

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 buncung 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

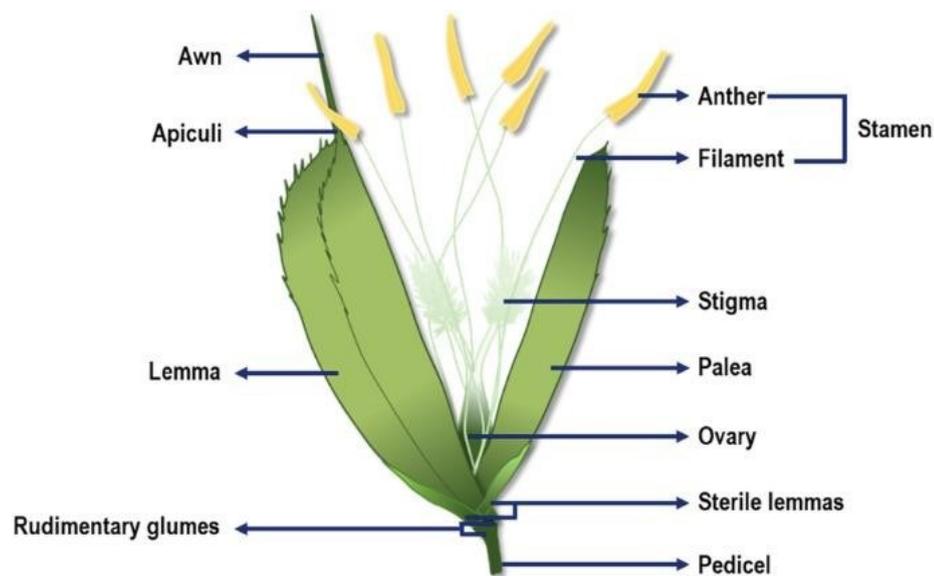
dan ruas-ruas ini praktis tidak dapat dibedakan sebagai ruas-ruas yang berdiri sendiri. (De Datta 1981; Yoshida 1981).

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 \pm 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 merchптоetanol, 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 spesifisitasnya, 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. Kelebihan utamanya 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 veryimportant 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).

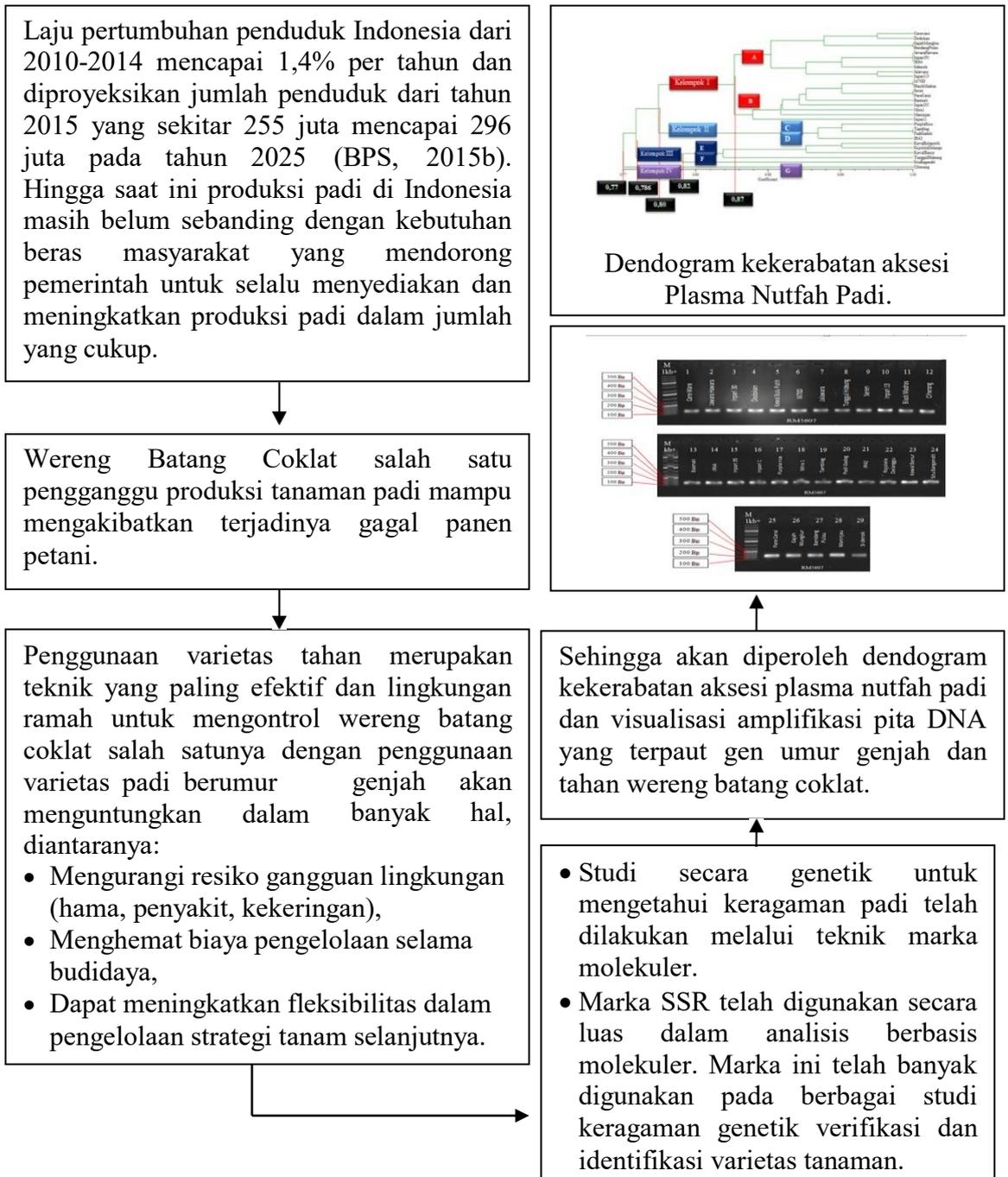
Studi secara genetik untuk mengetahui keragaman padi telah dilakukan melalui teknik marka molekuler. Teknik ini dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik secara akurat, mengetahui identitas kultivar secara efektif, dan studi evolusi. Seleksi marka genetik adalah didasarkan pada survey keragaman 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