

**KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH PADI
LOKAL INDONESIA DAN INTRODUKSI BERBASIS
MARKER MIKROSATELIT GEN UMUR GENJAH
DAN KETAHANAN WERENG BATANG COKLAT
BIOTIPE 3**

TESIS

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Pertanian
Pada Program Studi Magister Ilmu Pertanian



Oleh
MARIAM RISMAWATI
7779190021

**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN
PASCASARJANA
UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA
SERANG
TAHUN 2022**

LEMBAR PERSETUJUAN TESIS

KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH PADI LOKAL
INDONESIA DAN INTRODUKSI BERBASIS MARKER MIKROSATELIT
GEN UMUR GENJAH DAN KETAHANAN WERENG BATANG COKLAT
BIOTIPE 3

Tesis ini telah dipertahankan di hadapan penguji

Tanggal 14 September 2022

Pembimbing I,


Dr. Susiyanti, S.P., M.P
NIP. 197103112005012002

Tanggal 8 September 2022

Pembimbing II,


Dr. Zahratul Millah, S.P., M.Si.
NIP. 197712192003122001

Diketahui

Tanggal 28 September 2022

Direktur I,



Dr. H. Aan Asphianto, S.Si., S.H., M.H
NIP. 1963 01052002121002

Tanggal 28 September 2022

Ketua Program Studi,



Dr. Dian Anggraeni, S.P., M.P
NIP. 197009162005012001

LEMBAR PERBAIKAN TESIS

**KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH PADI LOKAL
INDONESIA DAN INTRODUKSI BERBASIS MARKER
MIKROSATELIT GEN UMUR GENJAH DAN KETAHANAN
WERENG BATANG COKLAT BIOTIPE 3**

Telah diperbaiki sesuai dengan saran dan masukan tim dosen penguji

| Komisi Penguji | Tanda Tangan | Tanggal |
|--------------------------------------|--|-------------------|
| 1. Dr. Susiyanti, S.P., M.P. |  | 14 September 2022 |
| 2. Dr. Zahratul Millah, S.P, M.Si. |  | 8 September 2022 |
| 3. Prof. Dr. Kartina AM, Ir., MP |  | 21 September 2022 |
| 4. Dr. Rusmana, Ir., M.P, |  | 14 September 2022 |
| 5. Dr. Fitria Riany Eris, S.P., M.Si |  | 27 September 2022 |

Diketahui:

Tanggal 28 September 2022
Direktur,



Dr. H. Aan Asphianto, S.Si., S.H., M.H.
NIP.1963 01052002121002

Tanggal 28 September 2022
Ketua Program Studi
Magister Ilmu Pertanian

Dr. Dian Anggraeni, S.P., M.P
NIP.197009162005012001

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Lengkap : Mariam Rismawati
NIM : 7779190021
Judul Tesis : Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah Dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3

menyatakan bahwa

- 1) tesis yang diajukan adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister, dan/dokter, baik di Universitas Sultan Ageng Tirtayasa maupun perguruan tinggi lainnya);
- 2) tesis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian penulis sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan tim pembimbing; dan
- 3) dalam tesis ini tidak terdapat karya-karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang atau dicantumkan dalam daftar pusaka.

Apabila pernyataan ini tidak sesuai, saya bersedia diberi sanksi sesuai dengan ketentuan, peraturan, dan norma yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan penuh rasa tanggung jawab dan segala konsekuensinya

Serang, September 2022
Pembuat Pernyataan



Mariam Rismawati
7779190021

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Mariam Rismawati dilahirkan di Lebak pada tanggal 16 Juli 1996 dari orang tua bernama bapak Kumih dan ibu Amin dan memiliki seorang suami bernama Imam Wahyudi, S.T. Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanan Pelita dan lulus tahun 2003. Penulis melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Rahong Kec. Malingping dan lulus pada tahun 2009. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMPN 1 Malingping dan lulus pada tahun 2011, serta menamatkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 4 Kota Serang Pada Tahun 2014. Sejak tahun 2014, penulis tercatat sebagai mahasiswa di program S1 jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa (UNTIRTA) melalui jalur masuk SNMPTN lulus pada tahun Januari 2019. Saat ini penulis bekerja sebagai Pendamping *Flood Management in Selected River Basin* (FMSRB) Kementerian Pertanian yang ditempatkan di Dinas Pertanian Kab. Serang. Pada tahun 2019 memperoleh kesempatan meneruskan Pendidikan di Program Studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

Serang, Juli 2022

Mariam Rismawati

ABSTRAK

Mariam Rismawati, 2022, “Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia Dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah Dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3” *Tesis*. Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Pembimbing I Dr. Susiyanti, S.P., M.P, Pembimbing II Dr. Zahratul Millah, S.P, M.Si.

Kata Kunci : *Oryza sativa* L, Plasma Nutfah, Keragaman Genetik, SSR

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan penting yang di tanam hampir sepertiga dari jumlah total bahan pangan di dunia. Plasma nutfah padi berupa varietas lokal yang memiliki keunggulan genetik secara turun temurun. Penggunaan varietas padi berumur genjah dan tahan wereng batang coklat biotipe 3 akan menguntungkan dalam banyak hal, diantaranya adalah mengurangi resiko gangguan lingkungan hama, penyakit, dan gagal panen. Penelitian ini bertujuan untuk Mengeksplorasi padi lokal Indonesia dan Introduksi yang memiliki sifat umur genjah dan tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3 berdasarkan keragaman genetik. Penelitian ini menggunakan metode clustering yang digunakan untuk membangun pohon filogeneti dan selanjutnya menganalisis kekerabatan dan elektroforegram. Hasil penelitian menunjukkan Keragaman Genetik aksesori plasma nutfah padi yang memiliki umur genjah dan tahan wereng batang coklat biotipe 3 berbasis marka SSR memiliki kemiripan 87-100% atau jarak genetiknya yaitu 0-13% yaitu pada kelompok I sub kelompok A dan B. Penggunaan primer SSR (RM6838, RM5607 dan RM17) menghasilkan pola pita polimorfis yang memiliki nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) $\geq 0,5$ yang dapat digunakan sebagai alat marker penseleksi gen umur genjah dan gen tahan wereng batang coklat biotipe 3.

ABSTRACT

Mariam Rismawati, 2022, “Genetic Diversity Of Indonesian Local Rice Germplasm And Microsatellite Marker-Based Introduction Of Early Age Genes And Resistance Of Brown Stem Planthopper Biotype 3” Thesis. Masters Education Program for Postgraduate Agricultural Sciences at Sultan Ageng Tirtayasa University. Advisor I Dr. Susiyanti, S.P., M.P, Advisor II Dr. Zahratul Millah, S.P, M.Si.

Keywords: *Oryza sativa* L, Germplasm, Genetic Diversity, SSR

Rice (*Oryza sativa* L.) is an important food crop which is grown for almost a third of the total food crop in the world. Rice germplasm in the form of local varieties that have genetic advantages from generation to generation. The use of early maturing and resistant brown planthopper biotype 3 rice varieties will be beneficial in many ways, including reducing the risk of environmental disturbances, pests, diseases, and crop failure. This study aims to explore Indonesian local rice and introductions that have early maturity traits and are resistant to biotype 3 brown planthopper pests based on genetic diversity. This study uses the clustering method which is used to build a phylogenetic tree and then analyzes the relationship and electrophorogram. The results showed that the genetic diversity of rice germplasm accessions with early maturity and resistance to brown planthopper biotype 3 based on SSR markers had a similarity of 87-100% or genetic distance of 0-13%, namely in group I, subgroups A and B. Primary use of SSR (RM6838, RM5607 and RM17) produced a polymorphic banding pattern that had a Polymorphic Information Content (PIC) value of 0.5 which could be used as a marker tool for selecting early maturing genes and brown planthopper biotype 3 resistant genes.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas ridonya penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis yang berjudul **Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia Dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah Dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3**.

Dalam penulisan tesis ini, penulis tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Susiyanti, S.P., M.P. selaku Pembimbing I yang telah membimbing dan membiayai penelitian Tesis ini.
2. Dr. Zahratul Millah, S.P., M.Si. selaku Pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan nasihat serta masukan kepada penulis dalam pembuatan Tesis.
3. Dr. Rusmana, Ir., M.P, Dr. Fitria Riany Eris, S.P., M.Si, dan Prof. Dr. Kartina AM, Ir., MP. selaku Penelaah yang memberikan nasihat serta masukan kepada penulis dalam pembuatan Tesis.
4. Dr. Dian Anggraeni, S.P., M.P. selaku Ketua Program Studi Ilmu Pertanian, Pasca Sarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa yang telah memberikan semangat kepada penulis dalam pembuatan Tesis.
5. Assoc. Prof Dr. Aan Asphianto, S.Si. S.H., M.H. Sebagai Direktur Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
6. Kedua Orang tua dan suami yang selalu memberikan doa, semangat, dan dukungan baik moril maupun material dalam penelitian tesis ini.
7. Teman-teman seperjuangan Program Studi Ilmu Pertanian angkatan 2019 yang memberikan semangat kepada penulis.
8. Staff Perpustakaan Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa selaku fasilitator materi.

Penulis berharap semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembacanya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan limpahan rahmat dan hidayah-Nya pada kita semua. Amin

Serang, Juli 2022

Mariam Rismawati

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| LEMBAR PERSETUJUAN TESIS | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN | iii |
| RIWAYAT HIDUP..... | iv |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| | |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah..... | 4 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.4. Manfaat Penelitian | 5 |
| 1.5. Hipotesis Penelitian | 6 |
| | |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1. Tinjauan Umum Padi | 7 |
| 2.2. Umur Genjah Padi | 11 |
| 2.3. Wereng Batang Coklat..... | 16 |
| 2.4. Isolasi DNA | 19 |
| 2.5. PCR(<i>Polymerase Chain Reaction</i>) | 22 |
| 2.6. Marka Molekuler (<i>Simple Sequence Repeats</i> (SSR))..... | 26 |
| 2.7. Kerangka Pemikiran | 28 |
| | |
| BAB III. METODE PENELITIAN | |
| 3.1. Jenis, Lokasi, dan Waktu Penelitian | 33 |
| 3.2. Alat dan Bahan..... | 33 |
| 3.3. Tahapan Penelitian..... | 34 |
| 3.3.1. Persemaian Padi dan Pengambilan Sampel..... | 34 |
| 3.3.2. Isolasi DNA Padi Metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987) | 35 |
| 3.3.3. Analisis Kuantitatif DNA dengan Spektrofotometer Nanodrop (Thermo Fisher Scientific 2009) | 37 |
| 3.3.4. Analisis Kualitatif DNA dengan Elektroforesis Gel Agarosa (Sambrook & Russell 2001) | 38 |
| 3.3.5. Amplifikasi DNA dengan PCR | 30 |
| 3.3.6. Elektroforesis Gel Agarose Hasil PCR | 40 |
| 3.3.7. Visualisasi Hasil Running Menggunakan Chemidoc..... | 41 |
| 3.3.8. Analisis Data | 42 |

| | Halaman |
|---|----------------|
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 44 |
| 4.1. Hasil dan Pembahasan..... | 44 |
| 4.1.1. Isolasi DNA Tanaman Padi | 44 |
| 4.1.2. Analisis Kuantitatif DNA | 44 |
| 4.1.3. Analisis Kualitatif DNA | 47 |
| 4.2. Analisis Gen Umur Genjah | 49 |
| 4.2.1. Marka SSR Penyandi Umur Genjah pada 29 Plasma Nutfah Padi | 49 |
| 4.3. Analisis Gen Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3..... | 49 |
| 4.3.1. Marka SSR Penyandi Wereng Batang Coklat Biotipe 3 Pada 29 Plasma Nutfah Padi | 55 |
| 4.4. Kekebabatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Umur Genjah | 64 |
| 4.5. Kekebabatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Gen Tahan Hama Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | 67 |
| 4.6. Kekebabatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Umur Genjah Padi dan Gen Tahan Hama Wereng Batang Coklat Biotipe 3 ... | 71 |
| BAB V. SIMPULAN DAN SARAN | 75 |
| 4.1. Simpulan | 75 |
| 4.2. Saran | 76 |
| DAFTAR PUSTAKA | 77 |
| LAMPIRAN..... | 91 |

DAFTAR TABEL

| No. | Judul | Halaman |
|------------|---|----------------|
| 1. | Komponen master mix PCR..... | 39 |
| 2. | Hasil Uji Kuantitatif Isolasi DNA 29 Aksesori Padi (3 Aksesori Padi Introduksi Dan 26 Aksesori Padi Lokal Indonesia) Menggunakan Spektrofotometer | 46 |
| 3. | Nilai digital skoring hasil amplifikasi PCR pada 5 primer marka SSR ... | 61 |
| 4. | Tabulasi hasil analisis molekuler berdasarkan Primer yang digunakan... | 63 |
| 5. | Profil Kekekabatan Hasil Amplifikasi Genetik 29 Plasma Nutfah Padi pada 5 Primer Marka SSR (3 Primer gen umur genjah dan 2 primer gen tahan WBC III) | 73 |

DAFTAR GAMBAR

| No. | Judul | Halaman |
|-----|--|---------|
| 1. | Bagian-Bagian Bunga | 10 |
| 2. | Kerangka Pemikiran..... | 32 |
| 3. | Visualisasi scoreing..... | 42 |
| 4. | Elektroforegram beberapa DNA padi hasil isolasi DNA | 48 |
| 5. | Hasil Amplifikasi PCR Primer RM6838..... | 50 |
| 6. | Hasil Amplifikasi PCR Primer RM5607..... | 52 |
| 7. | Hasil Amplifikasi PCR Primer RM3571..... | 54 |
| 8. | Hasil Amplifikasi PCR Primer RM17..... | 57 |
| 9. | Hasil Amplifikasi PCR Primer RM125..... | 59 |
| 10. | Dendogram 29 Akses Padi Berdasarkan 3 Primer Gen Umur | 64 |
| 11. | Dendogram 29 akses padi berdasarkan 2 primer gen tahan WBC Biotipe III..... | 67 |
| 12. | Dendogram 29 akses padi berdasarkan 5 Primer Marka SSR | 71 |

DAFTAR LAMPIRAN

| No. | Judul | Halaman |
|-----|--|---------|
| 1. | Komposisi Larutan Stok..... | 91 |
| 2. | Alur Kegiatan Penelitian | 93 |
| 3. | Alur Isolasi DNA Metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987) | 94 |
| 4. | Komponen Master Mix PCR..... | 95 |
| 5. | Varietas Kontrol | 96 |
| 6. | 29 Aksesori Padi Lokal Indonesia Yang Digunakan..... | 97 |
| 7. | Tata Letak Tanaman Penelitian..... | 98 |
| 8. | Deskripsi Padi Varietas Mira 1 | 99 |
| 9. | Deskripsi Padi Varietas Ciherang | 100 |
| 10. | Deskripsi Padi Varietas Rojolele Delangu | 101 |
| 11. | Deskripsi Padi Varietas IR64 | 102 |
| 12. | Deskripsi Padi Varietas Inpari 30 | 103 |
| 13. | Deskripsi Padi Varietas Dodokan | 104 |
| 14. | Deskripsi Padi Varietas M70D..... | 105 |
| 15. | Deskripsi Padi Varietas Tunggul Hideung..... | 106 |
| 16. | Deskripsi Padi Varietas Inpari 13 | 107 |
| 17. | Deskripsi Padi Varietas Inpari 35 | 108 |
| 18. | Deskripsi Padi Varietas Inpari 1 | 109 |
| 19. | Deskripsi Padi Varietas Situ Bagendit | 110 |
| 20. | Deskripsi Padi Varietas Gajah Mungkur..... | 111 |
| 21. | Deskripsi Padi Varietas IR42 | 112 |
| 22. | Deskripsi Padi Varietas Sidenok..... | 113 |
| 23. | Deskripsi Padi Varietas Black Madras..... | 114 |
| 24. | Deskripsi Padi Varietas Basmati | 115 |
| 25. | Primer yang digunakan | 116 |
| 26. | Hasil Uji Kuantitatif Isolasi DNA..... | 117 |
| 27. | Rencana Kegiatan Penelitian..... | 118 |
| 28. | Uji Kualitatif Hasil PCR Menggunakan 5 Primer SSR | 119 |
| 29. | Data molekuler dari 5 marka yang diobservasi pada 29 varietas padi (3 Aksesori Padi Introduksi dan 26 Padi Lokal Indonesia) | 122 |
| 30. | Dokumentasi Kegiatan Penelitian | 123 |

BAB I

PENDAHULUAN

2.1. Latar Belakang

Padi merupakan tanaman pangan penting yang ditanam hampir sepertiga dari jumlah total bahan pangan di dunia. Padi juga menyediakan bahan pangan pokok dan 35-60% kalornya dikonsumsi lebih dari 2.7 milyar penduduk dunia (Lesmana *et al.*, 2004). Produksi padi nasional pada tahun 2019 mencapai 54,6 juta ton gabah kering giling (GKG), dan pada tahun 2018 mencapai 59,2 juta ton GKG, di mana terjadi penurunan 7,75 persen (BPS 2019). (Asnawi dkk., 2013), melaporkan bahwa masalah yang dihadapi adalah masih rendahnya produktivitas padi di tingkat petani. Angka produktivitas tingkat petani saat ini berkisar 45,8–50,16 kuintal/ha lebih rendah dibanding dengan produktivitas padi nasional sejumlah 51,28 kuintal/ha (BPS, 2020).

Varietas lokal Indonesia pada umumnya mempunyai malai yang panjang, anakan sedikit, biji bulat dan susah rontok, daun lebar, *photoperiod insensitive*, kandungan amilosa intermediet. Masing-masing beradaptasi baik pada daerah dimana tanaman tersebut berasal, rasa nasi sesuai selera masyarakat setempat dan mempunyai aroma spesifik. Sifat lainnya yaitu perakaran kuat dan dalam tetapi tidak responsif terhadap pemberian pupuk,

umur dalam, batang tinggi sehingga mudah rebah, dan produksi rendah. Dalam pengadaan benih biasanya petani mengandalkan hasil panen sendiri secara terus-menerus, dengan demikian mutu benih, terutama tingkat kemurniannya sangat rendah sehingga berpengaruh terhadap produksi. Akibat tingkat kemurnian benih yang rendah maka penampilan varietas padi lokal di lapangan pada umumnya masih beragam terutama terkait karakter tinggi tanaman, umur masak, bentuk dan warna gabah (Sobrizal, 2016).

Plasma nutfah padi berupa varietas lokal yang memiliki keunggulan genetik tertentu karena telah dibudidayakan secara turun-temurun sehingga genotipe telah beradaptasi dengan baik pada berbagai kondisi lahan dan iklim spesifik di daerah pengembangannya (Sitaresmi *et al.*, 2013). Identifikasi Plasma nutfah padi berdasarkan marka molekuler menjadi perlu dalam upaya perlindungan varietas dan eksploitasi kekayaan plasma nutfah secara maksimal melalui studi keragaman genetik dan identifikasi alel yang bermanfaat untuk perbaikan genetik tanaman. Beberapa penelitian yang bertujuan untuk perlindungan varietas-varietas yang bernilai komersial tinggi melalui karakterisasi molekuler telah dilakukan. Sebagai contoh yaitu penelitian analisis sidik jari DNA padi aromatik seperti Basmati dan varietas-varietas unggul dengan kualitas tinggi (Aggarwal *et al.*, 2013); Sedangkan Treuren (2000) telah menganalisis biodiversitas beberapa aksesori plasma nutfah padi menggunakan marka spesifik yang didesain berdasarkan urutan nukleotida terkonservasi di sekitar lokus mikrosatelit dalam genom padi.

Kendala yang sering dihadapi oleh petani yaitu adanya organisme pengganggu tanaman (OPT). Salah satu pengganggu produksi tanaman padi diantaranya adalah hama tanaman, dimana hama ini menimbulkan gangguan pada tanaman padi secara fisik. Hama tanaman dapat berupa serangga, tungau atau moluska (Wiyono, 2007). Salah satu hama yang sering mengakibatkan gagal panen padi yaitu serangan Wereng Batang Coklat (WBC) (Ningsih *et al.*, 2016). Wereng merupakan hama padi yang paling banyak menimbulkan keresahan petani ketika musim tanam padi. Adapun Jenis wereng yang paling sering dijumpai di Lapangan, dan menimbulkan kerusakan yang cukup tinggi adalah wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens* Stall). Wereng coklat mampu menimbulkan kerusakan yang cepat dan cukup parah pada pertanaman padi (Harahap dan Tjahjono, 2003). Sejak tahun 1970 berbagai teknik pengendalian telah digunakan untuk menurunkan populasi *N. lugens*, salah satunya adalah penggunaan varietas tahan (Baehaki 2007; Balitbangtan, 2005).

Penggunaan varietas padi berumur genjah akan menguntungkan dalam banyak hal, diantaranya adalah mengurangi resiko gangguan lingkungan (hama, penyakit, kekeringan), menghemat biaya pengelolaan selama budidaya, dan dapat meningkatkan fleksibilitas dalam pengelolaan strategi tanam selanjutnya. Namun demikian, terdapat kecenderungan bahwa varietas-varietas padi berumur pendek biasanya memberikan hasil yang lebih rendah dikarenakan kurang cukupnya pertumbuhan vegetatif untuk mendukung tingkat hasil yang maksimal. Sifat pada padi lokal terkait dengan umur

berkaitan dengan pembungaan pada tanaman padi. Pembungaan merupakan transisi dari fase vegetatif ke fase generatif. Locus gen-gen yang mengatur umur genjah pada padi telah banyak dipetakan dan telah dipublikasikan sehingga dapat dipakai secara bebas (Yano *et al.*, 2001).

Berbagai metode menggunakan marka molekuler telah banyak diterapkan untuk pengujian varietas, diantaranya marka mikrosatelit atau marka SSR (*Simple Sequences Repeat*). Marka SSR telah digunakan secara luas dalam analisis berbasis molekuler studi keragaman genetik. Marka SSR memiliki beberapa keunggulan, diantaranya memiliki tingkat polimorfisme tinggi, bersifat kodominan, memiliki akurasi tinggi dan terdapat berlimpah di genom (Mulsanti *et al.*, 2013).

Dengan menggunakan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) diharapkan mampu membantu mengidentifikasi keberadaan gen umur genjah (Padi berumur pendek) dan tahan terhadap hama wereng batang coklat dari berbagai aksesori Padi lokal Indonesia dan Introduksi. Untuk dapat mengetahuinya, maka perlu dilakukan penelitian. Adapun penelitian ini berjudul “Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3”.

2.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana keragaman sifat genetik padi lokal Indonesia dan Introduksi berdasarkan marka yang terpaut sifat umur genjah padi dan sifat tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3?
2. Aksesori padi lokal Indonesia dan Introduksi mana yang berdasarkan keragaman genetik memiliki umur genjah dan tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3?

2.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengeksplorasi padi lokal Indonesia dan Introduksi yang memiliki sifat umur genjah (umur pendek) dan tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3 berdasarkan keragaman genetik.
2. Aksesori yang terseleksi memiliki gen umur genjah dapat dijadikan tetua persilangan untuk perakitan padi umur genjah.

2.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk memberikan informasi, serta wawasan bagi peneliti serta civitas akademik, tentang padi lokal Banten maupun Padi lokal Indonesia yang memiliki sifat berumur genjah (umur pendek) dan tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3

berdasarkan keragaman genetik, serta penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

2. Bagi masyarakat umum khususnya petani, berdasarkan aksesori padi yang terseleksi memiliki gen umur genjah dan tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3 bisa dijadikan varietas alternatif dalam budidaya padi.

1.5. Hipotesis Penelitian

Adapun Hipotesis Penelitian adalah:

1. Lima primer SSR yang digunakan dapat dipakai sebagai penanda karakter umur genjah dan ketahanan terhadap WBC biotype-3 pada 29 aksesori padi lokal dan introduksi.
2. Terdapat keragaman sifat genetik aksesori padi lokal Indonesia dan Introduksi berdasarkan marka yang terpaut sifat umur genjah padi dan sifat tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 3.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Padi

Menurut Azhar (2010), bahwa tanaman padi merupakan tanaman pangan yang tergolong dalam famili Gramineae. Secara lengkap, taksonomi tanaman padi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Famili : Gramineae

Genus : *Oryza*

Spesies : *Oryza sativa* L.

Padi (*Oryza sativa* L.) termasuk golongan tumbuhan *Graminae* dengan batang yang tersusun dari beberapa ruas. Ruas-ruas ini merupakan bumbung kosong yang ditutup oleh buku dan panjang ruasnya tidak sama. Ruas yang terpendek berada di pangkal batang, ruas yang kedua dan seterusnya lebih panjang dari ruas-ruas yang lebih bawah. Pada buku bagian bawah dari ruas, tumbuh daun pelepah yang membalut ruas sampai buku bagian atas. Tepat pada buku bagian atas ujung daun pelepah memperlihatkan percabangan dimana cabang yang terpendek menjadi ligule (lidah) daun, dan bagian yang terpanjang dan terbesar menjadi helaian daun. Daun pelepah itu menjadi ligule

dan pada helaian daun terdapat dua embel sebelah kiri dan kanan yang disebut auricular. Auricular dan ligule yang kadang-kadang berwarna hijau dan ungu dapat digunakan sebagai alat untuk mendeterminasi dan identifikasi suatu varietas (Siregar 1987). Daun pelepah yang membalut ruas yang paling atas batang umumnya disebut daun bendera. Tepat dimana daun pelepah teratas menjadi ligule dan daun bendera, disitulah timbul ruas yang menjadi bulir padi (De Datta 1981).

Akar tanaman padi termasuk golongan serabut. Akar berfungsi sebagai penguat atau penunjang tanaman untuk dapat tumbuh tegak, menyerap hara dan air di dalam tanah, kemudian diteruskan ke organ lainnya di atas tanah yang membutuhkan. Akar primer (radikula) tumbuh sewaktu berkecambah bersama akar-akar lainnya yang muncul dari janin dekat bagian buku skutellum yang disebut dengan akar seminal, akar seminal berjumlah 1-7. Apabila terjadi gangguan fisik terhadap akar primer, maka pertumbuhan akar-akar seminal lainnya akan dipercepat. Kemudian akar seminal digantikan oleh akar-akar sekunder yang tumbuh dari buku terbawah batang. Akar-akar ini disebut adventif atau akar-akar buku karena tumbuh dari bagian tanaman yang bukan embrio atau munculnya bukan dari akar yang telah tumbuh sebelumnya (Makarim dan Suhartatik, 2009).

Batang padi tersusun dari rangkaian ruas-ruas dan diantara ruas yang satu dengan ruas yang lainnya dipisahkan oleh satu buku. Ruas batang padi di dalamnya berongga dan bentuknya bulat, dari atas ke bawah ruas buku itu semakin pendek. Ruas yang terpendek terdapat di bagian bawah dari batang

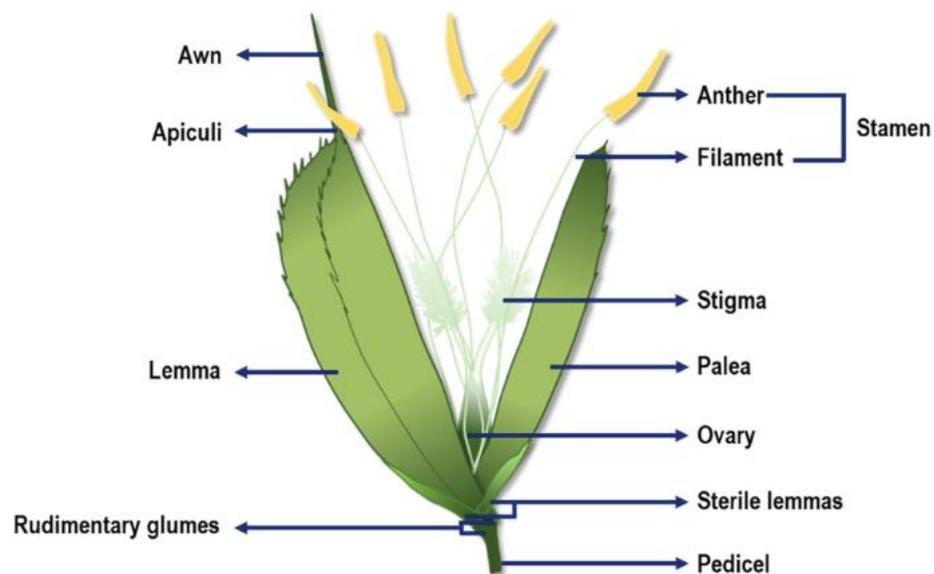
dan ruas-ruas ini praktis tidak dapat dibedakan sebagai ruas-ruas yang berdiri sendiri. (De Datta 1981; Yoshida 1981).

Daun merupakan bagian dari tanaman yang berwarna hijau karena mengandung klorofil (zat hijau daun) yang menyebabkan daun tanaman dapat mengelola sinar radiasi surya menjadi karbohidrat atau energi untuk tumbuh kembangnya organ-organ tanaman lainnya. Daun tanaman padi tumbuh pada batang dalam susunan yang berselang-seling, satu daun pada tiap buku. Tiap daun terdiri atas helai daun, pelepah daun yang membungkus ruas, telinga daun, lidah daun (ligule). Adanya telinga dan lidah daun pada padi dapat digunakan untuk membedakannya dengan rumput-rumputan pada stadia bibit (seedling) karena daun rumput-rumputan hanya memiliki lidah/teling daun atau tidak ada sama sekali (Azhar, 2010).

Selain daun, juga ada tajuk. Tajuk merupakan kumpulan daun yang tersusun rapi dengan bentuk, orientasi dan besar dalam jumlah dan bobotnya teratur antar varietas padi yang beragam. Tajuk menangkap radiasi surya untuk fotosintesis. Bentuk tajuk dapat dinyatakan dalam nilai menggunakan parameter statistik, *skewness* yaitu kesimetrisan distribusi luas daun (Makarim dan Suhartatik, 2009).

Bunga padi disebut juga dengan malai. Tiap unit bunga pada malai disebut spikelet. Bunga padi memiliki tangkai, perhiasan dan daun mahkota. Daun mahkota terbesar disebut palea dan daun mahkota kecil disebut lemma, di dalamnya terdapat bakal buah (kariopsis). Di atas bakal buah ada dua kepala putik, di bawah buah tumbuh enam filamen benang sari. Pada saat

bunga padi dewasa membuka, palea dan lemma membentuk sudut $30^\circ - 60^\circ$. Keduanya membuka pada saat siang hari kisaran pukul 10-12 dengan suhu berkisar antara $30^\circ - 32^\circ$ C. Apabila kondisi seperti ini terpenuhi, maka akan terjadi penyerbukan (Seprina, 2008). Untuk dapat mengetahui bagian-bagian dari bunga padi, dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah ini.



Gambar 1. Bagian-bagian Bunga Padi

Sumber : (Gopala Krishnan et al., 2022)

Buah padi yang sehari-hari kita sebut biji padi atau bulir/gabah, sebenarnya bukan biji melainkan buah padi yang tertutup oleh lemma dan palea. Lemma dan palea serta bagian lain akan membentuk sekam atau kulit gabah, lemma selalu lebih besar dari palea dan menutupi hampir $2/3$ permukaan beras, sedangkan sisi palea tepat bertemu pada bagian sisi lemma.

Gabah terdiri atas biji yang terbungkus sekam. Sekam terdiri atas gluma rudimenter dan sebagian dari tangkai gabah (*pedicel*) (Badan Litbang, 2009).

Karakter morfologi merupakan karakter tanaman berdasarkan bentuk fisik dan struktur tubuh dari tumbuhan. Karakter morfologi yang sering digunakan sebagai pembeda varietas padi lokal adalah karakter batang (jumlah anakan, tinggi, tipe permukaan, warna permukaan, jumlah nodus, dan panjang internodus), daun (panjang dan warna lidah daun; panjang telinga daun, ukuran permukaan atas dan warna helaian daun, bunga (panjang malai, jumlah bulir, bentuk, ukuran, permukaan, warna permukaan, keadaan ujung permukaan, panjang tangkai dan warna tangkai bulir), gabah (bentuk, ukuran, permukaan, warna permukaan, keadaan ujung permukaan, ekor pada ujung permukaan, panjang tangkai, dan kerontokan gabah), beras (bentuk, ukuran, dan warna beras) (Irawan dan Purbayanti, 2008).

2.2. Umur Genjah Padi

Umur genjah adalah waktu suatu tanaman untuk menghasilkan produk dalam waktu yang singkat. Menurut Susanto dan Sundari (2001) Umur genjah dapat di ukur dari umur berbunga. Umur berbunganya beragam antara 70-75 hari setelah tanam (HST) tergantung varietasnya. Pembungaan dipengaruhi oleh lama penyinaran dan suhu. Biasanya terjadi pada hari cerah antara jam 10.00-12.00 dengan suhu berkisar antara 30-32°C. Waktu pemasakan kariopsis menjadi benih dan siap untuk dipanen hasilnya ± 25 hari setelah penyerbukan dan tergantung varietas.

Sifat genjah tanaman padi berkaitan erat dengan pembungaan. Pembungaan merupakan transisi dari fase vegetatif ke fase generatif. *Oryza sativa* PRR (*Pseudo Response Regulator*) adalah kelompok gen yang berhubungan dengan fotoperiod sehingga penting dalam meregulasi waktu pembungaan. Umur berbunganya beragam 2 antara 70-75 hari setelah tanam (HST) tergantung varietasnya. Pembungaan dipengaruhi oleh lama penyinaran dan suhu. Biasanya terjadi pada hari cerah antara jam 10-12 dengan suhu berkisar antara 30-32 °C. Waktu pemasakan kariopsis menjadi benih dan siap untuk dipanen hasilnya ± 25 hari setelah penyerbukan dan tergantung varietas. Umur padi antar varietas beragam, rata-rata umur padi 100-150 HST. Padi yang berumur 100 HST tergolong genjah, 116-125 HST tergolong setengah genjah, 126-135 HST tergolong setengah dalam, 135-150 HST tergolong dalam dan lebih dari 150 HST tergolong dalam sekali (Siregar 1981).

Umur berbunga (*Heading date/HD*) merupakan salah satu sifat penting untuk adaptasi padi di berbagai lokasi dan musim tanam. Umur berbunga merupakan salah satu sifat yang penting untuk memprediksi umur tanaman padi. HD dapat dibagi berdasarkan fase vegetatif (*basic vegetative phase/BVP*) dan fase sensitifitas terhadap panjang hari (*photoperiod-sensitivity phase/PSP*). Wei et al. (2008) menyatakan bahwa ada 3 faktor yang mempengaruhi umur berbunga, yaitu lamanya fase pertumbuhan vegetatif (*basic vegetative growth/BVG*), sensitivitas terhadap panjang hari (*photoperiodsensitivity/PS*), dan sensitivitas terhadap suhu (*temperature-sensitivity/TS*). Beberapa gen major untuk HD sudah diidentifikasi di tanaman

padi, antara lain gen *Ef-1*, yaitu gen yang mengendalikan lamanya BVG, terdapat di kromosom 10 dan dapat mempercepat inisiasi pembungaan di bawah hari pendek ataupun hari panjang. Gen ini juga dapat melawan pengaruh PS pada hari panjang (Xu *et al.*, 2006).

Dalam pembentukan *gene pool* padi dengan berbagai tingkat kegenjahan diperlukan plasma nutfah yang akan digunakan sebagai tetua persilangan. Padi subspecies *indica* biasa digunakan untuk pemuliaan padi di daerah tropika. Padi subspecies *indica* mempunyai sifat beranak banyak (*high tillering capacity*) dan umumnya berumur genjah. Padi subspecies *indica* yang telah dilepas dan mempunyai umur yang sangat genjah, yaitu Silugonggo dan Dodokan, sedangkan yang berumur genjah antara lain IR64, Ciherang, Mekongga, dan Inpari (seri 1 sampai 7, dan 10). Rata-rata hasil padi varietas unggul baru (VUB) sangat genjah berkisar antara 3,0-4,0 t/ha, sedangkan yang berumur genjah berkisar antara 4,5-6,0 t/ha (Suprihatno *et al.*, 2009).

Beberapa marka mikrosatelit atau SSR telah diketahui terpaut dengan gen pengatur panjang pendeknya umur berbunga tanaman padi. Gen-gen tersebut berhubungan dengan *quantitative trait loci* (QTL) *heading date* (*Hd*) untuk sensitivitas fotoperiod. Sebanyak 14 QTL *Hd* (*Hd1* sampai dengan *Hd14*) telah dipetakan pada kromosom padi. QTL *Hd* yang sudah dipelajari secara intensif antara lain *Hd1*, *Hd3*, dan *Hd6*. Gen *Hd1* mengatur sensitivitas fotoperiod dan mengkode sebuah protein zinc finger. QTL *Hd3* diidentifikasi memiliki 2 gen yang berbeda, yaitu *Hd3a* dan *Hd3b*. *Hd6* mengkode sub unit

alfa yang berfungsi memperlambat pembungaan pada kondisi hari panjang. (Murakami, *et al.*, 2005).

Yano, *et al.* (2001) telah memetakan 5 lokus gen *Hd* (*Hd1-Hd5*) pada populasi F2 persilangan Kasalath dan Nipponbare dengan pemetaan QTL. Posisi gen-gen tersebut juga telah diketahui dengan baik dan dipetakan menggunakan marka mikrosatelit. Dengan adanya pemetaan tersebut Dadang, *et al.* (2013) dapat melakukan seleksi dan konfirmasi alel gen-gen *Hd* pada padi berumur genjah dan produktivitas tinggi persilangan Code x Nipponbare.

Penelitian mengenai gen-gen *Hd* pada padi berumur genjah dan produktivitas tinggi pernah dilakukan Dadang *et al.* (2013) dengan menyilangkan Code dan Nipponbare. Dari persilangan tersebut dihasilkan 23 galur. Lalu dilakukan pengujian dengan analisis molekuler dengan menggunakan marka, berupa : RM5404, RM5607, RM1369, RM3463, RM7601, RM1362, RM5756, RM5392. Dari hasil seleksi galur F2-F4 diperoleh dua galur F4 (CdNb_388 dan Cd_Nb 270) memiliki produktivitas lebih tinggi dengan jumlah gabah isi masing-masing 2.240 dan 1.740 bulir/rumpun, lebih tinggi dari tetua Code (1.728 bulir/rumpun) dengan umur berbunga 60 hari mendekati Nipponbare (52 hari). Diperoleh tiga galur F4 (CdNb_270, CdNb_364, dan CdNb_388) yang diduga memiliki alel gen *Hd7* dan 1 galur F4 (CdNb_472) diduga memiliki alel gen *Hd14*.

Tasliah, *et al.* (2015) melakukan penelitian mengenai analisis molekuler dan keragaan agronomis galur-galur padi BC1F1 persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8*. Diketahui dari penelitian tersebut hasil analisis

molekuler menggunakan primer RM17483 dan RM6838 untuk lokus *qTSN4* dan RM6909 dan RM5556 untuk lokus *qDTH8* menunjukkan pola alel pada galur-galur BC1F1 masih bervariasi. Didapatkan 63 tanaman *qTSN4* dan 65 tanaman *qDTH8* yang memiliki pola heterozigot (HHA) dari tiap 250 galur yang diobservasi. Introgresi lokus *qTSN4* dan *qDTH8* terbukti memperpendek umur Code dan meningkatkan jumlah bulir isi dan bobot bulir isi. Umur berbunga galur *qTSN4* dan *qDTH8* lebih genjah, yaitu 12–13 hari lebih genjah dibanding dengan tetua Code. Jumlah bulir isi permalai galur *qTSN4* 129,52 lebih banyak dibanding dengan Code (114,75). Bobot bulir isi per tanaman *qTSN4* dan *qDTH8* masing-masing 34,5 g dan 24,7 g, sedangkan Code hanya 15,23 g.

Dwinita *et al.*, (2015) melakukan penelitian mengenai Keragaman Genetik 96 Aksesori Plasma Nutfah Padi Berdasarkan 30 Marka SSR Terpaut Gen Pengatur Waktu Pembungaan (*HD Genes*). Diketahui dari penelitian tersebut Kemampuan marka dalam menghasilkan alel polimorfis tercermin dalam nilai PIC. Dari data profil alel diketahui bahwa marka RM5607 memiliki nilai PIC yang tertinggi yang berarti bahwa primer tersebut bisa menghasilkan sejumlah besar karakter pembeda antar aksesori yang diteliti. Marka RM5607 terpaut dengan gen pengatur umur pembungaan HD7 yang terdapat pada kromosom 7. Marka ini dapat menunjukkan polimorfisme ukuran alel antara plasma nutfah padi genjah sangat genjah (Silugonggo, IR7114-6-407-2-1, OM5240, Nipponbare) memiliki ukuran alel 183-193 pb, sedangkan plasma nutfah padi yang berumur sedang (Celebes, Pae Wita)

memiliki alel yang berukuran 103-112 pb. Hasil Profil keragaman alel yang terdeteksi berdasarkan sidik jari DNA menggunakan 30 marka SSR terpaut gen pengatur umur pembungaan (*HD genes*) juga menunjukkan adanya ukuran alel dominan yang ditemukan dari setiap lokus marka yang dianalisis. Frekuensi tertinggi alel dominan terdeteksi pada lokus RM3859 karena hanya mendeteksi 1 macam alel berukuran 109. Di samping alel dominan terdapat alel jarang pada setiap lokus, yaitu alel yang terdeteksi dengan frekuensinya kurang dari 5%. Keberadaan alel jarang atau alel spesifik ini dapat menjadi pembeda satu aksesori dengan aksesori yang lain. Tingkat keberadaan alel jarang ini dapat tercermin pada tingkat polimorfisme dari masing-masing lokus yang ditandai oleh masing-masing marker.

2.3. Wereng Batang coklat

Wereng batang coklat (WBC), *Nilaparvata lugens* Stal. (*Homoptera: Delphacidae*) adalah serangga hama tipe penusuk-penghisap utama padi di Indonesia (Baehaki, 2011). Serangan WBC dalam populasi tinggi dapat menyebabkan tanaman kering dan mati (*hopper burn*). Luas serangan WBC cenderung meningkat seiring dengan penanaman varietas padi berdaya hasil tinggi tetapi rentan WBC. Di tahun 2011, luas serangan WBC hampir dua kali lipat dari serangan pada tahun 2010, mencapai 173.890 ha dengan 22.613 ha diantaranya mengalami puso (DPTP, 2011).

Populasi Wereng Batang Coklat dilahan sawah musim kemarau dataran rendah, Kecamatan Jatisari, Kabupaten Karawang masih dibawah

ambang ekonomi (13 individu/10 rumpun). Hubungan antara iklim (suhu, kelembaban dan curah hujan) terhadap populasi Wereng Batang Coklat, berdasarkan hasil uji statistik regresi linier sederhana maupun regresi linier berganda berada pada level lemah Hasil uji regresi linier sederhana maupun regresi linier berganda tersebut tidak mewakili hubungan antara ketiga faktor dengan populasi Wereng Batang Coklat karena peluang sign >0.05 . Musuh alami wereng batang coklat yang ditemukan hanya spesies predator. Indeks keragaman musuh alami Wereng Batang Coklat berada pada Indeks Keragaman sedang dan menunjukkan ekosistem lahan dalam keadaan mulai seimbang (Sianipar, 2018).

Gen-gen dan QTL ketahanan terhadap WBC pada umumnya diidentifikasi pada stadia tanaman muda (berumur 5-14 hari) dan tanaman lebih dewasa (berumur >1 bulan) sehingga mekanisme ketahanan yang dideteksi adalah *antixenosis* (nonpreference) dan antibiosis (gangguan terhadap proses metabolik) (Soundararajan *et al.* 2005). Gen Bph14 telah diklon dan diketahui mengkode protein bermotif CC-NB-LRR (coiled-coil, nucleotidebinding, and leucine-rich repeat) (Du *et al.* 2009). Bph14 diekspresikan di jaringan vaskuler tanaman dan mengaktifkan jalur lintas pensinyalan salicylic acid, menginduksi deposisi kalus dalam selsel floem, dan menghasilkan inhibitor trypsin, sehingga menurunkan laju pertumbuhan dan lama hidup WBC (Du *et al.*, 2009).

Menurut dari Diratmaja dan Permadi (2005), Gejala serangan pada tanaman padi yang diakibatkan oleh wereng coklat dapat dilihat secara

langsung dimulai pada bagian batang yang mengalami perubahan warna coklat, yang lama kelamaan akan menyebabkan batang menjadi kering dan akhirnya tanaman mati. Hal ini dikarenakan banyaknya cairan pada tanaman yang dihisap oleh wereng batang coklat. Wereng batang coklat merusak tanaman padi dengan cara mengisap cairan sel batang tanaman padi, sehingga pertumbuhan tanaman terhambat dan jika populasinya tinggi dapat menyebabkan tanaman padi mati kekeringan atau kelihatan seperti terbakar (*hopperburn*).

Hasil penelitian menunjukkan empat jenis genotip padi setelah diinfeksi wereng coklat menunjukkan munculnya gejala setiap tanaman berbeda, Diantara semua tanaman yang di uji, genotip Habo merupakan genotip yang menimbulkan gejala di awal lebih cepat di bandingkan dengan genotip Sampara, Ranta dan Njengi. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat ketahanan dari masing-masing genotip padi memiliki perbedaan terhadap serangan wereng coklat. Faktor pendukung yang menyebabkan terjadinya serangan wereng coklat pada tanaman adalah ketahanan suatu varietas (Sembiring *et al.*, 2010).

Intensitas serangan yang terjadi pada 4 genotip padi lokal memiliki perbedaan, hal ini dikarenakan morfologi pada empat genotip tanaman uji memiliki perbedaan, perbedaan morfologi itu dapat terlihat pada bagian bulu daun, bulu daun yang halus pada genotip Ranta menyebabkan genotip ini memiliki tingkat kerusakan tertinggi, jika dibandingkan dengan genotip lainnya. Faktor biofisik seperti morfologi, anatomi warna tumbuhan, tinggi

tanaman, panjang dan lebar daun bendera, besar batang, dan licinnya permukaan daun berpengaruh terhadap tingkat kerusakan suatu tanaman (Sodiq, 2009).

Tingkat ketahanan tanaman pada umumnya memiliki perbedaan, hal ini dipengaruhi oleh faktor biofisik seperti morfologi, anatomi dan warna tumbuhan mempengaruhi ketahanan suatu varietas. Tumbuhan menjadi lebih disenangi atau sebaliknya oleh serangga, tergantung dari besarnya peranan setiap faktor atau kombinasi dari ketiga faktor di atas (Sodiq, 2009).

2.4. Isolasi DNA

Isolasi DNA adalah proses pengeluaran DNA dari tempatnya berada (ekstraksi atau lisis) biasanya dilakukan dengan homogenasi dan penambahan buffer ekstraksi atau buffer lisis untuk mencegah DNA rusak (Yuwono, 2008).

Isolasi DNA merupakan langkah mempelajari DNA. Salah satu prinsip isolasi DNA yaitu dengan sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada di bagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada pada bagian atas tabung. Hasil sentrifugasi akan menunjukkan dua macam fraksi yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah (Campbell, 2002).

Zubaidah (2004) menyatakan bahwa isolasi DNA dapat dilakukan melalui tahapan-tahapan antara lain: preparasi ekstrak sel, pemurnian DNA dari ekstrak sel dan presipitasi DNA. Meskipun isolasi DNA dapat dilakukan

dengan berbagai cara, akan tetapi pada setiap jenis atau bagian tanaman dapat memberikan hasil yang berbeda, hal ini dikarenakan adanya senyawa polifenol dan polisakarida dalam konsentrasi tinggi yang dapat menghambat pemurnian DNA. Jika isolasi DNA dilakukan dengan sampel buah maka kadar air pada masing-masing buah berbeda dapat memberi hasil yang berbeda-beda pula. Semakin tinggi kadar air, maka sel yang terlarut di dalam ekstrak akan semakin sedikit, sehingga DNA yang terpretisipasi juga akan sedikit.

Metode yang digunakan ialah CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), yang dapat memecah sel sehingga sel dapat diisolasi. Senyawa CTAB juga biasa digunakan untuk isolasi DNA dari jaringan tanaman (Yuwono, 2008). CTAB sendiri merupakan sejenis detergen yang dapat mendegradasi dinding sel, denaturasi protein, memisahkan karbohidrat (Kaidah, 2003). Agar DNA dapat di isolasi dari daun tanaman padi, maka jaringan tanaman harus dihancurkan (lisis). Untuk mempermudah dalam proses penghancuran maka digunakan nitrogen cair. Selain mempermudah juga dapat menghasilkan kualitas DNA yang baik (Pharmawati, 2009).

Pada saat penggerusan daun tanaman sangat rentan mengalami pencoklatan (*browning*) maka ditambahkan merchaptoetanol, fungsinya untuk mencegah proses oksidasi fenolik sehingga menghambat aktivitas radikal bebas yang dihasilkan oleh oksidasi fenol terhadap asam nukleat, selain itu berfungsi untuk melindungi RNA dari senyawa *quinon*, *disulphide*, *peroksida*, *poliphenoksidase*, dan protein (Wilkins dan Smart, 1996). Selain itu, penambahan PVP (*polyvinylpyrrolidone*) juga dapat mengurangi efek

polifenol, quinon dan *tannin* (Surzycki, 2000). Daun tanaman padi yang sudah digerus kemudian ditambah buffer ekstraksi (CTAB), dan dipanaskan pada suhu yang bertujuan untuk melarutkan CTAB, dan merchaptoetanol.

Kloroform dan isoamilalkohol (CIAA) berfungsi untuk mengekstrak dan mengendapkan komponen polisakarida di dalam buffer ekstraksi yang mengkontaminasi larutan DNA (Ningrum, 2008). Pemberian isopropanol dan etanol dilakukan agar terjadi dehidrasi DNA sehingga terjadi presipitasi. Setelah pemberian etanol, pellet yang diperoleh dikeringkan. Hal ini bertujuan untuk mengeringkan pellet dari sisa-sisa buffer maupun etanol. Kendala yang umum terjadi dalam ekstraksi CTAB adalah adanya inhibitor pada inang, rendahnya konsentrasi virus dan pengaruh cara maupun lama waktu penyimpanan (Wyatt and Brown, 1996).

Tahapan terakhir dari ekstraksi DNA ini adalah penambahan buffer TE. Buffer TE berfungsi untuk melarutkan DNA yang dihasilkan dan menjaga DNA agar tidak mudah rusak. Dalam buffer TE mengandung EDTA yang berfungsi sebagai senyawa pengkelat yang mengikat ion Magnesium, yaitu kofaktor yang diperlukan untuk aktivitas berbagai enzim nuklease (Sudarsono, 1996).

Metode ekstraksi DNA dengan CTAB akan menghasilkan pita DNA yang berukuran tebal dan dapat memisahkan DNA dari polisakarida karena adanya perbedaan karakteristik kelarutan (*differensial of solubility*). Disamping diperoleh fragmen DNA, dengan metode CTAB juga akan diperoleh RNA dengan pita tipis yang terletak jauh berada di bawah pita

DNA. Keberadaan pita RNA tergantung bahan yang diekstraksi (Prasetyo, 2008).

2.5. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR merupakan suatu teknik sangat sensitif yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang seperti biologi molekuler, diagnostik, genetika populasi, dan analisis forensik. Teknik DNA rekombinan telah memberikan perubahan yang revolusioner dalam ilmu genetika karena memungkinkan dilakukannya isolasi dan karakterisasi gen-gen, mempelajari secara rinci fungsi dan ekspresi selama proses perkembangan yang terjadi, sebagai suatu respon terhadap faktor lingkungan. Prinsip PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua untaian sekuens target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer PCR yang memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polimerase (Nasir, 2002).

PCR adalah suatu metode *in vitro* untuk mengamplifikasi sejumlah fragmen DNA tertentu (Muladno, 2002) dengan cara replikasi DNA dengan bantuan enzim DNA polimerase dan perubahan sifat DNA terhadap suatu suhu. Dalam sistem transformasi, teknik ini dapat digunakan untuk membuktikan keberadaan gen yang diintroduksi.

Treuren (2000) telah berhasil mengidentifikasi marka molekuler dari lokus mikrosatelit pada tanaman padi yang diapit oleh suatu urutan nukleotida terkonservasi, sehingga urutan DNA pengapit ini dapat digunakan untuk

merancang primer spesifik untuk diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Marka berdasarkan teknik PCR adalah marka molekuler untuk mereplikasi DNA dengan menggunakan enzim Taq polimerase. Dalam teknik PCR, biasanya menggunakan enzim DNA polimerase yang berasal dari bakteri termotoleran yang berasal dari laut yaitu *Thermus aquaticus*, sehingga enzimnya disebut Taq DNA polimerase. Enzim ini memiliki kelebihan dibandingkan dengan enzim DNA polimerase yang lain karena ketahanannya terhadap suhu tinggi mencapai suhu 95-100°C (Yuwono, 2008). Marka PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing mempunyai tiga tahap berulang yaitu denaturasi DNA cetakan pada suhu 94-100°C, *annealing* (penempelan) pasangan primer pada DNA cetakan pada suhu 37-60°C, dan *extention* pemanjangan primer suhu 72°C. Keuntungan PCR adalah dapat digunakan untuk mengamplifikasi bagian DNA yang pendek (sampai 10 kb), memerlukan waktu yang relatif lebih singkat bila dibandingkan dengan memperbanyak dengan menggunakan vektor dan hanya memerlukan sejumlah kecil DNA target. Produk PCR diamati dengan gel elektroforesis dengan menggunakan gel agarose ataupun gel poliakrilamid dan diamati dengan UV-transiluminator seperti RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) dan SSR (*Simple Sequence Repeats*) (Suhaeny, 2012).

Reaksi PCR secara umum dilakukan dalam empat tahap. Molekul DNA rantai ganda akan diurai menjadi molekul tunggal dengan pemanasan.

Primer akan menempel pada molekul DNA rantai tunggal pada tempat yang sudah ditentukan. Selanjutnya enzim polimerase akan memperpanjang primer dengan basa nitrogen yang tersedia. Tahapan tersebut merupakan cara untuk menggandakan molekul DNA yang diinginkan. Tahap peleburan (*melting*) atau denaturasi merupakan tahap awal reaksi yang berlangsung pada suhu tinggi, yaitu 94–96°C sehingga ikatan hidrogen DNA terputus atau terdenaturasi dan DNA menjadi berutas tunggal. Biasanya pada tahap awal PCR tahap ini dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua utas DNA terpisah (Mullis, 1990) dalam Padmadi (2009).

Pemisahan utas DNA menyebabkan DNA tidak stabil dan siap menjadi *template* bagi primer. Tahap kedua adalah penempelan atau *annealing*. Primer menempel pada bagian DNA *template* yang komplementer urutan basanya. Hal ini dilakukan pada suhu antara 45–60°C. Penempelan ini bersifat spesifik. Suhu yang tidak tepat menyebabkan tidak terjadinya penempelan atau primer menempel di sembarang tempat. Tahap ketiga adalah pemanjangan atau *elongasi*. Suhu untuk proses ini tergantung dari jenis DNA-polimerase yang dipakai. Proses ini biasanya menggunakan Taq-polimerase dan dilakukan pada suhu 72 °C. Durasi tahap ini biasanya 1 menit. Setelah tahap 3, siklus diulang kembali mulai tahap 1. Tahap 4 menunjukkan perkembangan yang terjadi pada siklus-siklus selanjutnya. Akibat denaturasi dan renaturasi, beberapa utas baru menjadi *template* bagi primer lain dan akhirnya terdapat utas DNA yang panjangnya dibatasi oleh primer yang dipakai. Jumlah DNA yang dihasilkan berlimpah karena penambahan terjadi secara eksponensial.

Beberapa faktor ternyata dapat mempengaruhi efisiensi reaksi PCR. Kisaran konsentrasi yang lebar nukleotida trifosfat telah banyak dilakukan. Primer dengan 16 atau lebih nukleotida dapat berperan baik terutama yang mengandung paling sedikit 40% guanin/sitosin. Primer yang lebih panjang akan baik spesifitasnya, tetapi juga membutuhkan biaya yang lebih tinggi dalam membuatnya. Secara umum, sekuens yang mengandung 4 atau lebih nukleotida tunggal harus dihindari karena ada kemungkinan terjadinya pembentukan primer non spesifik (Nasir, 2002). Dasar siklus PCR yang utama merupakan siklus berulang 30-35 siklus meliputi :

- 1) *Denaturasi* (95°C), selama 30 detik menyebabkan heliks ganda DNA terurai menjadi dua untai cetakan DNA tunggal.
- 2) *Annealing* (55-60°C), selama 30 detik terjadi proses pengenalan/penempelan primer cetakan DNA, suhu annealing ditentukan oleh susunan primer. Optimisasi suhu annealing dimulai dengan menghitung melting temperature (T_m) dari ikatan primer dan cetakan DNA, sedangkan suhu annealing (T_A) adalah 5°C lebih kecil dari T_m primer yang sebenarnya.
- 3) *Ekstensi* (72°C), adalah proses polimerasi untuk pembentukan untai DNA baru. Waktu yang dibutuhkan tergantung panjang pendeknya ukuran DNA yang digandakan sebagai produk amplifikasi (Fatchiya *et. al*, 2011).

Menurut Subandiyah (2006), PCR sering gagal karena proses denaturasi yang tidak sempurna. Suhu yang diprogramkan biasanya 95°C selama 30 detik atau 97°C selama 15 detik. Namun untuk DNA yang

mengandung G+C tinggi, suhu perlu dinaikkan atau waktu denaturasi diperpanjang tetapi tidak terlalu lama dan suhunya tidak terlalu tinggi karena akan merusak enzim Taq D-pol yang umumnya mempunyai waktu paruh 40 menit pada 95°C.

2.6. Marka Molekuler *Simple Sequence Repeats* (SSR)

SSR (*Simple Sequence Repeats*) merupakan *sequens* DNA bermotif pendek dengan panjang 1-6 pasangan basa yang diulang secara berurutan. Kelebihannya yaitu variabilitas tinggi, mempunyai alel banyak, kodominan reproduktifitas tinggi, jumlah relatif melimpah, polimorfisme tinggi, mudah terdeteksi dengan metode PCR, cakupan genom yang luas, lokasi kromosom spesifik, dan high through genotyping (Parid *et al*, 2010; Kalia *et al*, 2011)

Ilhami (2010) melakukan analisis sidik jari DNA plasma nutfah padi dengan sifat umur genjah, digunakan beberapa marka mikrosatelit/SSR yang terpaut dengan beberapa gen penentu umur berbunga pendek (*Hd*) pada kromosom dalam genom padi. Beberapa marka SSR dan gen *Hd* tersebut adalah: RM563 (*Hd13*, kromosom 12), RM1306 (*Hd2*, kromosom 7), RM3571 (*Hd12*, kromosom 8), RM3857 (*Hd7*, kromosom 2), dan RM6070 (*Hd14*, kromosom 10). Dari 9 varietas padi genjah yang digunakan, menunjukkan varietas Dodokan, Kinamaze, Silugonggo, Waseoikoku, dan Nipponbare saja yang menghasilkan pola pita hasil amplifikasi pada proses PCR. Proses amplifikasi DNA padi genjah menggunakan primer RM563

dihasilkan 2 pola pita dengan ukuran yang berbeda. RM3571 terpaut dengan *heading date 12 (Hd12)* pada kromosom 8 DNA padi.

Hal ini didasarkan pada penelitian Yamamoto, *et al.* (2000) yang menampilkan QTL analisis dari *heading date* tanaman padi menggunakan beberapa tipe anakan dari hasil persilangan antara Nipponbare dan Kasalath. Hasil analisis primer RM3571 merupakan primer yang signifikan untuk varietas padi genjah dengan umur pertumbuhan 70-80 hari dan 80-90 hari. Berdasarkan hal itu diketahui bahwa varietas Silugonggo dan Nipponbare merupakan varietas yang paling signifikan dan juga memiliki tingkat amplifikasi tertinggi pada penggunaan primer RM3571. Ukuran alel untuk varietas Silugonggo sebesar 300 pb, sedangkan untuk varietas Nipponbare sebesar 170 bp dan 300 pb.

Penelitian mengenai marka SSR terpaut gen *Hd* pernah dilakukan Dwinita, *et al.* (2015) dengan pengujian pada 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR. Dari hasil analisis berdasarkan sidik jari DNA menggunakan 30 marka SSR yang 67% terpaut dengan gen umur berbunga (*Hd/heading date*): terdeteksi total 297 alel. Marka RM5607 dapat menunjukkan polimorfisme ukuran alel antara plasma nutfah padi genjah-sangat genjah dengan padi umur sedang. Marka RM3571 adalah marka SSR yang terpaut dengan gen *Hd12* yang terdapat pada kromosom 8. RM3571 merupakan marka yang paling signifikan berkorelasi terhadap keragaman ukuran alel dan keragaman umur tanaman pada varietas-varietas umur sangat genjah khususnya pada varietas Silugonggo dan Nipponbare

Marka molekuler seperti *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) dan *Simple Sequence Repeat* (SSR) memang mempunyai hubungan dengan gen ur genjah dan Wereng batang coklat dan mempunyai beberapa kelebihan seperti mudah, tidak mahal, metode deteksi cepat, dan hanya membutuhkan sampel jaringan dalam jumlah yang sedikit. Namun demikian marka tersebut hanya berhubungan dengan gen aroma, sehingga tidak dapat digunakan untuk memprediksi satu sampel padi secara akurat (Cordeiro *et al.*, 2002) dalam Padmadi (2009).

Marka SSR telah digunakan secara luas dalam analisis berbasis molekuler. Marka ini telah banyak digunakan pada berbagai studi keragaman genetik, verifikasi dan identifikasi varietas tanaman (Moeljopawiro, 2007; Pabendon *et al.*, 2005; Meesang *et al.*, 2001), dan uji kemurnian benih padi hibrida (Tamilkumar *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2007; Xin *et al.*, 2005). Identifikasi kebenaran suatu genotipe tanaman dengan menggunakan marka yang tidak terpaut merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menilai kemurnian benih hibrida dan satu penanda yang polimorfik sudah cukup untuk pengujian kemurnian benih (Yashitola *et al.*, 2002).

2.7. Kerangka Pemikiran

Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) RI 2019, luas panen padi pada 2019 diperkirakan sebesar 10,68 juta hektar atau mengalami penurunan sebanyak 700,05 ribu hektar atau 6,15% dibandingkan tahun 2018. Jika produksi padi pada tahun 2019 dikonversikan menjadi beras untuk konsumsi

pangan penduduk, produksi beras pada 2019 sebesar 31,31 juta ton atau mengalami penurunan sebanyak 2,63 juta ton atau 7,75 persen dibandingkan tahun 2018.

Kendala yang sering dihadapi oleh petani yaitu adanya organisme pengganggu tanaman (OPT). Salah satu pengganggu produksi tanaman padi diantaranya adalah hama tanaman, dimana hama ini menimbulkan gangguan pada tanaman padi secara fisik. Hama tanaman dapat berupa serangga, tungau atau moluska (Wiyono, 2007). Salah satu hama yang sering mengakibatkan gagal panen padi yaitu serangan wereng batang coklat (WBC) (Ningsih dkk., 2016). Kerusakan yang ditimbulkan oleh WBC mampu mengakibatkan terjadinya gagal panen (Setyorini *et al.*, 2013).

Wereng Batang Coklat (WBC), *Nilaparvata lugens* Stal. Pertama kali dilaporkan telah menjadi hama tanaman padi di Indonesia tahun 1854 oleh Stal dimana sejak 1970 telah merupakan hama utama tanaman padi di Indonesia, dan sampai sekarang selalu menjadi kendala pada peningkatan produksi padi di Indonesia. Hama ini telah menjadi hama global (*the very important global pest*). Serangan hama WBC meluas hampir diseluruh sentra produksi padi dengan serangan yang berbeda mulai dari serangan ringan sampai puso kering seperti terbakar atau hopperburn (Sianipar, 2008).

Penggunaan varietas tahan merupakan teknik yang paling efektif dan lingkungan ramah untuk mengontrol wereng batang coklat (Alagar *et al.* 2007). Hal ini disebabkan varietas tahan akan mengganggu perkembangan dan kelangsungan hidup nimfa serta menghambat oviposisi. Varietas tahan dapat

menjadi andalan dalam menekan serangan OPT pada tanaman padi (Herlina dan Silitonga 2011; Muslim *et al.*, 2012; Iswanto *et al.*, 2015). Varietas tahan OPT juga memiliki daya hasil yang lebih tinggi dibanding varietas rentan. Penggunaan varietas unggul mampu meningkatkan produksi padi secara nyata karena hasilnya relatif tinggi dan stabil serta memiliki tingkat ketahanan yang tinggi terhadap hama penyakit (Balitbangtan, 2006).

Penggunaan varietas padi berumur genjah akan menguntungkan dalam banyak hal, diantaranya adalah mengurangi resiko gangguan lingkungan (hama, penyakit, kekeringan), menghemat biaya pengelolaan selama budidaya, dan dapat meningkatkan fleksibilitas dalam pengelolaan strategi tanam selanjutnya. Varietas padi berumur genjah dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu: ultra genjah (umur kurang dari 90 hari setelah tanam), sangat genjah (umur 90-104 hari setelah tanam), dan genjah (umur 105-125 hari setelah tanam) (Balai Penelitian Tanaman Padi, 2014). Varietas padi berumur genjah dan produktivitas tinggi dimungkinkan dapat diperoleh melalui berbagai pendekatan baik secara fenotipik, morfologis maupun fisiologis (Dingkuhn *et al.*, 1991; Peng *et al.*, 1994). Ketersediaan koleksi sumber daya genetik (SDG) padi pada tingkat keragaman (diversitas) yang memadai akan sangat mendukung keberhasilan program pemuliaan untuk mendapatkan varietas unggul tersebut (Guimaraes, 2009).

Keragaman genetik padi dapat dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi dan genetik. Ciri morfologi yang sering di gunakan sebagai pembeda antar varietas adalah tinggi tanaman, jumlah anakan produktif, warna

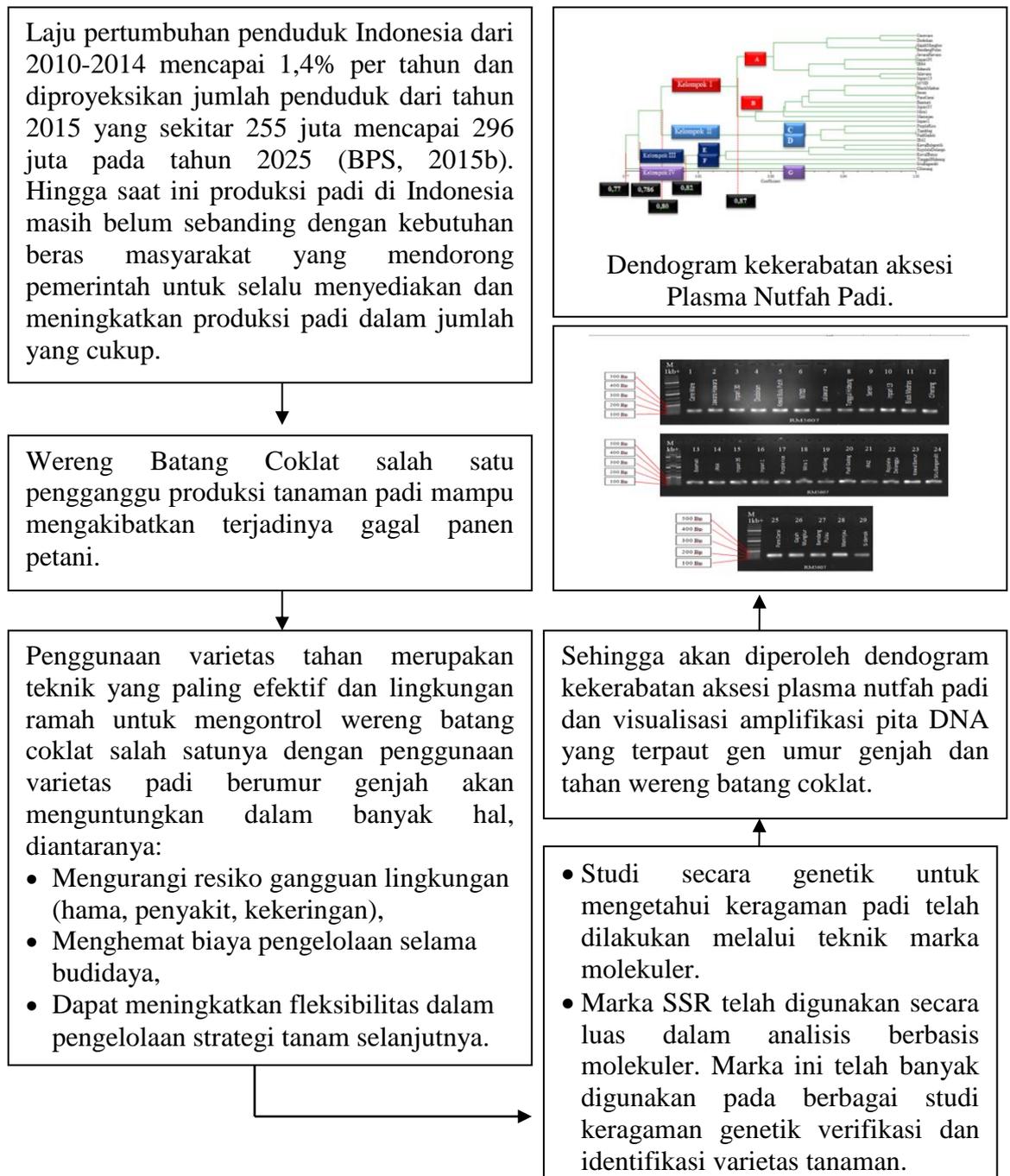
batang, warna daun, permukaan daun, jumlah gabah per malai, bentuk gabah, warna gabah, dan permukaan gabah, selain itu juga karakter pembungaan (Lesmana *et al.*, 2004).

Studi secara genetik untuk mengetahui keragaman padi telah dilakukan melalui teknik marka molekuler. Teknik ini dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik secara akurat, mengetahui identitas kultivar secara efektif, dan studi evolusi. Seleksi marka genetik adalah didasarkan pada survey keragaman genetik seperti variasi lokus gen spesifik, informasi tentang jumlah dan distribusi keragaman genetik didalam dan diantara populasi (Bu & Lang, 1999).

Berbagai metode menggunakan marka molekuler telah banyak diterapkan untuk pengujian varietas, diantaranya marka mikrosatelit atau marka SSR (*Simple Sequences Repeat*). Menurut Blair *et al.* (1999) marka SSR telah digunakan secara luas dalam analisis berbasis molekuler. Marka SSR telah banyak digunakan pada berbagai studi keragaman genetik. Marka SSR memiliki beberapa keunggulan, diantaranya memiliki tingkat polimorfisme tinggi, bersifat kodominan, memiliki akurasi tinggi dan terdapat berlimpah di genom (Mulsanti *et al.*, 2013).

Marka SSR telah digunakan secara luas dalam analisis berbasis molekuler. Marka ini telah banyak digunakan pada berbagai studi keragaman genetik (Moeljopawiro, 2007; Pabendon *et al.*, 2005; Meesang *et al.*, 2001), dan uji kemurnian benih padi hibrida (Tamilkumar *et al.*, 2009; Liu *et al.*,

2007; Xin *et al.*, 2005). Untuk lebih jelasnya ditunjukkan pada gambar 2 kerangka pemikiran dibawah ini.



Gambar 2. Kerangka Pemikiran

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis, Lokasi, dan Waktu Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif deskriptif. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai bulan April 2021, adapun tempat untuk persemaian padi dan pengambilan sampel tanaman padi di Perumahan Banjarsari Permai Kelurahan Banjarsari Kecamatan Cipocok Jaya dan untuk Uji Isolasi DNA, Uji Kuantitas dan kualitas DNA, Amplifikasi DNA dengan PCR, Elektroforesis gel agarose hasil PCR, dan Visualisasi hasil running menggunakan Chemidoc di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

3.2. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *ice box*, gunting, pena *marker*, lemari pendingin, penggaris, alat tulis, *microtube* 2 ml, *microtube* 1,5 ml, *box styrofoam*, mikropipet, *PCR plate*, *waterbath*, neraca analitik, aluminium foil, autoklaf, sentrifius *Beckman Microfuge*TM 12, pinset, tips pipet, set elektroforesis, spatula, parafilm, erlenmeyer, gelas ukur, *magnetic stirrer*, sarung tangan, lemari asam, *freezer* (-20°C), vortex, mesin PCR, *spektrofotometer*

Nanodrop Thermo Scientific 2000, dan *Chemidoc UV-Transilluminator EZ Biorad*, kamera dan laptop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun sehat (tidak terserang hama dan penyakit) sebanyak 0,5 gram dari 3 aksesori padi Introduksi dan 26 Padi lokal Indonesia yang berumur 21 HST, buffer ekstrak CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), ddH₂O, Na-asetat, Cisam (kloroform, isoamil alkohol), isopropanol dingin, etanol absolute 70%, DNA sample, tips pipet, *loading dye*, gel red, agarose, Primer umur genjah (RM3868, RM5607, dan RM3571) dan Primer tahan wereng batang coklat biotipe 3 (RM17 dan RM125), Komposisi larutan *buffer* isolasi DNA adalah *buffer* CTAB (CTAB (2% M/V), EDTA 0,5 M pH 8 (20 Mm), Tris HCl 1 M pH 8 (100 Mm), NaCl 5 M (1,26 M) dan ddH₂O steril), *buffer* TE (Tris HCl 1 M pH 7,5; EDTA 500 mM pH 8 dan ddH₂O).

3.3. Tahapan Penelitian

3.3.1. Persemaian Padi dan Pengambilan Sampel

Persemaian benih padi dilakukan menggunakan 29 aksesori padi lokal Indonesia dan Introduksi (lampiran 6). Benih tersebut disemai di atas kapas yang lembab disimpan di suhu ruangan yang terkena cahaya matahari. Setelah berumur 14 hari persemaian, tanaman dipindahkan ke media tanam yaitu tanah dan kompos dengan perbandingan (3:1) $\frac{V}{V}$ dan dimasukkan pada ember yang bervolume 39 cm³ (diameter atas 31 cm, diameter bawah 22,5

dan tinggi 23 cm) dengan jumlah 29 ember untuk 29 aksesori padi lokal Indonesia dan introduksi. Setiap ember diisi dengan 3 bibit padi hasil persemaian dengan media tanam tersebut, yang diletakkan di halaman rumah yaitu di perumahan banjarsari permai. Penyiraman dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari.

Pengambilan sampel untuk isolasi DNA dilakukan pada umur 21 HST (hari setelah tanam) dengan kriteria sampel menggunakan daun yang masih muda, sehat, dan tidak terserang hama dan penyakit. Sampel diambil sebanyak ± 7 cm bagian tengah helaian daun diambil untuk digunakan sebagai sampelnya, kemudian setiap sampel dimasukkan ke dalam plastik dan diberi nama dan disimpan ke dalam *ice box* pada suhu -20°C . *Ice box* digunakan agar daun tetap segar dan mencegah terjadi kemerosotan berat kering dan kerusakan jaringan daun.

3.3.2. Isolasi DNA Padi Metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987)

DNA padi di isolasi dari sampel daun padi muda dengan menggunakan metode CTAB (*Cetyl trimethyl Ammonium bromide*) (Doyle & Doyle, 1987 dengan modifikasi). Metode CTAB dilakukan melalui tiga tahap yaitu perusakan dinding sel (*preparasi ekstrak DNA*), pemurnian DNA (*purifikasi DNA*), dan pemekatan DNA (*presipitasi DNA*). CTAB berfungsi sebagai buffer pengekstrak yang dapat merusak membran menjadi suatu larutan kompleks yang mengandung DNA.

Isolasi DNA dengan menggunakan metode CTAB dilakukan melalui tiga tahapan, pertama adalah perusakan dinding sel (*preparasi ekstrak DNA*). Proses isolasi DNA yang pertama kali dilakukan adalah mengambil sampel daun padi yang berumur 21 hari. Daun ditimbang sebanyak 0,5 gram tiap sampel, kemudian daun padi dipotong kecil-kecil dan dimasukkan kedalam mortar yang sudah dalam posisi dingin dan dikelilingi es batu. Sampel kemudian digerus sampai halus, daun yang sudah halus dimasukkan kedalam tabung mikro ukuran 1,5 ml kemudian diberi tambahan buffer ekstraksi (CTAB) sebanyak 800 μ l yang terbuat dari Tris HCL 1 M dengan pH 8, EDTA 0,5 M, NaCL 5 M, CTAB serbuk, ddH₂O, dan Na disulfit. Larutan kemudian dikocok perlahan dengan cara membolak balik tabung mikro agar daun dan buffer tercampur. Sample kemudian di inkubasikan selama 15 menit menggunakan *waterbath* pada suhu 65°C untuk melisiskan dinding sel. Setiap lima menit sekali sampel dibolak balik agar buffer dan daun tercampur merata, tujuannya untuk mengoptimalkan kerja buffer ekstraksi.

Tahapan kedua adalah pemurnian DNA (*purifikasi DNA*) yang dilakukan dengan cara menambahkan Chisam 800 μ L suatu campuran cloroform dan isoamil alkohol dengan perbandingan 24:1 ($\frac{v}{v}$). Larutan kemudian di *vortex* agar tercampur merata. Setelah homogen, tabung mikro disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Sentrifugasi ini akan menghasilkan 3 lapisan supernatan yang terbentuk, lapisan paling atas supernatan diambil sebanyak 500 μ L dan dipindahkan kedalam tabung

mikro 1.5 ml, kemudian ditambahkan 450 μ L NaOAc (*Natrium Asetat*), lalu di bolak-balik sebanyak 10 x.

Tahapan ketiga adalah pemekatan DNA (*presipitasi DNA*) dilakukan dengan cara menambahkan etanol absolut dingin sebanyak 900 μ l, ke dalam larutan supernatan tadi, larutan kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm agar terbentuk pellet (DNA yang mengendap). Bagian cair dari larutan supernatan dibuang hingga tersisa pellet. Kemudian tambahkan etanol 70% sebanyak 500 μ L kedalam tabung mikro berisi pellet DNA, kemudian larutan disentrifugasi lagi selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Langkah selanjutnya, supernatan (Bagian cair) dari larutan dibuang dan pellet yang di peroleh dikeringkan selama semalam (*overnight*). Pellet yang telah kering, dilarutkan dengan 200 μ l ddH₂O untuk selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37°C selama 30 menit, simpan dalam freezer dan kemudian cek konsentrasi DNA melalui analisis kuantitatif DNA.

3.3.3. Analisis Kuantitatif DNA dengan Spektrofotometer Nanodrop (Thermo Fisher Scientific 2009)

Analisis Kuantitatif DNA hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan *Spectrophotometer Nanodrop*. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA. DNA hasil isolasi disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit. Pelet hasil sentrifugasi dilarutkan dengan TE 1x sebanyak 200 μ L. Larutan pellet DNA kemudian diteteskan keatas blanko yang berupa lempengan kaca dengan lubang optik. Lubang optik dibersihkan terlebih dahulu

menggunakan larutan TE 1x diteteskan sebanyak 2 μL (satu tetes) ke dalam lubang optik kemudian ditutup. Tahap selanjutnya adalah mengaktifkan menu *measure* pada komputer. Lubang optik dikeringkan menggunakan tissue, kemudian sampel dimasukkan sebanyak 2 μL (satu tetes). Hasil pengukuran akan ditampilkan dalam bentuk **konsentrasi ($\text{ng}/\mu\text{L}$)** dan **kemurnian DNA** berdasarkan rasio absorbansi pada panjang **gelombang 260 nm dan 280 nm**. DNA dengan nilai kemurnian yang baik berada pada rentang 1.8-2.0.

3.3.4. Analisis Kualitatif DNA dengan Elektroforesis Gel Agarosa (Sambrook & Russell 2001)

Setelah didapat konsentrasi dan kemurnian DNA, dilanjutkan untuk Analisis kualitatif DNA tanaman padi yaitu dengan menggunakan alat elektroforesis gel agarose. Untuk Analisis kualitatif DNA, konsentrasi agarose yang digunakan adalah 1%. Pembuatan agar dilakukan dengan cara menghomogenkan gel agarose 0,4 g pada larutan TAE 1x sebanyak 40 ml. Larutan dipanaskan ke dalam *microwave* selama 2-4 menit hingga agar larut. Larutan yang sudah tercampur dimasukkan ke dalam cetakan agar yang sudah diberi cetakan sumur.

Setelah gel agarosa memadat, gel dimasukkan ke dalam bak elektroforesis yang berisi TAE 1x. Sebanyak 2 μL sampel DNA ditambahkan dengan 2 μL *loading dye* dan dicampur, kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel. Proses *running* elektroforesis dilakukan dengan voltase 75 volt selama ± 30 menit.

3.3.5. Amplifikasi DNA dengan PCR

Analisis selanjutnya yaitu Amplifikasi DNA dengan menggunakan alat PCR adalah salah satu tahap memperbanyak DNA dengan menggunakan suhu tinggi. Pada tahapan ini, amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR membutuhkan temperatur, waktu, dan siklus yang berbeda untuk setiap primernya. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dengan beberapa jam (Handoyo *et al*, 2000). Adapun komponen master mix PCR DNA yang dimasukkan ke dalam *tube* PCR dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Komponen master mix PCR

| Bahan | Volume (μl) |
|--------------------|-----------------------------------|
| Buffer | 1,5 |
| dNtps | 1,5 |
| MgCl ₂ | 0,6 |
| Primer | F 1.5+R 1. 5 |
| Dream Taq | 0,12 |
| Tamplate | 1,0 |
| DNA | 2,0 |
| ddH ₂ O | 7,28 |

Sumber : Protokol VIVANTIS, 2017

Dalam proses PCR juga membutuhkan fragmen kecil DNA, yang dikenal sebagai primer, serta molekul DNA yang berfungsi sebagai template untuk membangun untai baru. Jika tiga bahan ini disediakan, enzim akan bekerja membuat salinan template dari molekul DNA. Amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR suhu pada tahapan PCR tergantung pada primer yang digunakan.

Campuran larutan PCR dibuat dengan mencampurkan 2 μ L DNA (20 ng/ μ L), dan PCR mix yang mengandung 1,5 μ L 10x bufer PCR, 1,5 μ L

dNTPs, 0.6 μL MgCl_2 , 1,5 μL primer *reverse* dan *forward* (RM6838, RM5607, RM3571, RM17, dan RM125), 0.12 μL Dream *Taq* DNA polimerase dan ditambahkan ddH₂O hingga volume mencapai 7,28 μL . Campuran DNA dimasukkan ke dalam *plate* dan kemudian dimasukkan ke dalam mesin PCR. Program PCR yang digunakan adalah denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 94°C, dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas: denaturasi (*denaturation*) selama 60 detik pada suhu 94°C, penempelan primer (*annealing*) selama 60 detik pada suhu 55°C, dan perpanjangan primer (*extension*) selama 2 menit pada suhu 72°C. Perpanjangan primer terakhir dilakukan selama 7 menit pada suhu 72°C.

Dalam Proses PCR juga membutuhkan fragmen kecil DNA, yang dikenal sebagai primer, serta molekul DNA yang berfungsi sebagai template untuk membangun untai baru. Jika tiga bahan disediakan, enzim akan bekerja membuat salinan template dari molekul DNA. Amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR suhu pada tahapan PCR tergantung pada primer yang digunakan.

3.3.6. Elektroforesis Gel Agarosa Hasil PCR

Analisis hasil amplifikasi DNA PCR menggunakan elektroforesis gel agaros 1% diawali dengan menyiapkan rangkaian alat elektroforesis terlebih dahulu. Plat kaca dibersihkan dengan alkohol dan dibiarkan hingga kering. Kaca yang telah kering lalu digabungkan yaitu antara kaca A dan kaca B.

Gel agaros dibuat dengan melarutkan 0,4 g bubuk agarose dalam 40 ml TAE 1x untuk kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan *stirrer and hotplate* hingga mendidih, tunggu hingga tidak terlalu panas. Selanjutnya dituangkan pada cetakan gel yang sebelumnya telah ditempatkan *comb* (sisir) untuk membuat lubang atau sumur dan didiamkan memadat selama 60 menit. Gel agarose yang sudah mengeras direndam dalam TAE 1x.

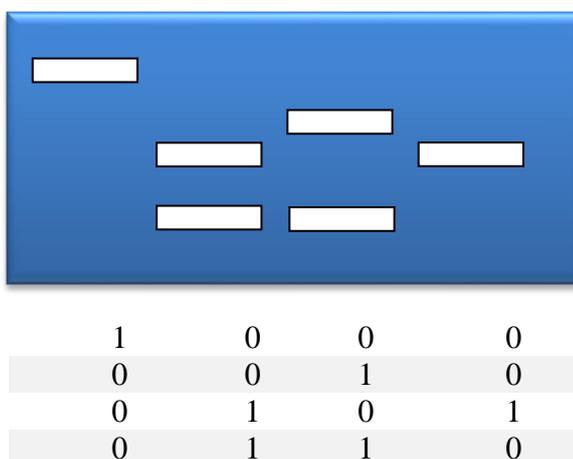
Gel agaros yang telah memadat pada cetakan kaca dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis horizontal dan ditambahkan bufer TAE 1x ke dalamnya. Setelah gel siap, produk PCR yang telah ditambahkan 2 μ L *loading dye* dimasukkan ke dalam sumur gel sebanyak 2 μ L dan disertakan DNA *marker* 100 bp *ladder* sebanyak 2 μ L sebagai pembanding pada sumur pertama untuk melihat ukuran DNA. Selanjutnya sampel DNA dialiri arus listrik dengan daya 100 volt selama 25 menit. Gel agaros yang telah selesai *running* dicuci dengan ddH₂O. Setelah proses *running* selesai, gel divisualisasi dengan *chemidoc* UV-Transilluminator *EZ Biorad*.

3.3.7. Visualisasi Hasil Running Menggunakan Chemidoc

Visualisasi hasil PCR yang telah dirunning dilakukan dengan menggunakan alat *Chemidoc UV-Transilluminator EZ Biorad* untuk melihat fragmen-fragmen DNA yang berbentuk pita-pita DNA. Setiap ukuran pita DNA berhubungan dengan karakter yang akan diamati, dengan bantuan program aplikasi komputer yaitu Image Lab.

3.3.8. Analisis Data

Analisis data molekuler dilakukan dengan skoring pita hasil visualisasi DNA. Setiap pita yang muncul pada gel merupakan alel tertentu. Alel tersebut diterjemahkan menjadi data biner yang diberi nilai berdasarkan ada tidaknya suatu alel (Hairinsyah, 2010). Nilai satu atau (+) akan diberikan apabila terdapat alel, dan nilai 0 atau (-) bila tidak terdapat alel. Untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi scoreing

Adapun untuk pengolahan data menggunakan statistik deskriptif yaitu menggunakan program software *Gel Analyzer* untuk mengetahui analisis pita DNA dan ukuran bp, ms. *Excel* untuk analisis statistik (*Scoreing*), dari masing-masing primer SSR yang digunakan mengamplifikasi fragmen DNA dari semua aksesori padi tersebut dilakukan dengan matriks *excel*. Selanjutnya yaitu menggunakan program NTSYSpc 2.11a (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Systems*). Program ini dapat digunakan untuk metode *clustering* untuk membangun pohon

filogeneti dan selanjutnya menganalisis Ada-tidaknya pita, lalu melakukan pengelompokan data untuk membuat dendogram Kekerabatan dan elektroforegram, dilanjutkan dengan menganalisis hasil dendogram dan mengelompokannya berdasarkan kontrol positif dan negatif gen umur genjah dan tahan hama wereng batang coklat.

Adapun aksesori yang dijadikan kontrol positif gen umur genjah yaitu M70D (87 hari), Maninjau (95 hari), Gajah mungkur (95 hari). Sedangkan aksesori yang memiliki umur dalam yaitu Rojolele delangu (155 hari), Kewal bulu putih (165 hari), kewal benur (165 hari) dan Tunggul Hideung (180 hari). Adapun kriteria Padi yang berumur 100 HST tergolong genjah, 116-125 HST tergolong setengah genjah, 126-135 HST tergolong setengah dalam, 135-150 HST tergolong dalam dan lebih dari 150 HST tergolong dalam sekali (Siregar 1981).

Adapun aksesori yang dijadikan sebagai kontrol Positif gen tahan WBC biotipe 3 yaitu Balck madras dan ciherang, sedangkan aksesori yang dijadikan kontrol negative yaitu yang rentan WBC biotipe 3 yaitu Inpari 30 dan IR42.

Setelah dilakukan pengelompokan data hasil dendogram dengan menggunakan primer umur genjah maupun gen tahan WBC biotipe 3 dapat ditarik kesimpulan bahwa kelompok yang memiliki kesamaan genetik dengan aksesori kontrol positif dinyatakan memiliki kemiripan sifat genetik gen umur genjah maupun tahan WBC biotipe 3.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil dan Pembahasan

4.1.1. Isolasi DNA Tanaman Padi

Hasil isolasi DNA daun padi dari 29 varietas padi (3 aksesori padi Introduksi dan 26 Padi lokal Indonesia) menunjukkan bahwa ada 1 varietas yang mengalami **kontaminasi protein** dengan kemurnian $<1,8$ yaitu varietas **bendang pulau** yaitu kemurnian DNA yaitu **1,78** dengan konsentrasi **92,6 ng/ μ l**. Hasil isolasi DNA biasanya tidak selalu seragam konsentrasinya, oleh karena itu konsentrasi DNA diperoleh harus diseragamkan dengan pengenceran. Sedangkan untuk varietas yang mengalami **kontaminasi RNA** dengan kemurnian $> 2,0$ tidak terjadi kontaminasi.

4.1.2. Analisis Kuantitatif DNA

Hasil Analisis kuantitatif DNA dengan menggunakan alat *Spectrophotometer Nanodrop*. Spektrofotometer merupakan metode standar dalam pengukuran kuantitas DNA hasil isolasi. Spektrofotometer juga dapat digunakan untuk menentukan kemurnian DNA. Nilai kemurnian dari suatu sampel DNA hasil isolasi dapat dinyatakan dengan perbandingan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

Hasil Analisis kuantitatif DNA menunjukkan nilai konsentrasi DNA aksesori **Maninjau** yang **paling tinggi** yaitu **174,4 ng/ μ l** dengan nilai

kemurnian DNA 1,82 dan tidak mengalami kontaminasi protein maupun RNA. Sedangkan nilai konsentrasi yang **paling rendah** yaitu aksesori **Seren** yaitu **57,1 ng/ μ l** tetapi memiliki kemurnian DNA yang murni yaitu **1,83 ng/ μ l**. DNA dapat dikatakan murni apabila nilai perbandingan 260/280 berkisar antara 1,8-2,0. DNA yang terkontaminasi oleh protein dapat menggunakan enzim protease dan yang terkontaminasi oleh RNA dapat dilakukan penambahan enzim RNase.

Kemurnian suatu DNA dapat dikatakan baik apabila berada pada rentang 1.8 hingga 2.0 karena pada rentang ini kemampuan DNA menyerap cahaya lebih baik (Aliyu *et al.*, 2013). Kemurnian DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah penggunaan RNase. Perlakuan RNase terhadap sampel dapat menghilangkan RNA dari sampel dan mengurangi terjadinya peristiwa *smear* pada hasil elektroforesis. Proses degradasi RNA dari sampel DNA akan menghasilkan kualitas DNA hasil isolasi yang lebih baik (Aliyu *et al.* 2013). Untuk dapat mengetahui hasil analisis kualitatif isolasi DNA lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Analisis Kuantitatif isolasi DNA 29 Aksesori Padi (26 Aksesori Padi lokal Indonesia dan 3 aksesori padi Introduksi) menggunakan Spektrofotometer

| No | Sample Aksesori Padi | Nucleic Acid Conc | Unit | 260/280 | Sample Type | Factor |
|--|----------------------|-------------------|-------|-------------|-------------|--------|
| 1. | Cere Ware | 147 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 2. | Jawara Hawara | 141,8 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 3. | Inpari 1 | 140,6 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 4. | Jalawara | 70,1 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 5. | Seren | 57,1 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 6. | Basmati | 88,9 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 7. | IR 64 | 74,2 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 8. | Inpari 35 | 63,5 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 9. | Purple Rice | 117,6 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 10. | Mira 1 | 166,1 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| 11. | Tambleg | 127,8 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 12. | Padi Gadok | 125,2 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 13. | Situ Bagendit | 133,7 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 14. | Pare Cerai | 145,6 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 15. | Dodokan | 126,5 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 16. | Bendang Pulau | 92,6 | ng/μl | 1,78 | DNA | 50 |
| 17. | Sidenok | 168,2 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 18. | Inpari 13 | 133,1 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Umur Genjah | | | | | | |
| 19. | M70D | 140,7 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 20. | Maninjau | 174,4 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 21. | Gajah Mungkur | 103,5 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Negatif Gen umur Genjah | | | | | | |
| 22. | Kewal Bulu Putih | 147,6 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 23. | Rojolele Delangu | 144,9 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 24. | Tunggul Hideung | 82,2 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| 25. | Kewal Benur | 149,1 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | | | | | | |
| 26. | Ciherang | 139,3 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 27. | Black Madras | 140,1 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | | | | | | |
| 28. | Inpari 30 | 136 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 29. | IR 42 | 125,5 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |

Menurut Nurhaini *et al.* (2003), Konsentrasi DNA berdampak pada kualitas fragmen hasil amplifikasi PCR. Konsentrasi DNA terlalu rendah akan menghasilkan fragmen DNA yang sangat tipis pada gel atau bahkan tidak

terlihat secara visual, sebaliknya jika konsentrasi DNA terlalu tinggi akan menyebabkan fragmen terlihat tebal sehingga sulit dibedakan antara satu pita dengan pita lainnya. Setelah diketahui hasil analisis kuantitatif DNA padi, selanjutnya dilakukan analisis kualitatif DNA padi.

4.1.3. Analisis Kualitatif DNA

Hasil uji kualitas DNA padi hasil isolasi menunjukkan pita-pita yang cukup tebal (Gambar 4). Elektroforegram juga menunjukkan sampel hasil isolasi yang murni karena tidak ditemukan adanya *smear* pada pita. Uji kualitatif DNA menggunakan DNA lambda sebagai pembanding yang telah diketahui konsentrasinya, yaitu sebesar 20 ng/ μ L. Uji kuantitas DNA dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa tidak terdapat fragmen *smear* dan ketebalan pita DNA sampel lebih tebal dibandingkan pita DNA lambda. Hasil pengukuran kuantitas DNA menggunakan spektrofotometer nanodrop berada pada rentang **57-174.4 ng/ μ L** dan kemurnian DNA berada pada rentang **1.78-1.83** (Tabel 2). Konsentrasi gel agarosa yang digunakan dalam analisis kualitatif DNA berpengaruh dalam ukuran fragmen DNA yang dipisahkan. Semakin kecil konsentrasi agarose yang digunakan, memberikan resolusi yang lebih baik untuk fragmen DNA yang berukuran besar (Lee dan Bahaman, 2010).



Gambar 4. Elektroforegram beberapa DNA padi hasil isolasi DNA.

Hasil visualisasi DNA menggunakan gel agarosa 1% menghasilkan pita DNA dengan ketebalan pita yang beragam. Pada hasil visualisasi uji kualitas hasil isolasi DNA gambar jelas dengan menggunakan alat *Chemidoc UV-Transilluminator EZ Biorad* yang baik. Ketebalan pita yang beragam diakibatkan oleh nilai kemurnian dan konsentrasi pada masing-masing sampel berbeda yang ditunjukkan pada (Tabel 2). Selain pita DNA, hasil elektroforesis menunjukkan tidak adanya materi ikatan lain (*smear*) yang menandakan bahwa di dalam DNA yang diperoleh murni/tidak terjadi terkontaminasi RNA dan tidak terdegradasi, sehingga pita-pita DNA yang sama ukurannya tidak akan menimbulkan pita *smear*, dengan demikian konversi konsentrasi DNA sampel dengan DNA pembanding bisa dilakukan.

Lambda adalah suatu suspensi dengan panjang gelombang tertentu sehingga ketika dilakukan pengamatan menggunakan sinar UV, konsentrasi pada larutan uji dapat diketahui dengan melihat warna pendaran cahaya yang ditampilkan (Dualembang *et al.*, 2011).

Elektroforesis menggunakan gel agarosa banyak digunakan untuk menganalisis molekul DNA serta untuk memisahkan, mengidentifikasi, serta

memurnikan fragmen DNA dan RNA yang dilakukan pada medan gerak horizontal (Agrawal, 2008). Kelebihan elektroforesis menggunakan gel agarosa biasanya lebih mudah dan sederhana, laju pemisahan lebih cepat sehingga fragmen DNA lebih cepat terbentuk, mampu memisahkan campuran potongan DNA sesuai dengan ukurannya, preparasi gel lebih cepat karena pembuatan gel agarosa lebih mudah, serta bersifat non toksik.

4.2 Hasil Analisis Gen Umur Genjah

4.2.1. Marka SSR Penyandi Umur Genjah pada 29 Plasma Nutfah Padi

Amplifikasi DNA adalah prinsip dasar pada PCR yakni mengamplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua untaian sekuens target, begitupula dengan penelitian ini. Seleksi tanaman padi gen umur genjah dilakukan dengan menggunakan primer RM6838, RM5607, dan RM3571 yang kemudian diamplifikasi dengan mesin PCR. Primer RM6838, RM5607, dan RM3571 adalah marka pengapit untuk mendeteksi lokus *qDTH8*, *HD12* dan *HD2* pada tanaman padi. Untuk lebih jelasnya dapat di lihat pada gambar 5 yaitu Elektroforegram DNA Hasil Amplifikasi PCR Primer RM6838 untuk primer umur genjah dibawah ini.

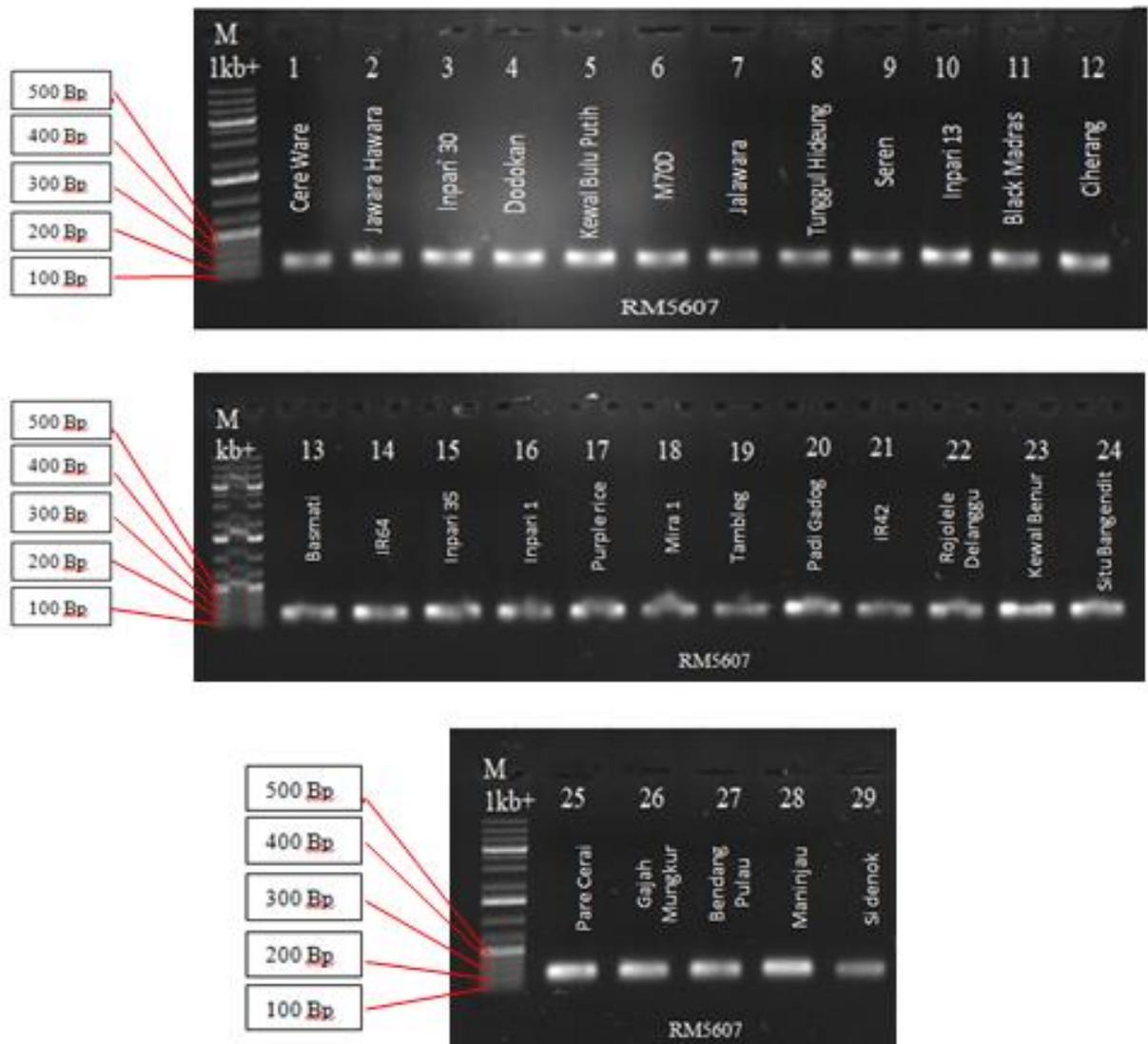


Gambar 5. Elektroforegram DNA 29 Aksesori Padi dengan menggunakan Primer RM6838

Primer RM6838 dapat mendeteksi alel-alel yang memiliki gen *qDTH8* terletak pada kromosom 8. Chao *et al.* (2013) menyatakan bahwa gen *qDTH8* menyandi protein HAP3 yang bertindak sebagai faktor transkripsi pada

proses transkripsi gen. Gen *qDTH8* meregulasi proses ekspresi gen florigen *Hd3a* yang dapat memicu terjadinya proses pembungaan pada tanaman padi.

Hasil elektroforesis primer pada lokus *qDTH8* dapat dilihat dalam Gambar 5. Hasil elektroforegram primer RM6838 (Gambar 5) memiliki ukuran pita DNA pada ukuran >200 bp yaitu Jawara Hawara, Inpari 1, Purple rice, Mira 1, Tambleg, Padi Gadog, IR42, Kewal Benur, Pare Cerai, Gajah mungkur, Bendang Pulau, Maninjau, dan Sidenok. Adapun ukuran pita DNA pada ukuran <200 bp yaitu Cere Ware, Inpari 30, Dodokan, Kewal Bulu Putih, M70D, Jalawara, Tunggul Hideung, Seren, Inpari 13, Black Madras, Ciherang, Basmati, IR64, Inpari 35, Rojolele Delanggu, dan Situ bagendit. Hal tersebut membuktikan penelitian ini sesuai dengan bank data *Gramene* dan hasil penelitian sebelumnya. Produk amplifikasi PCR dengan primer RM6838 mampu mendeteksi gen *qDTH8* berada pada ukuran pita <200 bp. Untuk selanjutnya yaitu kita dapat melihat Hasil Amplifikasi PCR Primer RM5607 pada gambar 6 yang merupakan primer umur genjah selanjutnya.

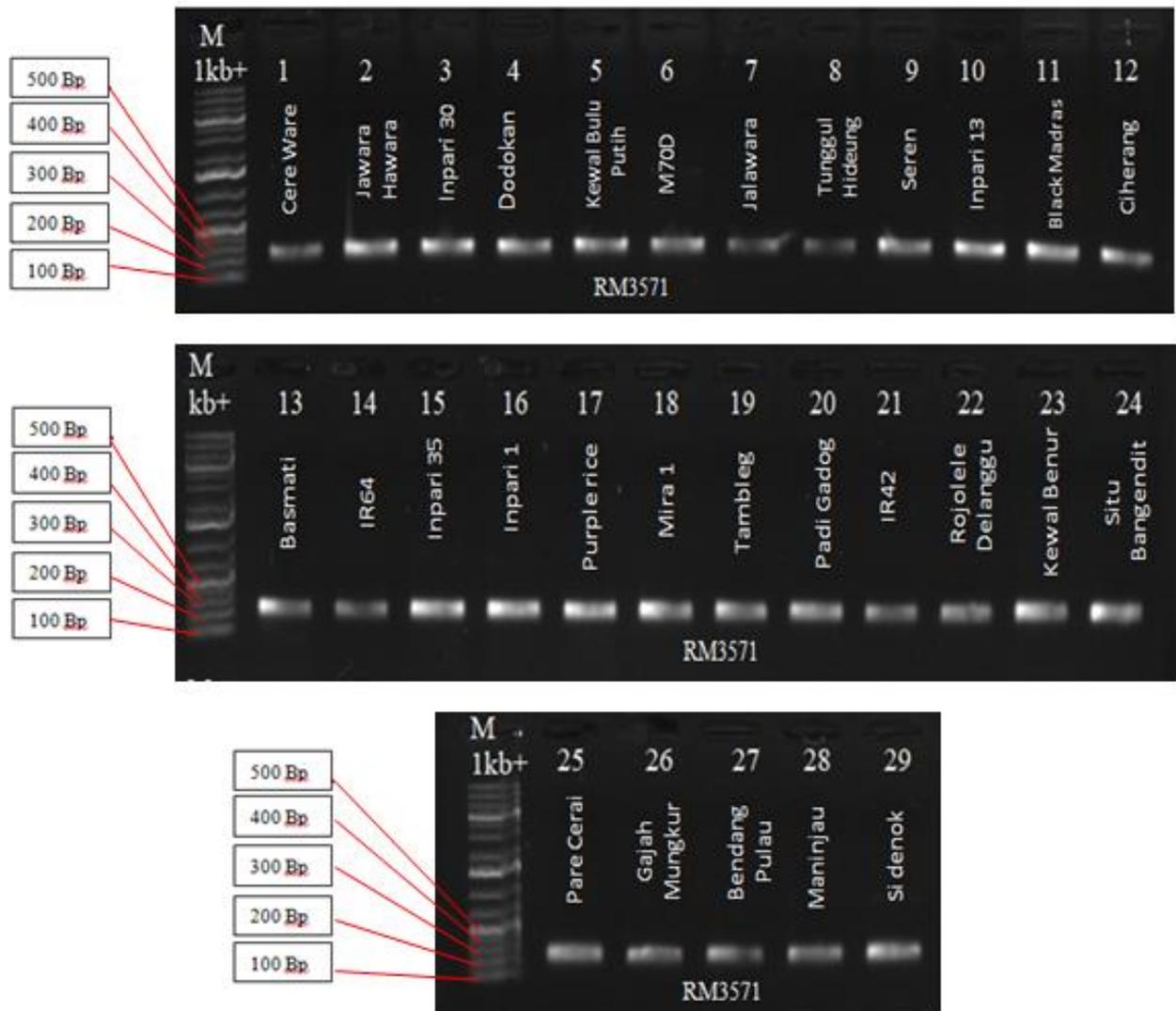


Gambar 6. Elektroforegram DNA 29 Aksesori Padi dengan menggunakan Primer RM5607

Kemampuan marka dalam menghasilkan alel polimorfis. Dari data profil alel diketahui bahwa marka RM5607 memiliki nilai PIC tinggi yaitu 0,90 yang berarti bahwa primer tersebut bisa menghasilkan sejumlah besar karakter pembeda antar aksesori yang diteliti. Marka RM5607 terpaut dengan gen pengatur umur

pembungaan HD7 yang terdapat pada kromosom 7. Marka ini dapat menunjukkan polimorfisme ukuran alel antara plasma nutfah padi genjah sangat genjah.

Hasil elektroforesis primer pada lokus HD7 dapat dilihat dalam Gambar 6. Hasil elektroforegram primer RM5607 (Gambar 6) memiliki ukuran pita DNA pada ukuran >200 bp yaitu Basmati, IR64, Inpari 35, Inpari 1, Purple rice, Mira 1, Tambleg, Padi Gadog, IR42, Rojolele Delanggu, Kewal Benur, Situ Bagendit, Pare Cerai, Gajah mungkur, Bendang Pulau, Maninjau, Sidenok, Jawara Hawara, Inpari 30, Tunggul Hideung, dan Inpari 13. Adapun ukuran pita DNA pada ukuran <200 bp yaitu Dodokan, Kewal Bulu Putih, M70D, Jalawara, Black Madras, dan Ciherang. Hal tersebut membuktikan penelitian ini sesuai dengan bank data *Gramene* dan hasil penelitian sebelumnya. Produk amplifikasi PCR dengan primer RM5607 mampu mendeteksi gen HD7 berada pada ukuran pita <200 bp. Untuk selanjutnya yaitu kita dapat melihat Hasil Amplifikasi PCR Primer RM3571 pada gambar 7 yang merupakan primer umur genjah selanjutnya.



Gambar 7. Elektroforegram DNA 29 Akses Padi dengan menggunakan Primer RM3571

Primer RM3571 dapat mendeteksi alel-alel yang memiliki gen HD12 terletak pada kromosom 8 dengan ukuran bp 160-178. Marka RM3571 terpaut dengan gen HD12 memiliki tingkat signifikansi paling tinggi terhadap varietas berumur sangat genjah. Hasil analisis pengelompokan menunjukkan adanya pengelompokan yang menggambarkan variasi dalam fenotipe kelompok

Subspesies: Indica, Japonica, dan Tropical Japonica serta dalam karakter umur tanaman.

Hasil pada Gambar 7 menunjukkan bahwa marka RM3571 yang terpaut dengan salah satu gen pengatur umur pembungaan, HD2, bersifat polimorfis untuk beberapa aksesori. Hasil elektroforegram primer RM3571 (Gambar 7) memiliki ukuran pita DNA pada ukuran >200 bp yaitu Cere Ware, Jawara Hawara, Inpari 30, Dodokan, Kewal Bulu Putih, M70D, Jalawara, Tunggul Hideung, Seren, Inpari 13, Black Madras, Ciherang, Situ Bagendit, Pare Cerai, Gajah mungkur, Bendang Pulau, Maninjau, dan Sidenok. Adapun ukuran pita DNA pada ukuran <200 bp yaitu Basmati, IR64, Inpari 35, Inpari 1, Purple rice, Mira 1, Tambleg, Padi Gadog, IR42, Rojolele Delanggu, dan Kewal Benur.

4.3. Hasil Analisis Gen Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3

4.3.1. Marka SSR Penyandi Wereng batang coklat Biotipe 3 pada 29

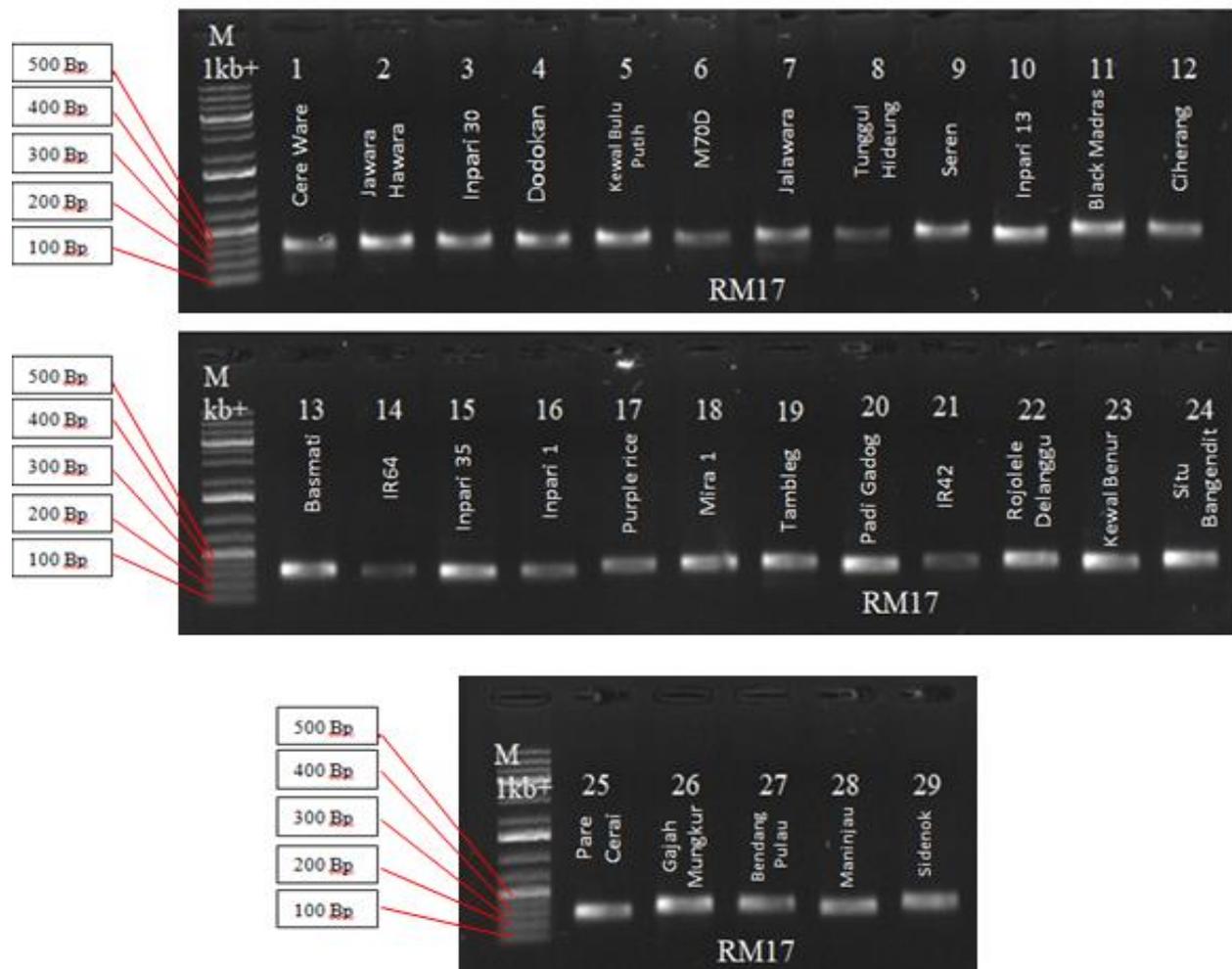
Plasma Nutfah Padi

DNA hasil isolasi yang telah diketahui kualitas dan kuantitasnya kemudian diamplifikasi menggunakan mesin PCR dengan marka molekuler. Panjang ukuran DNA yang diamplifikasi dibatasi oleh dua buah primer spesifik yang sudah ditentukan. Tersedianya gen-gen ketahanan menjadi sangat krusial dalam perakitan varietas unggul baru tahan hama ini. Ribuan aksesori plasma nutfah padi telah ditapis di IRRI untuk ketahanan terhadap WBC biotipe 1, 2, dan 3 (Brar *et al.* 2009). Hu *et al.* (2018) melaporkan lebih dari 30 gen ketahanan terhadap WBC telah diidentifikasi pada tanaman padi.

Beberapa gen yang bertanggung jawab terhadap ketahanan tanaman padi bahkan telah diidentifikasi dan diketahui mekanisme kerjanya, di antaranya *Bph3* (Liu *et al.* 2015), *Bph6* (Guo *et al.* 2018), dan *Bph14* (Du *et al.* 2009).

Plasma nutfah padi di Indonesia cukup melimpah untuk eksplorasi gen-gen ketahanan baru terhadap WBC. Gen-gen ketahanan tersebut dapat diuji untuk mengidentifikasi gen yang paling efektif dalam mengatasi WBC yang berkembang di Indonesia. Selanjutnya, gen-gen tersebut dapat dipetakan lokasinya secara tepat dalam kromosom padi dengan menggunakan marka molekuler sehingga dapat digunakan dalam perakitan varietas baru tahan WBC berbasis marka atau untuk identifikasi dan isolasi gen secara lebih detail.

Karena perubahan biotipe WBC ke arah yang lebih ganas merupakan ancaman kontinyu terhadap peningkatan produksi padi, maka introduksi gen-gen ketahanan baru terhadap WBC dari berbagai donor ke dalam padi untuk mendapatkan varietas dengan produksi dan kualitas hasil beras tinggi serta tahan WBC terus dilakukan. Tersedianya marka molekuler yang terpaut erat dengan gen-gen ketahanan terhadap WBC akan sangat membantu kegiatan pemuliaan karena marka molekuler memungkinkan dilakukannya seleksi turunan persilangan berdasarkan genotipe dibandingkan seleksi berdasarkan fenotipe ketahanan (Su *et al.* 2006). Untuk lebih jelasnya dapat di lihat pada gambar 8 yaitu Elektroforegram DNA Hasil Amplifikasi PCR Primer RM17 untuk primer ketahanan WBC Biotipe III dibawah ini.

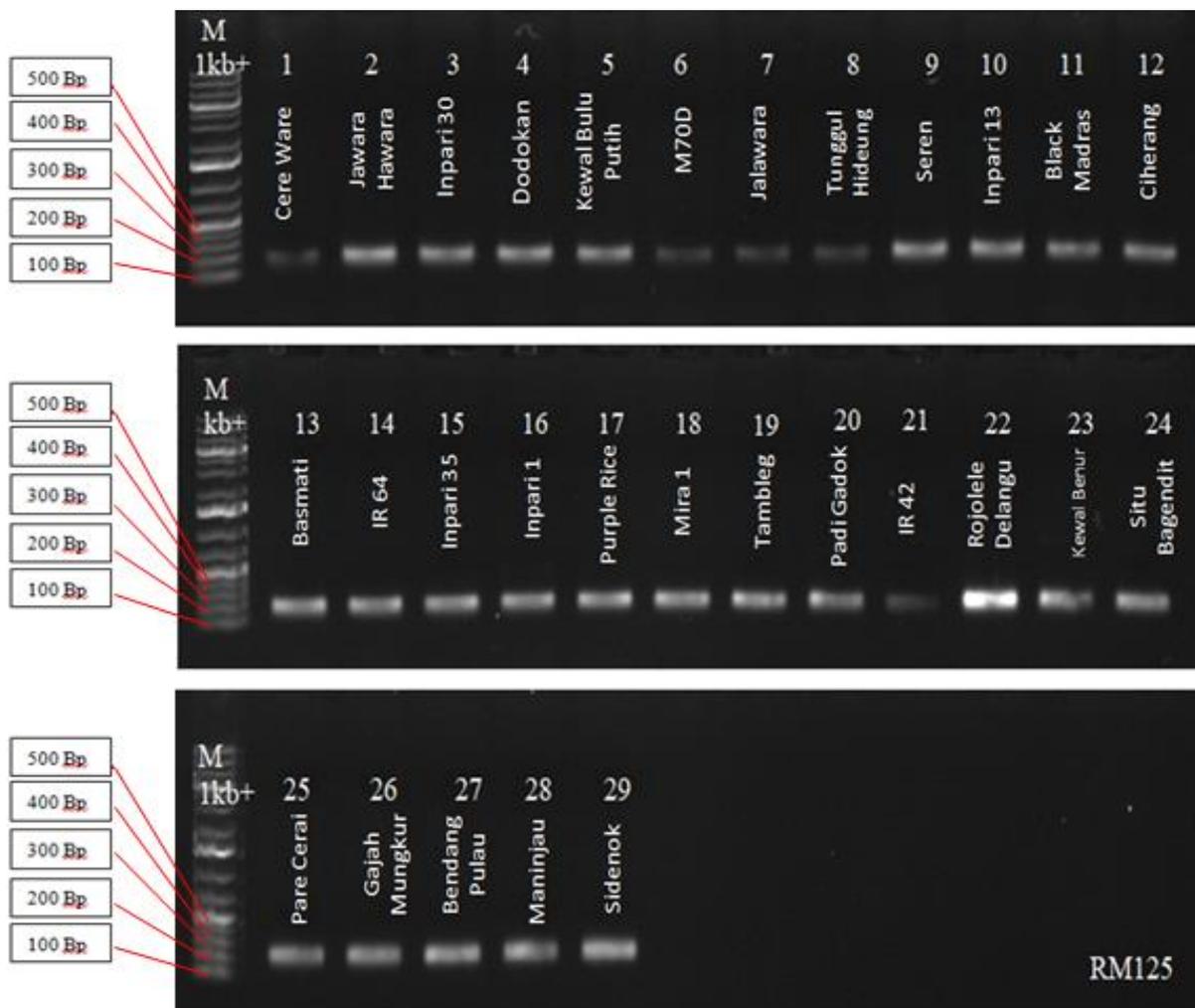


Gambar 8. Elektroforegram DNA 29 Akses Padi dengan menggunakan Primer RM17

Gen-gen dan QTL ketahanan terhadap WBC pada umumnya diidentifikasi pada stadia tanaman muda (berumur 5-14 hari) dan tanaman lebih dewasa (berumur >1 bulan) sehingga mekanisme ketahanan yang dideteksi adalah *antixenosis (nonpreference)* dan antibiosis (gangguan terhadap proses metabolik) (Soundararajan et al. 2005). RM17 dianggap paling potensial sebagai marka diagnostik awal untuk mengetahui calon galur harapan yang terindikasi tahan

terhadap WBC biotipe 3, karena: 1) lokasinya yang berada pada daerah QTL yang juga berdekatan dengan gen pengendali ketahanan terhadap WBC, yaitu gen *Bph10* dan *Bph19(t)* (Lang & Buu 2003; Li et al. 2010) diduga dapat memberikan kemampuan membedakan ketahanan dengan lebih baik dibandingkan marka lainnya; 2) memiliki dua alel yang berasosiasi dengan ketahanan terhadap WBC, dan 3) terdeteksi pada sebagian besar aksesori. Marka RM17 berjarak hanya 16,7 cm dari gen *Bph19(t)* pada kromosom 12. Individu-individu tahan dan rentan pada progeni populasi persilangan tersebut dapat dibedakan dengan menggunakan marka RM17 (Li et al. 2010). Calon-calon galur harapan yang terdeteksi mengandung lokus RM17 dikembangkan melalui persilangan antara tetua elit dengan sumber-sumber ketahanan.

Hasil elektroforegram primer RM17 (Gambar 8) memiliki ukuran pita DNA pada ukuran >200 bp untuk semua varietas. Dan Berdasarkan hasil dendogram pada Gambar 13 dapat diketahui bahwa aksesori Ciherang dan Black madras, sebagai kontrol positif yang memiliki gen ketahanan WBC Biotipe 3. Selanjutnya kita dapat lihat pada (gambar 9) yaitu Elektroforegram DNA Hasil Amplifikasi PCR Primer RM125 untuk primer ketahanan WBC Biotipe III selanjutnya.



Gambar 9. Elektroforegram DNA 29 Aksesori Padi dengan menggunakan Primer RM125

Hasil elektroforegram primer RM125 (Gambar 9) yang terletak dikromosom 7 yang memiliki gen *qBPH12* memiliki ukuran pita DNA <200 bp yaitu varietas Cereware, Basmati, dan IR42. Sedangkan Ukuran Pita DNA >200 bp yaitu varietas Inpari 30, Dodokan, Kewal bulu putih, M70D, Jalawara, Seren, IR64, Inpari 35, Inpari 1, Purple Rice, Mira 1, Tambleg, Padi Gadog, Rojolele Delangu, Kewal benur, Situ bagendit, Pare cerai, Gajah mungkur, Bendang pulau

dan Maninjau. Dan untuk ukuran pita DNA >300 yaitu Jawara Hawara, Tunggul hideung, Inpari 13, Black madras, Ciherang, dan Sidenok.

Dalam proses amplifikasi DNA, ketiga primer gen umur genjah dan kedua primer gen tahan WBC biotipe 3 juga memiliki keunggulan untuk mendeteksi multi alel di dalam lokus kromosom (Susanto *et al.* 2008). Hasil amplifikasi kemudian dipisahkan dengan elektroforesis untuk melihat pita-pita DNA yang dimiliki oleh tiap tanaman.

Hasil *scoring* pita elektroforegram primer, RM6838 (Gambar 5), RM5607 (Gambar 6), RM3571 (Gambar 7), RM17 (Gambar 8), dan RM125 (Gambar 9) menunjukkan bahwa tanaman yang mengandung kedua gen yang berasal dari tetua atau heterozigot lebih banyak dibandingkan tanaman yang hanya memiliki salah satu gen tetua saja atau homozigot. Adapun hasil yang didapat bahwa semua primer polimorfis. Terlihat pada Tabel 3 dibawah ini merupakan perolehan nilai digital skoring hasil amplifikasi PCR pada 5 primer yaitu diantaranya Primer RM6838, Primer RM5607, Primer RM3571, Primer RM17, dan RM125. Setiap Marka SSR primer menghasilkan 5-6 lokus. Pada primer RM17 menghasilkan 6 lokus, sedangkan pada primer RM6838, RM5607, RM3571, dan RM125 menghasilkan 5 lokus. Ini bisa saja disebabkan karena primer-primer tersebut dapat mengamplifikasi dengan optimal. Selain itu, primer yang sesuai dengan sekuens DNA padi yang diteliti sehingga diperoleh produk teramplifikasi karena terdapat kecocokan yang komplemen antara DNA padi dengan sekuens primer yang digunakan (Carson *et al.*, 2014).

Tabel 3. Nilai digital skoring hasil amplifikasi PCR pada 5 primer marka SSR

| No | Nama Varietas | Nilai digital Marka SSR | | | | |
|----|------------------|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | | RM6838 | RM5607 | RM3572 | RM17 | RM125 |
| 1 | Cere Ware | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 1010000. | 0100000. |
| 2 | Jawara Hawara | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0010000. | 0010000. |
| 3 | Inpari 30 | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0010000. | 0010000. |
| 4 | Dodokan | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0010000. | 0100000. |
| 5 | Kewal Bulu Putih | 1000000. | 1000000. | 0001000. | 0001000. | 0100000. |
| 6 | M70D | 0010000. | 0100000. | 0001000. | 0100000. | 0100000. |
| 7 | Jalawara | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 1000100. | 0010000. |
| 8 | Tunggul Hideung | 1000000. | 0010000. | 0010000. | 0000100. | 0010000. |
| 9 | Seren | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0000010. | 0100000. |
| 10 | Inpari 13 | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0000100. | 0010000. |
| 11 | Black Madras | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 0100000. | 0100000. |
| 12 | Ciherang | 0100000. | 0001000. | 1000000. | 0100000. | 0100000. |
| 13 | Basmati | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0100000. | 1000000. |
| 14 | IR 64 | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0010000. | 0010000. |
| 15 | Inpari 35 | 0010000. | 0000100. | 0010000. | 0100000. | 0100000. |
| 16 | Inpari 1 | 0010000. | 0000001. | 0010000. | 0100000. | 0010000. |
| 17 | Purple Rice | 0010000. | 0000001. | 0100000. | 0010000. | 0010000. |
| 18 | Mira 1 | 0010000. | 0000001. | 0100000. | 0100000. | 0100000. |
| 19 | Tambleg | 0100000. | 0000001. | 0100000. | 0010000. | 0010000. |
| 20 | Padi Gadok | 0100000. | 0000001. | 0100000. | 0010000. | 0010000. |
| 21 | IR 42 | 0100000. | 0000001. | 1000000. | 0010000. | 0010000. |
| 22 | Rojolele Delangu | 1000000. | 0010000. | 0010000. | 0001000. | 0100000. |
| 23 | Kewal Benur | 1000000. | 0010000. | 0010000. | 0010000. | 0100000. |
| 24 | Situ Bagendit | 1000000. | 0100000. | 0100000. | 0001000. | 0100000. |
| 25 | Pare Cerai | 0010000. | 0100000. | 0010000. | 0100000. | 0100000. |
| 26 | Gajah Mungkur | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 0010000. | 0100000. |
| 27 | Bendang Pulau | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 0010000. | 0100000. |
| 28 | Maninjau | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 0100000. | 0010000. |
| 29 | Sidenok | 0010000. | 0100000. | 0100000. | 0010000. | 0010000. |

Keragaman pita DNA terjadi karena adanya perbedaan jumlah dan intensitas pita DNA yang terbentuk pada setiap primer. Panjaitan (2014) menyatakan bahwa variasi yang terjadi pada jumlah dan intensitas pita DNA yang terbentuk setelah proses amplifikasi sangat tergantung pada cara primer

mengenal urutan DNA komplementernya pada cetakan DNA yang digunakan. Selain itu sebaran situs penempelan primer pada DNA cetakan dan adanya kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan menyebabkan satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak sementara fragmen lainnya hanya sedikit. Dalam Analisis molekuler dari masing-masing 29 varietas pola Alel dari pita DNA berdasarkan Primer yang digunakan yaitu primer gen umur genjah dan gen tahan WBC biotipe III yang dihasilkan bervariasi.

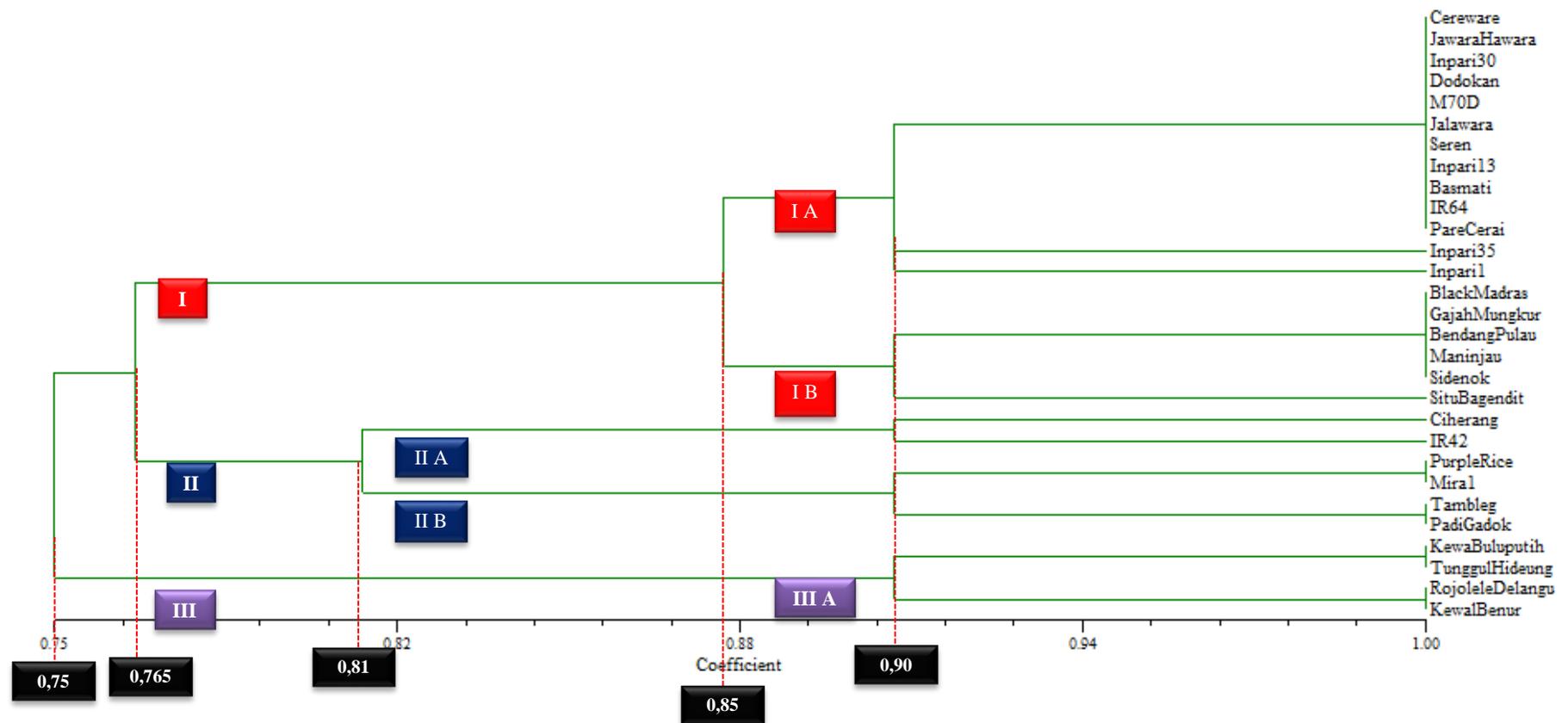
Berdasarkan Primer yang digunakan yaitu primer gen umur genjah dan gen tahan WBC biotipe III yang dihasilkan bervariasi, ada yang mengikuti pola alel AABB, AABb, AaBB, AaBb, AABb, AaBb, AaBB, AaBb, dan AaBb (**Dalam Rentan**) yaitu varietas Cereware, Jawara Hawara, Inpari 30, Dodokan, Kewal Bulu Putih, Jalawara, Tunggul Hideung, Seren, Inpari 13, Basmati, IR64, Inpari 1, Purple rice, Tambleg, Padi Gadok, IR42, Rojolele Delangu, Kewal Benur, dan Situ Bagendit Selanjutnya yang mengikuti pola alel AAbb, Aabb, Aabb (**Dalam Tahan**) yaitu varietas Ciherang, Inpari 35, Mira 1 dan Pare Cerai. Selanjutnya yang mengikuti pola alel aaBB, dan aaBb (**Genjah Rentan**) yaitu varietas Gajah mungkur, Bendang Pulau, Maninjau, dan sidenok. Dan yang mengikuti pola alel aabb (**Genjah Tahan**) yaitu varietas Black Madras dan M70D, untuk lebih jelasnya dapat kita lihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tabulasi hasil analisis molekuler berdasarkan Primer yang digunakan

| No | Nama Varietas | Primer umur genjah | | | Primer Tahan WBC III | | Alel | Fenotipik |
|-----|------------------|--------------------|--------|--------|----------------------|-------|-------|---------------|
| | | RM6838 | RM5607 | RM3571 | RM17 | RM125 | | |
| 1. | Cere Ware | + | + | - | - | + | aaABb | Dalam Rentan |
| 2. | Jawara Hawara | + | + | - | - | - | aaABB | Dalam Rentan |
| 3. | Inpari 30 | + | + | - | - | - | aaABB | Dalam Rentan |
| 4. | Dodokan | + | + | - | - | + | aaABb | Dalam Rentan |
| 5. | Kewal Bulu Putih | - | - | - | - | + | AAABb | Dalam Rentan |
| 6. | M70D | + | + | + | + | + | aaabb | Genjah Tahan |
| 7. | Jalawara | + | + | - | - | - | aaABB | Dalam Rentan |
| 8. | Tunggul Hideung | - | - | - | - | - | AAABB | Dalam Rentan |
| 9. | Seren | + | + | - | + | + | aaABB | Dalam Rentan |
| 10. | Inpari 13 | + | + | - | - | - | aaABB | Dalam Rentan |
| 11. | Black Madras | + | + | + | + | + | aaabb | Genjah Tahan |
| 12. | Ciherang | - | - | - | + | + | AAAbb | Dalam Tahan |
| 13. | Basmati | + | + | - | + | - | aaAbB | Dalam Rentan |
| 14. | IR 64 | + | + | - | - | - | aaABB | Dalam Rentan |
| 15. | Inpari 35 | + | - | - | + | + | aAAbb | Dalam Tahan |
| 16. | Inpari 1 | + | - | - | + | - | AAABb | Dalam Rentan |
| 17. | Purple Rice | + | - | + | - | - | aAaBB | Dalam Rentan |
| 18. | Mira 1 | + | - | + | + | + | aAabb | Dalam Tahan |
| 19. | Tambleg | - | - | + | - | - | AAaBB | Dalam Rentan |
| 20. | Padi Gadok | - | - | + | - | - | AAaBB | Dalam Rentan |
| 21. | IR 42 | - | - | - | - | - | AAABB | Dalam Rentan |
| 22. | Rojolele Delangu | - | - | - | - | + | AAABb | Dalam Rentan |
| 23. | Kewal Benur | - | - | - | - | + | AAABb | Dalam Rentan |
| 24. | Situ Bagendit | - | + | + | - | + | AaaBb | Dalam Rentan |
| 25. | Pare Cerai | + | + | - | + | + | aaAbb | Dalam Tahan |
| 26. | Gajah Mungkur | + | + | + | - | + | aaaBb | Genjah Rentan |
| 27. | Bendang Pulau | + | + | + | - | + | aaaBb | Genjah Rentan |
| 28. | Maninjau | + | + | + | + | - | aaabB | Genjah Rentan |
| 29. | Sidenok | + | + | + | - | - | aaaBB | Genjah Rentan |

Keterangan: a = (Genjah); A = (Dalam);
b = (Tahan WBC Biotipe III); B = (Rentan WBC Biotipe III)

4.4. Kekerabatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Gen Umur Genjah



Gambar 10. Dendrogram 29 Aksesori Padi Berdasarkan 3 Primer Gen Umur Genjah

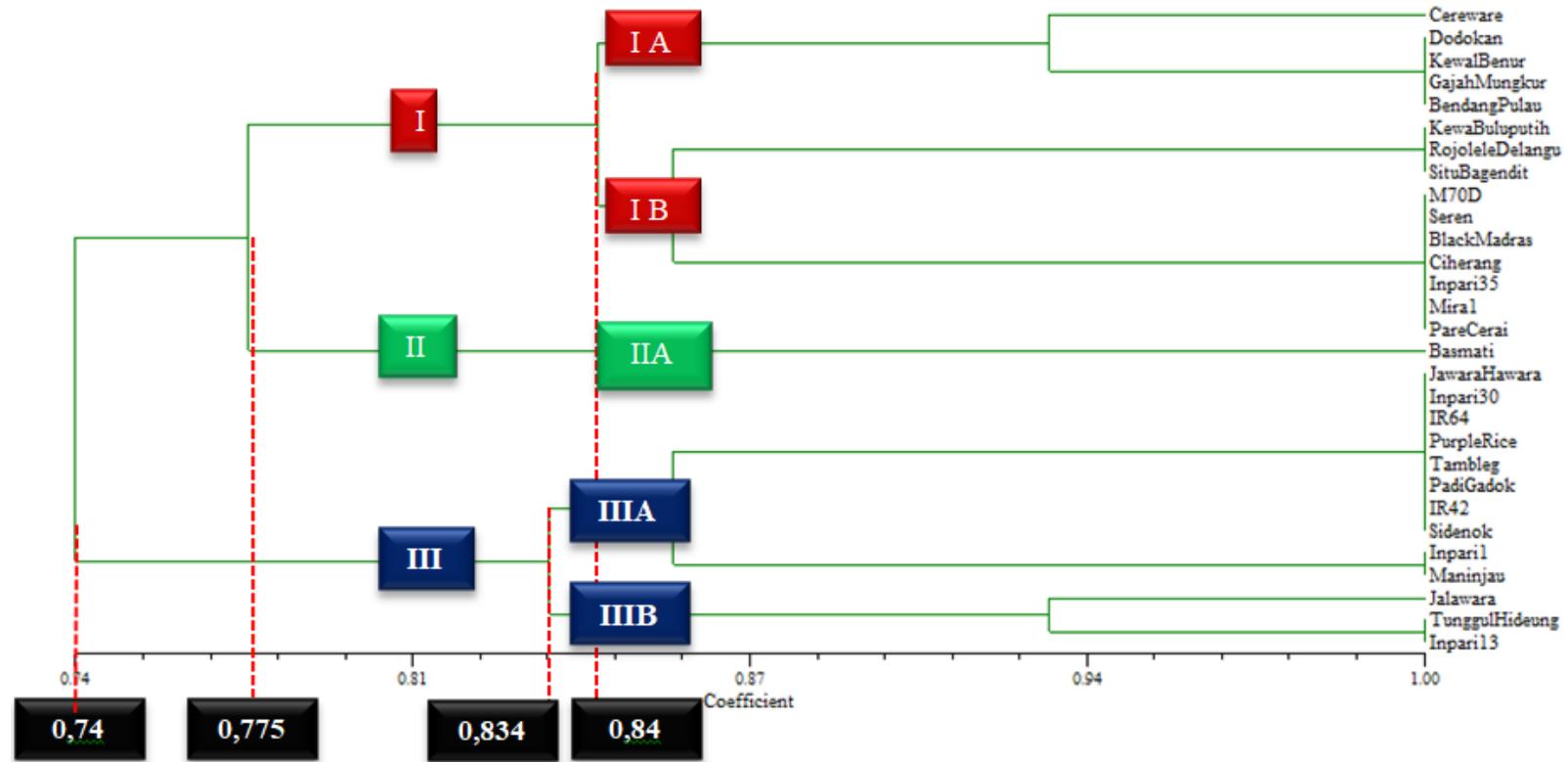
Hasil pita-pita DNA yang polimorfis dapat dianalisis, dengan melihat tingkat keragaman atau kekerabatannya. Menggunakan aplikasi program software NT-Sys pc2.11a untuk “*cluster tree analysis*” untuk mengungkap hubungan genetik dan kedekatan di antara semua genotipe yang diteliti. Adapun hasil Dendogram 29 Aksesori Padi berbasis gen umur genjah masing-masing primer yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 10.

Berdasarkan hasil dendogram diatas dari 29 aksesori padi berdasarkan 3 primer gen umur genjah yaitu RM6838, RM5607, dan RM3571 menunjukkan bahwa 29 aksesori padi mengelompok menjadi 3 klaster pada koefisien 0,75-1,00 nilai kemiripan 75% -100%. Pada Klaster I terdapat 2 kelompok yaitu kelompok Klaster IA dan Klaster IB. **Klaster IA** terdapat 13 aksesori padi (Cere ware, Jawara Hawara, Inpari 30, Dodokan, M70D, Jalawara, Seren, Inpari 13, Basmati, IR64, Pare Cerai, Inpari 35, dan Inpari 1) memiliki kemiripan genetik terkait **sifat umur genjah** sebesar 0,85-1,00 atau 85-100% dengan varietas kontrol positif aksesori M70D. Sedangkan pada **Klaster IB** terdapat 6 aksesori padi yaitu (Black Madras, Gajah Mungkur, Bendang Pulau, Maninjau, Sidenok dan Situ Bagendit) memiliki kemiripan genetik terkait **sifat umur genjah** 0,85-1,00 atau 85-100% dengan varietas kontrol Positif gen umur genjah yaitu Gajah Mungkur dan Maninjau.

Pada Klaster II terdapat 2 kelompok yaitu kelompok Klaster IIA dan Klaster IIB. **Klaster IIA** terdapat 2 aksesori padi (Ciherang dan IR42) memiliki kemiripan genetik terkait **semi umur genjah** sebesar 0,81-1,00 atau 81-100%. **Klaster IIB** terdapat 4 aksesori padi (Purple Rice, Mira I, Tambleg, dan Padi Gadok), memiliki kemiripan genetik terkait **semi umur genjah** sebesar 0,81-1,00

atau 81-100%. Pada **Klaster III** terdapat 1 kelompok yaitu kelompok Klaster IIIA. Klaster IIIA terdapat 4 aksesori padi (Kewal Bulu Putih, Tunggul Hideung, Rojolele Delangu, dan Kewal Benur) memiliki kemiripan genetik terkait **Sifat Dalam/tidak Genjah** 0,75-1,00 atau 75-100%.

4.5. Kekerbatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Gen Tahan Hama Wereng Batang Coklat Biotipe 3



Gambar 11. Dendogram 29 aksesi padi berdasarkan 2 primer gen tahan WBC Biotipe III

Hasil pita-pita DNA yang polimorfis dapat dianalisis, dengan melihat tingkat keragaman atau kekerabatannya. Menggunakan aplikasi program software NT-Sys pc2.11a untuk “*cluster tree analysis*” untuk mengungkap hubungan genetik dan kedekatan di antara semua genotipe yang diteliti. Adapun hasil Dendogram 29 Aksesori Padi berbasis gen tahan hama wereng batang coklat biotipe 2 primer yaitu Primer RM17 dan RM125 yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 11.

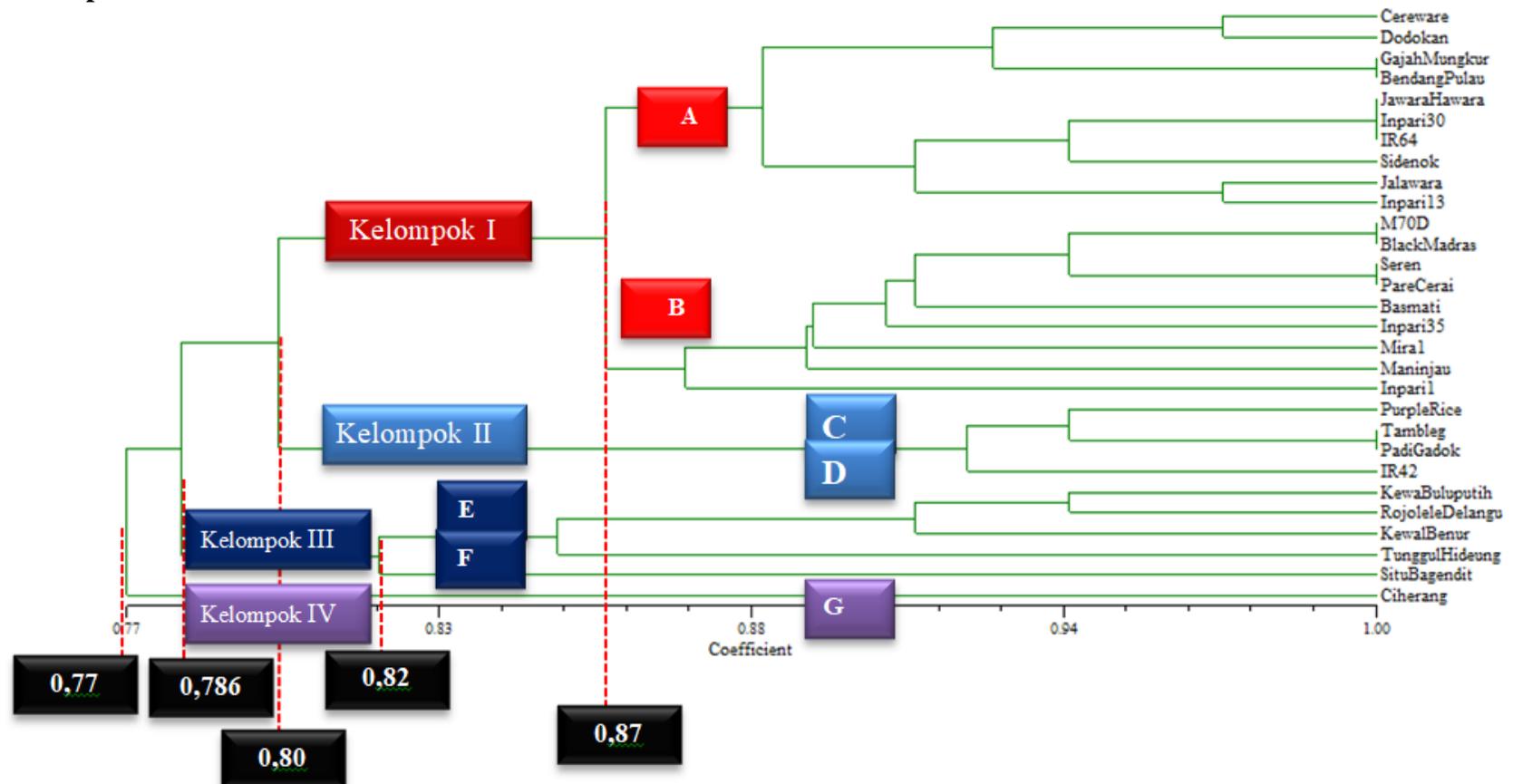
Berdasarkan hasil dendogram diatas dari 29 aksesori padi berdasarkan 2 primer gen tahan WBC III yaitu RM17 dan RM125 menunjukkan bahwa 29 aksesori padi mengelompok menjadi 3 klaster pada koefisien 0,74-1,00 nilai kemiripan 74%-100%. Pada Klaster I terdapat 2 kelompok yaitu kelompok Klaster IA dan Klaster IB. **Klaster IA** terdapat 5 aksesori padi (Cere ware, Dodokan, Kewal benur, Gajah mungkur, Bendang Pulau) yang memiliki kemiripan genetik 0,84-1,00 atau 84-100% dengan varietas kontrol Positif Gen tahan WBC III yaitu **Black madras dan Ciherang** yang merupakan aksesori **Gen Tahan WBC Biotipe III**. Selanjutnya yaitu pada **Klaster IB** terdapat 10 aksesori padi (Kewal Bulu Putih, Rojolele Delangu, Situ Bagendit, M70D, Seren, Black Madras, Ciherang, Inpari 35, Mira 1, dan pare cerai) yang memiliki kemiripan genetik 0,84-1,00 atau 84-100% dengan varietas kontrol Positif Gen tahan WBC III yaitu **Black madras dan Ciherang** yang merupakan aksesori **Gen Tahan WBC Biotipe III**. Untuk selanjutnya yaitu **Klaster II** terdapat 1 kelompok yaitu kelompok Klaster IIA terdapat 1 aksesori padi (Basmati) yang memiliki kemiripan genetik 0,775-1,00 nilai kemiripan 77,5-100%. Dan pada **Klaster III** terdapat 2 kelompok yaitu

kelompok Klaster IIIA dan Klaster IIIB. **Klaster IIIA** terdapat 10 aksesori padi (Jawara Hawara, Inpari 30, IR64, Purple Rice, Tambleg, Padi Gadok, IR42, dan Sidenok, Inpari 1, dan Maninjau) yang memiliki kemiripan genetik 0,834-1,00 atau 83,4-100% dengan varietas kontrol Negatif Gen tahan WBC III yaitu **Inpari 30 dan IR42** yang merupakan aksesori **Gen Rentan WBC Biotipe III**. **Klaster IIIB** terdapat 3 aksesori padi (Jalawara, Tunggul Hideung, dan Inpari 13) yang memiliki kemiripan genetik 0,834-1,00 atau 83,4-100% dengan varietas kontrol Negatif Gen tahan WBC III yaitu **Inpari 30 dan IR42** yang merupakan aksesori **Gen Rentan WBC Biotipe III**.

Aksesori padi Black madras dan ciherang sebagai kontrol positif gen tahan WBC Biotipe III, Padi Black Madras dinilai sebagai varietas padi yang tahan terhadap serangan hama dan penyakit. Padi jenis varietas ini dikatakan sebagai jenis padi yang tahan terhadap serangan hama wereng batang coklat, penggerek batang padi, tikus, burung dan penyakit hawar daun bakteri. **Ketahanan** padi Black Madras ini disebabkan oleh morfologi tanaman padi yang berbeda dengan padi pada umumnya yang memiliki **warna daun yang ungu dan daun bendera yang tegap**. Secara morfologi padi Black Madras tidak berbeda jauh dengan jenis tanaman padi pada umumnya, akan tetapi yang membedakan tanaman padi Black madras memiliki warna daun yang ungu kehitaman, struktur batang yang lebih tinggi, masa tanam sekitar 110-115 hari dan memiliki potensi hasil sekitar 7-8 ton/ha yang tentunya jauh berbeda dengan varietas tanaman padi lainnya (Yahya, 2018).

Akresi Ciherang memiliki gen ketahanan untuk serangan WBC III. Hal ini disebabkan oleh kandungan varietas ciherang mempunyai indeks glikemik rendah (54.5) dan memiliki kandungan protein 10.3%, lemak 0.072 % dan karbohidrat 87.6 %. Tiap 100 gram ciherang mengandung kalori, vitamin B1 0.30 mg, vitamin B2 0.13 mg, vitamin B3 0.56 mg, vitamin B6 0.12 mg, asam folat 29.9 mg, besi 4.6 ppm dan seng 23 ppm. Dari setiap kandungan yang dimiliki berperan sebagai koenzim dalam proses metabolisme. Rendahnya indeks glikemik yang dimiliki varietas ciherang menyebabkan sifat resiko kimia seperti amilosa dan konsistensi gel menggambarkan rasa dan teksturnya, hal ini dapat dikaitkan terhadap kemampuan makan wereng coklat dan berdasarkan hasil analisis tersebut ternyata pada varietas ciherang tidak ada senyawa yang menjadi *character impact compound* seperti 2-asetil-1-pirolin pada varietas ciherang, sehingga tidak terdeteksi aroma yang menonjol. Oleh karena itu varietas ciherang termasuk nonaromatik. Dalam hal ini dengan **tidak adanya aromatik** yang dihasilkan varietas ciherang, maka wereng batang coklat **tidak tertarik pada varietas ciherang** (Indrasari, 2011).

4.6. Kekerabatan 29 Plasma Nutfah Padi Berbasis Gen Umur Genjah Padi dan Gen Tahan Hama Wereng Batang Coklat Biotipe 3



Gambar 12. Dendrogram 29 aksesori padi berdasarkan 5 Primer Marka SSR

Hasil analisis total kekerabatan ditampilkan dalam bentuk dendogram. Pada Gambar 12 memperlihatkan dari 29 aksesi padi menjadi 4 kelompok utama. Kelompok 1 terdiri dari 19 aksesi padi dengan kesamaan genetik sebesar 0,80-1,00 atau 80 –100%, Kelompok kedua terdiri dari 3 aksesi padi dengan kesamaan genetik sebesar 0,80- 1,00 atau 80 –100%, Kelompok tiga terdiri dari 5 aksesi padi berdasarkan pada kesamaan genetik sebesar 0,786- 1,00 atau 78,6–100%. Dan kelompok ke empat terdiri 1 aksesi padi berdasarkan pada kesamaan genetik sebesar 0,77- 1,00 atau 77–100%. Untuk lebih jelasnya profil kekerabatan hasil amplifikasi genetik 29 plasma nutfah padi pada 5 primer marka SSR dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Profil Kekerabatan Hasil Amplifikasi Genetik 29 Plasma Nutfah Padi pada 5 Primer Marka SSR (3 Primer gen umur genjah dan 2 primer gen tahan WBC III)

| Kelompok | Sub Kelompok | Jumlah Aksesi | Aksesi yang terpilih | Kesamaan Genetik | Keragaman Genetik |
|----------|--------------|---------------|--|------------------|-------------------|
| I | A | 10 | Cereware, Dodokan, Gajah Mungkur, Bendang Pulau, Jawara Hawara, Inpari 30, IR64, Sidenok, Jalawara, Inpari 13. | 0,87 – 1,00 | 87% - 100% |
| | B | 9 | M70D, Black madras, Seren, Pare Cerai, Basmati, Inpari 35, Mira 1, Maninjau, Inpari 1. | 0,87 – 1,00 | 87% - 100% |
| II | C | 3 | Purple rice, Tambleg dan Padi Gadok | 0,80 – 1,00 | 80% - 100% |
| | D | 1 | IR42 | 0,80 – 1,00 | 80% - 100% |
| III | E | 4 | Kewal Bulu Putih, Rojolele Delangu, Kewal Benur, dan Tunggul Hideung | 0,786– 1,00 | 78,6% - 100% |
| | F | 1 | Situ Bagendit | 0,786– 1,00 | 78,6% - 100% |
| IV | G | 1 | Ciherang | 0,77 – 1,00 | 77% - 100% |
| Jumlah | | 29 | | | |

Dari hasil penelitian ini dihasilkan keragaman genetik 0,77 – 1,00 atau 77 -100%. Dilihat secara genetik bertujuan untuk tujuan pemuliaan tanaman dapat dikategorikan sebagai aksesi yang secara genetik hampir sama atau duplikasi. Aksesi padi tersebut mungkin berasal dari tanaman-tanaman yang secara genetik

memang sangat dekat satu dengan yang lainnya, walaupun berasal dari padi lokal Indonesia maupun Introduksi.

Analisis kekerabatan berfungsi dalam penyediaan informasi dasar untuk keperluan konservasi genetika dan pemuliaan suatu spesies. Koefisien kemiripan merupakan ukuran derajat kedekatan genetik antar padi. Semakin besar koefisien kemiripan antar padi maka semakin mirip padi-padi tersebut secara genetik (Siregar *et al.*, 2013).

Terdapat 4 kelompok utama kekerabatan 29 plasma nutfah padi menggunakan 5 primer Marka SSR (3 Primer gen umur genjah dan 2 primer gen tahan WBC III) dapat dilihat pada gambar 11 , Pada **kelompok I** terdapat 2 sub kelompok yakni sub **kelompok A dan B**. Sub kelompok A dan B dengan koefisien kemiripan genetik (KKG) 0,87–1,00 atau jarak genetik 0-13%. Pada sub kelompok A terdapat 4 aksesori plasma nutfah padi yaitu Cereware, Dodokan, Gajah Mungkur, Bendang Pulau, Jawara Hawara, Inpari 30, IR64, Sidenok, Jalawara, dan Inpari 13. Sedangkan pada sub kelompok B terdapat aksesori plasma nutfah padi yaitu M70D, Black madras, Seren, Pare Cerai, Basmati, Inpari 35, Mira 1, Maninjau, dan inpari 1.

Pada **kelompok II** yaitu terdapat 2 sub kelompok yakni sub kelompok C dan D. Pada Sub kelompok C dan D dengan koefisien kemiripan genetik (KKG) 0,80–1,00 atau jarak genetik 0-20%. Pada **sub kelompok C** terdapat 3 aksesori plasma nutfah padi yaitu Purple rice, Tambleg, dan Padi gadok. Pada sub **kelompok D** terdapat 1 aksesori plasma nutfah padi yaitu IR42. Pada **Kelompok III** yaitu terdiri dari 2 Sub kelompok yaitu kelompok E dan F dengan koefisien

kemiripan genetik (KKG) 0,786-1,00 atau jarak genetik 0-21,4%. Pada sub **kelompok E** terdapat 4 aksesori plasma nutfah padi yaitu Kewal Bulu Putih, Rojolele delangu, Kewal Benur, dan Tunggul Hideung. Sedangkan pada **kelompok F** terdapat 1 aksesori plasma nutfah padi yaitu Situ bagendit. Dan yang terakhir yaitu pada **Kelompok IV** dengan koefisien kemiripan genetik (KKG) 0,77-1,00 atau jarak genetik 0-23%. terdapat 1 sub kelompok yaitu Kelompok G. Pada sub **kelompok G** terdapat 1 aksesori plasma nutfah padi yaitu Ciherang.

Menurut Siregar *et al.* (2013), analisis kekerabatan berfungsi dalam penyediaan informasi dasar untuk keperluan konservasi genetika dan pemuliaan suatu spesies. Koefisien kemiripan merupakan ukuran derajat kedekatan genetik antar padi. Semakin besar koefisien kemiripan antar padi maka semakin mirip padi-padi tersebut secara genetik.

Besar kecilnya jarak genetik antar klon yang dievaluasi merupakan informasi penting dalam pemanfaatan klon-klon tersebut untuk pemuliaan tanaman. Dua klon yang mempunyai jarak genetik yang tinggi, apabila disilangkan akan menghasilkan turunan yang variasinya sangat tinggi. Sebaliknya, dua klon yang jarak genetiknya rendah, apabila disilangkan akan menghasilkan turunan yang variasinya rendah (Kurniasih 2012).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Lima primer SSR (RM6838, RM5607, RM3571, RM17 dan RM125) yang digunakan dapat dipakai sebagai penanda karakter umur genjah dan ketahanan terhadap WBC biotype-3 pada 29 aksesi padi introduksi dan lokal Indonesia. Primer RM6838 dan RM5607 dapat digunakan sebagai alat marker penseleksi umur genjah. Selanjutnya 2 Marka SSR (RM17 dan RM125) terdeteksi mengandung alel alel SSR yang berasosiasi dengan gen ketahanan terhadap WBC biotipe 3.
2. Aksesi padi lokal Indonesia dan introduksi yang dianalisis memiliki keragaman genetik terkait sifat umur genjah dan ketahanan terhadap WBC biotype-3 berdasarkan marka yang terpaut. Keragaman 29 aksesi padi terbagi menjadi dua kelompok pada kelompok I sub kelompok A dan B terdeteksi gen sifat umur genjah dan gen ketahanan terhadap WBC biotype-3, sedangkan pada kelompok II hanya terdeteksi gen ketahanan terhadap WBC biotype-3.

5.2. Saran

Marka-marka SSR yang diidentifikasi pada penelitian ini merupakan petunjuk awal untuk mengetahui aksesori padi yang mengandung lokus-lokus mikrosatelit yang terpetakan berdekatan dengan atau berada dalam segmen gen dan QTL umur genjah dan ketahanan terhadap WBC biotype-3, tetapi perlu dilakukan uji lanjut pada populasi yang bersegregasi dengan umur genjah dan tahan wereng batang coklat biotipe 3 untuk marka tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alagar, M., S. Suresh, R. Samiyappan, D. Saravanakumar. 2007. Reaction of resistant and susceptible rice genotypes against brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *Phytoparasitica* 35: 346-356.
- Alit D. dan K. Permadi. 2005. *Serangan dan Populasi Wereng Batang Coklat (Nilaparvata lugens Stal) pada Padi di Cirebon, Indramayu dan Karawang*. *Jurnal Agrivigor*. 5 (1): 13-15.
- Aliyu, R. L., Abdullahi, M. S., Abubakar, A., & Umar, M. B. 2013. *Emperical Review of the Determinants Influencing Firm Performance in Developing Countries*. *International Journal of Scientific ans Research Publications*. 5(6), 1-10.
- Asnawi, R., Z. Zahara, dan R. W. Arief, 2013. Peningkatan produktivitas dan pendapatan petani melalui penerapan model pengelolaan tanaman terpadu padi sawah di Kabupaten Pesawaran, Lampung. *Publikasi Penelitian Terapan dan Kebijakan Prop*. Sumsel.
- Azhar Arsyad. 2010. *Media Pembelajaran*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Badan Litbang Pertanian. 2009. *Morfology tanaman*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Jakarta.
- Baehaki S.E. 2007. *Perkembangan Wereng Coklat Biotipe 4*. Available at: [http://www.litbang.deptan.go.id/artikel/one/171/pdf/Perkembangan Wereng Coklat Biotipe 4.pdf](http://www.litbang.deptan.go.id/artikel/one/171/pdf/Perkembangan_Wereng_Coklat_Biotipe_4.pdf). [accessed 12 September 2014].
- Baehaki S.E. 2011. Strategi fundamental pengendalian hama wereng batang coklat dalam pengamanan produksi padi nasional. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 4:63–75.
- Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2016. Varietas Inpari 23 Bantul. [http://bbpadi.litbang.pertanian.go.id/index.php/varietas-padi/inbrida-padi-sawah inpari/inpari-23-bantul](http://bbpadi.litbang.pertanian.go.id/index.php/varietas-padi/inbrida-padi-sawah-inpari/inpari-23-bantul) [27 Maret 2020].

- Balitbangtan (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian). 2006. Pengelolaan tanaman terpadu (PTT) padi sawah irigasi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 40 hlm.
- Balitbangtan (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian). 2019. Pengelolaan tanaman terpadu (PTT) padi sawah irigasi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 40 hlm.
- BPS. 2015 b. Produksi (ton) padi 2015. <http://www.bps.go.id/site/pilihdata>. (18 April 2020).
- BPS. 2019. *Luas Panen, Produksi, dan Produktivitas Padi Menurut Provinsi*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- BPS, 2020. *Luas Panen dan Produksi Padi menurut Propinsi*. Badan Pusat Statistik Jakarta.
- Bu BC, NT Lang. 1999. Using molecular markaers in study of rice genetic diversity. *Omonrice*. 7:15-25.
- Campbell NA, JB Reece, LG Mitchell. 2002. *Biologi*. Ed ke-5. Lestari R, EIM Adil, N Anita, Andri, Wibowo WF, W Manulu, penerjemah; Safitri A, L simarmata, HW Hardani, editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Biology Fifth Edition*. 570 hal.
- Carsono, N, PI Prayoga, N Rostini, dan D Dono. 2014. Seleksi berbasis marka molekuler pada padi generasi F2 guna merakit galur padi harapan tahan wereng coklat. *Jurnal Agrikultura*. 27(1): 9-15.
- Chang, T. T., dan E. A. Bardenas. 1976. The morphology and varietal characteristics of the riceplant. *Technical Bulletin 4*. The Intl. Rice Research Institute, Philippines.
- Chao, X., Q. Li-jun, G. Yong-ming, S. Ying-yao. 2013. Flower development and photoperiodic control of flowering in rice. *Rice Sci*. 20(2):79-87.

- Cordeiro GM, Christopher MJ, Henry RJ, and Reinke RF. 2002. *Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence*. Mol Breed. 9(4):245–250.
- Dadang, A., Tasliah, dan Prasetyono, J. 2013. Seleksi dan Konfirmasi Alel Gengen *Hd* pada Padi Berumur Genjah dan Produktivitas Tinggi Persilangan Code x Nipponbare. Bogor. Jurnal AgroBiogen 9(1): 11-18.
- Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. 2011. Laporan Serangan Organisme Pengganggu Tanaman Pangan. Jakarta: DPTP.
- Doyle, J.J. and J.L.Doyle. 1987. *Isolation of Plant DNA From Fresh Tissue*. Focus. 12(1):13–5.
- Dualembang, E., Musa, Y., Azrai, M., 2011. Karakterisasi Genetik Koleksi Plasma Nutfah Padi Berbasis Marka SSR (Simple Sequence Repeats).
- Du B, Zhang W, Liu B, Hu J, Wei Z, Shi Z, He R, Zhu L, Chen R, Han B, He G. 2009. Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. Proceedings of the National Academy of Sciences 106:22163–2216. doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0912139106>.
- Dwinita, W. U., Sutoro, N. H., Andari, R., dan Ida, H. 2015. Keragaman Genetik 96 Aksesori Plasma Nutfah Padi Berdasarkan 30 Marka SSR Terpaut Gen Pengatur Waktu Pembungaan (*HD Genes*). Jurnal AgroBiogen 7(2): 76-84.
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. Biologi molekuler prinsip dasar analisis. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Guo, J., Xu, C., Wu, D., Zhao, Y., Qiu, Y., Wang, X., Ouyang, Y., Cai, B., Liu, X., Jing, S., Shangguan, X., Wang, H., Ma, Y., Hu, L., Wu, Y., Shi, S., Wang, W., Zhu, L., Xu, X., Chen, R., Feng, Y., Du, B. & He, G. (2018) *Bph6* encodes an exocyst-localized protein and confers broad resistance to planthoppers in rice. *Nature Genetics*. [Online] 50 (2), 297–306. Available from: doi:10.1038/s41588-018-0039-6 [Accessed 10 June 2021].

- Hairinsyah. 2010. Pendugaan parameter genetik dan analisa keragaman genetik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dengan marka Simple Sequence Repeat (SSR). IPB. Bogor. Available at <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/46891>
- Handoyo, D., dan A. Rudiretna. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polimerase ChainReaction (PCR). *Unitas*. Vol. 9. No. 1. Halaman: 17-29.
- Harahap I.S. dan B. Tjahjono, 2003. *Pengendalian Hama dan Penyakit Padi*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Herlina, L. dan T.S. Silitonga. 2011. Seleksi lapang ketahanan beberapa varietas padi terhadap infeksi hawar daun bakteri strain IV dan VIII. *Buletin Plasma Nutfah* 17(2): 80-87.
- Hu, J., Chang, X., Zou, L., Tang, W. & Wu, W. (2018) Identification and fine mapping of *Bph33*, a new brown planthopper resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice*. [Online] 11 (1), 55. Available from: doi:10.1186/s12284-018-0249-7 [Accessed 6 November 2021].
- Kalia, R.K., Rai, M.K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A.K. (2011). Mikrosatellite Markers: An overview of the recent progress in plants *Euphtica*, 177, 309-334
- Ilhami, A. 2010. Analisis Sidik Jari DNA Padi Beras Merah, Padi Aromatik, dan Padi Genjah. Skripsi. IPB: Bogor. 3-21 hal.
- Indrasari, S.D. 2011. Mutu Gizi dan Mutu Rasa Beras Varietas Unggul Cihorang. *Warta Litbang Pertanian*. Vol. 33 (2):8-10
- Irawan B, Purbayanti K. 2008. Karakterisasi dan kekerabatan kultivar padi lokal di desa Rancakalong, kecamatan Rancakalong, kabupaten Sumedang. Prosiding seminar nasional PTTI, 21-23 Oktober 2008.
- Iswanto, E.H., U. Susanto, dan A. Jamil. 2015. Perkembangan dan tantangan perakitan varietas tahan dalam pengendalian wereng coklat di Indonesia. *J. Litbang Pert.* 34(4): 187-193.

- Kaidah, S. dan Suprpto. 2003. Penentuan Metode Isolasi DNA Tanaman Salak Komersial. *Bulletin Penelitian*. 7(3) : 55-56.
- Kalia, R.K., Rai, M.K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A.K. (2011). Microsatellite Markers: An overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177, 309–334.
- Kurniasih, Annisa, N. A., dan L. 2012. Pengaruh *Corporate Governance* Terhadap *Tax Avoidance*. *Jurnal Akuntansi & Auditing*, Volume 8, No. 2, 95-189
- Lesmana OS., HM Toha, I Las, & B Suprihatno. 2004. *Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi*. Sukamandi, Subang: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Penelitian Tanaman Padi.
- Lesmana OS., HM Toha, I Las, & B Suprihatno. 2004. *Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi*. Sukamandi, Subang: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Penelitian Tanaman Padi.
- Lang, NT, Buu, BC. 2003. Genetic and physical maps of gene *Bph-10* controlling brown plant hopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omonrice* 11: 35–41.
- Li R, Li L, Wei S, Wei Y, Chen Y, Bai D, Yang L, Huang F, Lu W, Zhang X, Li X, Yang X, Wei Y. 2010. The evaluation and utilization of new genes for brown planthopper resistance in common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Molecular Entomologi* 1:1–7.
- Liu, LW, Wang Y, Gong YQ, Zao TM, Liu G, Li XY, and Yu FM . 2015. *Assessment of genetic purity of tomato (Lycopersicon esculentum L.) hybrid using molecular marker*. *Scientific Horticulture*. 115(1):7-12.
- Makarim, A.K. dan E. Suhartatik. 2009. *Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi*. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Hal. 309-312.

- Meesang, N., S.L. Ranamukhaarachchi, M.J. Petersen, and S.B. Andersen. 2001. *Soybean cultivar identification and genetic purity analysis using microsatellite DNA marker*. Seed Science and Technology. 29(1):637-645.
- Moeljopawiro, S. 2007. Marka mikrosatelit sebagai alternatif uji BUSS dalam perlindungan varietas tanaman padi. Zuriat.18(2):129-138.
- Muladno. 2002. Teknologi Rekayasa Genetika. Bogor. Pustaka Wirausaha Muda. 123 hal.
- Mullis KB. 1990. *The unusual origin of the polmerase chain reaction*. Scientific American. 3(4):56-65.
- Mulsanti, IW. 2011. Identifikasi dan Evaluasi Kemurnian Genetik Benih Padi Hibrida menggunakan Marka Mikrosatelit [tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 98 hal.
- Murakami, M., Matsushika, A., Ashikari, M. 2005. *Circadian associated rice pseudo response regulators, insight into the control of flowering time*. Biotechnol Biochem, 69(2): 410-414.
- Muslim, A., R. Permatasari, dan A. Mazid. 2012. Ketahanan beberapa varietas padi rawa lebak terhadap penyakit hawar upih yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*. Jurnal Lahan Suboptimal 1(2): 163-169.
- Nasir, M. 2002. Bioteknologi, Potensi dan Keberhasilannya dalam Bidang Pertanian. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 286 hal.
- Ningrum, E.P. 2008. Keragaman Gejala dan Penyebab Penyakit Keriting Kuning Cabai. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Gajah Mada.
- Ningsih, NF, E Ratnasari, dan U Faizah. 2016. Pengaruh ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap mortalitas hama wereng coklat (*Nilaparvata lugens*). LenteraBio 5(1): 14-19.

- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, Subandi, dan M. Dahlan. 2005. Sidik jari empat varietas jagung hibrida beserta tetuanya berdasarkan marka mikrosatelit. *Zuriat* 16(2):192-200.
- Padmadi B. 2009. Identifikasi sifat aroma tanaman padi menggunakan marka berbasis gen aromatik. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 39 hal.
- Pal, S.K. and S.K. Das Gupta. 1994. Pest Control. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics Patancheru, India.
- Panjaitan, B.V. 2014. Perbaikan potensi hasil padi varietas code untuk sifat umur berbunga menggunakan marka molekuler. Skripsi S1, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Parida, S.K., Yadava, D.K. & Mohapatra, T. 2010. Microsatellites in Brassica unigenes: Relative abundance, marker design, and use in comparative physical mapping and genome analysis. *Genome*, 53, 55-67.
- Pasaribu B. 2006. Rancangan undang-undang lahan pangan abadi. *Tidak memperkenankan konversi lahan pangan*. Sinar Tani 3:8-14.
- Paule CM, dan Powers JJ. 1989. Sensory and chemical examination of aromatic and non aromatic rices. *Journal of food Science*. 54(2): 343-346.
- Peng S, Khush KG, Cassman KG. 1994. Evolusi ideotipe tanaman baru untuk meningkatkan potensi hasil. *Dalam* KG Cassman, ed, Prosiding Lokakarya tentang Potensi Hasil Padi di Lingkungan yang Mendukung. Institut Penelitian Padi Internasional, Los Baños, Filipina, hal 5-20
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *grevillea* spp Proteaceae. *Jurnal Biologi*.13(1):12-16
- Prasetyo, A. 2008. Karakterisasi virus pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcus* L.) Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Gajah mada.

- Putman, A.H. 2006. Pesticide Safety. Florida Department of Agriculture & Consumer Services Division of Agricultural Environmental Services Bureau of Compliance Monitoring.
- Roy, J.K. R. Bandopadhyay, S. Rustgi, H. S. Balyan and P. K. Gupta. 2006. *Association Analysis of Agonomically Important Traits Using SSR, SAMPL, and AFLP Markers in Bread Wheat*. Current Science. 90(5): 683-689.
- Sambrook, J., & Russel. 2001. *Molecular Cloning-A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Savary, S. and L. Willocquet. 2000. Rice pest constraints in tropical Asia: quantification of yield losses due to rice pests in a range of production situations. Plant Dis. 84(3): 357-369.
- Sembiring H., Sudir, dan P. Wardana. 2010. *Lima Langkah Antisipasi Wereng Coklat*. Sinar Tani. Edisi 12-18 Mei 2010 No.3354
- Septianingsih, TJ Santosa, DW Utami dan N Hidayatun. 2004. Analisis Sidik Jari DNA Varietas Tanaman Pangan. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.
- Seprina G. 2008. Pengaruh Waktu dan Cara Pengendalian Gulma terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi Hibrida.[Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Setyorini, SD, Shoahuddin dan A Sulisty. 2013. Existence of brown planthopper's natural enemies on some rice varieties using different cultivation techniques. Journal of Agronomy Research 2(5):8-17.
- Sianipar M.S. 2018. Fluktuasi Populasi Serangga Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens*) Pada Lahan Sawah di Kabupaten Kerawang Jawa Barat. AGROLOGIA. 7(2): 90-98

- Siddiq, E. A., A. R. Sadananda, and F. U. Zaman, 1986. Use of primary trisomic of rice in genetic analysis. Rice Genetics Symposium. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. p. 185-197.
- S. Gopala Krishnan, K. K. Vinod, Prolay K. Bhowmick, Haritha Bollinedi, Ranjth K. Ellur, Rakesh Seth & A. K. Singh. 2022. Fundamentals of Field Crop Breeding. pp 113–220
- Singh, R.P. Khana, R.K. A. Mathur and R. Srivastava. 2000. Isolation of oryzanol concentrate from rice bran oil. J. Oil Technol. Assoc. India, Vol.32, pp.55–58.
- Singleton, G.R., Sudarmaji, J. Jacob, and C.J. Krebs. 2004. Integrated management to reduce rodent damage to lowland rice crops in Indonesia. Agric. Ecosyst. Environ. 107 (2005): 75–82.
- Singleton, G.R. 2007. Of rice and rats. *In* Rice Today, July- September 2007. International Rice Research Institute, Philippines.
- Siregar H. 1981. *Budidaya Tanaman Padi di Indonesia*. Jakarta : Rineka
- Siregar H. 1987. *Budidaya Tanaman Padi di Indonesia*. Sastra Hudaya. Jakarta. 319 hal.
- Siregar, U. J & Diputra, I.M.M.M. 2013. Keragaman genetik *pinus merkusii* Jungh. et de Vriese Strain Tapanuli berdasarkan penanda mikrosatelit. *J. Silvikultur Tropika*. 4(02): 88-99.
- Sitairesmi, T., Rina H.W., Ami T.R., Nani, Y., dan Untung, S. 2013. Pemanfaatan Plasma Nutfah Padi Varietas Lokal dalam Perakitan Varietas Unggul. *Iptek Tanaman Pangan*. 8(1): 26-27.
- Sobir, Widiastuti, Suhartanto. 2008. Analisis keragaman genetik manggis (*Garcinia mangostana* L.) diradiasi dengan sinar gamma berdasarkan penanda ISSR. *Bioteknologi*. 10(1):15-22.

- Sobrizal. 2016. Potensi Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan Varietas Padi Lokal Indonesia. *A Scientific Journal for The Applications of Isotopes and Radiation*. 12(1): 24-36
- Sodiq, M., 2009. *Ketahanan Tanaman Terhadap Hama Materi Perkuliahan Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur*.
- Soedyanto R, Sianipar R, Susani A, dan Harjanto. 1978. *Bercocok Tanam Jilid II*. Jakarta: CV Yasaguna.
- Soundararajan RP, Gunathilagaraj K, Chitra N, Maheswaran M, Kadirvel P. 2005. Mechanisms and genetics of resistance of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.) in rice, *Oryza sativa*. *Agriculture Review* 26:79–91.
- Sparks, A., A. Nelson, and N. Castilla. 2012. Where rice pests and diseases do the most damage. *Rice Today* Oct-Nov 2012. International Rice Research Institute, Philippines.
- Subandiyah, S. 2006. Polymerase Chain Reaction untuk Deteksi atau Identifikasi Patogen Tumbuhan. Beberapa Metode Ekstraksi DNA. Pelatihan dan Workshop Identifikasi DNA dengan Aplikasi PCR. Malang. hlm. 43-50.
- Subantoro, R., S. Wahyuningsih, dan R. Prabowo. 2008. Pemuliaan Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal Menjadi Varietas Lokal yang Unggul. *J. Mediagro* 4 (2): 62- 74.
- Sudarsono. 1996. *Retricsion Fragmen Length Polymorphism (RFLP)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.ta.
- Sudir, Y.A. Yogi, dan Syahri. 2013. Komposisi dan sebaran patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* di sentra produksi padi di Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 32(2): 98-108.
- Suhaeny, A. 2012. Rekayasa Genetika. <http://www.p4tipa.org/data/rekgen.pdf>. [Diakses pada 27 April 2022].

- Supartopo. 2006. Teknik persilangan padi (*Oryza sativa* L.) untuk perakitan varietas unggul baru. Buletin Teknik Pertanian 11(2): 76-80
- Suprihatno, B., A.A. Darajat, Satoto, S.E. Baihaki, Suprihanto, A. Setyono, S.D. Indrasari, M.Y. Samaullah, dan H. Sembiring. 2009. Deskripsi Varietas Padi. Balai Besar Penelitian Padi. Badan Litbang Petanian. 105 hlm
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 434 p.
- Susanto, U., Aswidinnoor, H., Koswara, J., Setiawan, A., Lopena, V., Torizo, L., dan Parminder, V. S. 2008. *QTL Mapping of Yield, Yield Components, and Morphological Traits in Rice (Oryza sativa L.) Using SSR Marker*. *Bul. Agron.* 36(3):188-195.
- Sutrisno. 2014. Resistensi wereng batang coklat terhadap insektisida di Indonesia. *AgroBiogen*. 10(3): 115-124.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, R. dan Yunianti. 2015. Teknik Pemuliaan Tanaman. Edisi Revisi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tamilkumar, P., R. Jerlin, N. Senthil, K.N. Ganesan, R.J. Jeevan, and Raveendran. 2009. *Fingerprinting of rice hybrid and their parental lines using microsatelite marker and their utilization in genetic purity assessment of hybrid rice*. *Research Journal of Seed Science*. 2(3):40-47.
- Tanwar, A., A. Aggarwal, N. Kadian and A. Gupta. 2013. Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of *Capsicum annuum*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1): 55-66
- Tasliyah, Ma'sumah, Trijatmiko, Kurniawan, R., dan Prasetyono, J. 2015. Analisis Molekuler dan Keragaan Agronomis Galur-galur Padi BC1F1 Persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8*. *Jurnal AgroBiogen*, 11(1): 17-24

- Treuren, R.V. 2000. *Genetic marker*. <http://www.Plant.wageningen-ur.nl/about/Biodiversity/cgn/research/molgen/html> [5 September 2021].
- Tzou, C.H., S.T. Chia, L.C. Jia, S.C. Hui, T.H. Chi, dan L.W. Mei. 2008. Biosynthetic mechanism of 2-acetyl-1-pyrroline and Its relationship with 1-pyrroline-5-carboxylic acid and methylglyoxal in aromatic rice (*Oryza sativa* L.) Callus. *J. Agric.* 56: 7399- 7404.
- Ubaidillah, M. Dan Siswoyo, T. A. 2018. *Buku Deskripsi Plasma Nutfah Padi Indonesia*. Yogyakarta. Deepublish.
- Wen He, Y., J. Wu, J.S. Cha, and L.H. Zhang. 2010. Rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* produces multiple DSF-family signals in regulation of virulence factor production. *BMC Microbiol.* 10: 187.
- Wei, X.J., L. Jiang, J.F. Xu, W.W. Zhang, G.W. Lu, Y.S. Zhang, and J.M. Wan. 2008. Genetic analyses of heading date of Japonica rice cultivars from Northeast China. *Field Crops Research* 107:147-154.
- Widiarta, I.N., Yulianto, dan A. Hasanuddin. 2003. Pengendalian terpadu penyakit tungro dengan strategi eliminasi peranan virus bulat. Kebijakan Perberasan dan Inovasi Teknologi Padi. Puslitbangtan. Balitpa. hlm: 513-527.
- Widodo I. 2003. Penggunaan marka molekuler pada seleksi tanaman. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Widyastuti, Y., I.A. Rumanti dan Satoto. 2012. Perilaku Pembungaan Galur-galur Tetua Padi Hibrida. *J. Iptek Tanaman Pangan* 7 (2): 67-78.
- Wilkins TA, Smart LB . 1996. *Isolation of RNA from plant tissue*. In Pa K, editor. *A laboratory guide to RNA isolation, analysis, and synthesis*. New York. Wiley Liss. pp. 21– 41.
- Wiyono, S. 2007. *Perubahan Iklim dan Ledakan Hama dan Penyakit Tanaman*. Bogor.

- Wyatt, S.D. and J. K. Brown. 1996. *Detection of Subgroup III Geminiviruses Isolates in Leaf Extract by Degenerate Primer and Polymerase Chain Reaction*. *Phytopatologi*. 86(12):1288-1293.
- Xin, Y., Z. Zhang, Y. Xiong, and L. Yuan. 2005. *Identification and purity of super hybrid rice with SSR molekular marker*. *Journal Rice Science*. 12(1):7-12.
- Xu, J.F., L. Jiang, X.J. Wei, W.W. Zhang, S.J. Liu, L.M. Chen, C.M. Wang, L.G. Luo, and J.M. Wan. 2006. Genotyping the heading date of male-sterile rice line II-32A. *J. Integr. Plant Biol*. 48(4):440-446
- Yahya, 2018. Menanam Padi Black Madras. <https://ilmubudidaya.com/cara-menanam-padi-black-madras>. Diakses Tanggal 23 Juni 2022.
- Yamamoto, T., Lin, H., Sasaki, T., Yano, M. 2000. *Identification of heading date quantitative trait locus Hd6 and characterization of its epistatic interactions with Hd2 in rice using advanced backcross progeny*. *Genetics*. 154 (2): 885-91.
- Yano, M., Kojima, S., Takahashi, Y., Lin, H., dan Sasaki, T. 2001. *Genetic control of flowering time in rice, a short-day plant*. *J Plant Physiol*,127(4): 1425-1429.
- Yashitola, J., T. Thirumurgan, R.M. Sudaram, M.K. Naseerullah, M.S.Ramesha, N.P. Sarma, and R.V. Sonti. 2002. Assessment of purity of rice hybrid using microsatellite and STS marker. *Crop Sci*. 42:1369-1373.
- Yoshida S. 1981. *Fundamentals of Rice Crop Science*. International Rice Research Institute. IRRI. Philippines. 269 p
- Yoshida. S and V. Coronel. 1976. Nitrogen Nutrition Leaf Resistance and Leaf Photosynthetic Rate of The Rice Plant in The Tropics. *Soil Sci. Plant. Nutr. (Tokyo)*. 22: 207 – 211

- Yoshihashi T, Huong NTT, and Inatomi H. 2002. Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, a potent flavour compound of an aromatic rice variety. *J Agric Food Chem* 50:2001–2004.
- Yuwono, T. 2008. *Bioteknologi Pertanian*. Edisi 2. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 284 hal.
- Yuwono, P.D., 2011. Keragaan galur-galur padi potensial aromatik IPB pada dataran tinggi. [Skripsi]. Bogor. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Fakultas pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Zubaidah, S. 2004. Identifikasi, Variasi Genetik, Distribusi dan Upaya Eliminasi Bakteri Penyebab CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration). Malang: Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. *Journal Ilmu Dasar*. 11(1):7-12.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Larutan stok

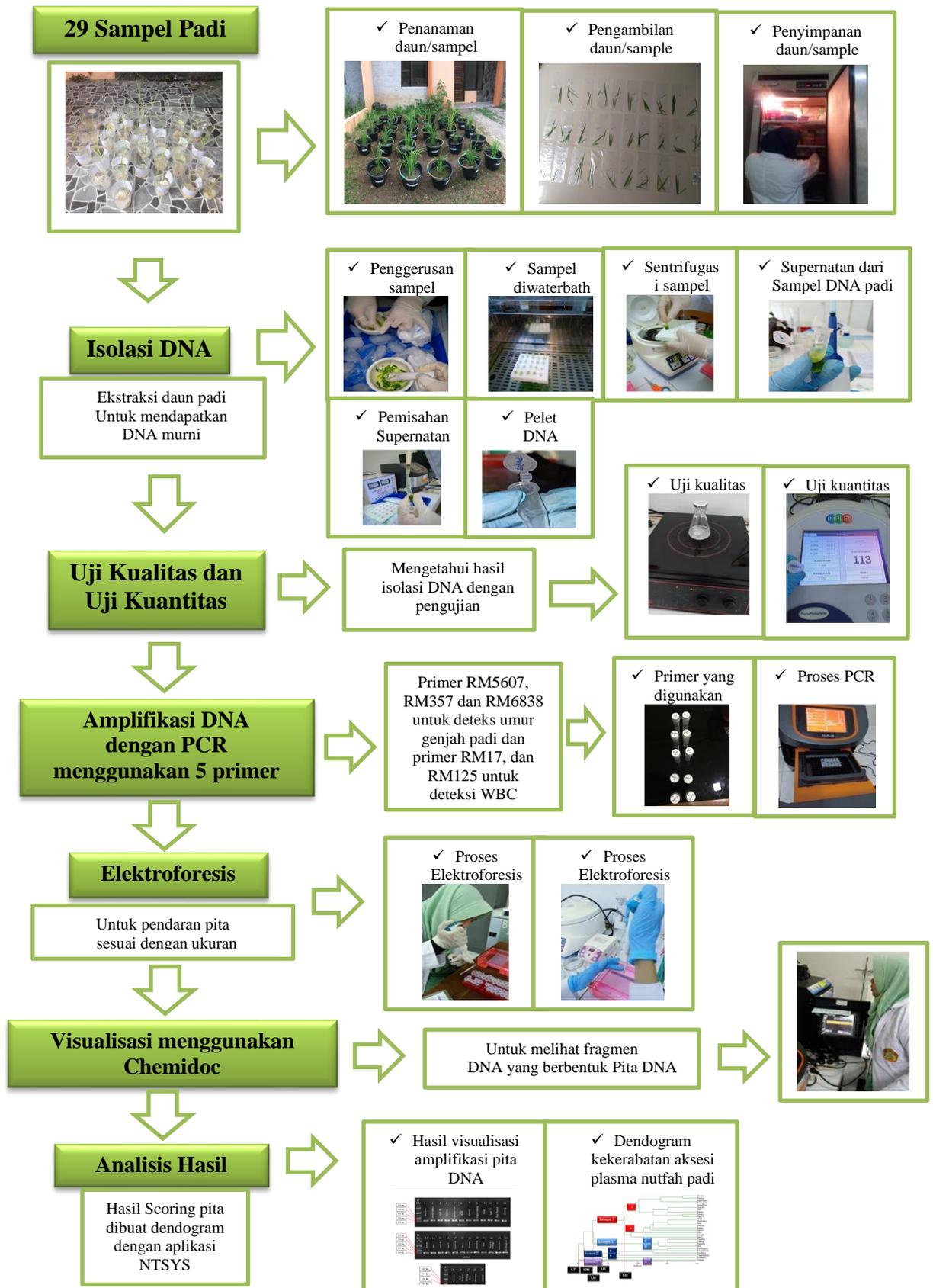
| | |
|--|-----------|
| Pembuatan CTAB 10% | 50,00 ml |
| N-cetyl-N-N-N-trimethyl ammonium bromide | 5,00 g |
| NaCl | 2,05 g |
| Aquabides steril | 50,00 ml |
| Pembuatan Tris-HCl 1 M pH 8 | 50,00 ml |
| Tris Base | 6,05 g |
| HCl 4 N | 3,00 ml |
| Aquabides steril | 47,00 ml |
| Pembuatan Tris-HCl 1 M pH 7,5 | 50,00 ml |
| Tris Base | 6,05 g |
| HCl 4 N | 4,00 ml |
| Aquabides steril | 46,00 ml |
| Pembuatan 5 M NaCl | 50,00 ml |
| NaCl | 14,61 g |
| Aquabides steril | 50,00 ml |
| Pembuatan EDTA 0,5 M pH 8 | 50,00 ml |
| EDTA | 9,31 g |
| NAOH | 1,30 g |
| Aquabides steril | 50,00 ml |
| Pembuatan Buffer CTAB | 100,00 ml |
| CTAB 10% | 20,00 ml |
| 1 M Tris-HCL pH 8 | 10,00 ml |
| 0,5 M EDTA pH 8 | 4,00 ml |
| 5 M NaCl | 25,20 ml |
| Aquabides steril | 40,80 ml |
| Pembuatan Isopropanol | 50,00 ml |
| Isopropanol | 50,00 ml |
| Pembuatan Cisam (24:1) | 50,00 ml |
| Isoamil Alcohol | 2,00 ml |
| Chloroform | 48,00 ml |
| Pembuatan Ethanol 70% | 50,00 ml |
| Ethanol Absolut | 35,00 ml |
| Aquabides steril | 15,00 ml |

Lanjutan Lampiran 1. Komposisi larutan stok

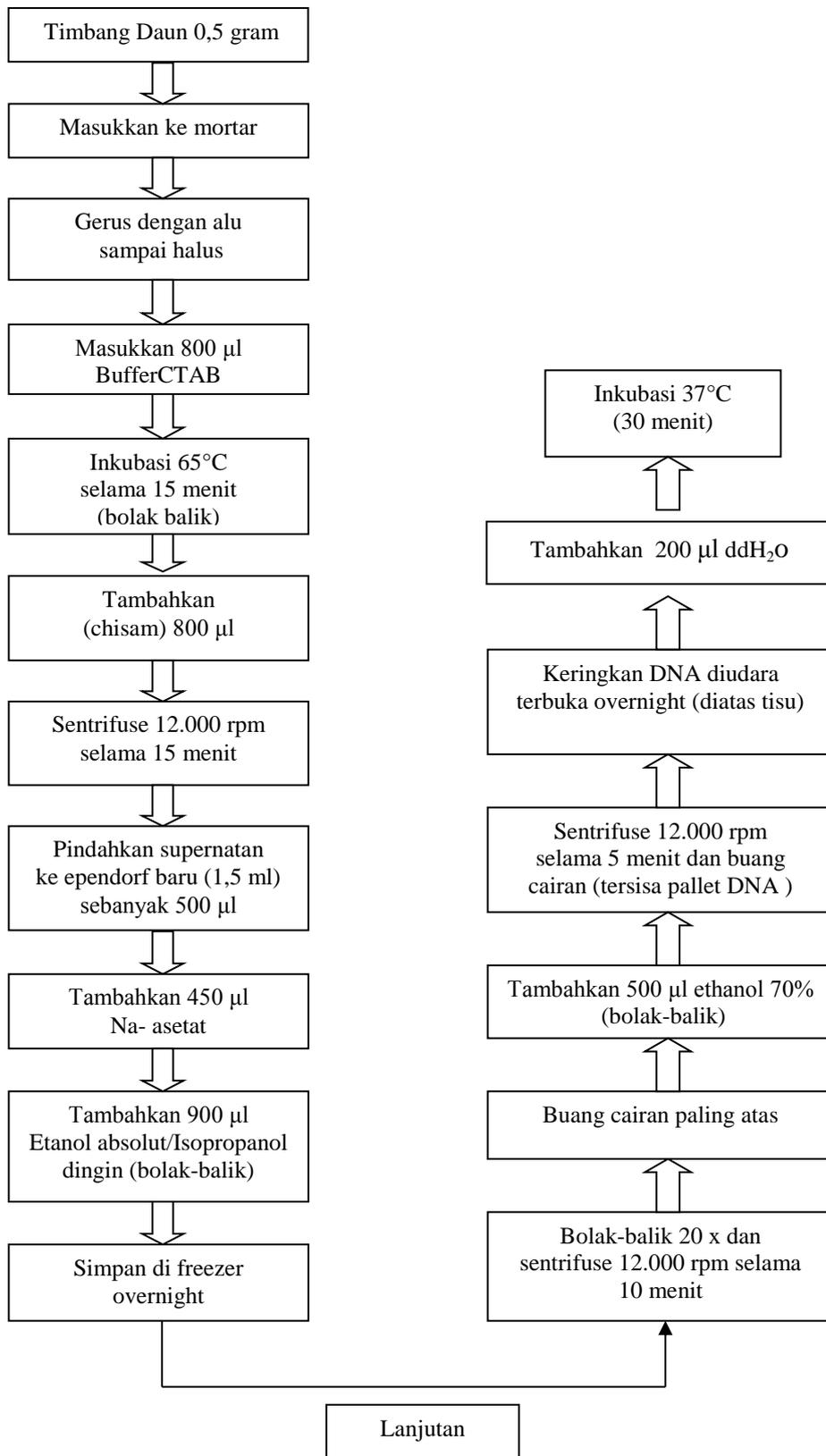
| | |
|------------------------------------|----------|
| Pembuatan Sodium Asetat 3 M pH 5,2 | 50,00 ml |
| Sodium Asetat | 12,30 g |
| Aquabides steril | 50,00 ml |
| Pembuatan Buffer TAE 50x | 50,00 ml |
| Tris Base | 12,10 g |
| Acetic glasial | 2,85 ml |
| Tris-HCl 1 M pH 8 | 2,50 ml |
| EDTA 0,5 M pH 8 | 5,00 ml |
| Aquabides steril | 40,15 ml |
| Pembuatan TE 10x | 50,00 ml |
| Tris-HCl 1 M pH 7,5 | 10,00 ml |
| EDTA 500 M pH 8 | 1,00 ml |
| Aquabides steril | 39,00 ml |

Sumber : Susiyanti. 2016

Lampiran 2. Alur Kegiatan Penelitian



Lampiran 3. Alur isolasi DNA Menggunakan Metode CTAB



Lampiran 4. Komponen Master Mix PCR

| Bahan | Volume (μl) |
|--------------------|-----------------------------------|
| Buffer | 1,5 |
| dNtps | 1,5 |
| MgCl ₂ | 0,6 |
| Primer | F1.5+R1. 5 |
| Dream Taq | 0,12 |
| Tamplate | 1,0 |
| DNA | 1,0 |
| ddH ₂ O | 7,28 |

Sumber : Protokol Thermo Scientific Kit (2018)

Lampiran 5. Varietas Kontrol

| Varietas Kontrol Positif Gen Umur Genjah | |
|---|-------------------|
| M70D | Indonesia |
| Maninjau | Indonesia |
| Gajah Mungkur | Indonesia |
| Varietas Kontrol Negatif Gen Umur Genjah | |
| Rojolele Delunggu | Indonesia |
| Kewal Bulu Putih | Indonesia |
| Kewal Benur | Indonesia |
| Tunggul Hideung | Indonesia |
| Varietas Kontrol Positif Gen Tahan Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | |
| Ciherang | Indonesia |
| Black Madras | Introduksi Jepang |
| Varietas Kontrol Negatif Gen Tahan Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | |
| Inpari 30 | Indonesia |
| IR42 | Indonesia |

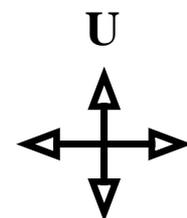
Lampiran 6. 29 Akses Padi Lokal Indonesia Yang digunakan

| Kode Sampel | Nama Varietas/Akses | Asal |
|--------------------|----------------------------|-------------------|
| 1. | Cere Ware | Indonesia |
| 2. | Gajah Mungkur | Indonesia |
| 3. | Inpari 1 | Indonesia |
| 4. | Inpari 13 | Indonesia |
| 5. | Inpari 30 | Indonesia |
| 6. | Inpari 35 | Indonesia |
| 7. | M70D | Indonesia |
| 8. | Mira 1 | Indonesia |
| 9. | Seren | Indonesia |
| 10. | Si Denok | Indonesia |
| 11. | Situ Bagendit | Indonesia |
| 12. | Ciherang | Indonesia |
| 13. | IR 42 | IRRI |
| 14. | IR 64 | IRRI |
| 15. | Padi Gadok | Banten |
| 16. | Tambleg | Banten |
| 17. | Kewal Benur | Banten |
| 18. | Jawara Hawara | Banten |
| 19. | Pare Cerai | Banten |
| 20. | Kewal Bulu Putih | Banten |
| 21. | Jalawara | Banten |
| 22. | Tunggul Hideung | Banten |
| 23. | Purple Rice | Introduksi Korea |
| 24. | Black Madras | Introduksi Jepang |
| 25. | Basmati | Introduksi India |
| 26. | Manijau | Sumatra Barat |
| 27. | Bendang Pulau | Sumatera Barat |
| 28. | Dodokan | Jawa Tengah |
| 29. | Rojolele Delangu | Klaten |

Lampiran 7. Tata Letak Tanaman Penelitian



| | | | | |
|------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|
| • | • | • | • | • |
| Cere ware | Jawara hawara | Inpari 20 | Dodokan | Kewal buluputih |
| • | • | • | • | • |
| M70D | Jalawara | Tunggul hideung | Seren | Inpari 13 |
| • | • | • | • | • |
| Black madras | Ciherang | Basmati | Inpari 35 | Inpari 1 |
| • | • | • | • | • |
| Purple rice | Mira 1 | Tambleg | Padi gadok | Bendang pulau |
| • | • | • | • | • |
| Rojolele delangu | Kewal benur | Situ bagendit | Pare cerai | IR42 |
| • | • | • | • | |
| Maninjau | Si denok | IR 64 | Gajah mungkur | |



Lampiran 8. Deskripsi Padi Varietas Mira 1

| | |
|-----------------------------|---|
| Nama varietas | : Mira-1 |
| Nomor seleksi | : OBS-1688/PsJ |
| Asal persilangan | : Seleksi pedigre dari penyinaran varietas Cisantana dengan sinar gamma dosis 0,2 kGy |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 115-120 hari |
| Tinggi tanaman | : 105-110 cm |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Anakan produktif | : 15-20 batang |
| Warna kaki daun | : Hijau |
| Warna batang | : Hijau |
| Warna telinga daun | : Tidak berwarna |
| Warna daun | : Hijau |
| Tipe malai | : Intermediet |
| Leher malai | : Terbuka |
| Posisi daun | : Tegak |
| Daun bendera | : Tegak |
| Kotoran | : Sedang |
| Warna gabah | : Kuning |
| Kerebahan | : Tahan |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Bobot 1000 butir gabah | : 26-27 g |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : 19,0% |
| Rataaan hasil | : 6,29 t/ha |
| Ketahanan terhadap hama | : Tahan terhadap wereng coklat biotipe 2 dan agak tahan biotipe 3 |
| Ketahanan terhadap penyakit | : Tahan terhadap bakteri hawar daun (HDB) strain III dan IV |
| Keterangan | : Cocok di tanam pada musim hujan dan kemarau dengan ketinggian dibawah 500 mdpl. |
| Dilepas tahun | : 2006 |

Sumber: Badan Litbang Pertanian (2014)

Lampiran 9. Deskripsi Padi Varietas Ciherang

| | |
|-----------------------------|---|
| Asal persilangan | : IR 18349-53-1-3-1-3/IRI 19661-131-3-1///IR 64 |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 116-125 hari |
| Tinggi tanaman | : 107-115 cm |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Anakan produktif | : 14 -17 batang |
| Warna kaki | : Hijau |
| Warna batang | : Hijau |
| Warna daun telinga | : Putih |
| Warna lidah daun | : Putih |
| Warna daun | : Hijau |
| Posisi daun | : Tegak |
| Daun bendera | : Tegak |
| Muka daun | : Kasar pada sebelah bawah |
| Kotoran | : Sedang |
| Kerabahan | : Sedang |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Bobot 1000 butir gabah | : 27-28 g |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : 23% |
| Rataaan hasil | : 5,0-7,0 t/ha |
| Ketahanan terhadap hama | : Tahan terhadap wereng coklat biotipe 2 dan 3 |
| Ketahanan terhadap penyakit | : Tahan terhadap bakteri hawar daun (HDB) strain III dan IV |
| Keterangan | : Cocok di tanam pada musim hujan dan kemarau dengan ketinggian dibawah 500 mdpl. |
| Dilepas tahun | : 2011 |

Sumber: Badan Litbang Pertanian (2014)

Lampiran 10. Deskripsi padi varietas Rojolele Delangu

| | |
|-------------------------|--|
| Asal persilangan | : Lokal Delanggu Klaten |
| Golongan | : Berbulu |
| Umur tanaman | : 155 hari |
| Tinggi tanaman | : 146-155 cm |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Anakan produktif | : 8-9 batang |
| Warna kaki | : Ungu |
| Warna batang | : Ungu |
| Warna daun telinga | : Tidak berwarna |
| Warna lidah daun | : Tidak berwarna |
| Warna Daun | : Hijau |
| Posisi daun | : Terkulai |
| Daun bendera | : Terkulai |
| Muka daun | : Kasar |
| Korontokan | : Tahan Tontok |
| Kerebahan | : Sedang |
| Bentuk gabah | : Gemuk |
| Warna gabah | : Kuning |
| Bobot 1000 butir gabah | : 32 g |
| Tekstur nasi | : Sedang |
| Kadar amiosa | : 21 % |
| Rataan hasil | : 4,2 t/ha |
| Ketahanan terhadap hama | : Tahan terhadap wereng coklat biotipe |
| Dilepas tahun | : 2003 |

Sumber: Badan Litbang Pertanian (2014)

Lampiran 11. Deskripsi Padi Varietas IR64

| | |
|----------------------------------|---|
| Nomor seleksi | : IR18348-36-3-3 |
| Asal persilangan | : IR5657/IR2061 |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 110 - 120 hari |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : 115 – 126 cm |
| Anakan produktif | : 20 - 35 batang |
| Warna kaki | : Hijau |
| Warna batang | : Hijau |
| Warna telinga daun | : Tidak berwarna |
| Warna lidah daun | : Tidak berwarna |
| Warna daun | : Hijau |
| Muka daun | : Kasar |
| Posisi daun | : Tegak |
| Daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Ramping dan panjang |
| Warna gabah | : Kuning bersih |
| Kerontokan | : Tahan |
| Kerebahan | : Tahan |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : 23% |
| Indeks Glikemik | : 70 |
| Bobot 1000 butir | : 24,1 g |
| Rata-rata hasil | : 5,0 t/ha |
| Potensi hasil | : 6,0 t/ha |
| Ketahanan terhadap Hama Penyakit | : Tahan wereng coklat biotipe 1, 2 dan agak tahan wereng coklat biotipe 3 |
| Ketahanan terhadap Penyakit | : Agak tahan hawar daun bakteri strain IV dan Tahan virus kerdil rumput |
| Anjuran tanam | : Baik ditanam di lahan sawah irigasi dataran rendah sampai sedang |
| Pemulia | : Introduksi dari IRRI |
| Dilepas tahun | : 1986 |

Sumber Badan Litbang Pertanian (2009)

Lampiran 12. Deskripsi Padi Varietas Inpari 30

| | |
|-------------------------|---|
| Nomor seleksi | : IR09F436 |
| Asal persilangan | : Ciherang/IR64Sub1/Ciherang |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 111 hari setelah semai |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : 101 cm |
| Daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Panjang ramping |
| Warna gabah | : Kuning bersih |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Sedang |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : $\pm 22,40\%$ |
| Bobot 1000 butir | : ± 27 gram |
| Rata-rata hasil | : 7,2 ton/ha |
| Potensi hasil | : 9,6 ton/ha |
| Ketahanan terhadap Hama | : Agak rentan terhadap wereng batang biotipe 1 dan 2 serta rentan terhadap wereng batang coklat biotipe 3 |
| Penyakit | : Agak rentan terhadap hawar daun bakteri patotipe III serta rentan terhadap hawar daun bakteri patotipe IV dan VIII |
| Anjuran tanam | : Cocok untuk ditanam disawah irigasi dataran rendah sampai ketinggian 400m dpl didaerah luapan sungai dengan rendaman pada fase vegetative selama 15 hari. |
| Pemulia | : Yudhistira Nugraha, Supartopo, Nurul Hidayatun, Endang Septiningsih (IRRI), Alfaro Pamplona (IRRI), David J Mackil (IRRI) |
| Tahun lepas | : 2012 |

(Sumber: BBPADI SK Menteri Pertanian 2292.1/Kpts/SR.120/6/2012)

Lampiran 13. Deskripsi Padi Varietas Dodokan

| | | |
|---|---|--|
| Nomor seleksi | : | IR28128-45-3-3-2 |
| Asal persilangan | : | IR36/IR10154-2-3-3-3//IR9129-209-2-2-2-1 |
| Golongan | : | Cere (Indica) |
| Umur tanaman | : | 100-105 hari |
| Bentuk tanaman | : | Tegak |
| Tinggi tanaman | : | 80-95 cm |
| Anakan produktif | : | Sedang |
| Warna kaki | : | Hijau |
| Warna batang | : | Hijau |
| Warna telinga daun | : | Tidak berwarna |
| Warna lidah daun | : | Tidak berwarna |
| Posisi daun | : | Miring |
| Daun bendera | : | Miring |
| Bentuk gabah | : | Ramping |
| Warna gabah | : | Kuning jerami |
| Kerontokan | : | Agak tahan |
| Kerebahan | : | Tahan |
| Tekstur nasi | : | Pulen |
| Bobot 1000 butir | : | 23,3 g |
| Kadar amilosa | : | 20,7% |
| Potensi hasil | : | 5,1 ton/ha |
| Ketahanan terhadap Hama dan Penyakit | : | 1) Tahan wereng coklat biotipe1 dan 2 2) Cukup tahan hawar daun bakteri 3) Cukup tahan terhadap blas |
| Anjuran tanam | : | Bisa di tanam secara gogo rancah dan di sawah |

(Sumber: BBPADI LITBANG PERTANIAN 2010)

Lampiran 14. Deskripsi Padi Varietas M70D

| | | |
|---|---|---|
| Umur tanaman | : | 87-105 HSS |
| Bentuk tanaman | : | Tegak |
| Tinggi tanaman | : | 95-105 cm |
| Anakan produktif | : | 21 malai/rumpun |
| Warna kaki | : | Putih tulang |
| Warna batang | : | Hijau |
| Warna telinga daun | : | Hijau kekuningan |
| Warna lidah daun | : | Putih kekuningan |
| Muka daun | : | Agak halus |
| Posisi daun | : | Tegak |
| Daun bendera | : | Tegak |
| Bentuk gabah | : | Ramping |
| Warna gabah | : | Kuning ujung gabah sewarna |
| Kerontokan | : | Sedang |
| Kerebahan | : | Tahan |
| Bobot 1000 butir | : | 28 g |
| Kadar amilosa | : | 20,55% |
| Potensi hasil | : | 9,39% |
| Ketahanan terhadap Hama dan penyakit | : | 1) Agak tahan terhadap wereng coklat biotipe 1, 2 dan agak peka terhadap biotipe 3 2) Agak tahan terhadap hawar daun bakteri (<i>Xanthomonas oryzae</i>) strain III dan agak peka terhadap strain VIII |
| Pemulia | : | Ir. Teguh Warsito, Ir. Didiek Pudya Bawaleksana, MT. Rofiq Zamroni, |

(Sumber: Berita Resmi PVT No Publikasi: 25/BR/PP/8/2018)

Lampiran 15. Deskripsi Padi Varietas Tunggul Hideung

| | |
|----------------------------------|---|
| Golongan | : Cerei |
| Daerah asal | : Ciomas |
| Umur tanaman | : ±180 hari setelah sebar |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : ±127 cm |
| Daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Lonjong |
| Warna gabah | : Kuning coklat |
| Warna beras | : Putih |
| Rasa | : Pulen |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Tidak tahan |
| Anakan | : Banyak |
| Jaringan tanaman | : Keras |
| Kepekaan terhadap fotoperiodisme | : Tidak ada sampai tidak peka |
| Viabilitas | : Rendah |
| Anjuran tanam | : Baik ditanam pada lahan sawah dataran rendah sampai 600 m dpl |

(Sumber: Subagja, 2019)

Lampiran 16. Deskripsi Padi Varietas Inpari 13

| | | |
|--------------------|---|----------------------|
| Nomor seleksi | : | OM1490 |
| Asal persilangan | : | OM606/IR18348-36-3-3 |
| Golongan | : | Cere |
| Umur tanaman | : | 103 hari |
| Bentuk tanaman | : | Tegak |
| Tinggi tanaman | : | 101 cm |
| Anakan produktif | : | 17 malai |
| Warna kaki | : | Hijau |
| Warna batang | : | Hijau |
| Warna telinga daun | : | Putih |
| Warna lidah daun | : | Hijau |
| Warna daun | : | Hijau |
| Muka daun | : | Kasar |
| Posisi daun | : | Tegak |
| Daun bendera | : | Agak terkulai |
| Bentuk gabah | : | Panjang ramping |
| Warna gabah | : | Kuning bersih |
| Kerontokan | : | Sedang |
| Tekstur nasi | : | Pulen |
| Bobot 1000 butir | : | 25,2 g |
| Kadar amilosa | : | 22,40% |
| Rata-rata hasil | : | 6,59 ton/ha |
| Potensi hasil | : | 8,0 ton/ha |

(Sumber: Bbpadi Litbang Pertanian 2010)

Lampiran 17. Deskripsi Padi Varietas Inpari 35

| | |
|-------------------------|--|
| Nomor seleksi | : CSR90-1R-2 |
| Asal persilangan | : IR10206-29-21XSUAKOKO(SEL) |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : ±106 hari setelah sebar |
| Bentuk tanaman | : Agak tegak |
| Tinggi tanaman | : ±100cm |
| Daun bendera | : Agak tegak |
| Bentuk gabah | : Panjang ramping |
| Warna gabah | : Kuning bersih |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Agak tahan |
| Tekstur nasi | : Agak pera |
| Kadar amilosa | : ±24,0 % |
| Bobot 1000 butir | : ±25,8 g |
| Rata-rata hasil | : ±5,3 ton/ha |
| Potensi hasil | : 8,3 ton/ha |
| Ketahanan terhadap Hama | : 1) Agak tahan terhadap wereng batang coklat biotipe I 2) Agak rentan terhadap wereng batang coklat biotipe 2 dan 3 |
| Penyakit | : 1) Agak tahan terhadap hawar daun bakteri patotipe III 2) Rentan terhadap hawar daun patotipe IV 3) Agak rentan terhadap hawar daun patotipe VIII 4) Tahan terhadap penyakit blas ras 033 |
| Anjuran tanam | : Toleran salin pada fase bibit serta cocok di tanam di lahan sawah |
| Pemulia | : Nafisah, Priatna Sasmita, Cucu Gunarsih, Trias Sitaresmi, Moch.Yamin, Samaullah, Satoto, I Made Jana Mejaya |
| Tahun lepas | : 2014 |

(Sumber: BBPADI SK Menteri Pertanian 1250/Kpts/SR.120/12/2014)

Lampiran 18. Deskripsi Padi Varietas Inpari 1

| | |
|--------------------------------------|---|
| Nomor persilangan | : BP23f-PN-11 |
| Asal persilangan | : IR64/IRBB-7//IR64 |
| Golongan | : Cere Indica |
| Umur tanaman | : 108 hari |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : 93 cm |
| Anakan produktif | : 16 anakan |
| Warna daun | : Hijau |
| Permukaan daun | : Kasar |
| Posisi daun | : Tegak |
| Posisi daun bendera | : Tegak |
| Warna batang | : Hijau |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Warna gabah | : Kuning bersih |
| Rata-rata hasil | : 7,32 ton/ha GKG |
| Potensi hasil | : 10 ton/ha GKG |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : 22% |
| Ketahanan terhadap Hama dan penyakit | : 1) Tahan terhadap wereng batang coklat biotipe 2 2) Agak tahan terhadap wereng batang coklat biotipe 3 3) Tahan hawar daun bakteri strain III, IV dan VIII. |
| Anjuran tanam | : Baik ditanam pada lahan sawah dataran rendah sampai dengan ketinggian \pm 500 m dpl |
| Pemulia | : Bambang Kustianto, Supartopo, Soewito Tj., Buang Abdullah, Sularjo, Aris Hairmansis, Heni Safitri dan Suwarno. |
| Tahun lepas | : 2008 |

(Sumber: Suprihatno *et al.*, 2009)

Lampiran 19. Deskripsi Padi Varietas Situ Bagendit

| | |
|-----------------------------|---|
| Nomor seleksi | : S4325D-1-2-3-1 |
| Asal persilangan | : Batur/2*S2823-7D-8-1-A |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 110 - 120 hari |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : 99-105 cm |
| Anakan produktif | : 12-13 batang |
| Warna batang | : Hijau |
| Warna daun | : Hijau |
| Muka daun | : Kasar |
| Posisi daun | : Tegak |
| Posisi daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Panjang ramping |
| Warna gabah | : Kuning bersih |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Sedang |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : 22% |
| Bobot 1000 butir | : 27,5 g |
| Rata-rata hasil | : 4,0 ton/ha pada lahan kering 5,5 ton/ha pada lahan sawah |
| Potensi hasil | : 6,0 ton/ha |
| Ketahanan terhadap Penyakit | : Agak tahan terhadap blas dan hawar daun bakteri strain III dan IV |
| Anjuran tanam | : Cocok ditanam di lahan kering maupun ditanam di lahan sawah |
| Pemulia | : Z.A. Simanullang, Aan A. Daradjat, Ismail BP, dan N. Yunani |
| Tahun lepas | : 2003 |

(Sumber: Suprihatno *et al.*, 2009)

Lampiran 20. Deskripsi Padi Varietas Gajah Mungkur

| | | |
|-----------------------------|---|--|
| Nomor seleksi | : | IRAT 112 |
| Asal persilangan | : | Introduksi dari Kenya |
| Golongan | : | Cere, kadang berbulu |
| Umur tanaman | : | 90-95 hari |
| Bentuk tanaman | : | Tegak |
| Tinggi tanaman | : | 90-100 cm |
| Anakan produktif | : | Sedang (6-8 batang) |
| Warna kaki | : | Hijau tua |
| Warna batang | : | Hijau |
| Warna telinga daun | : | Tidak berwarna |
| Warna lidah daun | : | Tidak berwarna |
| Warna daun | : | Hijau |
| Muka daun | : | Licin |
| Posisi daun | : | Tegak miring |
| Daun bendera | : | Tegak |
| Bentuk gabah | : | Medium |
| Warna gabah | : | Kuning keemasan |
| Kerontokan | : | Agak tahan |
| Kerebahan | : | Sedang |
| Kadar amilosa | : | 23,2 % |
| Bobot 1000 butir | : | ±27 g |
| Potensi hasil | : | 2,5 ton/ha gabah kering |
| Toleransi kekeringan | : | Cukup toleran kekeringan |
| Penciri | : | Muka daun licin, warna gabah kuning keemasan |
| Ketahanan terhadap Penyakit | : | Tahan blas (<i>Pyricularia oryzae</i>) |
| Anjuran tanam | : | Baik ditanam sebagai padi gogo di daerah beriklim keirng |
| Pemulia | : | Erwin Lubis, Murdani Diredja, Susanto Tw, Zainudin Harahap |
| Tahun lepas | : | 2012 |

(Sumber: Bbpadi Litbang Pertanian, 2010)

Lampiran 21. Deskripsi Padi Varietas IR 42

| | |
|---|--|
| Nomor seleksi | : IR2071-586 |
| Asal persilangan | : IR2042/CR94-13 |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : 135-145 hari |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : 90-105 cm |
| Anakan produktif | : 20-25 batang |
| Warna daun | : Hijau tua |
| Muka daun | : Kasar |
| Posisi daun | : Tegak |
| Daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Warna gabah | : Kuning bersih, ujung gabah sewarna |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Tahan |
| Tekstur nasi | : Pera |
| Kadar amilosa | : 27% |
| Indeks Glikemik | : 58 |
| Berat 1000 butir | : 23 g |
| Rata-rata hasil | : 5,0 ton/ha GKG |
| Potensi hasil | : 7,0 ton/ha GKG |
| Ketahanan terhadap Hama dan Penyakit | : 1) Tahan wereng coklat biotipe 1 dan 2 2) Rentan wereng coklat biotipe 3 3) Tahan terhadap hawar daun bakteri dan virus tungro 4) Rentan terhadap hawar pelepah daun 5) Toleran terhadap tanah masam |
| Anjuran tanam | : Baik di tanam di sawah irigasi, pasang surut dan rawa |
| Pemulia | : Introduksi dari IRRI |
| Tahun lepas | : 1980 |

(Sumber: Suprihatno *et al.*, 2009)

Lampiran 22. Deskripsi Padi Varietas Sidenok

| | |
|----------------------------|--|
| Nomor seleksi | : OBS1703-PSJ |
| Asal persilangan | : Diah Suci diradiasi sinar gamma |
| Golongan | : Cere |
| Umur tanaman | : ± 103 hari |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : ± 104 cm |
| Daun bendera | : Tegak |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Warna gabah | : Kuning emas |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Tahan |
| Tekstur nasi | : Pulen |
| Kadar amilosa | : $\pm 20,6\%$ |
| Berat 1000 butir | : $\pm 25,9$ g |
| Rata-rata hasil | : 6,9 ton/ha GKG |
| Potensi hasil | : 9,1 ton/ha GKG |
| Ketahanan terhadap Hama | : Agak tahan terhadap wereng batang cojlat biotipe 1,2, dan 3 |
| Penyakit | : 1) Agak tahan terhadap hawar daun bakteri patotipe III 2) Rentan terhadap hawar daun bakteri patotipe IV 3) Agak rentan hawar daun bakteri patotipe VIII 4) Rentan terhadap tungro dan semua blas |
| Anjuran tanam | : Cocok ditanam di ekosistem sawah dataran rendah sampai ketinggian 600 m dpl dan tidak dianjurkan ditanam di daerah endemic tungro dan blas |
| Pemulia | : Mugiono, Hambali, Sutisna, Yulidar |
| Tahun lepas | : 2011 |

(Sumber: BBPADI SK Menteri Pertanian No. 2257/Kpts/SR.120/5/2011)

Lampiran 23. Deskripsi Padi Varietas Black Madras

| | |
|-------------------------|---------------------------------------|
| Umur tanaman | : ±110 HSS |
| Bentuk tanaman | : Tegak |
| Tinggi tanaman | : ±100 cm |
| Daun bendera | : Tegak |
| Warna daun | : Ungu |
| Warna Batang | : Ungu |
| Warna Beras | : Putih |
| Bentuk gabah | : Ramping |
| Warna gabah | : Kuning |
| Jumlah anakan | : 17,80 anakan/rumpun |
| Panjang malai | : 23,18 cm |
| Jumlah biji permalai | : 140,40 biji |
| Kerontokan | : Sedang |
| Kerebahan | : Tahan |
| Tekstur nasi | : Agak Pulen |
| Berat 1000 Butir | : 26,67 gram |
| Rata-rata hasil | : 6,01 ton/ha GKG |
| Potensi hasil | : 8-9 ton/ha GKG |
| Ketahanan terhadap Hama | : Tahan terhadap WBC Biotipe I,II,III |

(Sumber: BBPADI SK Menteri Pertanian No. 2257/Kpts/SR.120/5/2011)

Jurnal Agronida ISSN 2407-9111 Volume 6 Nomor 1, April 2020

Lampiran 24. Deskripsi Padi Varietas Basmati

| | | |
|-------------------------|---|--|
| Umur tanaman | : | ±113 HSS |
| Bentuk tanaman | : | Tegak |
| Tinggi tanaman | : | ±112 cm |
| Daun bendera | : | Tegak |
| Bentuk gabah | : | Ramping |
| Warna gabah | : | Kuning emas |
| Kerontokan | : | Sedang |
| Kerebahan | : | Tahan |
| Tekstur nasi | : | Pera |
| Berat 1000 butir | : | 26,67 gram |
| Rata-rata hasil | : | 6,01 ton/ha GKG |
| Potensi hasil | : | 8-9 ton/ha GKG |
| Ketahanan terhadap Hama | : | Agak Tahan WBC Biotipe 1 |
| Penyakit | : | 1) Agak tahan terhadap hawar daun bakteri patotipe III 2) Tahan terhadap hawar daun bakteri patotipe IV dan VIII 3) Agak blas ras 033 4) Tahan blas ras 173 |
| Anjuran tanam | : | Baik ditanam di ekosistem sawah irigasi pada ketinggian 0-600 m dpl |

(Sumber: BBPADI SK Menteri Pertanian No. 2257/Kpts/SR.120/5/2011)

Lampiran 25. Primer yang digunakan

Primer Umur Genjah Padi

| No | Primer | Kromosom | Forward | Reverse | Gen/qtl | Anneling | Ukuran bp | Sumber |
|----|--------|----------|----------------------|----------------------|--------------|----------|-----------|---------------------------------|
| 1. | RM6838 | 8 | ATTAATACCGCTACCACGCG | TCCTCCTCCACCTCAATCAC | <i>qDTH8</i> | 62° | 120 | Fujita <i>et al.</i> , 2012 |
| 2. | RM5607 | 7 | GAGTAGGAGGAGCCGAGGAG | ACGTGGCCAACTGGCTATAC | <i>HD7</i> | 55° | 188 | D.W. Utami <i>et al.</i> , 2011 |
| 4. | RM3571 | 8 | GAGGACCCCGAATCGATC | AACAGGGCCGGGTTAAGTAG | <i>HD12</i> | 50° | 160-178 | D.W. Utami <i>et al.</i> , 2011 |

Primer Wereng Batang Coklat Biotipe 3

| No | Primer | Kromosom | Forward | Reverse | Target qtl | Anneling | Ukuran bp | Sumber |
|----|--------|----------|--|------------------------|-----------------|----------|-----------|--|
| 1. | RM17 | 12 | TGTA AAAACGACGGCCAGTTGCC CTGTTATTTTCTTCTCTC | GGTGATCCTTTCCCATTTCA | <i>qBPH12-3</i> | 55° | 178-208 | (Lang & Buu 2003; Li <i>et al.</i> 2010) |
| 2. | RM125 | 7 | ATCAGCAGCCATGGCAGCGACC | AGGGGATCATGTGCCGAAGGCC | <i>qBPH12</i> | 55° | 101-188 | (Lang & Buu 2003; Li <i>et al.</i> 2010) |

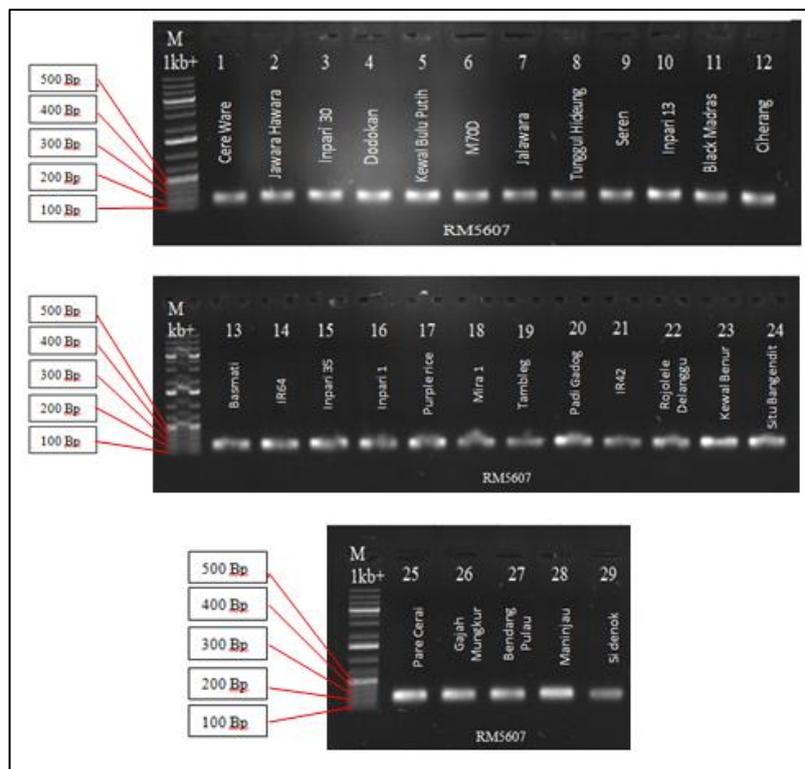
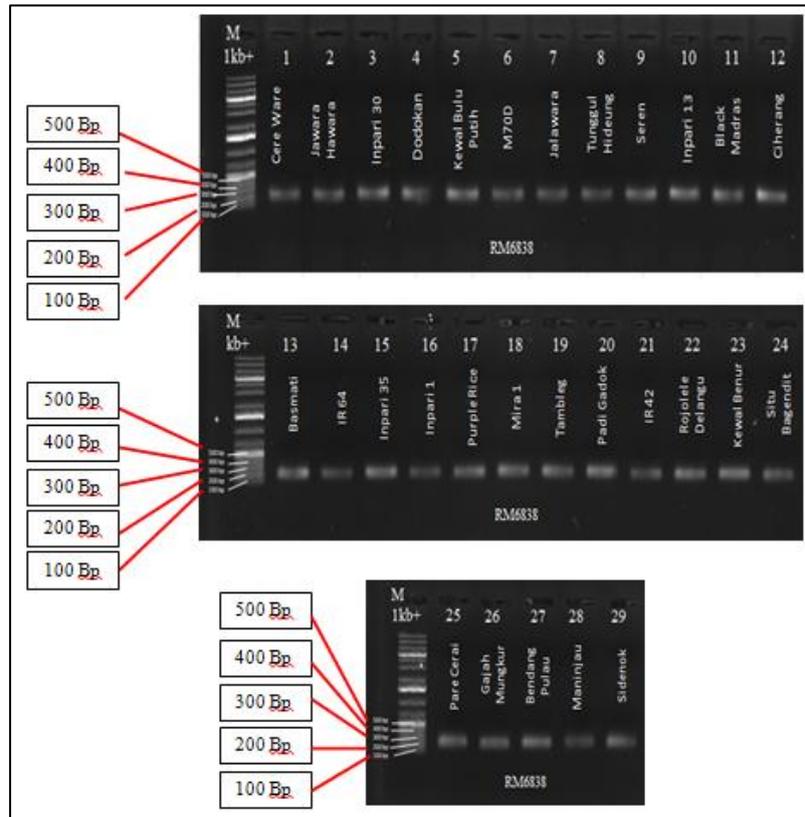
Lampiran 26. Hasil Uji Kuantitatif Isolasi DNA

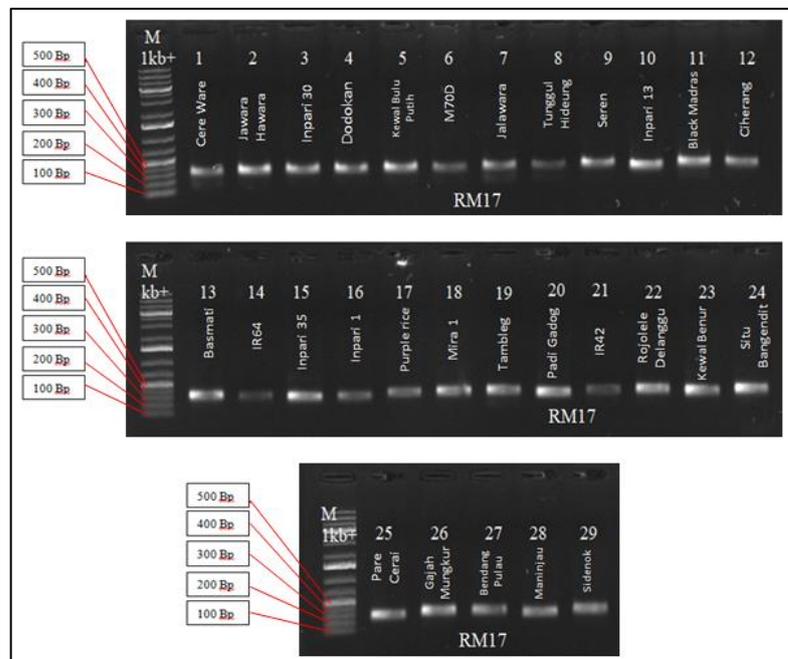
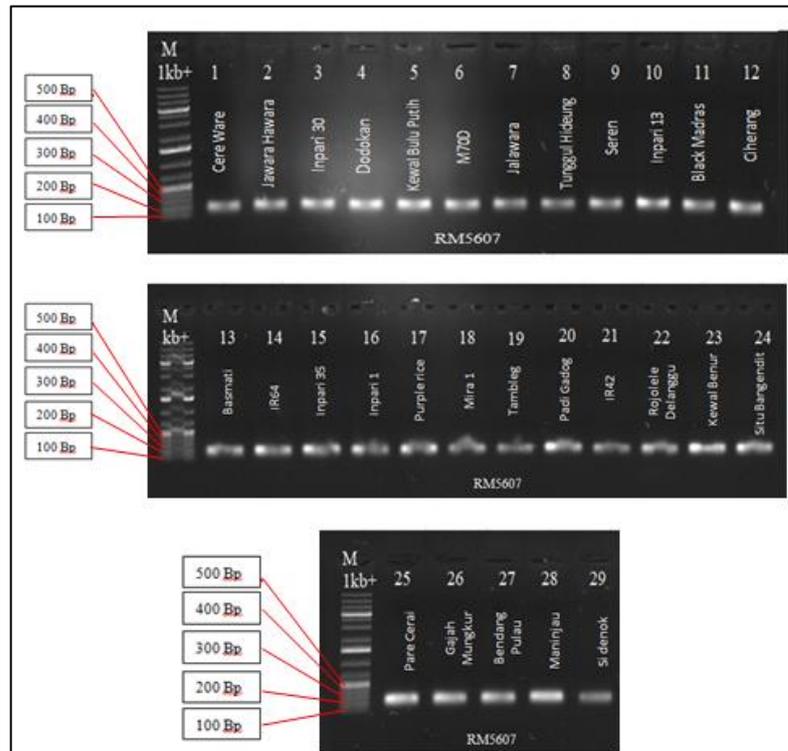
| No | Sample ID | Nucleic Acid Conc | Unit | 260/280 | Sample Type | Factor |
|--|------------------|-------------------|-------|---------|-------------|--------|
| 1. | Cere Ware | 147 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 2. | Jawara Hawara | 141,8 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 3. | Inpari 1 | 140,6 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 4. | Jalawara | 70,1 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 5. | Seren | 57,1 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 6. | Basmati | 88,9 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 7. | IR 64 | 74,2 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 8. | Inpari 35 | 63,5 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 9. | Purple Rice | 117,6 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 10. | Mira 1 | 166,1 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| 11. | Tambleg | 127,8 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 12. | Padi Gadok | 125,2 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 13. | Situ Bagendit | 133,7 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 14. | Pare Cerai | 145,6 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 15. | Dodokan | 126,5 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 16. | Bendang Pulau | 92,6 | ng/μl | 1,78 | DNA | 50 |
| 17. | Sidenok | 168,2 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| 18. | Inpari 13 | 133,1 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Umur Genjah | | | | | | |
| 19. | M70D | 140,7 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 20. | Maninjau | 174,4 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 21. | Gajah Mungkur | 103,5 | ng/μl | 1,81 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Negatif Gen umur Genjah | | | | | | |
| 22. | Kewal Bulu Putih | 147,6 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 23. | Rojolele Delangu | 144,9 | ng/μl | 1,83 | DNA | 50 |
| 24. | Tunggul Hideung | 82,2 | ng/μl | 1,8 | DNA | 50 |
| 25. | Kewal Benur | 149,1 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | | | | | | |
| 26. | Ciherang | 139,3 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 27. | Black Madras | 140,1 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| Varietas Kontrol Positif Gen Wereng Batang Coklat Biotipe 3 | | | | | | |
| 28. | Inpari 30 | 136 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |
| 29. | IR 42 | 125,5 | ng/μl | 1,82 | DNA | 50 |

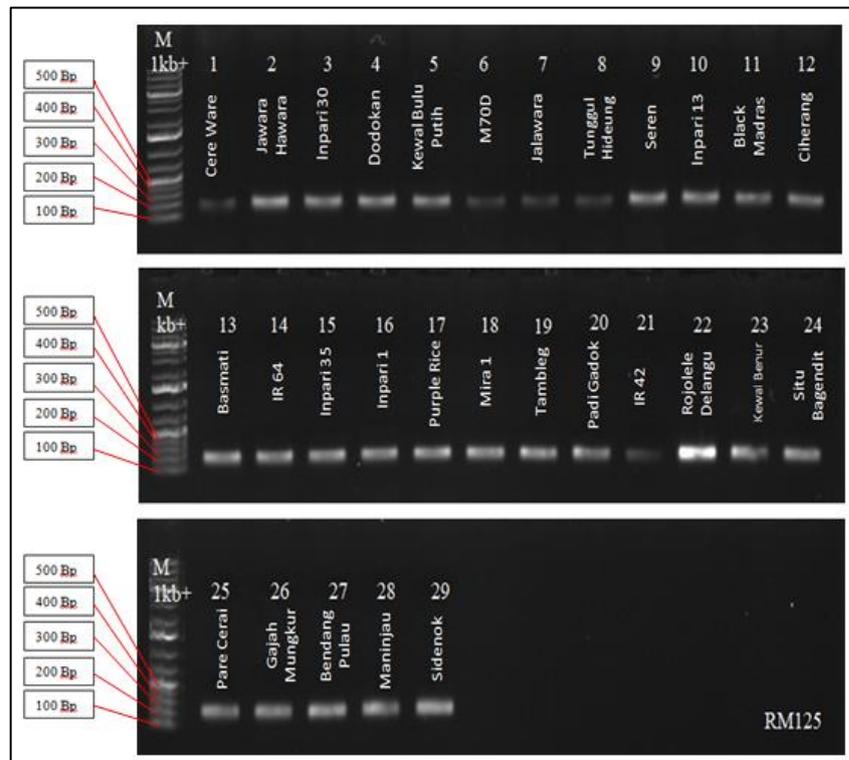
Lampiran 27. Kegiatan Penelitian

| No | Kegiatan | Bulan/Tahun | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----------------------------------|---------------|---|---|---|--------------|---|---|---|------------|---|---|---|-----------|---|---|---|
| | | Desember 2020 | | | | Januari 2021 | | | | Maret 2021 | | | | Juli 2022 | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1. | Usulan Penelitian | ■ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. | Penyemaian benih padi | | ■ | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. | Penanaman 29 aksesori Padi | | | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | | |
| 4. | Persiapan alat dan bahan isolasi | | | | | | ■ | | | | | | | | | | |
| 5. | Isolasi DNA | | | | | | | ■ | | | | | | | | | |
| 6. | Uji Kuantitatif dan Kualitatif | | | | | | | | ■ | | | | | | | | |
| 7. | Proses PCR | | | | | | | | | ■ | | | | | | | |
| 8. | <i>Running</i> Elektroforesis | | | | | | | | | | ■ | | | | | | |
| 9. | Analisis Hasil | | | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | |
| 10. | Sidang | | | | | | | | | | | | | | | ■ | ■ |

Lampiran 28. Uji Kualitatif Hasil PCR Menggunakan 5 Primer SSR







Lampiran 29. Hasil *scoring* dari 5 marka yang diobservasi pada 29 varietas padi

| Primer | Kode Varietas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---------------|----|--------|----|-----|-------|----|----|-----|--------|----|-----|-----|-------|--------|-------|----|------|----|----|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| | CW | JH | INP 30 | DD | KBP | M7 0D | JL | TH | SRN | INP 13 | BM | CHR | BSM | IR 64 | INP 35 | INP 1 | PR | MR 1 | TL | PG | IR 42 | RD | KB | SB | PC | GM | BP | MJ | SD | |
| RM6838 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM6838 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM6838 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| RM6838 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM6838 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM6838 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM6838 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| RM5607 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM5607 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | |
| RM3571 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM3571 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM17 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| RM17 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| RM17 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| RM17 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM17 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM17 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM17 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM125 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM125 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| RM125 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| RM125 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM125 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM125 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM125 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM3571 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

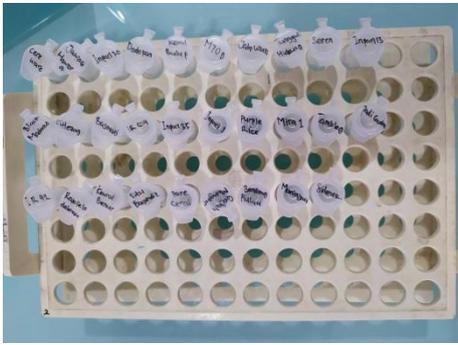
Keterangan:

1.CW (Cere Ware), 2.JH (Jawara Hawara), 3.INP30 (Inpari 30), 4.DD (Dodokan), 5. KBP (Kewal Bulu Putih), 6. M70D, 7. JL (Jalawara), 8. Tunggul Hideung, 9. SRN (Seren), 10. INP13 (Inpari 13), 11. BM (Black Madras) , 12. CHR (Ciherang), 13. BSM (Basmati), 14. IR 64, 15. INP35 (Inpari 35), 16. INP1 (Inpari 1), 17. PR (Purple Rice), 18. MR1(Mira 1), 19. TL(Tambleg), 20. PG (Padi Gadok), 21. (IR 42), 22. RD (Rojolele Delangu), 23. KB (Kewal Benur), 24. SB (Situ Bagendit), 25. PC (Pare Cerai), 26. GM (Gajah Mungkur), 27. BP (Bendang Pulau), 28. MJ (Maninjau), dan 29. SD (Sidenok)

Lampiran 30. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>i. Penyemaian benih Padi</p> | <p>2. Persiapan Media Tanam</p> |
|  |  |
| <p>3. Benih padi yang sudah di tanam pada media tanam (Tanah+kompos)</p> | <p>4. 21 HST Tanaman Padi</p> |
|  |  |
| <p>5. Hasil Panen Tanaman Padi</p> | <p>6. Papan Informasi Penelitian</p> |

| | |
|---|---|
|  |  |
| <p>7. Sterilisasi Alat dan Bahan</p> | <p>8. Menimbang sampel Padi</p> |
|  |  |
| <p>9. Pengambilan Bahan diruang asam</p> | <p>10. Alat dan bahan yang sudah disterilisasi</p> |
|  |  |
| <p>11. Bahan untuk Isolasi DNA</p> | <p>12. Penggerusan sampel</p> |
|  |  |
| <p>13. Sampel diwaterbath</p> | <p>14. Sentrifugasi sampel</p> |

|  |  | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|--------|---------------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|----------|-------|----------|-------|
| <p>15. Supernatan dari Sampel DNA padi</p> | <p>16. Pemisahan Supernatan</p> | | | | | | | | | | | | | | |
|  |  <table border="1" data-bbox="1029 757 1305 1084"> <thead> <tr> <th>Sample</th> <th>Concentration</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A120</td> <td>0.101 A</td> </tr> <tr> <td>A160</td> <td>0.211 A</td> </tr> <tr> <td>A180</td> <td>0.121 A</td> </tr> <tr> <td>A190</td> <td>0.201 A</td> </tr> <tr> <td>A200A200</td> <td>1.950</td> </tr> <tr> <td>A200A230</td> <td>2.200</td> </tr> </tbody> </table> | Sample | Concentration | A120 | 0.101 A | A160 | 0.211 A | A180 | 0.121 A | A190 | 0.201 A | A200A200 | 1.950 | A200A230 | 2.200 |
| Sample | Concentration | | | | | | | | | | | | | | |
| A120 | 0.101 A | | | | | | | | | | | | | | |
| A160 | 0.211 A | | | | | | | | | | | | | | |
| A180 | 0.121 A | | | | | | | | | | | | | | |
| A190 | 0.201 A | | | | | | | | | | | | | | |
| A200A200 | 1.950 | | | | | | | | | | | | | | |
| A200A230 | 2.200 | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>17. Pelet DNA</p> | <p>18. Pemipetan Loading</p> | | | | | | | | | | | | | | |
|  |  | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>19. Proses Elektroforesis</p> | <p>20. Sampel DNA Padi</p> | | | | | | | | | | | | | | |
|  |  | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>21. Proses Pengenceran sampel</p> | <p>22. Proses Nanophotometer</p> | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|---|---|
|  |  |
| 23. Primer yang digunakan | 24. Master MixPCR |
|  |  |
| 25. GelDoc (Gel Documentation) | 26. Pembuatan Agaros |
|  |  |
| 27. Spin down | 28. Proses PCR |



Jurnal Ilmu Pertanian Tirtayasa

Program Studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
Jalan Raya Jakarta Km.4 Pakupatan Serang Banten, Telp (0254) 280330 Fax (0254) 281254

SURAT KETERANGAN

Nomor : 30/KET/LO-07/2022

Dewan Redaksi Jurnal Ilmu Pertanian Tirtayasa yang dikelola oleh Program Studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, menerangkan bahwa naskah artikel dengan judul: **"KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH PADI LOKAL INDONESIA DAN INTRODUKSI BERBASIS MARKER MIKROSATELIT GEN UMUR GENJAH DAN KETAHANAN WERENG BATANG COKLAT BIOTIPE 3"** yang ditulis oleh *Mariam Rismawati, Susiyanti, dan Zahratul Millah* dinyatakan telah "diterima/accepted". Setelah dilakukan editing, naskah akan dimuat dalam Jurnal Ilmu Pertanian Tirtayasa Volume 4(2) Edisi Desember tahun 2022.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Serang, 26 Juli 2022



Ketua Dewan Redaksi

Dr. Juwari Pancawati SP., MSi
NIP. 19750214 200312 2 001



**SURAT KEPUTUSAN DIREKTUR PASCASARJANA
UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA**

Nomor : 525 /UN43.13/TD.06/2020

Tentang

PENUGASAN PEMBIMBING TESIS

Surat Keputusan Direktur Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa,

- Menimbang : Bahwa untuk menunjang kelancaran penyelesaian proses penyusunan Tesis bagi mahasiswa diperlukan penunjukkan Dosen Pembimbing yang ditetapkan dalam Surat Keputusan Direktur Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
- Mengingat : 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional.
2. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen.
3. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi.
4. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi.
5. Keputusan Presiden RI Nomor 32 Tahun 2001 tentang Pendirian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
6. Peraturan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor 44 Tahun 2015 tentang Standar Pendidikan Nasional.
7. Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia Nomor : 29290/M/KP/2019 tentang Pengangkatan Dr. H. Fatah Sulaiman, S.T.,M.T., sebagai Rektor Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Periode 2019 - 2023.
8. Keputusan Rektor Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Nomor : 279/UN43/KPT.KP.08.01/SK/2020 tentang Pengangkatan Direktur Pascasarjana Masa Jabatan Tahun 2020-2024 Dr. H. Aan Asphianto, S.Si., SH., MH., sebagai Direktur Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
9. Pedoman Akademik Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Tahun 2019/2020.
- Memperhatikan : Usulan Ketua Program Studi Magister Ilmu Pertanian Nomor 008/UN43.13.9/TU tanggal 29 Juni 2020 Perihal Pengajuan SK Pembimbing Tesis Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

MEMUTUSKAN

- Menetapkan :
Pertama : Menugasi dosen yang namanya tercantum di bawah ini sebagai Pembimbing dengan urutan sebagai berikut:
a. Pembimbing I : Dr. Susiyanti, S.P., M.P
b. Pembimbing II : Dr.Zahratul Millah,SP.,M.Si
- Kedua : Mahasiswa terbimbing adalah :
a. Nama : Mariam Rismawati
b. NIM : 7779190021
c. Program Studi : Ilmu Pertanian
d. Strata : 2 (dua)
e. Judul Tesis : Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah Dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3
- Ketiga : Kepada para Pembimbing Tesis diberikan honorarium sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
Keempat : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dengan ketentuan apabila terdapat kekeliruan, akan diadakan perbaikan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Serang
Pada tanggal : 1 Juli 2020

Direktur,

Dr. H. Aan Asphianto, S.Si., SH., MH
NIP 196301052002121002

Tembusan disampaikan kepada Yth. :

1. Rektor Untirta.
2. Ketua Program Studi .
3. Dosen Pembimbing I dan II.



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA
PASCASARJANA**

II. Raya Jakarta Km. 04 Pakupatan Kota Serang
Telepon : (0254) 280330, Ext 204 Fax. (0254) 281254,
Website : www.pasca.untirta.ac.id Email : pascasajana@untirta.ac.id

Nomor : 380/UN43.13/PT.01.04/2020
Perihal : **Permohonan Izin Penelitian**

07 Desember 2020

Kepada Yth.
Kepala Kebun Percobaan Fakultas Pertanian
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
di

Tempat

Dengan ini kami memberitahukan, bahwa mahasiswa :

Nama : Mariam Rismawati
NIM : 7779190021
Prodi : Magister Ilmu Pertanian

Bermaksud akan melaksanakan penelitian di Instansi yang Bapak Pimpin untuk keperluan penyusunan tesis dengan judul:

"Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3"

Demikian Permohonan kami sampaikan atas bantuan, perhatian, dan kerjasama Bapak /Ibu

diucapkan terima kasih.



Wakil Direktur I

Prof. Dr. Ir. Hj. Kartina AM., MP.
NIP.196707042002122001

Tembusan :

1. Yang bersangkutan
2. Arsip



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI**

UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA

FAKULTAS PERTANIAN

Jl. Raya Jakarta Km. 04 Pakupatan Kota Serang
Provinsi Banten Telepon (0254) 3204321 Laman: faperta.untirta.ac.id

SURAT KETERANGAN

Menindaklanjuti surat dari Wakil Direktur I Pascasarjana Universitas Sultan Ageng Tirtayasa No. 380/UN43.13/PT.01.04/2020 Tanggal 07 Desember 2020 Prihal Permohonan Izin Penelitian, dengan ini Kepala Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa menerangkan bahwa:

Nama : Mariam Rismawati
NIM : 7779190021
Jenjang/Prodi : S2/Ilmu Pertanian
Judul : Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia dan Introduksi Berbasis Marker Mikrosatelit Gen Umur Genjah Dan Ketahanan Wereng Batang Coklat Biotipe 3

Berdasarkan hasil pengamatan kami di lapangan, nama mahasiswa yang dimaksud telah selesai melaksanakan penelitian Tugas Akhir (Tesis) dilingkup Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa sejak bulan Desember 2020 sampai April 2021.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Serang, Mei 2021
Kepala Kebun Percobaan


Nur Iman Muztahidin, S.P., M.Sc
NIP. 199110172019031007