yang diisolasi telah dimanfaatkan untuk beberapa tujuan, seperti analisis keragaman genetik, penandaan sifat terkait ketahanan penyakit, dan penemuan gen kandidat pada beberapa tanaman (Nordberg *et al.*, 2014 dalam Herlina dkk., 2018).

RGA tanaman adalah kelompok besar gen R potensial yang memiliki domain dan fitur struktural yang dilestarikan yang memiliki peran spesifik dalam interaksi inang patogen. Banyak RGA telah diidentifikasi dari beberapa genom tanaman. RGA genom lebar yang diidentifikasi dengan aplikasi dalam genomik dan bioinformatika seperti pemetaan hubungan, GWAS, pengelompokan dan profil tanda tangan protein akan membantu metode tradisional untuk meningkatkan pengembangan penanda, pemetaan QTL, kloning gen resistensi tanaman dan pemuliaan resistensi (Kumar *et al.*, 2015).

#### **2.5 SNP (*Single Nukleotida Polymorphism*)**

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) merupakan variasi genetik yang ditemukan pada lebih dari 1% populasi. Markah ini dapat dikategorikan sebagai 'markah generasi ketiga'. Markah ini merupakan mutasi titik di mana satu nukleotida disubstitusi oleh nukleotik lain pada lokus tertentu. SNP merupakan tipe yang lebih umum untuk membedakan sekuen di antara alel, kodominan di alam, dan menandakan markah polimorfik dari suatu sumber yang tidak pernah habis untuk penggunaannya pada resolusi tinggi dalam pemetaan genetik suatu karakter. Deteksi markah SNP bersifat kodominan, berdasarkan pada amplifikasi primer yang berbasis pada informasi sekuen untuk gen spesifik. Uji dengan

markah SNP dapat dilakukan pada tanaman seperti padi dan jagung yang informasi genomnya sudah cukup lengkap. Keunggulan teknik SNP adalah lebih mudah diaplikasikan dibandingkan dengan teknik SSR serta lebih bermanfaat ketika beberapa lokus SNP posisinya sangat berdekatan, sehingga dapat mendefinisikan haplotipe dan dalam pengembangan *haplotype tags* (Rusnita, 2015). Kelemahan dari teknik SNP adalah memerlukan informasi sekuen untuk suatu gen yang menjadi target analisis dan untuk pengadaan alat dan bahan memerlukan biaya yang sangat tinggi (Widayawan, 2018).

Markah molekuler banyak digunakan untuk meningkatkan efisiensi seleksi dalam pemuliaan tanaman sereal seperti jagung, melalui penggunaan markah molekuler dapat dilakukan penandaan level DNA sehingga terbentuk karakteristik galur secara langsung sehingga terbentuk kelompok dan pola heterotik yang dapat memandu para pemulia untuk menyeleksi kandidat hibrida secara cepat, tepat dan efisien. Markah tersebut juga dapat bermanfaat untuk mengidentifikasi perbedaan tanaman secara individu melalui profil unik yang nantinya dapat diaplikasikan untuk penyusunan kultivar baru, dalam hal ini dapat menjadi dasar perakitan kultivar yang tahan. Markah molekuler yang banyak dipakai dalam kegiatan pemuliaan adalah markah DNA yang berdasarkan pada proses PCR (Marcia dkk., 2009).

SNP dapat ditemukan pada *coding region* maupun *non coding region* (Lonetti *et al.*, 2016 dalam Putri dan Wathon, 2018). SNP yang terletak pada *coding region* dinamakan cSNP yang memiliki peluang untuk mempengaruhi fungsi gen karena dapat mengubah urutan asam amino dan mempengaruhi struktur protein sehingga menyebabkan gangguan monogenik resesif maupun dominan (Wang *et al.*, 2001 dalam Putri dan Wathon, 2018). Gangguan monogenik adalah gangguan akibat adanya mutasi gen tunggal alel resesif atau dominan yang diwariskan induk ke keturunannya (Babar, 2017 dalam Putri dan Wathon, 2018).

SNP dapat digunakan sebagai penanda (marker) yang efektif dalam mendeteksi keragaman genetik yang umumnya terjadi dengan frekuensi sekitar satu SNP

dalam 1000 nukleotida pada DNA genom (Campbell *et al.*, 2000 dalam Putri dan Wathon, 2018). SNP merupakan penanda dalam variasi genom antar individu sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi alel yang membawa suatu sifat yang penting pada suatu individu (Campbell *et al.*, 2000; Mmeka *et al.*, 2013 dalam Putri dan Wathon, 2018). Selain itu, penanda SNP dapat diaplikasikan di bidang kesehatan dan kedokteran untuk diagnostik dan prognostik suatu penyakit (Sadewa, 2015).

## **2.6 Signifikansi SNP (*Single Nukleotida Polymorphism*) pada Tumbuhan**

Peningkatan sifat-sifat ketahanan tanaman secara biotik maupun abiotik berkontribusi secara langsung untuk peningkatan dan stabilisasi hasil pertanian (Hatzig *et al.*, 2015). SNP digunakan dalam farmakogenomik, penelitian diagnostik dan biomedis, namun SNP memiliki belum digunakan secara teratur dalam genotip tanaman. Sejumlah besar data SNP tersedia pada manusia tetapi data yang sangat terbatas tersedia pada SNP pada tanaman. Ahli genetika telah mengembangkan sejumlah tes genotipe SNP tanaman supaya ahli biologi dapat mengambil keuntungan dan menggunakan tes yang dikembangkan dengan baik dalam studi manusia. SNP memiliki potensi luar biasa untuk sidik jari plasma nutfah.

SNP sangat informatif dan pengujiannya tidak memerlukan pemisahan DNA berdasarkan ukuran. Mereka lebih mudah ditemukan di sebagian besar wilayah salinan tunggal genom daripada SSR (Jehan T dan Suman L., 2006). Penanda SNP diketahui memiliki hasil yang lebih spesifik, *output* yang lebih tinggi, biaya yang lebih rendah, dan tingkat kesalahan yang lebih rendah (Jones *et al.*, 2009).

## **2.7 Analisis DNA**

### **2.7.1 Ekstraksi DNA**

Prinsip dasar ekstraksi DNA adalah menghancurkan dinding dan membran sel tanaman, lalu mengeluarkan DNA yang terdapat dalam nukleus tanpa

menyebabkan kerusakan pada DNA tersebut (Sharma *et al.*, 2010). Sementara menurut Chi *et al.* (2009), secara umum proses ekstraksi DNA dibagi menjadi beberapa tahap yaitu persiapan materi yang akan digunakan, proses penghancuran sel, penghilangan senyawa kontaminan, dan pengumpulan DNA. Menurut Ogunkanmi *et al.* (2008), DNA yang diekstrak harus terbebas dari senyawa kontaminan seperti polisakarida, polifenol, dan tanin yang seringkali ikut terbawa dan dapat menghambat kerja beberapa enzim dalam kegiatan molekuler.

### 2.7.2 Analisis Kemurnian dan Kuantifikasi Hasil Ekstraksi DNA

Setelah DNA di isolasi dengan ekstraksi, tahapan selanjutnya adalah pengujian secara kualitatif dan kuantitatif dengan spektrofotometer. Uji menggunakan spektrofotometer atau nanophotometer pada prinsipnya adalah menghitung perbedaan penyerapan sinar UV yang membuat pita ganda DNA dapat menyerap sinar UV pada 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau fenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm. Nilai kemurnian DNA dihitung dengan membagi absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 ( $\frac{A_{260}}{A_{280}}$ ), dan nilai kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0 (Widiastuti A, 2017).

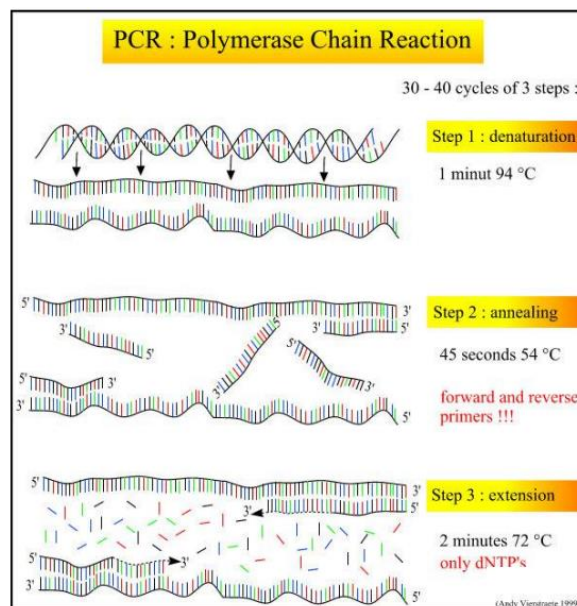
### 2.7.3 Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR)

Analisis molekuler dilakukan untuk mengetahui transformasi genetik yang dapat dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR dilakukan untuk mengetahui apakah gen interes sudah terintegrasi ke dalam genom tanaman. Teknik PCR yang dikenalkan Kary Mullis *et al.*, (1994) merupakan teknik melipatgandakan salinan DNA melalui reaksi polimerisasi berantai dengan beberapa siklus. Pada proses reaksi terjadi pemanasan dan mendinginan secara berulang yang terdiri dari denaturasi template DNA, penempelan (*Anneling*) primer pada sekuen DNA yang komplementer, dan tahap pemanjangan (*Elongation*). Dalam 30 siklus dapat dihasilkan kopi DNA hingga satu milyar, setiap periode siklus beragam antar protokol. Komponen reaksi PCR antara lain DNA *template*, primer DNA, larutan penyangga PCR, enzim *Taq DNA polymerase*,  $MgCl_2$  atau  $MgSO_4$ , dNTP (Utomo, 2012). DNA *template* merupakan DNA target yang akan digandakan. Primer DNA adalah



fragmen pendek yang mengandung sekuen komplementer dengan DNA target, penggunaan primer untuk permulaan sintesis DNA yang dilakukan oleh polymerase, nantinya enzim tersebut akan digunakan untuk mensintesis utas DNA baru yang berkomplementer dengan utas DNA templat. dNTPs merupakan bahan utama yang dibutuhkan untuk sintesis DNA dalam proses PCR yang terdiri dari dATP, dGTP, dCTP dan dTTP. Enzim *Taq DNA polimerase* berfungsi untuk bekerja sama dengan dNTP untuk melakukan proses polimerisasi primer. Larutan penyangga dalam proses PCR berfungsi untuk menyediakan lingkungan yang sesuai untuk aktivitas dan stabilitas DNA yang optimal (Widiastuti, 2017).

Proses PCR dapat dilihat dari gambar berikut:



Gambar 3. Proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Sumber : Widiastuti. 2017. Prinsip umum pengujian DNA. Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura.  
<http://bbppmbtph.tanamanpangan.pertanian.go.id/assets/front/uploads/document/Prinsip%20Umum%20Pengujian%20DNA.pdf>

Langkah-langkah yang terjadi pada proses PCR untuk membentuk pita adalah:

1. Pemisahan atau denaturasi *template* DNA  
Denaturasi adalah proses pemisahan DNA dari untai ganda menjadi tegakan tunggal. Proses denaturasi biasanya dilakukan pada suhu 94 °C atau 95°C.
2. Penempelan atau *annealing* primer  
DNA yang terpisah pada proses denaturasi dan menjadi untai tunggal kemudian akan dipasangkan dengan primer yang susunannya komplementer dengan DNA.
3. Pemanjangan  
Hasil penempelan antara primer dan template DNA kemudian akan memanjang sendiri atau bereplikasi berkali-kali dengan bantuan enzim DNA polimerase dan dNTPs sebagai sumber nukleotida.

Keunggulan teknik PCR relatif lebih cepat dan lebih sensitif dalam proses penggandaan fragmen DNA walaupun konsentrasi DNA *template* rendah, kuantitas DNA yang diperlukan sedikit dan standard kualitas DNA bisa lebih rendah jika dibandingkan dengan hibridisasi *Southern* dan *Northern*. Salah satu kelemahan teknik ini adalah akibat sensitivitas yang ditimbulkannya dapat meningkatkan reaksi kontaminan dari bakteri, jamur, virus atau DNA personel yang ada di laboratorium (Utomo, 2012).

#### 2.7.4 Elektroforesis

Setelah proses PCR selesai, untuk mengetahui apakah proses PCR berhasil mengamplifikasi DNA atau tidak, maka harus dilakukan elektroforesis. Elektroforesis digunakan untuk mengamati hasil amplifikasi dari DNA. Prinsip kerja dari elektroforesis berdasarkan pergerakan partikel-partikel bermuatan negatif (anion), dalam hal tersebut DNA, yang bergerak menuju dari kutub negatif ke kutub positif. Hasil elektroforesis yang terlihat adalah terbentuknya *band* yang merupakan fragmen DNA hasil amplifikasi dan menunjukkan potongan-potongan jumlah pasangan basanya. Elektroforesis menggunakan media berupa gel dari agarose ataupun akrilamid dengan pelarut menggunakan buffet Tris Asetat EDTA (TAE) atau Tris Borat EDTA (TBE). Gel dibuat dengan melarutkan agarose atau akrilamid dengan salah satu buffer tersebut dengan menggunakan cetakan khusus

dan terdapat sumuran/*well* untuk menempatkan hasil PCR yang akan dirunning elektroforesis (Widiastuti, 2017).

Selain produk hasil PCR, dalam elektroforesis juga dicampurkan *loading dye* yang berfungsi sebagai pemberat agar DNA tidak keluar dari sumuran. Untuk mengetahui ukuran pasang basa hasil amplifikasi, maka pada salah satu sumuran diisi marker DNA dengan ukuran tertentu. DNA *ladder* yang digunakan biasanya menyesuaikan dengan besar pasang basa target yang dicari, misalnya untuk pita DNA dengan target 150 *basepair* (bp) digunakan DNA *ladder* dengan ukuran 50 bp, dan untuk DNA target di atas 1000 bp digunakan 1 kb *ladder*. Elektroforesis dilakukan dengan menepatkan gel agarose dalam bak atau *chamber* elektroforesis yang didalamnya berisi buffer yang sama dengan pelarut yang digunakan untuk membuat gel (TAE atau TBE) dan terhubung dengan *power supply* yang dapat diatur arusnya. Setelah elektroforesis selesai, umumnya dilakukan pewarnaan dengan merendam agar pada larutan Etidium bromida (Etbr) 1% selama 15 menit, kemudian membilasnya dengan merendam pada air selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV transiluminator dengan sinar *infra red*. Jika amplifikasi terjadi maka akan terlihat pita pita DNA yang berpendar oleh sinar *infra red* (Widiastuti, 2017).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui dua tahapan yaitu perkecambahan benih jagung delapan varietas dan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses penelitian yang pertama adalah mengecambahkan benih jagung sesuai dengan standard peraturan *International Seed Testing Association* (ISTA) yang dilaksanakan di Laboratorium Benih, Universitas Lampung. Proses kedua melakukan analisis dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT), Universitas Lampung. Penelitian ini berlangsung dari bulan Mei sampai dengan Juli 2022.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan delapan varietas jagung yang akan diuji yaitu: NK7328 (SUMO), Pertiwi 5, Bisi 321, Bisi 18, P36, NK Super, Eksotik dan varietas lokal. Alat yang digunakan pada tahapan perkecambahan adalah germinator benih, nampan, alat presser, gunting, penggaris, karet, label, dan sprayer. Bahan yang dibutuhkan adalah 150 butir benih/varietas, air, plastik, dan kertas merang. Alat yang digunakan untuk tahapan analisis PCR adalah *freezer*, alat PCR (*Labcycler*), autoklaf, laminar, *Tissue Lyser LT Qiagen*, *Nanophotometer P 360 (Implen) QIAxcelAdvanced*, mortar, tabung 2 ml dengan tutup ulir, tabung 1,5 ml, *vortex*, *heating block* suhu 65<sup>0</sup>C, *microcentrifuge*, *life touch* 1.7 ml *microcentrifuge tube*, mikro pipet berbagai ukuran 1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, *Bioclean Aerosol Resistent Barrier Tip* 1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, *shaker*, *disposable free powder gloves*. Sebelumnya alat yang digunakan di sterilisasi dahulu. Bahan yang digunakan adalah ekstraksi kecambah jagung 0,05

gram/varietas, aquades, alkohol 70%, *Dneasy Plan Mini Kit (50)* (Qiagen, Cat#69104).

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Jumlah ulangan yang dilakukan sebanyak 3 ulangan untuk setiap varietasnya. Perlakuan penelitian ini menggunakan faktor tunggal yaitu delapan jenis varietas jagung. Satuan percobaan yang digunakan sebanyak 24 satuan percobaan. Analisis data yang digunakan pada uji perkecambahan benih menggunakan uji DNMRT atau Duncan pada taraf signifikansi 5%. Pengolahan data penelitian menggunakan aplikasi R-Studio. Berikut tata letak percobaan dalam pengujian perkecambahan delapan varietas jagung:

<b>Blok 1</b>	<b>Blok 2</b>	<b>Blok 3</b>
J6	J3	J3
J3	J2	J2
J4	J8	J4
J5	J7	J6
J7	J6	J1
J1	J5	J7
J8	J4	J8
J2	J1	J5

Keterangan:  
 J1 : Varietas Jagung NK7328 (SUMO)  
 J2 : Varietas Jagung Pertiwi 5  
 J3 : Varietas Jagung Bisi 321  
 J4 : Varietas Jagung Bisi 18  
 J5 : Varietas Jagung P36  
 J6 : Varietas Jagung NK Super  
 J7 : Varietas Jagung Eksotik  
 J8 : Varietas Jagung Lokal

Gambar 4. Tata Letak Percobaan Perkecambahan Delapan Varietas Jagung

Pada analisis PCR menggunakan primer PMW 1 dan PMW 2. Kemudian hasil sekuensing dianalisis menggunakan BLAST di website *genebank* (NCBI) untuk verifikasi sekuen yang identik dengan hasil analisis. Setelah diverifikasi, sekuen-sekuen yang diperoleh dianalisis SNP-nya dengan *software* MEGA XI.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

Berikut prosedur dalam penelitian ini:

#### *3.4.1 Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih*

Pada percobaan ini dilakukan pengujian viabilitas dan vigor daya kecambah benih jagung yang sampai 7 HST. Pada percobaan ini benih dikecambahkan dengan metode UKDdP yaitu pengujian perkecambahan kertas didirikan dalam plastik. Setiap gulungan berisi 25 butir benih jagung. Satu ulangan terdapat 50 butir benih. Berikut prosedur percobaan pengujian benih:

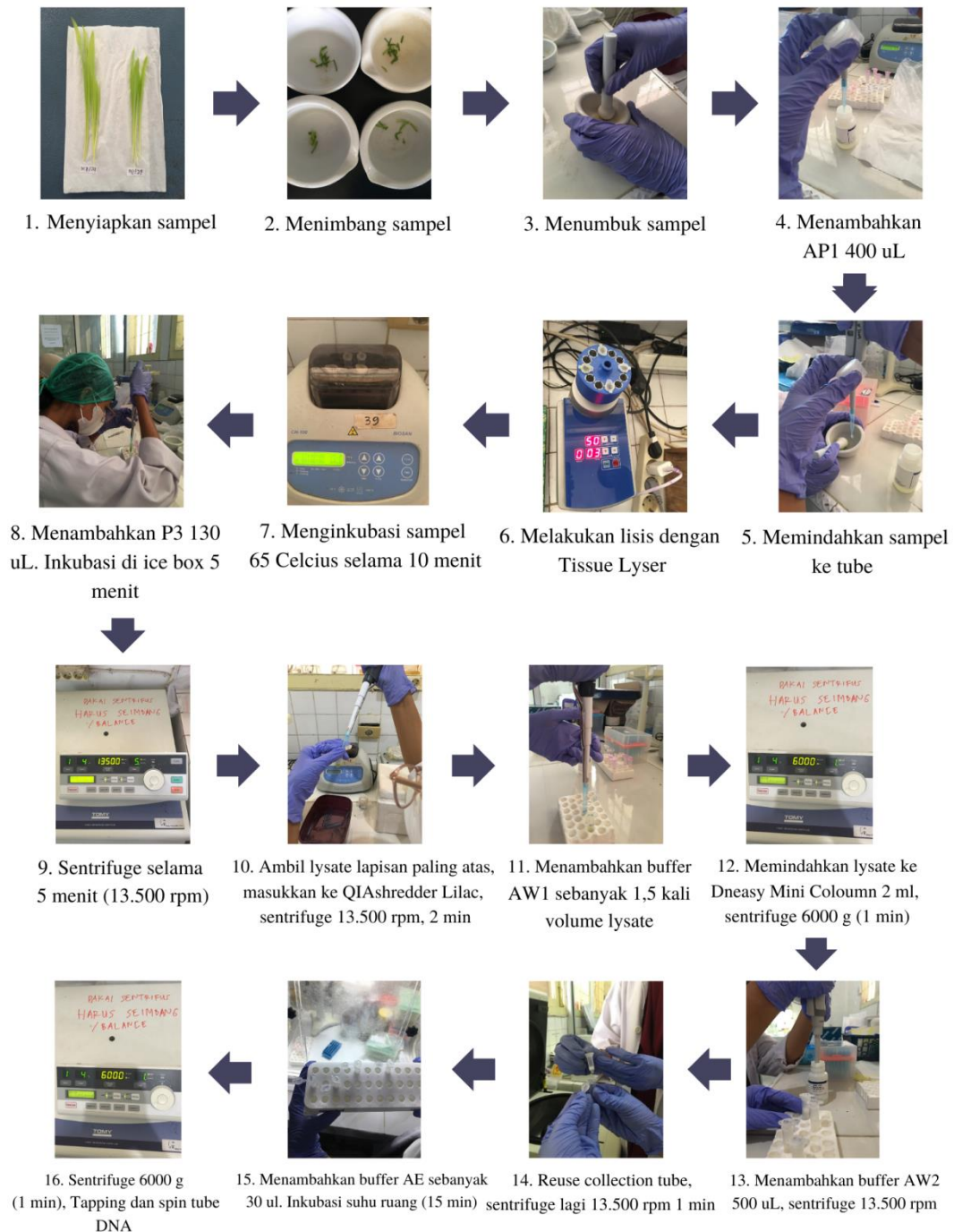
1. Kertas merang direndam dalam air hingga basah semua bagiannya, lalu dikempa dengan pengempa kertas hingga tiris dan cukup lembab.
2. Dua lembar kertas merang diletakkan pada selembar plastik.
3. Benih diuji ditanam di atas kertas merang tersebut, 25 butir benih perlembaran dengan susunan yang teratur dan rapi (pola tanam zig-zag). Setiap ulangan menggunakan 50 butir benih jagung.
4. Dua lembar kertas merang lembab lagi digunakan untuk menutup benih yang telah tersusun rapi.
5. Dari salah satu sisi lebar kertas, benih yang telah ditanam itu digulung perlahan-lahan sehingga membentuk gulungan rapi.
6. Label tanda uji disiapkan dan ditulis nama penguji, nama uji, nama benih, dan tanggal pengujian. Lalu selipkan di antara plastik dan kertas pada gulungan.
7. Gulungan diletakkan pada rak dalam germinator APB 73-2 B dengan kedudukan berdiri (UKDdp= Uji kertas digulung didirikan dalam plastik).
8. Pengamatan dilakukan pada 1 – 7 HST untuk tanaman jagung. Dengan variabel pengamatan terhadap tolak ukur jumlah radikula yang muncul, Daya Berkecambah (DB), dan Indeks Vigor.

### 3.4.2 Ekstraksi DNA Delapan Varietas Jagung

DNA genom sampel diambil dari ekstraksi di tahap sebelumnya menggunakan bagian perkecambahan karena di fase ini pertumbuhan dan perkembangan sel cepat (Surbekti, dkk., 2009). Proses ekstraksi menggunakan *Dneasy Plant Mini Kit* (50) (Qiagen, Cat#69104). Langkah awalnya dengan menyiapkan sampel, usap seluruh permukaan sampel dengan Alkohol 70%. Diletakkan dan dikering anginkan sampel di atas tissue. Setelah permukaannya mengering, dipotong kecil-kecil dan ditimbang sampel seberat 0,075 gram. Setelah ditimbang, sampel diletakkan dalam mortar yang telah diberi label. Sampel dihaluskan dengan menambahkan 400  $\mu$ L AP1. Setelah itu, sampel diletakkan ke dalam tube 2 ml. Sampel di-*vortex* dan di-*spin* selama 30 detik untuk menginversi larutan sampel. Selanjutnya, sampel diinkubasi ke dalam *heating block* suhu 65<sup>0</sup>C selama 10 menit. Tube sampel dibolak balik secara perlahan pada waktu ke 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 130  $\mu$ L P3, larutan sampel di inversi dengan tip dan diinkubasikan dalam *ice box* selama 5 menit. Sampel yang telah diinkubasikan tadi disentrifus selama 5 menit (13.500 rpm). Setelah itu, diambil *lysate* lapisan paling atas, kemudian dimasukkan ke dalam *QIAshredder Lilac*. Sampel disentrifus 13.500 rpm selama 2 menit, usahakan setiap sampel dalam keadaan dingin di *ice box*, supaya *lysate* tidak tercampur.

Setelah itu, *lysate* yang tertampung di *collection tube* dipindahkan tanpa mengenai peletnya ke tube 2 ml yang baru. Selanjutnya ditambahkan buffer AW1 sebanyak 1,5 kali volume *lysate* yang telah dipindahkan tadi ke tube baru. Kemudian diinversikan dengan tip dan *vortex* sebentar, tujuannya untuk menghomogenkan *lysate* dan buffer. Tahapan berikutnya adalah *lysate* tersebut dipindahkan ke tube *Dneasy Mini Coloumn* 2 ml dan disentrifus 6000 g selama 1 menit, tahapan ini dilakukan berulang sampai semua *lysate* tersaring. Setelah itu, cairan yg tertampung di *collection tube* dibuang dan diganti dengan *collection tube* baru. Selanjutnya, ditambahkan buffer AW2 sebanyak 500  $\mu$ L ke atas *Dneasy Mini Coloumn*, disentrifus 13.500 rpm selama 2 menit, tujuannya untuk mengeringkan membran atas filter dari etanol. Tahapan berikutnya, digunakan kembali *collection tube* dengan yang baru dan disentrifus lagi 13.500 rpm selama 1 menit

tanpa penambahan apapun, tujuannya untuk mengeringkan membran dan membantu evaporasi etanol. Berikutnya *Dneasy Mini Column* bagian atas dipindahkan ke tube baru 2 ml, kemudian ditambahkan buffer AE sebanyak 30  $\mu$ L. Sampel diinkubasikan dalam suhu ruang selama 15 menit. Setelah selesai diinkubasi, disentrifus 6000 g selama 1 menit untuk proses elusi. DNA siap digunakan atau disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  (*Freezer*).



Gambar 5. Prosedur ekstraksi DNA delapan varietas jagung



### 3.4.3 Analisis Kemurnian dan Kuantifikasi DNA

Analisis dilakukan menggunakan alat Nanophotometer P360 ( Implen, Jerman). Setelah ekstrak DNA didapatkan pada proses ekstraksi, selanjutnya sampel tersebut akan diuji kemurniannya. Sebelum diukur, hasil ekstraksi dihomogenkan menggunakan *spinner*. Pertama, dilakukan kalibrasi dahulu sesuai dengan buffer yang digunakan yaitu buffer AE. Diambil 1,5  $\mu$ L buffer AE, diteteskan ditengah jendela *cell* pengukur. *Submicroliter cell* yang berisi sampel kalibrasi ditutup dengan rapat. Setelah itu, kuvet diletakkan ke dalam jendela alat, Tombol Ok ditekan untuk mengaktifkan mesin dan tombol *blank* ditekan untuk referensi pengukuran kalibrasi. Selanjutnya, *submicroliter* dibersihkan dengan tissue, dilakukan juga pada tutup lid, jangan sampai menggores kaca. Kemudian, sampel DNA dimasukkan sebanyak 1,5  $\mu$ L/pengujian ke atas *submicroliter*, kemudian ditutup rapat dan dilakukan analisis dengan menekan tombol sampel (tombol !) untuk mengukur sampel. Tujuan dianalisis dengan nanophotometer untuk mengukur konsentersasi dan kemurnian DNA dibahan ekstraksi guna persiapan proses PCR. Pada penelitian ini, digunakan dua jenis lid yaitu 10 dan 50.

### 3.4.4 Amplifikasi DNA dengan PCR

Berikut primer yang digunakan dalam proses amplifikasi PCR :

Tabel 1. Primer yang digunakan dalam proses *Polymerase Chain Reaction*

<b>Kode Sampel Uji</b>	<b>Kode Primer 1</b>	<b>Kode Sampel Uji</b>	<b>Kode Primer 2</b>
J1-Forward	PMW1_M3_R1	J1-Forward	PMW2_m31_R1
J1-Reverse	PMW1_M3_R1	J1-Reverse	PMW2_m31_R1
J2-Forward	PMW1_M4_R1	J2-Forward	PMW2_m41_R1
J2-Reverse	PMW1_M4_R1	J2-Reverse	PMW2_m41_R1
J3-Forward	PMW1_M13_R1	J3-Forward	PMW2_m11_R1
J3-Reverse	PMW1_M13_R1	J3-Reverse	PMW2_m11_R1
J4-Forward	PMW1_M7_R1	J4-Forward	PMW2_m71_R1
J4-Reverse	PMW1_M7_R1	J4-Reverse	PMW2_m71_R1
J5-Forward	PMW1_M5_R1	J5-Forward	PMW2_m51_R1
J5-Reverse	PMW1_M5_R1	J5-Reverse	PMW2_m51_R1
J6-Forward	PMW1_M6_R1	J6-Forward	PMW2_m61_R1
J6-Reverse	PMW1_M6_R1	J6-Reverse	PMW2_m61_R1
J7-Forward	PMW1_M8_R1	J7-Forward	PMW2_m81_R1
J7-Reverse	PMW1_M8_R1	J7-Reverse	PMW2_m81_R1
J8-Forward	PMW1_M22_R1	J8-Forward	PMW2_m221_R1
J8-Reverse	PMW1_M22_R1	J8-Reverse	PMW2_m221_R1

### 1. PCR Primer PMW 1

Langkah pengerjaan tahap ini dimulai dengan membuat campuran pereaksi PCR. Volume total untuk vairan reaksi PCR sebanyak 19  $\mu\text{L}$  dengan menggunakan PMW1 PCR Kit. Komposisi pereaksi PCR yaitu 73,5  $\mu\text{L}$  master mix PCR (buffer PCR, 0,5  $\mu\text{L}$  25 mM  $\text{MgCl}_2$ ; 0,5  $\mu\text{L}$  10 mM dNTPs, 0,1  $\mu\text{L}$  10 mM Taq DNA); 1,75  $\mu\text{L}$  17,5  $\mu\text{M}$  untuk masing-masing primer (Primer *forward* dan *reverse*); 0,75  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J6 dan J7, 1  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J3, J1 dan J2, 1,5  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J8, J5 dan J4 ( $\pm 30 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ); 63  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O. Setelah semua disiapkan, sampel di-*tapping* dan di-*spin*, diletakkan dalam kondisi dingin supaya suhu tetap terjaga. Mesin PCR yang telah disambungkan dari UPS dihidupkan. Diklik menu Edit, dan dipilih *gradien setting* yang akan digunakan yaitu Gradien q2. Pengaturan denaturasi awal dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit yang kemudian diikuti dengan 35 kali siklus 95°C selama 1 menit, *setting annealing* 56,5°C selama 1 menit, dan *elongation* 72°C selama 1 menit. Setelah siklus selesai, dilanjutkan dengan *final elongation* 1 siklus 72°C selama 5 menit. Terakhir adalah proses *cooling* pada suhu 20°C selama 10 menit. Sampel diletakkan pada suhu 55 °C di well 5.

### 2. PCR Primer PMW 2

Campuran pereaksi PCR PMW2 dibuat menggunakan volume total 19  $\mu\text{L}$ . Komposisi pereaksi tersebut yaitu 73,5  $\mu\text{L}$  master mix PCR (buffer PCR, 0,5  $\mu\text{L}$  25 mM  $\text{MgCl}_2$ ; 0,5  $\mu\text{L}$  10 mM dNTPs, 0,1  $\mu\text{L}$  10 mM Taq DNA); 1,75  $\mu\text{L}$  17,5  $\mu\text{M}$  untuk masing-masing primer (Primer *forward* dan *reverse*); 0,75  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J6 dan J7, 1  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J1, J2 dan J3, 1,5  $\mu\text{L}$  DNA genom untuk sampel J8, J5 dan J4 ( $\pm 30 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ); 63  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O. Setelah semua disiapkan, sampel di-*tapping* dan di-*spin*, diletakkan dalam kondisi dingin supaya suhu tetap terjaga. Mesin PCR yang telah disambungkan dari UPS dihidupkan. Diklik menu Edit, dan dipilih *gradien setting* yang akan digunakan yaitu gradient B2. Pengaturan denaturasi awal dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit yang kemudian diikuti dengan 30 kali siklus 95°C selama 1 menit, *setting annealing* 53,9°C selama 30 detik, dan *elongation* 72°C selama 1 menit. Setelah siklus selesai, dilanjutkan dengan *final elongation* 1 siklus 72°C selama 5 menit.

Terakhir adalah proses *cooling* pada suhu 20°C selama 10 menit. Sampel diletakkan pada suhu 54,5°C di well 7.

#### 3.4.5 Elektroforesis Hasil PCR

Selanjutnya sampel hasil PCR dielektroforesis dengan alat digital *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman menggunakan *DNA High Resolution Kit*. Prosedur kerja alat ini mengikuti panduan teknis *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman.

#### 3.4.6 Sekuensing Hasil PCR

Hasil PCR yang telah tervisualisasi adanya pita ampikon pada elektroforesis kemudian disekuensing dengan metode Sanger menggunakan jasa sekuensing dari PT. Genetika *Science*. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan BLAST di website *genbank* (NCBI) untuk verifikasi sekuen yang identik dengan hasil analisis. Setelah diverifikasi, sekuen-sekuen yang diperoleh dianalisis SNP-nya dengan *software* MEGA XI.

### 3.5 Variabel Pengamatan

#### A. Variabel Pengamatan Perkecambahan

Berikut variabel pengamatan perkecambahan yang digunakan:

##### 1. Munculnya Radikula

Pengamatan ini dilakukan pada 1-5 HST sampai radikula total seluruh kecambah muncul secara normal. Kemudian jumlah kecambah yang sudah muncul radikulanya dihitung sampai hari ke 5 untuk mengetahui pada hari keberapa kecambah benih sudah menampakkan radikula yang utuh. Waktu pengujian pemunculan radikula lebih cepat dibandingkan pengujian daya berkecambah, karena perhitungan dilakukan lebih awal, yaitu ketika panjang radikula telah muncul minimal sepanjang 2 mm (ISTA, 2021).

##### 2. Daya Berkecambah (%)

Pengamatan pertama dilakukan pada hari ke lima, pengamatan kedua pada hari ke enam dan pengamatan ketiga pada hari ke tujuh setelah tanam.

Pengamatan dilakukan atas dasar kriteria kecambah normal, abnormal dan mati. Daya berkecambah dihitung menggunakan rumus:

$$DB = \frac{\sum \text{KN Pengamatan 1} + \sum \text{KN Pengamatan 2} + \sum \text{KN Pengamatan 3}}{\sum \text{Benih di tanam}} \times 100\%$$

Keterangan:

KN = Kecambah Normal

### 3. Indeks Vigor (%)

Indeks Vigor didapat dari data yang diambil dengan mengamati jumlah kecambah normal pada hitungan hari pengamatan pertama yaitu 5 HST (Syafuruddin dan Taqur, 2015). Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Indeks Vigor} = \frac{\sum \text{Kecambah Normal (Hari ke - 5)}}{\text{Total Benih ditanam}} \times 100\%$$

## B. Variabel Pengamatan Analisis PCR

Berikut variabel pengamatannya:

### 1. Ketebalan pita DNA

Ketebalan pita DNA divisualisasikan dalam bentuk gel image. Semakin tebal pita menunjukkan konsentrasi gen RGA DNA yang tinggi.

### 2. Ukuran fragmen DNA

Ukuran ini ditunjukkan pada tahapan elektroforesis dengan jumlah pasangan basa (*base pairs*= bp) pada setiap sekuen DNA. Ukuran size marker berada pada rentang 100 bp – 3000 bp. Apabila ukuran jumlah amplicon sesuai dengan panjang amplicon primer, maka primer tersebut berhasil mengamplifikasi DNA target. Semakin banyak pasangan sekuen maka semakin tinggi konsentrasi gen RGA DNA. .

## C. Variabel Pengamatan SNP DNA Gen RGA

Pengamatan variabelnya berupa bagian sekuen yang berbeda dari hasil penyejajaran SNP DNA gen RGA delapan varietas jagung yang telah disekuensing. Sekuen DNA yang berbeda menunjukkan adanya polimorfisme.

### 3.6 Analisis Data

#### A. Analisis Data Hasil Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih

Analisis data pengujian perkecambahan benih jagung delapan varietas menggunakan uji DNMRT atau Duncan pada taraf signifikansi 5%. Data observasi akan dianalisis menggunakan aplikasi R-Studio dan *software online GerminaQuant*.

#### B. Hasil PCR DNA Gen RGA

Hasil PCR yang telah tervisualisasi adanya pita ampikon pada elektroforesis kemudian disekuensing dengan metode Sanger menggunakan jasa sekuensing dari PT. Genetika Science.

#### C. Analisis SNP Gen RGA DNA Hasil Sekuensing

Hasil sekuensing dianalisis menggunakan BLAST di website *genbank* (NCBI) untuk verifikasi sekuen yang identik dengan hasil analisis. Setelah diverifikasi, sekuen-sekuen hasil sekuensing disejajarkan menggunakan program *ClustlW Multiple Sequence Alignment* di *software* MEGA XI.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan tentang “Analisis Keragaman *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) Gen *Resistance Gen Analogue* (RGA) DNA Delapan Varietas Jagung (*Zea Mays*, L.) pada Fase Perkecambahan” dapat disimpulkan hasil sebagai berikut:

1. Viabilitas dan vigor perkecambahan delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) menunjukkan hasil yang berbeda khususnya variabel pengamatan munculnya radikula dengan nilai persentase varietas Lokal sebesar 96 persen. Variabel pengamatan daya berkecambah varietas P-36 dan Bisi 321 menunjukkan nilai persentase yang lebih tinggi di bandingkan varietas uji lainnya yaitu 100 persen dan 98,67 persen. Hal ini juga terjadi pada hasil pengamatan variabel indeks vigor varietas P36 dan Bisi 321 yang menunjukkan persentase lebih tinggi dari varietas lainnya yaitu 90,67 persen dan 83,33 persen. Hasil viabilitas dan vigor benih terendah secara berturut-turut yaitu NK Super, NK7328 dan Lokal.
2. Delapan varietas jagung (*Zea mays*, L.) menunjukkan adanya perbedaan SNP gen RGA DNA. Terdapat 3 titik SNP untuk hasil sekuensing menggunakan primer PMW 1 dan 6 titik SNP untuk hasil sekuensing menggunakan primer SNP PMW 2.

## 5.2 Saran

Saran untuk penelitian berikutnya yaitu:

1. Perlu dilakukan uji serangan *Spodoptera frugiperda* pada fase perkecambahan untuk membuktikan hasil analisis sekuensing bahwa varietas dengan polimorfisme gen RGA DNA yang banyak memengaruhi ketahanan tanaman dari serangan *Spodoptera frugiperda* sejak fase perkecambahan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Nurjanah, dan K. Nanang. 2011. Autentikasi Tuna Steak Komersial dengan Metode PCR-Sequencing. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 1(14): 1-7.
- Argo Surbekti, Nuning, Syafruddin, Roy E, Sri S. 2009. *Morfologi Tanaman dan Fase Pertumbuhan Jagung*. BALITBANGTAN. Jawa Barat. Halaman 22-25.
- Azizah, A. 2009. *Perbandingan Pola Pita Amplifikasi Dna Daun, Bunga Kelapa Sawit Normal dan Abnormal*. Institut Pertanian Bogor . Bogor.  
<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/11339>
- Azrai M. 2005. Ulasan pemanfaatan markah molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *Jurnal AgroBiogen*, 1(1):26-37.
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Produksi dan Produktifitas Jagung Provinsi Lampung*. Lampung. [Https: www.bps.lampung.go.id](https://www.bps.lampung.go.id).
- Bahagiawati. 2011. *Bioteknologi Jalan Pintas Angkat Produksi Petani. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*. Sinar Tani: Jawa Barat.
- Baudron, F., Zaman-Allah, M. A., Chaipa, I., Chari, N., Chinwada, P., 2019. Understanding the factors conditioning fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) infestation in African smallholder maize fields and quantifying its impact on yield: a case study in Eastern Zimbabwe. *Crop Protection*, 120141-150.  
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.028>Blackshields G, IM Wallace, M. Larkin & D.G. Higgins. 2006. Analysis and comparison of benchmarks for multiple sequence alignment. *Silico Biol*, 1(6):321 –339.
- Bustamam, M, Reflinur, Agisimanto, D. Suyono. 2004. Variasi genetik padi tahan blast berdasarkan sidik jari delapan markah gen analog resisten. *Jurnal Biologi Pertanian*, 9(2):56-61.
- CABI. 2018. *CABI Invasive Species Compendium: Spodoptera frugiperda (fall armyworm)*. *Spodoptera frugiperda*.



- Chi MH, Park SY, Lee YH. 2009. A quick and safe method for fungal DNA extraction. *Plant Pathol. J*, 25(1):108-111.  
<http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.2009.25.1.108>.
- Clancy, S. (2008). *Genetic mutation*. Nature Education, 1(1).
- Dachlan, A., Kasim. N., Sari, A.K., 2013. Uji ketahanan salinitas beberapa varietas jagung (*zea mays l.*) Dengan menggunakan agen seleksi nacl. *Jurnal Biogenesis*, 1(1):1-9.
- David J. Dabbs MD. 2019. *Molecular Anatomic Pathology : Principles, Techniques, and Application to Immunohistologic Diagnosis*. Diagnostic Immunohistochemistry Books: USA.  
<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/genetic-polymorphism>
- Dwiyani, Rindang. 2016. *Penggunaan Penanda Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman*. Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.  
[https://simdos.unud.ac.id/uploads/file\\_pendidikan\\_1\\_dir/3bb32d246185f025249b60026f4fb938.pdf](https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/3bb32d246185f025249b60026f4fb938.pdf)
- Edgar RC, S Batzoglou. 2006. Multiple sequence alignment. *Curr Opin Struct Biol* 1(6):368–373.
- Elizabeth Jones, Wen-Chy Chu, Mulu Ayele, Julie Ho, Ed Bruggeman, Ken Yourstone, Antoni Rafalski, Oscar S. Smith, Michael D. McMullen, Chethana Bezawada Jana Warren, Jean Babayev, Sutirtha Basu, Stephen Smith. 2009. Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers for use in commercial maize (*Zea mays L.*) germplasm. *Mol Breeding*, 1(24): 165–166. <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9281-z>
- Gardner. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Indonesia University Press. Jakarta.
- Giaretta, D.R., Bogo, A., Coelho, C.M.M., Guidolin, A. F., Dantas, A. C. de M., and Gomes, E. A. 2010. ITS-rDNA phylogeny of *Colletotrichum* spp. causal agent of apple Glomerella leaf spot. *Ciência Rural*. 40 (4):806-812
- Gomez, A.A., Gomez, K/A. 2010. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian Edisi Kedua*. Jakarta (ID): UI Press.
- Gupta, PK, Roy, JK & Prasad, M 2001, ‘Single nucleotide polymorphisms: a new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Current Sci*, 4(80): 524-526.  
[https://www.researchgate.net/publication/229085137\\_Single\\_nucleotide\\_polymorphisms\\_a\\_new\\_paradigm\\_for\\_molecular\\_marker\\_technology\\_and\\_DNA\\_polymorphism\\_detection\\_with\\_emphasis\\_on\\_their\\_use\\_in\\_plantsPK\\_Gupta\\_JK\\_Roy\\_M\\_PrasadCurr\\_Sci\\_80\\_4\\_524-35](https://www.researchgate.net/publication/229085137_Single_nucleotide_polymorphisms_a_new_paradigm_for_molecular_marker_technology_and_DNA_polymorphism_detection_with_emphasis_on_their_use_in_plantsPK_Gupta_JK_Roy_M_PrasadCurr_Sci_80_4_524-35)

- Gusmiaty, Sari, N.A., Safira, T.N., dan Budiman, A., Larekeng, S.H. 2021. Polimorfisme penanda rapd untuk analisis keragaman genetik kemiri aleurites mollucana di kabupaten maros. *Jurnal Bioma*, 1(6): 22-30. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma/article/download/11814/6291>
- Hatzig Sarah V, Matthias Frisch, Frank Breuer, Nathalie Nesi, Sylvie Ducournau, Marie-Helene Wagner, Gunhild Leckband, Amine Abbadi and Rod J. Snowdon. 2015. Genetic Control and Seed Germination. *Frontiers and Plant Science*, 1(6): 1-2. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00221>
- Herlina, L., Kristianto N., Rarenstradika Y., Sobir., Awang M., Suryono W. 2018. Genetic diversity analysis using resistance gene analog-based markers to support morphological characterization of shallots. *Jurnal AgroBiogen*, 14 (2): 165-167. <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/ja/article/view/9599/8190>
- Hruska AJ, Gould F, 1997. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. *Journal of Economic Entomology*, 90(2):611-622; 27 ref.<https://doi.org/10.1093/jee/90.2.611>
- Huis, A. van, 1981. Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen*, 81(6):221. <https://www.proquest.com/openview/4c4f4ec9d8a8c5806222e8aba0a8c6ba/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y1>
- Hussein Khaeim, Zoltán Kende, Márton Jolánkai, Gergő Péter Kovács, Csaba Gyuricza and Ákos Tarnawa. 2021. Impact of Temperature and Water on Seed Germination and Seedling Growth of Maize (*Zea mays* L.) *Journal Agronomy MDPI*, 12(2): 1-2 <https://doi.org/10.3390/agronomy12020397>.
- Ilyas, Satriyas. 2012. *Ilmu dan Teknologi Benih: Teori dan Hasil-hasil Penelitian*. PT. Penerbit IPB Press. Bogor.
- International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921.
- Irwanto. 2006. *Hubungan Konseptual Antara Keragaman dan Perolehan Genetik*. [https://naturehealthy.webs.com/keragaman\\_genetik.pdf](https://naturehealthy.webs.com/keragaman_genetik.pdf)
- ISTA. 2017. *International Rules for Seed Testing: Edition 2017*. Switzerland: International Seed Testing Association.
- Jagung Bisi. 2020. *BISI 321, Menjawab Keinginan Petani*. <https://jagungbisi.com/bisi-321-menjawab-keinginan-petani/>. Di akses pada 12 Januari 2023.
- Kamil, J. 1982. *Teknologi Benih*. Angkasa. Bandung.

- Kartasapoetra, A.G. 1986. *Teknologi Benih, Pengolahan Benih dan Tuntunan Praktikum*. Bina Aksara. Jakarta.
- Kary B. Mullis, Francois Ferre, Richard A . Gibbs. 1994. *The Polymerase Chain Reaction*. Springer Science+Business Media, LLC. USA
- Kementan. 2018. *Keputusan Menteri Pertanian No. 335/Kpts/TP.010/05/2018 tentang pelepasan galur jagung hibrida X28H51 sebagai varietas unggul dengan nama P36*. <https://e-katalog.lkpp.go.id/jcommon.blob.filedownloader/download?id=e9824a2f3338d79e6b8a31706b2eed5d5a1f1067145c9c817e34fdabe5947893e45eeacecd1b39964e13bc1d1bf7926dbfb239967825064fbd4bb19c1182711afdb2133091462aa0a171fcee2bef9467686035380e3545e7243fca0c85c08677>
- Koerniati, Sri dan Dwinita W Utami. 2013. Identifikasi marka rga (resistance gene analog) untuk sifat ketahanan busuk pangkal batang pada plasma nutfah lada (*piper nigrum*). *Jurnal Bul. Litro*, 2(24): 79-86. <https://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/bultro/article/download/1676/5639>
- Koes, F dan Oom K. 2020. Viabilitas Dan Vigor Benih Beberapa Varietas Jagung (*Zea Mays L.*) Dalam Penyimpanan Terkontrol. *Buletin Penelitian Tanaman Serealia*, 2(4): 33. <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/BS/article/view/12643/9607>.
- Kumar, Manoj Sekhwal, Pingchuan Li, Irene Lam, Xiue Wang, Sylvie Cloutier, and Frank M. You. 2015. Disease Resistance Gene Analogs (RGAs) in Plants. *Int. J. Mol. Sci*, 1 (16): 19248-19290. <https://doi.org/10.3390/ijms160819248>.
- Kurniawati Siti, N.Sri Hartati, Hartati, Enny Sudarmonowati. 2020. Motif single nucleotide polymorphism (snp) gen phytoene synthase (psy) penyandi karotenoid ubi kayu berumbi kuning. *Jurnal Ilmu Dasar*, 1(21) : 19-26. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JID/article/download/9197/7652>
- Kurniawati, Siti, N.Sri Hartati, Hartati, Enny Sudarmonowati. 2021. Motif single nucleotide polymorphism (snp) gen phytoene synthase (psy) penyandi karotenoid ubi kayu berumbi kuning. *Jurnal Ilmu Dasar*, 1(21): 19-26. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JID/article/view/9197/7652>
- Larsen, L., Adams, J., Deal, B., Kweon, B., Tyler, E. 1998. Plants in the workplace: The effects of plant density on productivity, attitudes and perceptions. *Environment and Behavior*, 3(30): 261-281. <https://doi.org/10.1177/001391659803000301>
- Lestari, Puji, Adriyana B, Yuyun F, Fx. Susilo , I Gede Swibawa, Hamim Sudarsono, Radix Suharjo, Agus M. Hariri, Purnomo, Nuryasin, Solikhin, Lestari W, Jumari, Maman H. 2020. Identification and genetic diversity of

spodoptera frugiperda in lampung province indonesia. *Jurnal Biodiversitas*, 4(21): 1670-1677.

- Lusiastuti, Angela Mariana, Helga Seeger, Desy Sugiani, Tatik Mufidah, dan Hesy Novita. 2015. Deteksi polymorphisme dengan substitusi nukleotida tunggal pada streptococcus agalactiae isolat lokal indonesia. *Jurnal Media Akuakultur*, 2(10): 91-95. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma/article/viewFile/961/900>
- Matthews S, Powell A. 2012. Towards automated single counts of radicle emergence to predict seed and seedling vigour. *Seed Testing Internasional*, 142: 44-48.
- Milošević M., Milka Vujaković And Đura Karagić. 2010. Vigour tests as indicators of seed viability. *Journal Genetika*, 1(42): 103-118. DOI:10.2298/GENSR1001103M
- Muhadjir, F. 2018. *Karakteristik Tanaman Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Litbang Pertanian. <http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2018/08/3karakter.pdf>
- Noeryanti IDS, Kartina AM, dan Fitria RE. 2022. Pengembangan metode uji pemunculan radikula sebagai metode uji cepat viabilitas dan vigor pada beberapa varietas benih kopi arabika (coffea arabica l.). *Jurnal Ilmu Pertanian Tirtayasa*, 4(1): 439-456. <https://jurnal.untirta.ac.id/index.php/JIPT/article/download/16585/9395>
- Nugraha, Fadel., Dewi Indriyani Roslim, Yolla Putri Ardilla, Herman. 2014. Analisis Sebagian Sekuen Gen Ferritin2 pada Padi (Oryza sativa L.) Indragiri Hilir, Riau. *Jurnal Biosaintifika*, 2(6): 94-103. DOI: 10.15294/biosaintifika.v6i2.3102
- Notredame C. 2007. Recent evolutions of multiple sequence alignment algorithms. *PLOS Comput Biol* 3:E123.
- Ogunkanmi AL, Oboh B, Onifade B, Ogunjobi AA, Taiwo IA, Ogundipe OT. 2008 An improved method of extracting genomic DNA from preserved tissues of Capsicum annum for PCR amplification. *EurAsia J BioSci*, 2(1): 115-119. [https://www.academia.edu/23260848/An\\_improved\\_method\\_of\\_extracting\\_genomic\\_DNA\\_from\\_preserved\\_tissues\\_of\\_Capsicum\\_annuum\\_for\\_PCR\\_amplification](https://www.academia.edu/23260848/An_improved_method_of_extracting_genomic_DNA_from_preserved_tissues_of_Capsicum_annuum_for_PCR_amplification).
- Ozden, E., C. Ozdamar, I. Demir. 2018. Radicle emergence test estimates predictions of percentage normal seedlings in standard germination tests of aubergine (Solanum melongena L.) seed lots. *Not Bot. Horti. Agrobi*, 46:177-182.

- Pabendon B, Marcia, M. Azrai, F. Kasim, Made JM. 2009. *Prospek Penggunaan Markah Molekuler dalam Program Pemuliaan Jagung*. BALITBANGTAN. Jawa Barat. Halaman 110-115.
- P. Andrew H., Steven D. Tanksley, and Mark E. Sorrells. 1991. *DNA Markers In Plant Improvement*. Academic Press Inc. USA.  
[https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60578-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60578-7)
- Permentan RI No 12/Permentan/TP.020/4/2018 tentang Produksi, Sertifikasi dan Peredaran Benih Tanaman.
- Petani Jagung Lampung. 2020. *Jagung Hibrida BISI 321, Batang Kokoh Sejak Diawal Pertumbuhan*.  
<https://petanijagunglampung.blogspot.com/2020/01/jagung-hibrida-bisi-321-batang-kokoh.html>. Di akses 12 Januari 2023.
- Pramono, E., Timotiwu, P. B., Agustiyansyah, Nurmiaty, Y., Ermawati. 2019. *Penuntun Praktikum: Teknologi Benih*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pujiharti, Y dan Ratna WA. 2021. Strategi peningkatan produksi dan ekspor jagung di provinsi lampung. *Jurnal Agribisnis*, 1(40): 31-43.
- Purwono dan Rudi, H. 2005. *Bertanam Jagung Unggul*. Penebar Swadaya. Bogor. Hal. 10.  
[https://www.google.co.id/books/edition/Bertanam\\_Jagung\\_Unggul/e7eu4JyXqwIC?hl=id&gbpv=1&dq=Jagung&printsec=frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Bertanam_Jagung_Unggul/e7eu4JyXqwIC?hl=id&gbpv=1&dq=Jagung&printsec=frontcover)
- Rahmawati dan Syamsudin. 2013. *Seminar Nasional Serealia: Pengujian Mutu Benih Jagung Dengan Beberapa Metode*. BALITSEREAL. Jawa Barat. Halaman 501-502. <http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/12/1fs13.pdf>.
- Ramadhan, Dini, Rafika S., Pratiwi A. 2019. Pengaruh suhu aneling terhadap amplifikasi gen tem menggunakan primer dengan %gc rendah. *Jurnal Untan*, 1(1): 1-7.  
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/.jmfarmasi/article/download/41442/75676586322>
- Rusnita, Dewi. 2015. SNPS analysis as a tool in molecular genetics diagnostics. *Jurnal MKA*, 1(38):50-51.
- Sadjad, S. 1993. *Dari Benih Kepada Benih*. Jakarta: Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Schmidt, L. 2000. *Pedoman Penanganan Benih Tanaman Hutan Tropis dan Sub Tropis*. Terjemahan Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial, Kementerian Kehutanan. Jakarta.

- Sudrajat, D.J. dan D. Haryadi. (2006). Berat dan ukuran sebagai tolok ukur dalam proses sortasi dan seleksi benih tanaman hutan. *Jurnal Info Benih*, 2(1):45-51
- Sharma K, Mishra AK, Misra RS. 2010. A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. *Afr. J. Biotechnol*, 7(8): 1018-1022.  
[https://www.researchgate.net/publication/27798237\\_A\\_simple\\_and\\_efficient\\_method\\_for\\_extraction\\_of\\_genomic\\_DNA\\_from\\_tropical\\_tuber\\_crops](https://www.researchgate.net/publication/27798237_A_simple_and_efficient_method_for_extraction_of_genomic_DNA_from_tropical_tuber_crops)
- Sheehan, B., Lee, Y.S., Wong, F.S., Chan, J., Labrie, L., Komar, C., Wendover, N., & Grisez, L. 2009. *Streptococcosis in tilapia: A more complex problem than expected*. World Aquaculture Meeting 2009.
- Sinaga A., Lollie APP., Mbue KB. 2017. Analisis pola pita andaliman (*zanthoxylum acanthopodium* d.c) berdasarkan primer opd 03, opd 20, opc 07, opm 20, opn 09. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*, 1(5): 55- 64.  
<https://media.neliti.com/media/publications/109236-ID-analisis-pola-pita-andaliman-zanthoxylum.pdf>
- Sirusa. 2020. *Metadata variabel: Fase pertumbuhan jagung*. Badan Pusat Statistik. <https://sirusa.bps.go.id/sirusa/index.php/variabel/8094>
- Sudarsono H, Susilo FX, Lestari P, Suharjo R, Swibawa IG, Hariri AM. 2019. *Identification of Spodoptera Specimens Collected on Corn Field in Pringsewu District Lampung Province*. Laporan Kerjasama dengan PT Syngenta. Bandar Lampung.
- Sudarsono H. 2019. *Ulat Grayak Spodoptera frugiperda: Kondisi Terkini dan Analisis Dampaknya*. Diskusi Roundtable CIPS Indonesia 17 Juli 2019. Bandar Lampung.
- Susana. 2020. *Pengendalian Ulat Grayak pada Tanaman Jagung Di Desa Sengon Kecamatan Ngambon*. <https://dinperta.bojonegorokab.go.id/berita/baca/44>. Di akses pada 12 Januari 2023.
- Sutanto, Hermanto, Sukma, dan Sudarsono. 2013. Pengembangan marka snap berbasis resistance gene analogue pada tanaman pisang (*musa spp.*) *J. Hort.* 23(4):300-309.
- Sutopo, L. 2004. *Teknologi Benih*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Syafruddin dan Taqur Miranda. 2015. Vigor benih beberapa varietas jagung pada media tanam tercemar hidrokarbon. *J. Floratek*, 1(10): 18-25.
- Tabassum Jehan and Suman Lakhnpaul. 2006. Single nucleotide polymorphism (SNP)–Methods and applications in plant genetics: A review. *Indian Journal of Biotechnology*, Vol 5 October 2006, 439-445.

[https://www.researchgate.net/publication/265936649\\_Single\\_nucleotide\\_polymorphism\\_SNP-Methods\\_and\\_applications\\_in\\_plant\\_genetics\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/265936649_Single_nucleotide_polymorphism_SNP-Methods_and_applications_in_plant_genetics_A_review)

- Tasma, Made. 2015. Pemanfaatan teknologi sekuensing genom untuk mempercepat program pemuliaan tanaman. *J. Litbang Pert.*, 4(34):159-168. <https://media.neliti.com/media/publications/30950-ID-pemanfaatan-teknologi-sekuensing-genom-untuk-mempercepat-program-pemuliaan-tanam.pdf>
- Tasma, Made, Satyawati D, dan Rijzaani H. 2015. Pembentukan pustaka genom, resequencing, dan identifikasi snp berdasarkan sekuen genom total genotipe kedelai indonesia. *Jurnal AgroBiogen*, 11(1):7–16. <https://media.neliti.com/media/publications/73662-ID-pembentukan-pustaka-genom-resequencing-d.pdf>
- Tasma, Made, Sustiprijatno, Mastur. 2016. *Sekuensing Genom Untuk Karakterisasi Sumber Daya Genetik Tanaman*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian: Bogor. <http://repository.pertanian.go.id/bitstream/handle/123456789/11845/sekuensing%20genom2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Timotiwu, Paul Benyamin, Agustiansyah, Wawan Abdullah Setiawan, Hamim Sudarsono. 2021. *Studi Ketahanan Beberapa Varietas Jagung terhadap Hama Ulat Grayak Spodoptera frugiperda Menggunakan Analisis Single Nucleotide Polymorphism Gen RGA*. Laporan Hibah Penelitian. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Twyman, R. 2003. *Mutation or polymorphism?* Wellcome Trust website, [http://genome.wellcome.ac.uk/doc\\_WTD020780.html](http://genome.wellcome.ac.uk/doc_WTD020780.html) (2003).
- Utomo, Setyo Dwi. 2012. *Pemuliaan Tanaman Menggunakan Rekayasa Genetik*. LPPM Lampung. Bandar Lampung
- Viguera, E., Cancell, D., & Ehrlich, S.D. 2001. Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation. *EMBO Journal*, 20, 2587–2595.
- Weeden, N. F. G. M., Timmerman, M., Hemmat, B. E., Kneen, M. A., and Lodhi. 1992. Inheritance and reliability of rapid markers. In applications of rapid technology to plant breeding. *Symposium Proceedings. Crop Science Society of America*, Madison, pp. 12-17.
- Wenkai, Xiao, Xu Mingliang, Zhao Jiuren, Wang Fengge, Li Jiansheng, Dai Jingrui. 2006. Genome-wide isolation of resistance gene analogs in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet*, 1(113): 63–64. DOI: 10.1007/s00122-006-0272-8.

- Widajati, E., E. Murniati, E.R. Palupi, T. Kartika, M. R. Suhartanto, A. Qadir. 2013. *Dasar Ilmu dan Teknologi Benih*. PT Penerbit IPB Press. Bogor.
- Widyawan MH. 2018. *Pengembangan Marka Snp Berbasis Gen Faktor Transkripsi Untuk Toleransi Kekeringan Atau Salinitas Pada Tanaman Hotong [Setaria italica (L.) BEAUV]*. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Widiastuti A, 2017. *Prinsip umum pengujian DNA*. Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura. <http://bbppmbtph.tanamanpangan.pertanian.go.id/assets/front/uploads/document/Prinsip%20Umum%20Pengujian%20DNA.pdf>.
- Xu Baokuan, Xiyan Liu, Xuejiao Song, Qifang Guo, Yongqi Yin, Chunqing Zhang and Yan Li. 2022. High-vigor maize seeds resist fusarium graminearum infection through stronger  $ca^{2+}$  signaling. *Journal Agriculture MDPI*, 1(12): 1-15. <https://doi.org/10.3390/agriculture12070992>
- Yaish, M. W. F., Sáenz De Miera, L. E., & Pérez De La Vega, M. 2004. Isolation of a family of resistance gene analogue sequences of the nucleotide binding site (NBS) type from Lens species. *Genome*, 47(4), 650-651. <https://doi.org/10.1139/g04-027>.
- Yuenleni. 2019. Langkah-langkah optimasi pcr. *Indonesian Journal Of Laboratory*, 3(1): 55-56. <https://jurnal.ugm.ac.id/ijl/article/download/48723/25190>
- Yulong, G., Wangchen, G., Lei, W., Tanchen, Z. 2006. Isolation and characterization of resistance and defense gene analogs in cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Sci. China Ser. C; Life.Sci*, (49) 6:530-531. <https://doi.org/10.1007/s11427-006-2017-y>.