

**OPTIMASI ANALISIS SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) GEN *Disease Resistance Proteins RPS2* GENOM JAGUNG (*Zea mays L.*) 8 VARIETAS  
FASE PERKECAMBAHAN BERBASIS PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Riski Ade Soleh  
1914161030**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

Oleh

**Riski Ade Soleh**

Jagung merupakan komoditas pangan kedua utama di Indonesia setelah padi. Kebutuhan jagung terus meningkat setiap tahunnya. Namun, budidaya tanaman jagung masih mengalami berbagai kendala yang salah satunya ialah serangan hama. Sejak tahun 2019, terdapat hama baru yang menyerang tanaman jagung. Hama ini dikenal dengan *Fall Armyworm* (FAW) atau hama ulat grayak (*Spodoptera frugiperda*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan 8 varietas tanaman jagung terhadap serangan ulat grayak, serta mengoptimasi kondisi PCR terhadap marka SNP *Gen Disease Resistance Protein RPS2* 8 varietas tanaman jagung. Analisis dilakukan pada tanaman jagung dengan 8 varietas, yaitu varietas NK7328, Pertiwi 5, BISI 321, BISI 18, Pionner 36, NK Super, Eksotik, dan Lokal. Pengujian terhadap intensitas serangan ulat grayak menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 4 ulangan, dengan analisis Uji Anava dan Uji Duncun taraf signifikansi 5% menggunakan Rstudio. Varietas yang tahan terhadap intensitas serangan ulat grayak secara berturut-turut yaitu varietas BISI 321, Pertiwi 5, Pionner 36, NK 7328, Lokal, BISI 18, NK Super, dan Eksotik. Analisis DNA menggunakan tanaman jagung usia 7 HST, sampel diekstraksi menggunakan metode kit Promega dengan konsentrasi dan kemurnian DNA hasil  $\geq 800$  ng/ $\mu$ l dan 1,8, secara berturut-turut. Desain Primer marka SNaP *Gen Disease Resistance Protein RPS2* berdasarkan perangkat lunak WebSNAPPER. Terdapat 2 pasang primer yang akan digunakan. Optimasi PCR dilakukan pada suhu *annealing*, waktu *annealing*, dan volume template DNA. Hasil amplifikasi divisualisasi dengan metode *capillary electrophoresis digital*. Kondisi optimum pasangan primer 1 dengan target amplifikasi varietas BISI 321 yaitu suhu *annealing* 52°C dan waktu *annealing* selama 5 detik. Sedangkan kondisi optimum pasangan primer 3 dengan target amplifikasi varietas NK7328 yaitu suhu *annealing* 52°C, waktu *annealing* selama 5 detik, dan volume template DNA 0,4  $\mu$ l.

**OPTIMASI ANALISIS SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) GEN *Disease Resistance Proteins RPS2* GENOM JAGUNG (*Zea mays L.*) 8 VARIETAS FASE PERKECAMBAHAN BERBASIS PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

**Oleh**

**Riski Ade Soleh**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN**

**Pada**

**Jurusan Agronomi dan Hortikultura  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Skripsi : **Optimasi Analisis SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) Gen Disease Resistance Proteins RPS2 Genom Jagung (*Zea mays* L.) 8 Varietas Fase Perkecambahan Berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

Nama Mahasiswa : **Riski Ade Soleh**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914161030

Jurusan : **Agronomi dan Hortikultura**

Fakultas : **Pertanian**

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing



**Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.**  
NIP 196209281987031001



**Wawan A. Setiawan, S.Si. M.Si.**  
NIP 197912302008121001

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



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

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

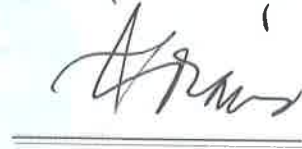
**Ketua : Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.**



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



**Anggota : Dr. Sri Ramadiana, S.P. M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



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

**NIP 196110201986031002**



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 7 Agustus 2023**

## SURAT PERNYATAAN

Saya Riski Ade Soleh mahasiswa Jurusan Agronomi dan Hortikultura angkatan 2019 yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini yang berjudul “Optimasi Analisis SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) *Gen Disease Resistance Proteins RPS2* Genom Jagung (*Zea mays* L.) 8 Varietas Fase Perkecambahan Berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*)” merupakan hasil tulisan saya sendiri berdasarkan pengujian dan saran-saran yang diberikan oleh kedua dosen pembimbing dan dosen penguji. Skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku di Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 7 Agustus 2023

Penulis



Riski Ade Soleh

NPM 1914161030

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis bernama lengkap Riski Ade Soleh, dilahirkan di Jakarta pada tanggal 23 Desember 2000. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Aprizal dan Ibu Zurnamuilis, dan memiliki saudara kandung bernama Rezy Chaniago dan Muhammad Afdhal. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 03 Rawaterate pada tahun 2013, Sekolah Menengah Pertama di SMPN 234 Jakarta pada tahun 2016, dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 59 Jakarta pada tahun 2019.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Agronomi dan Hortikultura pada tahun 2019 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan akademik dan organisasi. Penulis pernah mengikuti organisasi Bina Rohani Islam (BIROHMA), Universitas Lampung pada tahun 2020. Mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Agronomi dan Hortikultura (HIMAGRHO), pada tahun 2021 menjadi anggota Kaderisasi dan Organisasi, dan tahun 2022 menjadi Ketua Umum. Mengikuti organisasi luar kampus yaitu Himpunan Mahasiswa Muda Perguruan Tinggi Universitas Lampung (HIPMI PT UNILA) pada tahun 2022. Mengikuti kegiatan magang di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Universitas Lampung pada tahun 2021. Melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Januari-Februari 2022 di Kelurahan Bidara Cina, Jakarta Timur. Melaksanakan Praktik Umum (PU) pada Juli 2022 di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT), Universitas Lampung. Menjadi peserta Program Kampus Merdeka Batch 3 di Synthesis Academy dalam program Artificial Intelligence for GenZ Jobseekers pada tahun 2022. Menjadi asisten dosen matakuliah Fisiologi Tumbuhan pada tahun 2021, Dasar-Dasar Agronomi pada tahun 2023, dan Bioteknologi Pertanian pada tahun 2023.

“Sejatinya setiap manusia adalah pemimpin, dan setiap pemimpin akan dimintai pertanggung jawaban. Seorang ayah adalah pemimpin untuk keluarganya, dia akan dimintai pertanggung jawaban atas kepemimpinannya. Seorang ibu adalah pemimpin untuk putra-putrinya, dia akan dimintai pertanggung jawaban atas kepemimpinannya. Seorang anak adalah pemimpin untuk kedua orangtuanya, dia akan dimintai pertanggung jawaban atas kepemimpinannya. Sekalipun seorang asisten adalah pemimpin untuk tuan –tuannya, dan dia juga akan dimintai pertanggung jawaban atas kepemimpinannya”.

**“Begitupun kamu adalah pemimpin untuk dirimu sendiri, dan kamu akan dimintai pertanggung jawaban atas dirimu sendiri”.**

-Sabda Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wasalam-

**Pendidikan, Penguasaan teknologi, dan Menjalin relasi**

-BJ. Habibie-

Kita tetap harus jadi anak kecil yang tidak tahu apa-apa dimata kedua orang tua kita, walaupun diluar sana kita seorang pemimpin, memiliki pendidikan yang tinggi, serta disegani dan dihormati dalam masyarakat.

**Maka merendahlah dihadapan keduanya.**

-Ipda Rezy Chaniago, S.T.-



## **PERSEMBAHAN**

Alhamdulillah 'Ala Kulli Hal

Kupersembahkan karya tulis ini kepada kedua orangtuaku, dosen pemimbing,  
saudara-saudaraku, teman-teman seperjuangan dan alamamater tercinta  
Universitas Lampung.

## SANWACANA

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa ta'ala atas rahmat, hidayah serta inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan seluruh rangkaian kegiatan dalam menyelesaikan studi jenjang sarjana dengan menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Optimasi Analisis SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) *Gen Disease Resistance Proteins RPS2* Genom Jagung (*Zea mays*) 8 Varietas Fase Perkecambahan Berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*)”. Penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak yang turut serta memberi dukungan dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penyelesaian laporan skripsi ini. Sebagai wujud rasa hormat, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Agustiyansyah, S.P., M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang memberi saran, bimbingan, dan motivasi sejak penulis masuk menjadi mahasiswa baru sampai dengan selesainya skripsi ini.
4. Bapak Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S., selaku dosen pembimbing pertama yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, nasehat hidup yang mendewasakan, serta waktu, tenaga, dan pikirannya dalam berdiskusi baik secara penyelesaian tugas akhir maupun pandangan hidup sejak pelaksanaan magang sampai penelitian dalam menyelesaikan laporan ini.
5. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, nasehat hidup yang mendewasakan, serta waktu, tenaga, dan pikirannya dalam berdiskusi baik

secara penyelesaian tugas akhir maupun pandangan hidup sejak pelaksanaan magang sampai penelitian dalam menyelesaikan laporan ini.

6. Ibu Dr. Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku dosen penguji dalam penelitian ini atas saran dan kritik membangun terhadap penulisan skripsi ini sejak awal perencanaan sampai skripsi ini selesai.
7. Bapak dan Ibu dosen pengampu mata kuliah pada Program Studi Agronomi dan Hortikultura, Universitas Lampung atas ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan.
8. Tersayang dan tak tergantikan yaitu Ayah, Mama, serta saudara kandung. Bapak Aprizal, Ibu Zurnamuilis, Bang Ipda Rezy Chaniago, S.T., dan Adik Muhammad Afdhal yang selalu memberikan doa, dukungan, dan semangat kepada penulis.
9. Kakak-kakak dan teman seperjuangan dalam penelitian dan penyelesaian skripsi ini, yaitu Mba Adinda Nurulita Putri, S.P., Mba Mikha Selina Putri, S.P., Mba Dian Anjar Sari, Mba Ketut Prihatini, Mba Dona Pertiwi, Mba Desi Anggia Putri, M.Ade Nugraha, Syaklia Naflah, Diana, Asa, dan Kirana Ceri Fortuna yang bersedia meluangkan waktu untuk mengajari, membantu, dan menemani.
10. Teman-teman Angkatan 2019 yang selalu memberi semangat dan dukungan.

Bandar Lampung, 7 Agustus 2023

Penulis,

Riski Ade Soleh

1914161030

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xxii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xxiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xxvi</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kerangka Pemikiran .....	5
1.5 Hipotesis.....	8
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
2.1 Ulat Grayak ( <i>Spodoptera frugiperda</i> ).....	9
2.1.1 Fisiologi .....	9
2.1.2 Morfologi .....	9
2.1.3 Ekologi.....	11
2.1.4 Genetika .....	11
2.1.5 Taksonomi.....	11
2.2 Tanaman Jagung .....	12
2.2.1 Fisiologi Tanaman Jagung .....	12
2.2.2 Morfologi Tanaman Jagung .....	12
2.2.3 Ekologi Tanaman Jagung.....	14
2.2.4 Genetika Tanaman Jagung .....	15
2.2.5 Taksonomi Tanaman Jagung .....	17

2.3	Gen <i>Diseases Resistance Protein RPS2</i> .....	17
2.4	Rangkaian Analisis Biomolekuler .....	18
2.4.1	Ekstraksi DNA .....	18
2.4.2	Analisis Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi .....	20
2.4.3	PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	20
2.4.4	Elektroforesis .....	22
2.4.5	Sekuensing .....	23
2.5	Marka Molekuler <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP) .....	23
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>		<b>25</b>
3.1	Tempat dan Waktu.....	25
3.2	Alat dan Bahan .....	25
3.3	Metode Penelitian .....	26
3.3.1	Uji Intensitas Serangan Ulat Grayak Pada Tanaman Jagung Fase Perkecambahan .....	26
3.3.2	Uji Biomolekuler Tanaman Jagung Pada Fase Perkecambahan.....	26
3.4	Pelaksanaan Penelitian .....	27
3.4.1	Identifikasi Kerusakan Tanaman Jagung Oleh Hama Ulat Grayak ( <i>Spodoptera frugiperda</i> ) Pada Fase Perkecambahan .....	27
3.4.2	Desain Primer Marka SNaP .....	28
3.4.3	Ekstraksi DNA .....	30
3.4.4	PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	31
3.4.5	Elektroforesis hasil PCR.....	31
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>34</b>
4.1	Intensitas Serangan Ulat Grayak Terhadap 8 Varietas Tanaman Jagung Pada Fase Perkecambahan. ....	34
4.2	Hubungan Intensitas Serangan Ulat Grayak Terhadap Marka SNP <i>Gen Disease Resistance Protein RPS2</i> Pada Tanaman Jagung Fase Perkecambahan.....	36
4.3	Optimasi Marka SNP <i>Gen Disease Resistance Protein RPS2</i> Pada Tanaman Jagung Fase Perkecambahan Berbasis PCR.....	37
4.3.1	Desain Primer Marka SNaP.....	38
4.3.2	Ekstraksi DNA .....	39
4.3.3	Optimasi PCR dan Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan Elektroforesis.....	42

<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>51</b>
5.1 KESIMPULAN.....	51
5.2 SARAN .....	51

**DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN**

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 1.</b> Diagram kerangka pemikiran .....	7
<b>Gambar 2.</b> Struktur DNA (Alberts <i>et al.</i> , dalam Nuraini <i>et al.</i> , 2019).....	19
<b>Gambar 3.</b> Siklus PCR (Yusuf, 2010). .....	22
<b>Gambar 4.</b> Tata Letak Percobaan.. .....	27
<b>Gambar 5.</b> Situs Web SNAPER. ....	31
<b>Gambar 6.</b> Basa nitrogen <i>gen disease resistance protein RPS2</i> marka SNP tanaman jagung 7 HST (Putri, 2023).....	37
<b>Gambar 7.</b> Amplifikasi DNA spesifik varietas BISI 321 pasangan primer1.....	44
<b>Gambar 8.</b> Amplifikasi DNA spesifik varietas NK 7328 pasangan primer2.....	48
<b>Gambar 9.</b> Diagram Alir Penelitian .....	61
<b>Gambar 10.</b> Serangan ulat grayak ulangan 1.....	65
<b>Gambar 11.</b> Serangan ulat grayak ulangan 2.....	67
<b>Gambar 12.</b> Serangan ulat grayak ulangan 3.....	69
<b>Gambar 13.</b> Serangan ulat grayak ulangan 4.....	71
<b>Gambar 14.</b> Grafik rata-rata persentase intensitas serangan ulat grayak.....	71
<b>Gambar 15.</b> Parameter jarak interval grafik Uji DMRT intensitas serangan ulat grayak terhadap 8 varietas tanaman jagung pada fase perkecambahan.....	72
<b>Gambar 16.</b> Setting alat PCR pasangan primer 1.....	72
<b>Gambar 17.</b> Setting alat PCR pasangan primer 1.....	73

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Kategori penilaian tingkat serangan hama .....	30
<b>Tabel 2.</b> Pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA .....	32
<b>Tabel 3.</b> Pengaturan PCR .....	33
<b>Tabel 4.</b> Rata-rata persentase intensitas serangan ulat grayak terhadap 8 varietas tanaman jagung pada fase perkecambahan.....	36
<b>Tabel 5.</b> Primer yang digunakan untuk PCR .....	38
<b>Tabel 6.</b> Hasil kuantifikasi dan kemurnian DNA delapan varietas jagung. ....	40
<b>Tabel 7.</b> Hasil optimasi kondisi pereaksi PCR menggunakan primer 1.....	43
<b>Tabel 8.</b> Hasil optimasi <i>setting</i> alat PCR pasangan menggunakan primer 1.....	43
<b>Tabel 9.</b> Hasil optimasi kondisi pereaksi PCR menggunakan primer 3.....	43
<b>Table 10.</b> Hasil optimasi <i>setting</i> alat PCR pasangan menggunakan primer 3.....	40
<b>Tabel 11.</b> Analisis ragam intensitas serangan ulat grayak terhadap 8 varietas tanaman jagung pada fase perkecambahan.....	62
<b>Tabel 12.</b> Uji DMRT intensitas serangan ulat grayak terhadap 8 varietas tanaman jagung pada fase perkecambahan.....	62
<b>Table 13.</b> Hasil pengamatan intensitas serangan ulat grayak pada 8 varietas tanaman jagung fase perkecambahan.....	63
<b>Table 14.</b> Hasil perhitungan intensitas serangan ulat grayak ulangan 1 pada 8 varietas tanaman jagung fase perkecambahan.....	65
<b>Table 15.</b> Hasil perhitungan intensitas serangan ulat grayak ulangan 2 pada 8 varietas tanaman jagung fase perkecambahan.....	66
<b>Table 16.</b> Hasil perhitungan intensitas serangan ulat grayak ulangan 3 pada 8 varietas tanaman jagung fase perkecambahan.....	68



<b>Table 17.</b> Hasil perhitungan intensitas serangan ulat grayak ulangan 4 pada 8 varietas tanaman jagung fase perkecambahan.....	70
--	----

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan salah satu serealia terpenting di dunia setelah gandum dan beras (Sudharani *et al.*, 2012). Jagung merupakan komoditas terpenting di Indonesia setelah padi. Penggunaan jagung semakin meningkat setiap tahunnya. Jagung tidak hanya digunakan untuk konsumsi manusia, tetapi jagung juga digunakan dalam industri makanan dan untuk pakan ternak. Oleh karena itu, permintaan jagung terus meningkat, terutama jagung pakan. Untuk memenuhi kebutuhan jagung dalam negeri, Kementerian Pertanian berencana menambah luas jagung menjadi 4,26 juta hektar, atau 4,11 juta hektar sebelum panen 2022, untuk tetap memproduksi 23,10 juta ton jagung pipilan (Bahtiar *et al.*, 2022).

Upaya peningkatan produksi jagung nasional masih menghadapi berbagai kendala dan masalah yaitu adanya serangan hama yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya penurunan produktivitas. Dalam kaitan penurunan produksi hasil jagung, organisme pengganggu tanaman (OPT) menjadi penyebab penting apabila menginfeksi tanaman pada fase vegetatif, semakin muda tanaman terinfeksi semakin besar peluang kehilangan hasil (Fitrianti. 2016). Hama yang sering dijumpai menyerang pertanaman jagung adalah: lalat bibit (*Atherigona* sp), ulat penggerek batang jagung (*Ostrinia furnacalis*), dan ulat penggerek tongkol (*Helicoverpa armigera*) (Zulaiha *et al.*, 2012). Selain itu, terdapat hama baru yang menyerang tanaman jagung, Hama tersebut ialah ulat grayak (*Spodoptera frugiperda*). Ulat grayak merupakan larva dari ngengat, Kerusakan pada tanaman disebabkan oleh larva dari hama tersebut (Nonci *et al.*, 2019). Hama ulat grayak dapat merusak hampir seluruh bagian tanaman jagung (akar, batang, daun,

tongkol) dan dapat menyebabkan kehilangan hasil yang signifikan apabila tidak ditangani dengan baik (Adhayani, 2021). Sudarsono *et al.*, (2019) menjelaskan bahwa hama ulat grayak sudah masuk ke wilayah Lampung dan menyebabkan kerusakan yang begitu besar, sehingga harus ditangani secara serius.

Pengendalian hama saat ini lebih berorientasi pada konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dengan aspek ekologi dan ekonomi yang berbasis ekologi dan berkelanjutan (Adhayani, 2021). Petani saat ini melakukan pengendalian dengan menggunakan pestisida kimia sintetis atau bahan kimia lain yang tidak ramah lingkungan. Penggunaan pestisida kimia sintetis berdampak negatif terhadap organisme bukan sasaran (hewan dan manusia), menyebabkan resistensi hama, mencemari tanah, tumbuhan, air dan ekosistem lainnya (Zulaiha *et al.*, 2012).

Wang *et al.*, (2023) menyatakan bahwa saat ini, langkah terbaik untuk mengendalikan hama dan penyakit dalam produksi pertanian adalah penerapan varietas tahan. Secara alami tanaman dapat berinteraksi dengan patogen baik dengan kompatibel maupun dengan non-kompatibel. ketahanan tanaman terhadap penyakit yang umumnya dikendalikan oleh kelompok gen ketahanan (R gen). Saat ini beberapa gen yang termasuk dalam kelompok gen ketahanan (R gen) telah diisolasi dan dikarakterisasi dari tanaman yang berbeda (Sutanto, 2013).

Azrai (2006) menjelaskan bahwa dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi molekuler pada awal tahun 1980-an, ditemukan teknologi molekuler yang berbasis pada DNA. Penanda molekuler adalah alat yang sangat baik bagi pemulia dan ahli genetika untuk menganalisis genom tanaman. Sistem ini telah merevolusi bidang pemetaan genetik dan dapat digunakan untuk menjawab pertanyaan tentang keragaman genetik, klasifikasi dan filologi dalam pengelolaan plasma nutfah dan untuk membantu pemuliaan dan seleksi melalui penandaan gen. Penanda molekuler juga dapat digunakan untuk mengkloning gen, yang difasilitasi oleh peta penanda molekuler. Disamping itu, Sarah V.Hatzig *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa sangat penting untuk memahami faktor genetik yang berkontribusi pada kinerja perkecambahan dan pertumbuhan bibit yang memadai. Karena perkecambahan biji adalah sifat yang sangat kompleks yang dikendalikan

pada tingkat transkripsi, translasi, dan metabolisme. Sulit untuk mengidentifikasi faktor genetik yang berkontribusi dengan analisis genetik atau fisiologis konvensional. Metode preferensial untuk identifikasi daerah genom yang terkait dengan sifat-sifat kuantitatif yang kompleks adalah pemetaan asosiasi *genome-wide*, di mana asosiasi penanda-sifat dihitung di serangkaian luas plasma nutfah yang beragam untuk menentukan wilayah kromosom yang menyimpan gen yang menjanjikan.

Dengan adanya permasalahan yang diuraikan diatas, salah satu solusi yang ditawarkan untuk mengatasi hama ulat grayak ialah dengan menciptakan tanaman jagung yang tahan terhadap serangan hama ulat grayak melalui molekuler sejak perkecambahan. Demi menciptakan tanaman jagung yang tahan terhadap serangan hama ulat grayak sejak perkecambahan, maka dilakukan pemanfaatan suatu gen yang tergolong ke dalam gen ketahanan (R gen) yaitu *gen Disease Resistance Protein RPS2 (Disease Resistance Proteins 2)*. Serangkaian penelitian sebelumnya telah dilaksanakan, penelitian tersebut diantaranya yang dilakukan oleh Lestari *et al.*, (2020) yang menjelaskan bahwa secara molekuler hama ini sama dengan hama yang terjadi di negara-negara lain yang sebelumnya telah lebih dulu mengalami ledakan serangan dari hama ini. Selain itu, melanjutkan penelitian yang sedang berjalan terkait isolasi *gen Disease Resistance Protein RPS2* pada tanaman jagung, telah didapatkan *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung sejak masa perkecambahan pada usia perkecambahan 7 hari setelah perkecambahan. Adapun varietas jagung yang digunakan pada penelitian tersebut ialah varietas NK7328, NK Super, Pertiwi 5, BISI 321, BISI 18, Pioneer 36, Eksotik, dan Lokal.

Penggunaan marka molekuler sangat menjanjikan dalam program pemuliaan tanaman, terutama dalam membantu penandaan gen-gen yang mengontrol karakter yang diinginkan, seperti produktivitas dan ketahanan terhadap hama dan penyakit tanaman serta kondisi lingkungan yang ekstrim (Reflinur dan Puji, 2015). Seleksi yang akurat terhadap suatu karakter yang diinginkan dari tanaman adalah dengan berdasarkan pada gen yang mengendalikan karakter tersebut. Informasi genetik dari suatu tanaman khususnya yang terkait dengan suatu

karakter sangatlah penting. Untuk itu identifikasi genetik dengan pendekatan molekuler sangat dibutuhkan dalam kegiatan pemuliaan ini agar memperoleh hasil yang tepat (Nuraida, 2012). Diantara berbagai macam jenis marka, SNPs merupakan marka molekuler terbaru yang ditemukan. SNPs merupakan variasi urutan DNA yang terjadi ketika sebuah nukleotida tunggal A, T, C, dan G dalam suatu genom dari satu varietas memiliki perbedaan dengan varietas lainnya. Artinya, terdapat perbedaan antara sekuens DNA varietas tanaman dengan genom referensinya pada marker tertentu (Savitri, 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai optimasi penggunaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan marka molekuler SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) untuk ketahanan terhadap hama ulat grayak pada tanaman jagung berdasarkan *gen Disease Resistance Protein RPS2* di fase perkecambahan, serta menguji apakah *gen Disease Resistance Protein RPS2* dapat efektif mencegah serangan hama ulat grayak.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kaitannya SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung masing-masing varietas pada fase perkecambahan?
2. Bagaimana kondisi optimum metode PCR yang digunakan untuk identifikasi SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung pada fase perkecambahan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui hubungan antara SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung masing-masing varietas pada fase perkecambahan dengan intensitas serangan ulat grayak.

2. Mengetahui kondisi optimum metode PCR yang digunakan untuk identifikasi SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung pada fase perkecambahan.

#### 1.4 Kerangka Pemikiran

Dewasa ini, tanaman jagung mengalami serangan hama jenis baru yang berasal dari Amerika Serikat. Hama tersebut ialah ulat grayak (*Spodoptera frugiperda*). Hama ini sudah tersebar ke beberapa negara, salah satunya yaitu Indonesia. Sudarsono *et al.*, (2019) telah mengkonfirmasi bahwa serangan hama ulat grayak yang menyerang di wilayah Lampung merupakan hama baru yang berasal dari Amerika Serikat. Serangan hama ulat grayak ini memberikan kerusakan yang besar pada pertumbuhan tanaman jagung yang dapat menyerang sejak fase perkecambahan. *S. frugiperda* bersifat polifag, beberapa inang utamanya adalah tanaman pangan dari kelompok Graminae seperti jagung, padi, gandum, sorgum, dan tebu sehingga keberadaan dan perkembangan populasinya perlu diwaspadai (Silap dan Rante, 2020).

Adanya hama baru yang berpotensi dalam menurunkan produksi jagung menyebabkan perlu adanya solusi pengendalian yang tepat, sehingga keberadaan hama menjadi tidak merugikan. Dalam upaya mengatasi serangan hama pada tanaman jagung, umumnya petani masih menggunakan pestisida sintetik dengan harapan hasil produk pertanian dapat meningkat. Penggunaan pestisida sintetik semakin meningkat dari tahun ke tahun (Yunarti *et al.*, 2013). Penggunaan pestisida yang tidak terkendali akan menimbulkan berbagai masalah kesehatan dan pencemaran lingkungan. Penggunaan pestisida yang dipengaruhi oleh daya racun, volume dan tingkat pemajanan/pemaparan secara signifikan mempengaruhi dampak terhadap kesehatan. Selain itu, dampak penggunaan pestisida pada tanaman juga akan meninggalkan residu pada tanaman tersebut dan pada tanah serta lingkungan disekitarnya. Apabila residu pada tanaman ini termakan oleh manusia akan berdampak buruk pada kesehatan dikemudian hari, dan apabila residu pestisida ini terakumulasi di dalam tanah juga akan berpengaruh pada

kehidupan organisme dalam tanah dan pada tanaman yang ditanam dalam tanah tersebut (Andesgur, 2019).

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengatasi serangan hama ulat grayak ini dengan cara menciptakan tanaman jagung yang tahan terhadap serangan hama ulat grayak. Disamping itu, terdapat suatu gen didalam tanaman yang dikenal dengan istilah gen ketahanan tanaman (R gen), salah satunya yaitu *gen Disease Resistance Proteins RPS2*. Perrotta, *et al.*, (2002) menjelaskan bahwa gen yang mengkode protein ribosomal S2 (RPS2) ada dibanyak genom mitokondria (mt) tanaman monokotil, tetapi tidak ada dalam mtDNA dikotil. Dua gen telah diidentifikasi dalam genom mt jagung dan keduanya ditranskripsi, meskipun pada level yang berbeda. Seperti pada gandum dan beras, gen jagung mengkode protein dengan ekstensi C-terminal yang panjang. Ekstensi ini tidak dilestarikan berurutan. Dengan menggunakan antibodi spesifik terhadap salah satu protein jagung, dikemukakan bahwa itu adalah protein prekursor yang penting sebenarnya disintesis tetapi tampaknya diproses untuk menghasilkan protein RPS2 matang yang terkait dengan ribosom mitokondria.

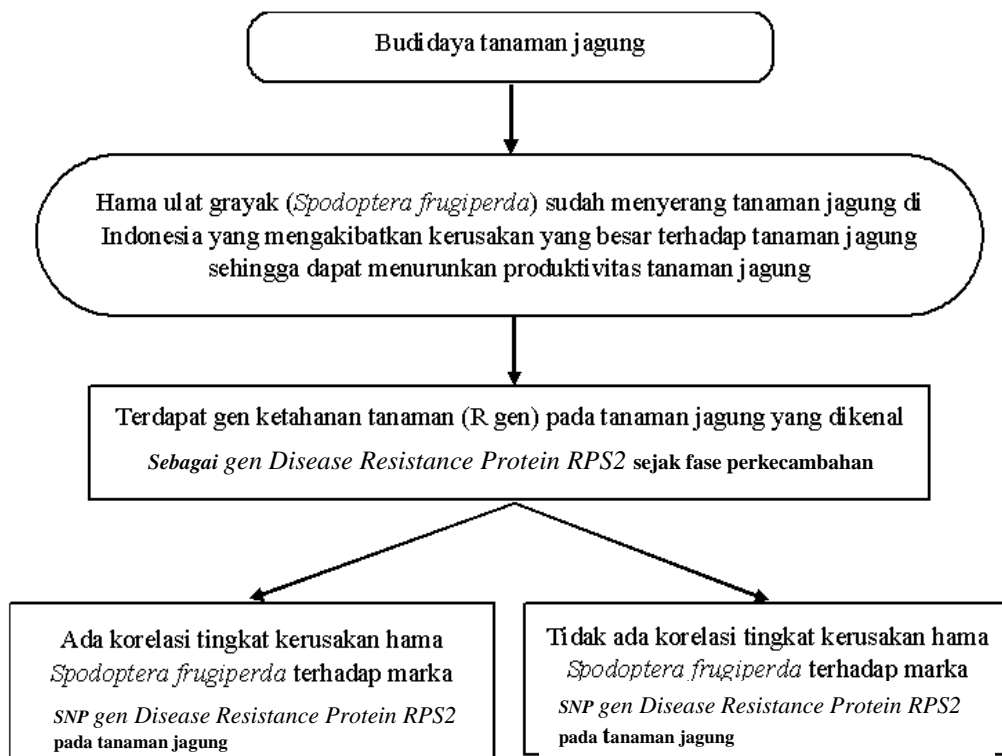
Timotiwu *et al.*, (2023) membuktikan bahwa delapan varietas tanaman jagung yang diuji memiliki perbedaan jumlah intensitas serangan, intensitas serangan paling rendah merupakan kandidat yang dapat digunakan sebagai varietas tahan terhadap ulat grayak. Disamping itu, Putri (2023) telah membuktikan bahwa terdapat marka SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* pada delapan varietas tanaman jagung yang berbeda.

Faizah (2022) menjelaskan bahwa Salah satu terobosan yang efektif dan efisien dalam pengembangan marker DNA tersebut adalah memanfaatkan satu beda basa *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) dari data transkriptomik tanaman tahan dan rentan pada gen target. SNP sangat cocok sebagai penanda molekuler untuk studi genetik (Qi *et al.*, 2017 dalam Faizah, 2020) dan Setiap SNP terkait dengan ekspresi gen (J.J. Liu *et al.*, 2020 dalam Faizah, 2020).

Mammadov *et al.*, (2012) memberikan contoh-contoh hasil pemanfaatan penggunaan marka SNP pada tanaman untuk menentukan kandidat tanaman yang

unggul, salah satu contohnya ialah waktu berbunga, tahan terhadap penyakit hawar daun, dan minyak biji jagung yang tinggi.

Sampai saat ini, peneliti belum menemukan referensi terkait pemanfaatan *gen Disease Resistance Proteins RPS2* untuk menguji ketahanan tanaman jagung terhadap hama ulat grayak. Oleh karena itu, peneliti melakukan pengujian dengan memanfaatkan *gen Disease Resistance Proteins RPS2* untuk mengidentifikasi ketahanan delapan varietas tanaman jagung terhadap serangan ulat grayak pada fase perkecambahan. Penelitian dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimum metode PCR yang digunakan terhadap identifikasi SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung pada fase perkecambahan serta mengidentifikasi *gen Disease Resistance Protein RPS2* pada tanaman jagung mampu menahan serangan hama ulat grayak. Diagram kerangka pemikiran dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Diagram kerangka pemikiran.



## 1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini ialah adalah sebagai berikut:

1. Terdapat hubungan antara SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung 8 varietas pada fase perkecambahan terhadap serangan hama ulat grayak.
2. Terdapat kondisi optimasi PCR yang optimum untuk membedakan varietas tahan atau tidak tahan serangan hama *Spodoptera frugiperda* melalui marka SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2* tanaman jagung.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ulat Grayak (*Spodoptera frugiperda*)

#### 2.1.1 Fisiologi

*Spodoptera frugiperda* bermetamorfosis sempurna, yaitu: telur, 6 instar larva, pupa, dan ngengat. Dalam kondisi hangat, ngengat *S. frugiperda* betina dapat bertelur hingga 2000 butir seumur hidup. *S. frugiperda* merusak tanaman jagung dengan cara larva penggerek daun. Larva instar satu memakan jaringan daun, meninggalkan lapisan epidermis yang transparan. Larva instar kedua dan ketiga membuat lubang gergaji di daun dan memakan daun dari tepi ke dalam. Larva *S. frugiperda* memiliki sifat kanibal, sehingga dalam satu tanaman jagung dapat ditemukan 1-2 larva, perilaku kanibal terjadi pada larva instar 2 dan 3. Sedangkan pada larva instar akhir menyebabkan kerusakan berat yang menyisakan tulang daun dan batang tanaman jagung (Nonci *et al.*, 2019).

Saat musim semi, *S. frugiperda* akan migrasi ke Utara dengan kemampuan terbang hingga 100 km dalam satu malam. Dengan bantuan angin, *S. frugiperda* mampu terbang sejauh 1.700 km dari Mississippi ke Canada dalam waktu 30 jam sebelum meletakkan telur (Diyasti dan Amalia, 2021).

#### 2.1.2 Morfologi

Nonci *et al.*, (2019) menjelaskan terkait siklus hidup dari hama ulat grayak ialah telur, larva, pupa dan ngengat.

### 1. Telur

Betina *S. frugiperda* bertelur di bagian atas atau bawah daun jagung. Telur awalnya berwarna putih saat diletakkan, kemudian berubah menjadi putih kecoklatan keesokan harinya. Telur menetas dalam 2-3 hari.

### 2. Larva

Setelah telur menetas, larva tahap pertama (instar 1) berkembang dan menyebar untuk mencari tempat berlindung dan makanan. Larva *S. frugiperda* terdiri dari 6 instar. Larva instar 1-5 berwarna terang pada awalnya, kemudian berubah menjadi hijau muda kecoklatan dan menjadi gelap pada perkembangan selanjutnya. Durasi perkembangan larva adalah 12-20 hari dari larva yang baru lahir hingga perkembangan akhir, tergantung pada kondisi lingkungan (suhu dan kelembaban). Larva instar akhir (tahap 6) biasanya ditandai dengan tiga garis kuning di sepanjang punggung, diikuti oleh garis hitam dan garis kuning di sepanjang sisi. Terlihat empat titik hitam membentuk persegi dari segmen kedua hingga terakhir, setiap titik hitam memiliki rambut pendek, kepala gelap; Bagian depan kepala memiliki bentuk Y yang agak terbalik.

### 3. Pupa

Larva instar 6 berwarna coklat tua, kemudian menjadi kepompong di dalam tanah. Perkembangan kepompong dapat memakan waktu 12-14 hari sebelum tahap dewasa terjadi.

### 4. Ngegat

Ngegat memiliki lebar sayap 3-4 cm. Sayap depan berwarna coklat tua dan sayap belakang berwarna keputihan. Dapat hidup 2-3 minggu.

Ciri morfologi larva *S. frugiperda* adalah garis-garis berwarna cerah pada punggung bawah, garis-garis tipis pada sisi punggung tubuh, garis-garis tebal seperti pita pada sisi samping dan bagian akhir tubuh. Perut memiliki 4 titik hitam yang membentuk persegi panjang. Bagian kepala memiliki garis membentuk huruf Y terbalik yang membedakannya dengan jenis *S. frugiperda* (Diyasti dan Amalia, 2021).

### 2.1.3 Ekologi

*The Fall armyworm* (FAW) atau *Armyworm* (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) adalah serangga asli daerah tropis dari Amerika Serikat hingga Argentina. *S. frugiperda* dapat menyerang lebih dari 80 spesies tumbuhan, termasuk jagung. Wabah ini sudah menyebar ke beberapa negara, salah satunya Indonesia. Di Indonesia, khususnya di Kabupaten Pasaman Barat, Sumatera Barat, FAW ditemukan merusak tanaman jagung dengan tingkat infestasi yang parah dengan populasi larva 2-10 ekor per tanaman (Nonci *et al.*, 2019).

CABI (2019) menunjukkan bahwa hama (*S. frugiperda*) dapat hidup pada rentangan suhu rata-rata per tahun 17°C - 35°C, dengan curah hujan <100 mm per tahun. Sedangkan pada iklim tropis dengan curah hujan >1500 mm per tahun. Prasetya *et al.*, (2022) menjelaskan siklus hidup *S. frugiperda* adalah selama musim panas yaitu 30 hari, namun dapat mencapai 60 hari pada musim semi dan hingga 80-90 hari pada musim gugur.

### 2.1.4 Genetika

Ulat grayak terdiri dari dua ras, yaitu strain padi (strain R) dan strain jagung (strain C). Strain R lebih suka memakan beras dan berbagai rumput, sedangkan strain C memakan jagung, kapas dan sorgum. Kedua strain tersebut secara morfologis identik, tetapi dapat dibedakan dengan teknik molekuler. Bukti terbaru menunjukkan bahwa keragaman ulat grayak yang menginvasi Afrika lebih besar dari yang diperkirakan sebelumnya, termasuk *haplotype* yang belum diamati di Belahan Barat. Analisis spesimen Afrika Selatan menunjukkan adanya galur jagung dan padi. Di Uganda, populasi ulat grayak ditemukan terdiri dari dua spesies saudara simpatrik dari galur yang menyukai padi dan menyukai jagung (CABI, 2019).

### 2.1.5 Taksonomi

Berdasarkan CABI (2019), Ulat grayak memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insekta
Ordo	: Lepidoptera
Famili	: Noctuidae
Genus	: Spodoptera
Species	: <i>Spodoptera frugiperda</i>

## **2.2 Tanaman Jagung**

### **2.2.1 Fisiologi Tanaman Jagung**

Jagung (*Zea mays* L) adalah tanaman monoecious dimana bunga jantan tanaman terpisah dari bunga betina. Jagung merupakan tanaman C4 yang dapat beradaptasi dengan baik terhadap pertumbuhan dan menghasilkan faktor pembatas. Pada daun tumbuhan C4, zat penghasil fotosintesis yang kemudian membelah adalah sel pembuluh yang mengandung klorofil. Dalam sel-sel ini, terjadi dekarboksilasi malat dan aspartat, menghasilkan CO<sub>2</sub>, yang kemudian memasuki siklus Calvin untuk membentuk pati dan sukrosa. Mengenai kondisi lingkungan, tanaman C4 beradaptasi dengan keterbatasan banyak faktor seperti: B. intensitas radiasi matahari yang tinggi dan suhu siang dan malam yang tinggi, curah hujan yang rendah dan cahaya musim yang tinggi dikombinasikan dengan suhu yang tinggi, dan kesuburan tanah yang relatif rendah. Karakteristik yang berguna dari jagung sebagai tanaman C4 antara lain aktivitas fotosintesis yang relatif tinggi pada kondisi normal, fotorespirasi sangat rendah, transpirasi rendah, dan penggunaan air yang efisien (Muhadjir, 2018).

### **2.2.2 Morfologi Tanaman Jagung**

Morfologi tanaman jagung adalah sebagai berikut:

#### **a. Akar**

Jagung memiliki tiga macam sistem perakaran serabut, yaitu : (a) akar seminal, (b) akar adventif, dan (c) akar kait atau penyangga. Akar seminal adalah akar yang berkembang dari embrio dan radikula (akar primer).

Pertumbuhan akar benih melambat setelah pulmula (batang) muncul dari tanah dan secara otomatis berhenti pada tahap V3. Akar adventif adalah akar yang awalnya berasal dari simpul di ujung mesokotil, kemudian akar adventif terbentuk secara berurutan dari setiap simpul dan berlanjut ke atas antara 7-10 simpul, yang semuanya berada di bawah tanah. Akar adventif berkembang menjadi serabut akar tebal. Pada jagung, akar seminal hanya berperan kecil, sedangkan akar adventif terlibat dalam penyerapan air dan unsur hara ke dalam tanah. Berat total akar jagung terdiri dari 52% akar adventif dan 48% akar nodal. Sedangkan akar tunggang merupakan akar adventif yang terbentuk pada dua atau tiga ruas di atas permukaan tanah (Fiqriansyah *et al.*, 2021). Menurut Riwandi *et al.*, (2014) Akar adventif juga berperan dalam pengambilan air dan unsur hara, akar udara merupakan akar yang muncul pada dua atau tiga ruas di atas permukaan tanah yang berfungsi sebagai penopang agar tanaman jagung tidak tumbang. Akar ini juga membantu dalam penyerapan nutrisi dan air.

#### b. Batang

Tanaman jagung memiliki batang silindris tidak bercabang yang terdiri dari beberapa ruas dan nodus. Simpul memiliki tunas yang berkembang menjadi tongkol. Dua tunas teratas berkembang menjadi tongkol produktif. Batang terdiri dari tiga komponen jaringan utama yaitu kulit (epidermis), jaringan pembuluh (*vascular bundles*) dan bagian tengah batang (jantung) (Rinaldi *et al.*, 2009). Batang tanaman jagung memiliki tinggi antara 150-250 cm. Batang tanaman jagung terlindungi oleh pelepah daun yang berselang-seling dari setiap buku. Memiliki ruas-ruas bagian atas berbentuk silindris, sedangkan pada bagian bawah agak bulat pipih. Tunas batang yang telah berkembang akan menghasilkan tajuk bunga betina. Cabang atau biasa disebut batang liar terlihat pada jagung di pangkal batang. Batang liar merupakan tunas lateral yang terbentuk pada ketiak daun bagian bawah dekat permukaan tanah (Riwandi *et al.*, 2014).

### c. Daun

Daun jagung merupakan tipe daun sempurna, bentuknya memanjang, antara pelepah dan helai daun terdapat ligula. Memiliki tulang daun yang sejajar dengan ibu tulang daun, dengan permukaan daun licin dan berambut. Stoma berbentuk halter, yang khas dimiliki family Poaceae.. Setiap stoma dikelilingi oleh sel epidermis berbentuk kipas. Struktur ini berperan penting dalam respon tanaman terhadap defisit air pada sel daun (Budiman, 2012). Jagung memiliki jumlah daun 8-15, berwarna hijau berbentuk pita, dan tidak bertangkai. Daun jagung tersusun atas petal, bracts, dan filamen daun yang memanjang seperti pita dengan ujung runcing. Selubung daun membungkus batang dan melindungi buah. Tanaman jagung di daerah tropis mempunyai jumlah daun relatif lebih banyak dibandingkan dengan tanaman jagung yang tumbuh di daerah beriklim sedang (Riwandi *et al.*, 2014).

### d. Bunga

Tanaman jagung juga dikenal sebagai tanaman berumah satu karena bunga jantan dan betina terdapat pada tanaman yang sama tetapi letaknya terpisah. Bunga jantan berada di bagian atas tanaman, sedangkan bunga betina berada di paku sekitar setengah batang. Bunga jantan tumbuh di pucuk tanaman dalam bentuk tandan (*inflorescence*). Serbuk sari berwarna kuning dan beraroma khas. Bunga betina tersusun atas tongkol. Tongkol tumbuh dari buku, di antara batang dan pelepah daun. Pada umumnya, satu tanaman hanya menghasilkan satu tongkol produktif meskipun memiliki sejumlah betina (Riwandi *et al.*, 2014).

## 2.2.3 Ekologi Tanaman Jagung

Kemendag (2017) menjelaskan terkait ekologi tanaman jagung. Tanaman jagung merupakan tanaman asli daerah tropis yang memiliki kemampuan beradaptasi dengan lingkungan luar daerah. Jagung tidak memiliki persyaratan lingkungan yang terlalu ketat, dapat tumbuh di tanah yang berbeda meski dalam kondisi agak kering. Namun untuk pertumbuhan yang optimal, jagung membutuhkan beberapa syarat, antara lain:

### 1. Iklim

Iklim yang disukai sebagian besar tanaman jagung adalah subtropis/tropis lembab sampai lembab. Jagung dapat tumbuh pada daerah antara 0-50° LU dan 0-40° LS. Suhu yang diinginkan untuk tanaman jagung adalah 21-34 °C, tetapi untuk pertumbuhan tanaman yang ideal diperlukan suhu optimum antara 23-27 °C. Suhu yang sesuai sekitar 30°C diperlukan selama perkecambahan biji jagung.

### 2. Tanah

Jagung tidak memiliki persyaratan tanah khusus. Untuk pertumbuhan yang optimal, tanah harus gembur, subur dan kaya akan humus. Jenis tanah yang dapat ditanami jagung antara lain:

Andosol (berasal dari gunung berapi), Latosol, Grumosol, tanah berpasir. Pada tanah berstruktur tinggi (Grumosol), jagung dengan campuran tanah yang baik tetap dapat ditanam dengan hasil yang baik. Sedangkan tanah dengan lempung/lempung berdebu (latosol) paling baik untuk pertumbuhannya. Keasaman tanah berkaitan erat dengan ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Keasaman tanah yang baik untuk tumbuh tanaman jagung adalah pH antara 5,6 sampai 7,5. Tanaman jagung membutuhkan aerasi dan air yang baik. Lahan dengan kemiringan kurang dari 8% cocok untuk budidaya jagung karena kemungkinan terjadinya erosi tanah sangat kecil. Untuk daerah dengan kemiringan lebih dari 8%, sebaiknya dibuat terasering terlebih dahulu.

### 3. Ketinggian tempat

Jagung dapat tumbuh di Indonesia dari dataran rendah hingga daerah pegunungan pada ketinggian 1000-1800 meter di atas permukaan laut. Daerah dengan ketinggian optimum 0-600 m dpl merupakan ketinggian yang baik untuk pertumbuhan tanaman jagung.

#### **2.2.4 Genetika Tanaman Jagung**

Banyak peneliti percaya bahwa jagung berasal dari Meksiko karena jagung dan spesies jagung liar (teosinte) telah lama ada di daerah tersebut dan masih



ditemukan di habitat aslinya. Ini juga didukung oleh penemuan fosil serbuk sari dan tongkol jagung di gua-gua, dan kedua spesies tersebut memiliki keragaman genetik yang besar. Teosinte dipercaya sebagai nenek moyang (*progenitor*) tanaman jagung (Iriany *et al.*, 2016).

Nenek moyang tanaman jagung merupakan keturunan dari kerabat liar tanaman jagung. Sebelum ditemukannya teosin jagung primitif dan *tripsacum*, tanaman jagung liar banyak digunakan dan dibudidayakan. Jagung adalah mutasi unsur dan seleksi alam. Biji teosinte tertutup dalam bentuk buah yang keras. Bahan dari buah ini sama dengan jagung, namun ada evolusi dalam perkembangannya sehingga tidak terbungkus seperti teosinte, dan berbuah menjadi bulir jagung. Biji teosinte terbungkus berbentuk buah yang keras. Bahan dari buah ini sama dengan jagung, namun ada evolusi dalam perkembangannya, tidak dibungkus teosinte, namun sekarang menjadi bulir jagung. Iriany *et al.*, (2016) menyatakan bahwa dalam penelitian Doebly dan Stec (1991, 1993) Doebly *et al.*, (1990) dan Dorweiler *et al.*, (1993) melakukan penelitian dan menggambarkan dan memetakan lokus sifat kuantitatif (QTL) *tga1* (*teosinte glomere architecture 1*) menunjukkan perbedaan utama antara teosinte dan jagung. Ketika QTL jagung, *tga1*, dipindahkan ke teosinte, kernel tidak menempel pada tutup dan terbelah. Pada percobaan terbalik, teosinte *tga1* ditransplantasikan ke tanaman jagung, gluten menjadi lebih keras dan mengembangkan karakter seperti teosinte. Penemuan lokus *tga1* adalah bukti evolusi bentuk teosinte pada jagung. Ini juga menggambarkan peristiwa perubahan adaptif baru, perkembangannya ditentukan oleh lokasi dan proses perubahan adalah bukti kuat.

Studi filogenetik menunjukkan bahwa jagung adalah keturunan langsung dari teosinte (*Zea mays* ssp. *Parviglumis*). Seperti jagung, teosinte memiliki 10 pasang kromosom yang secara sitogenetik mirip dengan jagung, dan persilangannya menghasilkan keturunan yang subur. Jagung memiliki 10 kromosom pada sel reproduksi (haploid), 20 kromosom pada sel somatik (diploid), dan 30 kromosom pada sel endosperma (triploid). Secara umum jagung mempunyai 10 pasang kromosom (Iriany *et al.*, 2016).

### 2.2.5 Taksonomi Tanaman Jagung

Klasifikasi tanaman jagung adalah sebagai berikut (Prahasta, 2009):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledone
Ordo	: Graminae
Family	: Graminaceae
Genus	: Zea
Spesies	: <i>Zea mays</i> L.

### 2.3 Gen *Diseases Resistance Protein RPS2*

Gen yang memberikan resistensi terhadap berbagai penyakit dan patogen penyakit dikenal sebagai R-gen. R-gen pada tanaman memiliki jumlah genom yang melimpah mewakili sekitar 1% dari semua gen. Besar sejumlah gen-R telah dikloning dan dikarakterisasi pada tanaman menggunakan pendekatan penandaan berbasis peta dan transposon. Gen-R ini sebagian besar terdiri dari nukleotida yang dilestarikan *domain nucleotide binding site-leucine-rich repeat* (NBS-LRR) (Saha *et al.*, 2013). Mackey *et al.*, (2003) menjelaskan bahwa ketahanan tanaman sering ditentukan oleh alel spesifik gen ketahanan (R). Kelas utama protein R mengandung *nucleotide binding site* (NB) dan *leucine-rich repeat* (LRR) dan disebut protein NB-LRR.

Protein NBS-LRR sensitif terhadap protein efektor patogen, yang menyebabkan efektor protein untuk memicu respon imun ETI, sehingga tanaman dapat menghasilkan respon defensif terhadap bakteri, virus, jamur, dan patogen lainnya. Protein NBS-LRR tidak hanya mampu untuk secara langsung atau tidak langsung mengenali produk protein efektor dari patogen, tetapi juga bisa berinteraksi dengan mereka. Pengenalan efektor ini dapat menyebabkan perubahan konformasi protein NBS-LRR, ia berubah dari keadaan penghambatan ke keadaan aktivasi,

sehingga menjadi aktif transduksi sinyal hilir dan menghasilkan respons pertahanan (Wang *et al.*, 2023).

RPS2 memainkan peran up-regulasi dalam transkripsi miR393b, yang merupakan microRNA dan memiliki tiga gen target: MEMB12 (yang mengkode untuk Protein SNARE yang terletak di badan golgi), VPS54 (yang mengkode bagi homolog protein yang terlibat dalam transpor retrograde dari endosom sekunder ke badan Golgi), dan EXO70H3 (subunit kompleks vesikel yang diperlukan untuk eksositosis), ketiga gen tersebut terlibat dalam proses transpor membran. Merobohkan MEMB12 juga dapat meningkatkan sekresi protein pertahanan PR-1 yang diinduksi oleh aktivasi RPS2. Respon imun yang diinduksi oleh protein NBS-LRR setelah mengenali protein efektor patogen biasanya terkait dengan lokalisasinya dalam sel (Wang *et al.*, 2023).

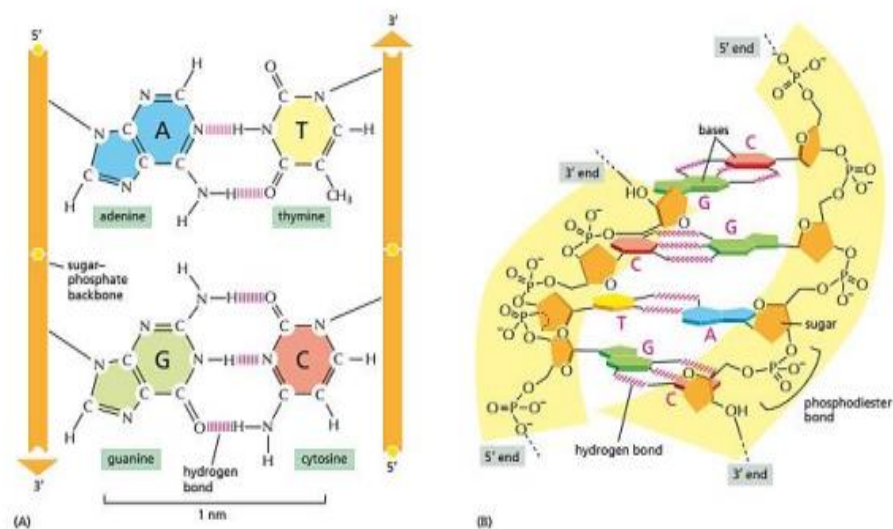
RPS2 adalah sumber daya penting untuk pengembangan penanda molekuler, karenanya banyak pemuliaan melakukan upaya resistensi penyakit. Domain yang dilestarikan dalam gen seperti urutan gen NBS-LRR mewakili peluang untuk merancang strategi berbasis PCR dengan *degenerate* primer untuk amplifikasi dan isolasi banyak urutan terkait pada spesies tumbuhan lain. Beberapa penanda DNA dikembangkan dari urutan RPS2 terisolasi telah digunakan untuk beberapa tujuan, seperti analisis keragaman genetik, penandaan sifat-sifat terkait resistensi penyakit, dan penemuan gen kandidat dalam beberapa tanaman (Herlina *et al.*, 2018).

## **2.4 Rangkaian Analisis Biomolekuler**

### **2.4.1 Ekstraksi DNA**

DNA (*Deoxyribonucleic acid*) adalah polinukleotida *double helix* yang tersusun atas gula deoksiribosa, basa nitrogen, dan gugus fosfat. DNA berfungsi sebagai pembawa informasi genetik makhluk hidup. Untai DNA terdiri dari serangkaian nukleotida yang dihubungkan oleh ikatan fosfodiester yang terbentuk antara gula pentosa dan gugus fosfat. Sedangkan, untai ganda DNA terhubung melalui ikatan

hidrogen yang terbentuk di antara pasangan basa nitrogen. Pasangan basa nitrogen DNA adalah adenin dan timin (dua ikatan hidrogen) dan guanin dan sitosin (tiga ikatan hidrogen). DNA memiliki orientasi anti paralel yaitu terdiri dari untai ujung 5' ke ujung 3' dan untai ujung 3' ke ujung 5' yang berpasangan (Nuraini *et al.*, 2019). Struktur DNA dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur DNA (Alberts *et al.*, dalam Nuraini *et al.*, 2019).

Identifikasi molekuler memiliki tahapan pertama yaitu isolasi DNA genomik. Isolasi DNA dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu lisis, presipitasi, dan purifikasi (Setiawan *et al.*, 2021). Prinsip isolasi DNA adalah memperoleh DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein dan karbohidrat. Isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia. Secara fisik, sel-sel dipecah dengan kekuatan mekanik yaitu secara *freeze-thaw*, *bead mill homogenization* dan resonansi, seperti sonikasi. Pada saat yang sama, sel dirusak secara kimia dengan buffer lisis yang mengandung senyawa kimia yang dapat merusak penghalang dinding sel, seperti SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) dan CTAB (*Cetyltrimethylammonium bromide*) (Cheng *et al.*, 2003).

#### 2.4.2 Analisis Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi

DNA hasil ekstraksi dianggap murni jika rasio absorbansi antara 1,8 dan 2,0. Nilai kemurnian DNA dihitung dengan membagi nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 280 nm (Dewanata, 2021). Kualitas DNA genomik yang baik merupakan hal penting yang dibutuhkan dalam aplikasi biologi molekuler (Murtiyaningsih, 2017). Kualitas DNA yang baik yang diperoleh dari hasil ekstraksi merupakan prasyarat yang harus dipenuhi dalam studi molekuler (Syafarudin *et al.*, 2011).

#### 2.4.3 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Salah satu teknik analisis genetik adalah PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Sebelum melakukan PCR pada sampel penelitian, harus dilakukan optimasi untuk mendapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai untuk hasil PCR yang optimal (Yuenleni, 2019). Analisis molekuler dengan metode PCR yang menggunakan metode replikasi DNA dengan primer mengapit daerah tertentu dan optimasi suhu dilakukan untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimum, sehingga dihasilkan produk PCR spesifik (Ludyasari, 2014). Tujuan optimasi primer adalah untuk mendapatkan suhu *annealing* yang optimal untuk setiap primer (Roberdi dan Ogi, 2019). Untuk mendapatkan hasil PCR yang terbaik, diperlukan optimasi proses PCR. Secara umum optimasi proses PCR dapat dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan dalam proses PCR. Optimalisasi kondisi terkait erat dengan faktor-faktor seperti jenis DNA polymerase, suhu, dan konsentrasi, yang dalam hal ini mengacu pada dNTPs, MgCl<sub>2</sub> dan DNA polymerase, buffer PCR dan waktu (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

PCR merupakan teknologi yang mampu melipatgandakan fragmen DNA yang terdapat dalam kompleks makromolekul genom dari berbagai sumber (hewan, tumbuhan, bakteri, dan virus) menjadi 2<sup>n</sup> kali lipatnya secara enzimatik (Budiarto, 2015). Komponen yang dibutuhkan dalam proses PCR adalah DNA template, pasangan primer yang merupakan oligonukleotida pendek yang urutan nukleotidanya komplementer dengan urutan nukleotida DNA cetakan; dNTP

(*deoxynucleotide triphosphates*); penyangga PCR; Magnesium klorida ( $MgCl_2$ ) dan enzim DNA polimerase (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

Yusuf (2010) menjelaskan terkait komponen utama yang diperlukan pada proses PCR adalah sebagai berikut:

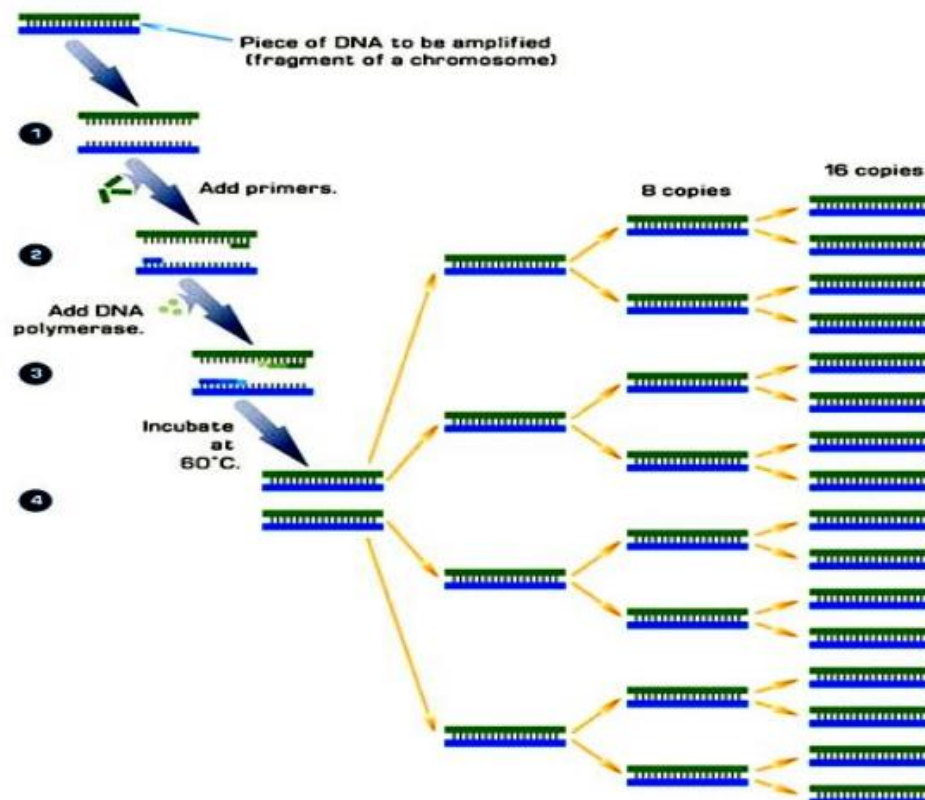
- a. DNA cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan. DNA cetakan yang digunakan sebaiknya berkisar antara 10<sup>5</sup> – 10<sup>6</sup> molekul. Dua hal penting tentang cetakan adalah kemurnian dan kuantitas.
- b. Oligonukleotida primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (18 – 28 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA dan mempunyai kandungan G + C sebesar 50 – 60%.
- c. *Deoksiribonukleotida trifosfat* (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. dNTP mengikat ion  $Mg^{2+}$  sehingga dapat mengubah konsentrasi efektif ion. Ini yang diperlukan untuk reaksi polimerasi.
- d. Enzim DNA Polimerase, yaitu enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis rantai DNA. Enzim ini diperoleh dari eubacterium yang disebut *Thermus aquaticus*, spesies ini diisolasi dari taman *Yellowstone* pada tahun 1969. Enzim taq polimerase tahan terhadap pemanasan berulang-ulang yang akan membantu melepaskan ikatan primer yang tidak tepat dan meluruskan wilayah yang mempunyai struktur sekunder.
- e. Komponen pendukung lain adalah senyawa buffer. Larutan buffer PCR umumnya mengandung 10 – 50mM Tris-HCl pH 8,3-8,8 (suhu 20° C); 50 mM KCl; 0,1% gelatin atau BSA (*Bovine Serum Albumin*); Tween 20 sebanyak 0,01% atau dapat diganti dengan Triton X-100 sebanyak 0,1%; disamping itu perlu ditambahkan 1,5 mM  $MgCl_2$ .

Budiarto (2015) menjelaskan terkait ada tiga tahapan proses PCR adalah sebagai berikut:

1. Denaturasi cetakan/template DNA pada suhu 94-95° C,
2. *Annealing*/penempelan primer-primer pada segmen tertentu DNA menggunakan suhu spesifik (suhu spesifik ini didapatkan dari nilai - T<sub>m</sub> primer dikurangi 5° C) dimana fragmen DNA akan diperbanyak, dan

3. Polimerasi pada suhu 72° C yaitu suhu optimal enzim untuk memanjangkan primer-primer yang sudah menempel tadi.

Adapun waktu yang dibutuhkan untuk berpindah dari satu langkah ke langkah selanjutnya dalam satu kali siklus PCR adalah bergantung pada mesin PCR tetapi secara umum durasi denaturasi biasanya paling lama 30 detik, durasi *annealing* sangat bergantung pada spesifikasi dan panjang primer yang dibuat tetapi untuk mudahnya durasi tidak kurang dari 15 detik dan tidak lebih lama dari 1 menit, sedangkan durasi polimerasi sangat ditentukan oleh panjang fragmen DNA yang dihasilkan dan secara kasar ditetapkan untuk memperbanyak fragmen DNA dengan ukuran 1 kb dibutuhkan durasi 1 menit tergantung pada jenis enzim polimerase yang digunakan (Budiarto, 2015). Siklus PCR dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Siklus PCR (Yusuf, 2010).

#### 2.4.4 Elektroforesis

Prinsip dasar elektroforesis adalah pergerakan molekul atau ion bermuatan melalui media semi padat di bawah pengaruh medan listrik. Elektroforesis dapat digunakan untuk menentukan ukuran DNA menggunakan penanda DNA yang diketahui ukurannya. Penanda DNA ini berfungsi sebagai acuan sehingga perkiraan ukuran sampel DNA dapat ditentukan. Ketika molekul bermuatan negatif (DNA) dilewatkan melalui gel agarosa, arus listrik mengalir dari satu kutub ke kutub yang berlawanan, menyebabkan molekul berpindah dari kutub negatif ke kutub positif, memungkinkan DNA dipisahkan dengan elektroforesis dan dapat memisahkan DNA berdasarkan ukuran panjangnya (Suandri dan Priadi, 2019).

#### 2.4.5 Sekuensing

Sekuensing DNA adalah teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu segmen molekul DNA. Informasi paling mendasar suatu gen ialah sekuens DNA atau urutan basa nukleotida karena mengandung instruksi yang dibutuhkan untuk pembentukan tubuh makhluk hidup. Sekuensing dapat digunakan untuk mengetahui kode genetik dari molekul DNA dengan cara membandingkan sekuensya dengan sekuens DNA yang telah diketahui (Kusuma, 2019).

Terdapat dua macam metode sekuensing yang telah dikembangkan, metode *Maxam-Gibert* dan metode *Sanger* yang keduanya diperkenalkan pada tahun 1977. Pada metode *Sanger* dikenal dengan metode terminasi rantai, sedangkan pada metode *Maxam-Gibert* dikenal dengan metode degradasi kimia. Pada umumnya metode yang sering digunakan ialah metode *Sanger*, karena lebih mudah, praktis, dan efisien, selain itu jutaan nukleotida dari berbagai spesies telah berhasil di sekuensing menggunakan metode *Sanger* (Arham, 2015).

### 2.5 Marka Molekuler *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

Markah molekuler adalah suatu penanda pada level DNA yang menawarkan keleluasaan dalam meningkatkan efisiensi pemuliaan konvensional dengan



melakukan seleksi tidak langsung pada karakter yang diinginkan, yaitu pada markah yang terkait dengan karakter tersebut (Pabendon *et al.*, 2007).

Pemanfaatan markah DNA sebagai alat bantu seleksi *Marker Assisted Selection* (MAS) lebih bermanfaat daripada seleksi fenotipik. Seleksi dengan penanda molekuler hanya didasarkan pada sifat genetik tanaman yang tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Hal ini menjadikan kegiatan pemuliaan tanaman lebih akurat, lebih cepat dan relatif lebih hemat biaya dan waktu (Azrai, 2005).

Dengan berkembangnya teknologi berbasis penanda DNA, telah ditemukan tiga jenis penanda DNA yang masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan. Tiga jenis penanda DNA adalah (1) penanda berbasis hibridisasi DNA seperti polimorfisme panjang fragmen restriksi (RFLP); (2) Penanda berdasarkan reaksi berantai polimerase dan menggunakan urutan nukleotida sebagai primer, misalnya DNA Polimorfik Amplifikasi Acak (RAPD) dan Polimorfisme Panjang Fragmen Amplifikasi (AFLP); dan (3) penanda berbasis PCR menggunakan primer yang mengandung sekuens komplementer spesifik pada DNA target, seperti *Sequence Tagged Sites* (STS), *Sequence Characterized Amplified Regions* (SCAR), *Simple Sequence Repeats* (SSR) atau mikrosatelit (*microsatellites*). dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) (Azrai, 2005).

SNP adalah variasi yang melibatkan hanya satu nukleotida, atau basa. Salah satu dari empat basa DNA dapat diganti dengan yang lain. Adenin (A) sebagai pengganti Timin (T), Timin (T) sebagai pengganti (Citosin) C, Guanin (G) sebagai pengganti A, dan seterusnya. Telah dikemukakan bahwa, secara teoritis, SNP dapat memiliki empat kemungkinan bentuk, atau alel, karena ada empat jenis basa dalam DNA. Transisi dan transversi dimungkinkan. Namun, kebanyakan SNP hanya memiliki dua alel. Sebagai contoh, perubahan segmen DNA AAGGTTA ke ATGGTTA, di mana adenin kedua dalam potongan pertama diganti dengan timin, adalah contoh dari SNP (Kassam, *et al.*, 2005).

Menurut Azrai (2005), marka SNP tergolong marka generasi ketiga. Penanda ini adalah mutasi titik di mana satu nukleotida digantikan oleh yang lain di lokasi tertentu. SNP adalah jenis yang lebih umum untuk membedakan urutan antara

alel, bersifat kodominan, dan mewakili penanda polimorfik dari sumber daya yang tidak habis-habisnya untuk digunakan dalam pemetaan genetik resolusi tinggi dari suatu karakter basis data urutan gen tertentu. Pengujian dengan marka SNP dapat dilakukan pada tanaman seperti padi dan jagung yang informasi genomnya cukup lengkap.

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi, dan Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan. Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung, Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2023.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada pengujian serangan ulat grayak menggunakan alat tray semai 200 lubang, plastik mika, pinset, dan label. Sedangkan pada pengujian analisis biomolekuler menggunakan alat autoklaf, laminar, pisau karter, tisu, mortal, pistil, PCR tube, pipet tip (1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L), *tube mikrocentrifuge* (1,5 ml, 0,5ml), tube PCR 0,2 ml, vortex, *heating block*, *frezzer*, *ice box*, *centrifuge*, *tissue lyser*, *nanophotometer*, mesin PCR, dan mesin elektroforesis *QIAxcel Advanced System*.

Bahan yang digunakan uji serangan ulat grayak menggunakan benih jagung varietas NK 7328, Pertiwi 5, BISI 321, BISI 18, Pionner 36, NK Super, Eksotik, dan Lokal, media tanam, dan ulat grayak instar 3. Sedangkan pada pengujian analisis biomolekuler menggunakan bagian meristem tanaman jagung 8 varietas, sampel DNA tanaman jagung 8 varietas, kit ekstraksi promega, alkohol, master mix PCR, ddH<sub>2</sub>O, primer PCR, dan DNA template.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Uji Intensitas Serangan Ulat Grayak Pada Tanaman Jagung Fase Perkecambahan

Metode penelitian yang digunakan pada pengujian intensitas serangan ulat grayak menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 ulangan, perlakuan faktor tunggal yaitu 32 ulat grayak, dan variabel pengamatan menggunakan intensitas serangan ulat skala 1-4. Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan aplikasi R-Studio untuk uji anara dan uji duncan pada taraf signifikansi 5%. Berikut adalah tata letak percobannya:

Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3		Ulangan 4	
J1	J5	J6	J4	J2	J7	J5	J3
J2	J6	J3	J1	J8	J5	J4	J1
J4	J7	J5	J8	J6	J3	J7	J8
J3	J8	J2	J7	J1	J4	J6	J2

**Gambar 4.** Tata Letak Percobaan.

Keterangan:

J1 : Varietas NK7328

J2 : Varietas Pertiwi 5

J3 : Varietas BISI 321

J4 : Varietas BISI 18

J5 : Varietas P36

J6 : Varietas NK Super

J7 : Varietas Eksotik

J8 : Varietas Lokal

### **3.3.2 Uji Optimasi PCR Marka SNP *Gen Disease Resistance Protein RPS2* Pada Tanaman Jagung Fase Perkecambahan**

Metode penelitian yang digunakan pada uji optimasi PCR yaitu eksperimen dan deskriptif dengan variabel pengamatan meliputi variabel utama dan variabel pengacau terkendali. Variabel utama terdiri dari variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas meliputi suhu *annealing* dan volume primer, sedangkan variabel tergantung meliputi kondisi reprodusi dari produk PCR. Variabel pengacau terkendali meliputi kemurnian DNA, ketepatan primer, dan ketepatan suhu PCR.

Pemanfaatan marka ketahanan terhadap hama dan penyakit, marka SNP dapat dikonfirmasi untuk membedakan tanaman yang memiliki sifat resistensi dengan mengevaluasi polimorfisme gen ketahanan terhadap ketahanan tanaman lapangan. Evaluasi tersebut perlu dilakukan untuk seluruh marka SNAP yang teridentifikasi. Apabila marka SNAP yang diuji mampu mengelompokkan kultivar atau spesies tanaman yang berbeda-beda responsnya terhadap penyakit, maka marka SNAP tersebut berpotensi digunakan sebagai marka untuk sifat resistensi penyakit (Sutanto, 2013). Berdasarkan SNP gen *Disease Resistance Protein RPS2* yang telah diidentifikasi oleh Putri (2023), didesain marka SNaP untuk diujikan kepada 8 varietas tanaman jagung tersebut. Selanjutnya dilakukan ekstraksi DNA dari masing-masing varietas jagung. Hasil ekstraksi DNA digunakan sebagai template PCR untuk mengkonfirmasi primer marka SNaP yang didesain.

## **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

### **3.4.1 Identifikasi Kerusakan Tanaman Jagung Oleh Hama Ulat Grayak (*Spodoptera frugiperda*) Pada Fase Perkecambahan Benih**

Identifikasi kerusakan tanaman jagung pada fase perkecambahan oleh hama ulat grayak dilakukan di Laboratorium Ilmu Hama Tumbuhan, Fakultas Pertanian. Perkecambahan benih tanaman jagung dilakukan dengan menggunakan alat tray

semai ukuran 200 lubang tanam menggunakan media tanam komersil. Setiap lubang ditanami sebanyak satu benih jagung. Setiap varietas jagung yang digunakan sebanyak 25 benih yang dikelompokkan berdasarkan petakan yang telah ditentukan. Benih yang dikecambahkan menggunakan benih jagung varietas NK7328, NK Super, Pertiwi 5, BISI 321, BISI 18, P36, Eksotik, dan Lokal. Setelah kecambah benih jagung berusia 5 HST, kemudian ulat grayak instar 2-3 disebar secara merata kedalam tray semai sebanyak 32 ulat. Percobaan ini dilakukan sebanyak 4 ulangan. Selanjutnya dilakukan perekaman non stop menggunakan kamera. Pengamatan intensitas serangan ulat grayak ini dilakukan sampai seluruh ulat grayak yang digunakan telah menjadi kepompong (Instar 6 akhir). Setelah ulat grayak menjadi kepompong, kemudian dilakukan perhitungan intensitas kerusakan menggunakan skala 1-4 dan data hasil perhitungan dilakukan pengujian dengan uji anova dan uji lanjutan menggunakan uji DMRT (Duncan) pada taraf signifikansi 5% menggunakan aplikasi R-Studio untuk menentukan perbedaan ketahanan dari masing-masing varietas yang diuji.

Tingkat serangan hama dihitung berdasarkan rumus (Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, 2021):

$$I = \frac{\sum_{i=0}^z (n_i \times v_i)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan :

I = Intensitas serangan (%)

$n_i$  = Jumlah tanaman atau bagian tanaman contoh dengan skala kerusakan  $v_i$

$v_i$  = Nilai skala kerusakan contoh ke- $i$

N = Jumlah tanaman atau bagian tanaman contoh yang diamati

Z = Nilai skala kerusakan tertinggi

Adapun kategori penilaian tingkat serangan hama adalah sebagai berikut:

**Tabel 1.** Kategori penilaian tingkat serangan hama

Kategori	Tingkat Serangan Pada Tanaman
Ringan	bila tingkat serangan > Ambang Pengendalian $\leq 25\%$
Sedang	bila tingkat serangan > 25 $\leq 50\%$
Berat	bila tingkat serangan > 50 $\leq 85\%$
Puso	bila tingkat serangan > 85%

Sumber. (Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, 2021).

### 3.4.2 Desain Primer Marka SNaP

Sebelum dilakukan desain primer untuk marka SNP, marka SNP tanaman jagung pada hasil sekuensing penelitian (Putri, 2023) dilakukan identifikasi letak dan susunan basa SNP. Setelah didapatkan hasil identifikasi SNP, selanjutnya dilakukan pendisainan primer untuk marka SNP. Sutanto (2013) menjelaskan terkait cara mendesain primer untuk marka SNP. Pasangan primer SNAP dirancang berdasarkan situs SNP terpilih menggunakan perangkat lunak WebSNAPER (Gambar 5). Situs SNP target diindikasikan [X/Y], di mana X adalah nukleotida alel referensi dan Y adalah nukleotida alel alternatif. Parameter yang harus dimasukkan antara lain ukuran produk amplifikasi PCR, suhu TM dan nama primer yang diinginkan. Proses desain primer diulang untuk setiap posisi SNP dalam urutan DNA yang diinginkan. Selain itu, dari hasil analisis masing-masing, satu set primer dipilih untuk setiap situs SNP, yang terdiri dari sepasang primer untuk alel referensi dan sepasang primer lain untuk alel alternatif. Setelah sekuens primer diperoleh kemudian diseleksi berdasarkan jumlah situs SNP, primer disintesis menggunakan kontraktor manufaktur primer. Primer yang digunakan untuk PCR ini didesain oleh divisi biomolekuler UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi, Universitas Lampung.

The screenshot shows the WebSNAPER web application interface. It features a header with 'WebSNAPER' and navigation links for 'About Webserver' and 'Documentation'. Below the header, there is a form with several input fields and buttons. The form includes a field for 'Your email address' (annotated as 'Alamat email pengguna'), two input fields for 'PCR Product Optimum Size Range' (325 and 375) and 'PCR Product Absolute Size Range' (300 and 500) (annotated as 'Panjang Base Pare yang akan diamplifikasi'). There are four input fields for primer conditions: 'Primer Concentration (nM)' (5), 'Primer Minimum Size' (20), 'Primer Maximum Size' (36), 'Primer Optimal TM' (55 °C), 'Primer Maximum TM' (65 °C), and 'Primer Minimum TM' (62 °C) (annotated as 'Kondisi primer yang diinginkan'). A dropdown menu for 'Mispriming Library' is set to 'None'. A 'Sequence Name' field is 'Untitled'. A large text area for 'Please Enter Sequence' contains a DNA sequence with a SNP marked with a dot (annotated as 'Sekuen basa yang ditandai dengan titik SNP'). Below the sequence area, there are 'Output Options' with checkboxes for 'Include Sequence', 'Include Conditions', and 'Output Tab Separated Values'. There are also links for 'Interpreting Results' and 'Questions or comments?'. At the bottom, there are 'Submit!' and 'RESET' buttons (annotated as 'Tombol submit').

Gambar 5. Situs Web SNAPER.

### 3.4.3 Ekstraksi DNA

Ekstraksi dilakukan menggunakan bagian meristem pada usia kecambah jagung 7 HST dengan metode *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega, AS). Ekstraksi diawali dengan menyiapkan sampel tanaman jagung. Sampel dibersihkan dengan dilap menggunakan tisu yang sudah diberi alkohol dan dikering anginkan. Sampel tanaman jagung yang digunakan seberat 0,75 gram per varietas. Selanjutnya sampel dihaluskan menggunakan mortal dan alu, ditambahkan larutan *Nucleic Lisis Solution* sebanyak 200 µl dan 300 µl secara bertahap. Setelah sampel halus dan tercampur dengan *Nucleic Lisis Solution*, sampel diinversi dan dipindahkan kedalam tube berukuran 1,5 ml menggunakan pipet. Sisa-sisa penghalusan sampel yang masih ada didalam mortal dipindahkan kedalam tube menggunakan spatula dan ditambahkan peluru sebanyak 2 buah, dimasukan ke alat *tissue lyser* selama 15 menit untuk dilisis secara sempurna. Selanjutnya sampel diangkat dan dipindahkan kedalam alat *heating block* suhu 65°C selama 45 menit. Sampel diangkat dan ditambahkan 200 µl *Protein*



*Precipitation Solution*, di vortex selama 30 detik. Lalu disentrifugasi 13.000 g selama 5 menit pada suhu 4°C. Setelah terbagi 3 bagian lapisan, supernatan dipindahkan ke tube ujung lancip steril. Kemudian ditambahkan isopropanol (suhu ruang) sebanyak 600 µl. Diinversi dengan *pipetting* dan disentrifugasi 3.000 g selama 3 menit. Lalu buang cairan secara perlahan dalam kondisi dingin ke permukaan tissue (supaya DNA yang terkumpul di pellet tidak terbawa). Sampel ditambahkan etanol 75 % sebanyak 600 µl, di inversi perlahan dengan *pipetting*. Selanjutnya disentrifugasi 13.000 g selama 5 menit. Setelah disentrifugasi, cairan dibuang secara perlahan ke permukaan tissue, jangan sampai pellet DNA terbawa. Sampel dikeringkan pada suhu ruang dengan kondisi tube terbalik dan dialasi dengan tissue yang bersih. Setelah sampel kering, disentrifugasi dengan alat vakum suhu 55°C selama 10 menit. Selanjutnya di tambahkan DNA *Rehydration Solution* sebanyak 30 µl. Lalu diinkubasikan di suhu 65 °C selama 45 menit, setiap 15 menit di *tapping* dan spin. DNA disimpan pada suhu -18 °C. DNA Siap untuk di ukur kemurnian dan konsentrasinya menggunakan instrument *Nanophotometer* buatan Implen, Jerman.

#### 3.4.4 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Setelah primer didesain, kemudian dilakukan amplifikasi DNA. Pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA dapat dilihat pada Tabel 2. Sedangkan pengaturan PCR yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 2.** Pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA

Pereaksi	Volume (µl)
Master mix	10
Primer forward	0,25
Primer reverse	0,25
ddH <sub>2</sub> O	9,75
Template DNA	0,25

**Tabel 3.** Pengaturan PCR

No	Tahapan PCR	Suhu (°C)	Waktu (detik)	Siklus
1.	Pra-denaturasi	95	300	-
2.	Denaturasi	95	60	
3.	<i>Annealing</i>	56,5	15	35
4.	Elongation	72	15	
5.	Final elongation	72	300	-
6.	Cooling	20	600	-

### 3.4.5 Elektroforesis hasil PCR

Setelah tahapan PCR dilakukan, langkah selanjutnya ialah memvisualisasikan hasil amplifikasi sekuens DNA menggunakan elektroforesis. Alat yang digunakan ialah alat elektroforesis digital *Qiaxcel Advanced* (Qiagen, Jerman) menggunakan DNA high resolution kit dengan metode *capillary electrophoresis*. Ketentuan penggunaan alat elektroforesis ini telah diatur berdasarkan prosedur penggunaannya. Variabel yang diamati ialah ketepatan amplitudon pada amplifikasi DNA dan ketebalan pita DNA yang telah tervisualisasikan dalam bentuk gambar di *software* bawaan dari alat elektroforesis.

Putri (2023) menjelaskan tahapan preparasi dan tahapan visualisasi ukuran fragmen DNA dengan menggunakan alat elektroforesis digital *Qiaxcel Advanced* (Qiagen, Jerman). Tahapan preparasi dan tahapan visualisasi penentuan ukuran fragmen DNA adalah sebagai berikut:

Tahapan Preparasi:

Sebelum digunakan, *catridge* disimpan pada suhu ruang selama 20 menit. Kemudian *separation buffer* dan *wash buffer* dituangkan ke *buffer tray* dan ditempatkan di *buffer tray holder*. *Alignment Marker* (AM) berukuran dari 15 bp hingga 3.000 bp (Qiagen, Jerman) yang cocok dengan waktu migrasi DNA dihomogenisasi dan ditempatkan pada posisi tube terbuka di dalam well buffer tray.

Tahapan visualisasi ukuran fragmen DNA:

Visualisasi ukuran fragmen DNA dilakukan menggunakan perangkat lunak *QIAxcel ScreenGel* yang ditampilkan dalam bahasa instrumen *QIAxcel* dan komputer dinyalakan. Masukkan perangkat lunak *QIAxcel ScreenGel* dalam "DNA mode" sebagai "Routine user". *Buffer tray* berisi *Alignment Marker* (AM), *separation buffer*, dan *wash buffer* dimasukan kebagian dalam *QIAxcel Advanced* dengan memilih "Park position" di bagian *status information*. *Catridge* dan *smart key* dimasukkan ke dalam *QIAxcel Advanced* instrumen dibagian atas, setelah itu nitrogen diaktifkan. *Size Marker* dengan ukuran 100 bp sampai dengan 2500 bp (Qiagen, Jerman) sebagai pembanding ukuran fragmen DNA dengan sampel DNA yang diperoleh dari proses PCR dihomogenkan dan ditempatkan pada *well* di *sample row* dengan posisi tube terbuka. Kemudian, di bagian "instrument status", klik "proses profil", *catridge type* yang digunakan adalah *DNA Screening*. Pilih "proses profil" yang akan digunakan. Sampel dipilih dengan opsi "sample selection", *Size marker* menggunakan 100 bp hingga 2,5 kb (20 ng/μl), *Alignment marker* menggunakan QX 15 bp hingga 3 kb, di bagian "sample row selection" dipilih baris A apabila  $\leq 11$  untuk sampel yang akan dielektroforesis, klik kanan pada salah satu kolom antara 1 sampai 12 untuk memilih posisi *size marker* dan klik kotak "show lot information". Setelah semua informasi *catridge*, sampel dan penanda (*marker*) diisi, pilih "run check". Klik kotak untuk mengonfirmasi bahwa *sample rows* telah terisi sampel dan *alignment marker*, *size marker* telah dimasukkan. Pilih "Latch" di bagian *status information* untuk mengaktifkan nitrogen dan menutup *catridge*. Setelah tidak ada peringatan yang ditampilkan "errors and warnings", proses elektroforesis dapat dijalankan dengan memilih "Run". Setelah laju migrasi DNA selesai selama 12 menit, perangkat lunak akan menampilkan posisi dan ukuran fragmen DNA, untuk menentukan ukuran fragmen DNA dengan memilih "Analysis" dari menu bar.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat hubungan antara varietas yang tahan dan tidak tahan serangan ulat grayak terhadap marka SNP *gen Disease Resistance Protein RPS2*. Varietas yang tahan yaitu varietas BISI 321 dan Pertiwi 5 dengan nilai 55,75 dan 62,50 dan kedua varietas tersebut memiliki basa nitrogen *gen disease resistance protein RPS2* sama dibanding varietas lainnya. Sedangkan varietas yang tidak tahan yaitu varietas Pionner 36, NK 7328, Lokal, BISI 18, NK Super, dan Ekstotik dengan nilai 66,25; 68,25; 75,75; 78; 86,50; dan 89,75.
2. Terdapat optimasi optimum PCR menggunakan 2 pasang primer SNaP hasil desain untuk membedakan antara varietas tahan terhadap serangan ulat grayak dengan yang tidak tahan terhadap serangan ulat grayak. Kondisi optimum pasangan primer 1 pada suhu *annealing* 52°C selama 5 detik dengan volume DNA template 0,75µl. Sedangkan kondisi optimum pasangan primer 3 pada suhu *annealing* 52°C selama 5 detik dengan volume DNA template 0,4µl.

### 5.2 SARAN

Saran dari penelitian ini yaitu, perlu dilakukannya analisis SNP *gen disease resistance protein RPS2* pada varietas tanaman jagung yang belum diuji hingga fase generatif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhayani, R.N.W. 2021. Tingkat populasi dan serangan hama ulat grayak (*Spodoptera frugiperda* j.e. Smith) pada tanaman jagung dengan aplikasi ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* l. Corr) dan daun biduri (*Calatropis gigantea* l.Dryand). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Hasanuddin.
- Alydrus, N.L., Alyidruss, R., & Souhuwat, W. 2023. Deteksi Entamoeba Coli Pada Anak Balita Stunting Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *INHEALTH: Indonesian Health Journal*, Volume.2, Issue.1: 17~25. DOI: <https://doi.org/10.56314/inhealth.v2i1.100>
- Andesgur, I. 2019. Analisis Kebijakan Hukum Lingkungan Dalam Pengelolaan Pestisida. *Jurnal Bestuur*, vol.7 no. 2.
- Arham, W. 2015. Identifikasi Bakteri Simbion-Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal Asal Bromo Jawa Timur Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRna. *Skripsi*. FMIPA.Universitas Jember.  
<https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/65724/Washilul%20Arham-101810401009.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ariyanti, Y., & Sianturi, S. 2019. Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit *for animal tissue*. *Journal of Science and Applicative Technology* vol. 3 (1), 2019, pp. 40-45.  
DOI: [10.35472/jsat.v3i1.111](https://doi.org/10.35472/jsat.v3i1.111)
- Azrai, M. 2005. Pemanfaatan Marka Molekuler Dalam Pemanfaatan Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Agro Biogen*.1(1).  
<https://media.neliti.com/media/publications/74737-ID-pemanfaatan-markah-molekuler-dalam-prose.pdf>
- Azrai, M. 2006. Sinergi Teknologi Marka Molekuler Dalam Pemuliaan Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang pertanian* Vol. 25 : No.3.
- Bahtiar, A., Haris, A., Abdullah., & Effendi, R. 2022. Seleksi Toleransi Beberapa Jagung Hibrida Pada Kondisi Pemupukan Nitrogen Rendah. *Journal Techno Eco Farming (JTEF)*, Vol.2, No.1.  
<https://pasca-umi.ac.id/index.php/farming/article/view/954/1027>

- Budiarto, B. R., 2015. *Polymerase Chain Reaction (PCR) : Perkembangan Dan Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan*. *BioTrends* Vol.6 No.2. <https://terbitan.biotek.lipi.go.id/index.php/biotrends/article/view/129/134>
- Budiman, H. 2012. *Budidaya Jagung Organik*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- CABI. 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). *CABI Compendium*. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.29810>
- Cheng, Y.J., Guo, W.W., Yi, H.L., Pang, X.M., & Deng, X. 2003. An efficient protocol for genomic DNA extraction from citrus species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 21:177a-177g. <https://doi.org/10.1007/BF02774246>
- Deniarisasih, N.W., Ratnayani, K., & Yowani, S.C. 2013. Optimasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Fragmen 724 Pb Gen Katg Multi Drug Resistance Tuberculosis Untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi. *Jurnal Farmasi UDAYANA*. Vol (2):(3). e-ISSN:2622-4607.
- Dewanata, PA. 2021. Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies* Vol. 15. DOI: <https://doi.org/10.21070/ijins.v15i.553>
- Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. 2021. *Petunjuk Teknis Pengamatan Dan Pelaporan Organisme Pengganggu Tumbuhan & Dampak Perubahan Iklim (OPT-DPI)*. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan.
- Diyasti. F., & Amalia. A. W. 2021. Peran Perubahan Iklim Terhadap Kemunculan OPT Baru. *Agroscript*, 3(1) hal 57-69. <https://doi.org/10.36423/agroscript.v3i1.780>
- Fiqriansyah, W.M., Putri, S.A., Syam, R., Rahmadhani, A.S., & Utami, Y.D. 2021. TEKNOLOGI BUDIDAYA TANAMAN JAGUNG (*Zea mays*) DAN SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Jurusan Biologi FMIPA UNM*. Makassar. ISBN 978-623-94869-7-6
- Fitrianti, I. 2016. UJI KONSENTRASI FORMULASI *Bacillus subtilis* BNt8 TERHADAP PERTUMBUHAN BENIH JAGUNG (*Zea mays* L.) SECARA In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makassar. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/479/1/SKRIPSI.%20IRMA%20FITRIANTI.pdf>
- Gupta, M., Choudary, M., Singh, A., Sheoran, S., Singla, & D., Rakshit, S. 2023. Meta-QTL analysis for mining of candidate genes and constitutive gene network development for fungal disease resistance in maize (*Zea mays* L.). *The Crop Journal*, 11 (2023) 511–522.

- Harahap, A.S., Uji Kualitas Dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi*, Volume 2 Nomor. 02. ISSN 2502-8936.
- Handoyo, D dan Rudiretna, A. 2000. PRINSIP UMUM DAN PELAKSANAAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) [General Principles and Implementation of *Polymerase Chain Reaction*]. *Unitas*, Vol. 9, No. 1.
- Hatzig, VZ., Frisch, M., Breuer, F., Nesi, N., Ducournau, S., Wagner, MH., Leckband, G., Abadi, A., & Snowdon, RJ. 2015. Genome-wide association mapping unravels the genetic control of seed germination and vigor in *Brassica napus*. *Front. Plant Sci.* Sec. Plant Genetics and Genomics. PMID: 25914704, PMCID: PMC4391041, DOI: [10.3389/fpls.2015.00221](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00221)
- Herlina, L., Reflinur, Nugroho, K., Resentradika, Sobir, AM., & Suryo. 2018. Genetic Diversity Analysis Using *Resistance Gene Analog*-Base Markers to Support Morphological Characterization of Shallots. *Jurnal AgroBiogen* 14(2):65–74. DOI: [10.21082/jbio.v14n2.2018.p65-74](https://doi.org/10.21082/jbio.v14n2.2018.p65-74)
- Herman, Nainggolan. M., & Roslim, D.I. 2018. Optimasi Suhu *Annealing* Untuk Empat Primer RAPD Pada Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Dinamika Pertanian*, Vol. XXXIV (41–46). E ISSN 2549 – 7960.
- Herman, Natalya, L.N., Berampu, S.M., & Roslim, D.I. 2017. Optimasi Suhu *Annealing* Untuk Primer G-SSR Dan Est-SSR Pada Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Dinamika Pertanian*, Vol. XXXIII (95–102). E ISSN 2549 – 7960.
- Iriany, R.N., Yasin, & Andi. 2016. *Asal, Sejarah, Evolusi, dan Taksonomi Tanaman Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Serealia.
- Iskandar, A.S., Safitri, D., Lidya, B., & Setyanigrum, S. 2023. Penentuan Sensitivitas dan Spesifisitas Kit PRIME-CYTO untuk Deteksi Kandungan Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Halal Research* 3(1): 47-64. DOI: <https://doi.org/10.12962/j22759970.v3i1.579>
- Jannah, M. 2023. Optimaslisasi Kondisi PCR Untuk Amplifikasi Sekuen Gen HBB. *ORYZA: Jurnal Pendidikan Biologi*. Vol. 12 No. 1. <https://doi.org/10.33627/oz.v12i1.1057>
- Kassam, S. *et al.* 2005. *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs): History, Biotechnological Outlook and Practical Applications. *Current Pharmacogenomics*, Vol. 3, No. 2. DOI:[10.2174/1570160054864021](https://doi.org/10.2174/1570160054864021)
- Kementerian Perdagangan. 2017. *Profil Komoditas Jagung*. ID:Kemendag. Jakarta.

- Kim, J., & Jung, C. 2022. SF-qPCR: Strand Displacement-Based Fast Quantitative Polymerase Chain Reaction. *BioChip Journal* 16:41-48. <https://doi.org/10.1007/s13206-021-00044-x>
- Kusuma, W. 2019. Karakteristik Molekuler Bakteri Isolat Lokal Terpilih Asal Limbah Singkong Dengan Metode 16S rRna. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Lampung.
- Langga, I.F., Restu, M., & Kuswinanti, T. 2012. Optimalisasi Suhu Dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex cofassus* Reinw) Serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik RAPD-PCR. *J. Sains & Teknologi*, Vol.12 No.3 : 265 – 276. <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/0b939e0181da0eccc16cd29267c1545a.pdf>
- Lestari, P., Budiarti, A., Fitriani, Y., Susilo, F., Swibawa, IG., Sudarsono, H., Suharjo, R., Hariri, AM., Purnomo, Nuryasin, Solikhin, Wibowo, L., Jumari., & Hartaman, M. 2020. Identification and Genetic diversity of *Spodoptera frugiperda* in Lampung Province, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(4), 1670-1677. DOI <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210448>
- Liana, H. A. (2017). Isolasi DNA *Chlorella* sp. dengan metode CTAB dan identifikasi sekuen 18s rDNA. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. <http://etheses.uin-malang.ac.id/6520/1/12630064.pdf>
- Ludyasari, A. 2014. Pengaruh Suhu Annealing pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Laguna Segara Anakan. Malang : UIN Malang.
- Mackey, D., Belkhadir, Y., Alonso, JM., Ecker, JR., & Dangl, JL.. 2003. *Arabidopsis* RIN4 Is a Target of the Type III Virulence Effector AvrRpt2 and Modulates RPS2-Mediated Resistance. *Cell*, Vol. 112, 379–389 DOI:[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00040-0)
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., & Kumpatla, S. 2013. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. *International Journal of Plant Genomics*, Volume 2012, [doi:10.1155/2012/72839](https://doi.org/10.1155/2012/72839)
- Melati, R.P., Nurjanah, S., & Rahayu, W.P. 2022. Desain Primer Gen Virulensi *invA* untuk Identifikasi dan Sekuensing *Salmonella* pada Sampel Karkas Ayam. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, Vol. 10 No.2. DOI: <https://doi.org/10.29244/jipthp.10.2.91-97>
- Merdekawati, F., & Nurhayati, B. 2023. Desain Primer Gen Pengkode RNA Dependent RNA Polimerase (Rdrp) Untuk Deteksi SARS Cov2 Dengan Menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes*, Vol. 15 No. 1. <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i1.2179>



- Muhadjir, F. 2018. *Karakteristik Tanaman Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor. Litbang Pertanian.  
<https://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2018/08/3karakter.pdf>
- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi DNA Genom Dan Identifikasi Kekerbatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA). *Agritrop* Vol.15 (1): 83-93.  
<http://jurnal.unmuhjember.ac.id/index.php/AGRITROP/article/view/795>
- Nuraida, D. 2012. Pemuliaan Tanaman Cepat dan Tepat Melalui Pendekatan Marka Molekuler. *El-Hayah*, Vol.2, No.2.
- Nuraini, S., Mukaromah, A.S., & Muhliso, S. 2019. Pengenalan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) dengan *Marker-Based Augmented Reality*. *Walisongo Journal of Information Technology*. Vol. 1 No. 2 : 91-100.  
DOI: [10.21580/wjit.2019.1.2.4531](https://doi.org/10.21580/wjit.2019.1.2.4531)
- Nonci, N., Kalqutny, S.H., Mirsam, H., Muis, A., Azrai, M., & Aqil, M. 2019. Pengenalan Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) Hama baru Pada Tanaman Jagung di Indonesia, Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros.  
<https://repository.pertanian.go.id/server/api/core/bitstreams/51b2dde5-0f79-40e2-b711-9b50ef181b2d/content>
- Pabendon, M.B., Azrai, M., Kasim, M., & Wijaya M.J. 2007. Prospek penggunaan markah molekuler dalam program pemuliaan jagung. Maros: Balai Penelitian Tanaman Serealia.
- Perrotta, G., Grienenberger, J.M., & Gualberto, J.M. 2002. Plant mitochondrial *rps2* genes code for proteins with a C-terminal extension that is processed. *Plant Molecular Biology*, 50:523-533. DOI: [10.1023/a:1019878212696](https://doi.org/10.1023/a:1019878212696)
- Parthipan, S., Mualif, S.A., Aziz, M.Y.A., Ishak, A.R., Suaidi, N.A., Aziz, M.Y., & Ishar, S.M. 2023. Editorial High *Annealing* Specificity of Mitochondrial DNA Primers Towards  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  Temperature Differences. *Am. J. Biochem. Mol. Biol.*, 13 (1): 1-4. DOI: [10.3923/ajbmb.2023.1.4](https://doi.org/10.3923/ajbmb.2023.1.4)
- Pertiwi, N.P.D., Mahardika, I.G.N.K., & Watiniasih, N.L. 2015. Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Pada Ikan Karang Anggota Famili *Pseudochromidae* (*Dottyback*) Untuk Identifikasi Spesies Secara Molekuler. *JURNAL BIOLOGI* 19 (2):1-5. ISSN : 1410-5292.
- Prahasta A. 2009. *Agribisnis Jagung*. Pustaka grafika. Bandung.
- Prasetya, G.I., Siregar, A.Z., & Marheni. 2022. Intensitas dan Persentase Serangan *Spodoptera frugiperda* j. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) Pada

Beberapa Varietas Jagung Di Kecamatan Namorambe Kabupaten Deli Serdang. *Cemara* Vol.19(1). ISSN Online : 2460-8947

- Putri, A.N. 2023. Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer Pada Fase Perkecambahan 4 Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Putri, M.S. 2023. Analisis *Single Nucleotide Polymorphysm* (SNP) Gen *Resistance Gene Analogue* (RGA) DNA Delapan Varietas Jagung (*Zea mays*, L.) Pada Fase Perkecambahan. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Reflinur, & Puji, L. 2015. Penentuan Lokus Gen Dalam Kromosom Tanaman Dengan Bantuan Marka DNA. *Litbang Pert*, vol. 34, No.4.
- Rinaldi. 2009. Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Yang Ditumpangsarikan Dengan Kedelai (*Glycine Max* L.). *Skripsi*. Universitas Taman siswa. Padang.
- Riwandi, M., Handajaningsih, & Hasanudin. 2014. Teknik Budidaya Jagung Dengan Sistem Organik di Lahan Marjinal. *UNIB Pres*. Bengkulu. ISBN 978-979-9431-84-4
- Retnanigati, D. 2020. Optimasi Metode Ekstraksi DNA pada Melon (*Cucumis melo* L.) Berdasarkan Suhu, Lama Inkubasi, dan Kondisi Daun. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, Vol. 5 (2): 109-114. DOI: [10.24002/biota.v5i2.4096](https://doi.org/10.24002/biota.v5i2.4096)
- Roberdi, & Ogi. 2019. Optimasi Primer *Single Nucleotide Amplified Polymorphysm* (SNAP) Pada Gen Brassinosteroid (BRI) Kelapa Sawit. <https://doi.org/10.31938/jsn.v9i2.265>
- Saha, D., Rana, R.S., Sureja, A.K., Verma, M., Arya, L. & Munshi, A.D. 2013. Cloning and characterization of NBS-LRR encoding resistance gene candidates from Tomato leaf curl New Delhi virus resistant genotype of *Luffa cylindrica* Roem. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 81. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.007>
- Savitri, H.S. 2015. Implementasi Package Bioconductor Pada Software R Untuk Olah Data Hasil Genotyping By Sequencing Pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum*). *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia.
- Setiawan, W.A., Handayani, K., & Kanedi, M. 2021. *Pengabdian Pelatihan Analisis DNA Secara Sederhana Untuk Praktikum Biologi Bagi Guru IPA SMA di Bandar Lampung: Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 13 September 2021. Yogyakarta.

- Silap, B., Rante, C.S. 2020. Serangan Hama Ulat Grayak (*Spodoptera frugiperda*) Pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *JURNAL AGROEKOTEKNOLOGI TERAPAN*, VOLUME 1 NOMOR 2.
- Sinaga, A., Putri, L.AP., & Bangun, M.K. 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*, Vol.5.No.1. E-ISSN No. 2337-6597
- Sudarsono, H., Susilo, FX., Lestari, P., Suharjo, R., Swibawa, IG., Hariri, A.M. 2019. Identification Of Spodoptera Specimens Collected On Corn Field In Pringsewu District, Lampung Province. *SEAPPRO (Southeast Asia Plant Protection Conference)*. <http://repository.lppm.unila.ac.id/id/eprint/17127>
- Sudharani, M., Rao, PS., Subba, R.LV. 2012. "Identification of SSR Markers for Testing of Hybridity and Seed Genetic Purity in Maize (*Zea mays* L.)". *International Journal of Science and Research (IJSR)*. ISSN (Online): 2319-7064. <https://www.ijsr.net/archive/v3i10/T0NUMTQ0.pdf>
- Sulistiyawati, P., Widyatmoko, AYPBC. 2017. Keragaman Genetika Populasi Kayu Merah (*Pterocarpus indicus* Willd) Menggunakan Penanda RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHISM DNA. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, Vol.11.No1. DOI: [10.20886/jpth.2017.11.1.67-76](https://doi.org/10.20886/jpth.2017.11.1.67-76)
- Sundari, S., dan Priadi. 2019. Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17 (2), 2019, 87-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/blta.17.2.2019.87-90>
- Sutanto, A., Hermanto, C., Sukma, D., & Sudarsono. 2013. Pengembangan Marka SNAP Berbasis *Resistance Gene Analogue* Pada Tanaman Pisang (*Musa* spp.) (Development of SNAP Marker Based On *Resistanse Gene Analogue* Genomic Sequences in Banana (*Musa* spp.)). *J. Hort.* 23(4):300-309. DOI: [10.21082/jhort.v23n4.2013.p300-309](https://doi.org/10.21082/jhort.v23n4.2013.p300-309)
- Surtikanti. 2011. Hama dan Penyakit Penting Tanaman jagung dan Pengendaliannya. *Seminar Nasional Serelia* 497-508.
- Syafaruddin, Enny, & Tri Joko. 2011. Efektivitas dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Pada Jambu Mete. *Buletin RISTR* Vol 2 (2). DOI: [10.21082/jtidp.v2n2.2011.p%25p](https://doi.org/10.21082/jtidp.v2n2.2011.p%25p)
- Timotiwu, P.B., Agustiansyah., Wawan, A.S., & Hamim, S. 2023. Evaluation of SNP-Based Markers Utilization for Resistance to Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* on Eight Corn Varieties. *Natural and Life Sciences Communications*, 22 (2). pp. 1-11.

- Tunnisa, W. 2022. Optimasi Ekstraksi DNA dan Amplifikasi Gen Spesifik *ndhF* Pada Tiga Aksesori Rumput Kikuyu (*Pannisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov). *Skripsi*. Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Syarif Hidayatullah Jakarta.  
<https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/65004/1/WAHDAH%20TUNNISA-FST.pdf>
- Utaminingsih, S., Utami, S.D., & Sophian, A. 2022. Isolasi DNA pada Produk Otak-Otak Ikan Bandeng. *Muhammadiyah Journal of Nutrition and Food Science*, Vol.3.No.1. DOI: [10.24853/mjnf.3.1.36-41](https://doi.org/10.24853/mjnf.3.1.36-41)
- Wang, X., Xu, Y., Fan, H., Cui, N., Meng, X., He, J., Ran, N., & Yu, Y. 2023. Research Progress of Plant Nucleotide-Binding Leucine-Rich Repeat Protein. *Horticulturae* 2023, 9, 122.  
<https://doi.org/10.3390/horticulturae9010122>
- Wijayanti, L.E., Aryani, D., & Wahyu, S. 2022. Hubungan Nilai CT Pada Pasien Terkonfirmasi Covid-19 dengan Hasil Pemeriksaan D-Dimer. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, Vol.3.No.1. ISSN: 2774-5848
- Yuenleni. 2019. Langkah-langkah optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*. Vol. 1 (3) 2019, 51-56.<https://doi.org/10.22146/ijl.v1i3.48723>
- Yunarti, M.G.C., Widiarnako, B., & Sunoko, H.R. 2013. *Tingkat Pengetahuan Petani dalam Menggunakan Pestisida*. In: *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- Yusuf, Z.K. 2010. *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*. *Saintek* Vol 5, No 6.
- Zulaiha, S., Suprpto., & Apriyanto, D. 2012. Infestasi Beberapa Hama Penting Terhadap Jagung Hibrida Pengembangan Dari Jagung Lokal Bengkulu Pada Kondisi Input Rendah Di Dataran Tinggi Andisol. *NATURALIS Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, Volume 1 Nomor 1.  
<https://ejournal.unib.ac.id/index.php/naturalis/article/view/5913>