

**DETEKSI GEN PR-1 RESISTEN PENYAKIT BULAI &
KERAGAMAN GENETIK GENERASI F2 PERSILANGAN JAGUNG
MAL-03 dan TY-001 BERDASARKAN MARKA SSR**

*DETECTION OF THE PR-1 GENE ON TOUGH DOWNY MILDEW
DISEASE RESISTANCE AND GENETIC DIVERSITY OF THE F2
GENERATION OF A CROSS OF CORN MAL-03 and TY-001
BASED ON SSR MARKER*

**FRISTY DAMANIK
H052211003**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**DETEKSI GEN PR-1 RESISTEN PENYAKIT BULAI &
KERAGAMAN GENETIK GENERASI F2 PERSILANGAN JAGUNG
MAL-03 dan TY-001 BERDASARKAN MARKA SSR**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Biologi

Disusun dan diajukan oleh

FRISTY DAMANIK
H052211003

kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR
2024**

TESIS

DETEKSI GEN PR-1 RESISTEN PENYAKIT BULAI
DAN KERAGAMAN GENETIK GENERASI F2 PERSILANGAN
JAGUNG MAL-03 DAN TY-001 BERDASARKAN MARKA SSR

FRISTY DAMANIK

H052211003

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Januari 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Dr. Juhriah, M.Si.
NIP. 19631231 198810 2 001

Pembimbing Pendamping,

Dr. Rosana Agus, M.Si.
NIP. 19650905 199103 2 003

Ketua Program Studi
Magister Biologi,

Dr. Juhriah, M.Si.
NIP. 19631231 198810 2 001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,

Dr. Encep Amiruddin, M.Si.
NIP. 19720515 199702 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul Deteksi Gen PR-1 Resisten Penyakit Bulai dan Keragaman Genetik Generasi F2 Persilangan Jagung Mal-03 dan Ty-001 Berdasarkan Marka SSR adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Dr. Juhriah, M.Si dan Dr. Rosana Agus, M.Si. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Biodiversitas Journal of Biological Diversity sebagai artikel dengan judul "*Genetic Diversity of the F2 Generation of Mal-03 and Ty-001 Maize Crosses Based On SSR Markers*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 26 Januari 2024



Fristy Damanik
H052211003

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (tesis) ini yang berjudul “Deteksi Gen PR-1 Resisten Penyakit Bulai & Keragaman Genetik Generasi F2 Persilangan Jagung Mal-03 Dan Ty-001 Berdasarkan Marka SSR” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains (M.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini terdapat banyak kekurangan, hal tersebut dikarenakan keterbatasan kemampuan dari penulis. Penulis tidak dapat melakukan semuanya tanpa bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar terkhusus suami dan anak-anak serta kedua orang tua yang telah memberikan dukungan dan mendoakan penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis tersebut.

Penulis juga sangat mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu Dr. Juhriah, M.Si. bersama Ibu Dr. Rosana Agus, M.Si. yang senantiasa sabar membimbing dan mengarahkan penulis serta memberikan saran dan kritik sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari peran dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. Dr. Eng. Amiruddin, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta staf pegawainya.
3. Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi dan Andi Evi Erviani, S.Si., M.Sc., selaku Sekretaris Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
4. Dr. Juhriah, M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
5. Prof. Dr, Fahrudin, M.Si., M.Si., Dr. Syahribulan, M.Si., dan Dr. Elis Tambaru, M.Si., selaku dosen penguji yang dengan sabar mengarahkan dan memberikan kritik dan sabar demi perbaikan tesis ini.
6. Seluruh staf dosen yang telah memberikan ilmu dan memotivasi kepada penulis mulai dari awal perkuliahan hingga saat ini.

7. Kepala Balai dan staf Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia yang telah membantu penulis dalam proses pengerjaan penelitian ini.
8. Peneliti Badan Riset Inovasi Nasional yang telah membantu penulis dalam proses pengerjaan penelitian ini.
9. Teman-teman angkatan 2021 yang telah berjuang bersama hingga saat ini.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama proses perkuliahan hingga penyusunan tesis ini. Penulis tidak dapat membalas kebaikan Bapak/Ibu/Saudara sekalian.

Dengan penuh rasa hormat penulis mempersembahkan tesis ini dan semoga dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis,

Fristy Damanik
NIM. H052211003

ABSTRAK

FRISTY DAMANIK. **Deteksi Gen PR-1 Resisten Penyakit Bulai & Keragaman Genetik Generasi F2 Persilangan Jagung Mal-03 Dan Ty-001 Berdasarkan Marka SSR** (dibimbing oleh Juhriah dan Rosana Agus).

Salah satu faktor yang mempengaruhi produktivitas jagung adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), terutama penyakit bulai dan keragaman genetik tanaman. Upaya pengendalian penyakit bulai yang paling efisien adalah menggunakan varietas yang tahan penyakit, namun ketersediaan varietas tahan sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya gen resisten bulai *pathogenesis relate protein* (PR-1) dan menganalisis keragaman genetik generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001. Sebanyak 30 aksesi generasi F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001 digunakan untuk mendeteksi adanya gen resisten penyakit bulai dengan marka PR-1 dan menggunakan 15 marka SSR bnlg1007, bnlg1025, bnlg1258, bnlg1447, dupssr17, umc2281, bnlg1118, nc009, bnlg1740, umc2325, bnlg339, umc2042, phi028, umc2337 dan bnlg1655 untuk menganalisis keragaman genetiknya. Berdasarkan hasil penelitian pada 30 aksesi generasi F2, sebanyak 20 aksesi terdeteksi memiliki karakter gen resisten penyakit bulai dan analisis keragaman genetik 30 aksesi F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001 tergolong “sedang” dengan rata-rata jumlah alel/lokus dan tingkat polimorfisme berkisar antara 0,24 – 0,65 dengan nilai rata-rata 0,56. Analisis kluster menunjukkan bahwa koefisien similitas berkisar 0,56 – 0,89, dimana pada koefisien similitas 0,56 terbagi menjadi 2 kluster utama yaitu kluster I dan kluster II. Kluster I terdiri dari 4 aksesi dan kluster 2 terdiri dari 28 aksesi. Jarak genetik yang jauh dimiliki oleh pasangan aksesi G17 (♀Mal-03/♂Ty-001-2-4B-4) dan G23 (♀Ty-001/♂Mal-03-2-1B-2) yang dapat dijadikan sebagai calon tetua untuk generasi lanjut F3. Marka SSR memberikan informasi yang akurat dan efektif mengenai variabilitas genetik generasi F2 persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001.

Keywords: generasi F2, persilangan, gen PR-1, keragaman genetik, SSR

ABSTRACT

FRISTY DAMANIK. **Detection of the PR-1 Gene on Tough Downy Mildew Disease Resistance and Genetic Diversity of the F2 Generation of a Cross of Corn Mal-03 and Ty-001 Based on SSR Marker** (supervised by Juhriah and Rosana Agus).

One factor that influences corn productivity is the attack of plant pests (OPT), especially downy mildew and plant genetic diversity. The most efficient effort to control downy mildew is to use disease-resistant varieties. However, the availability of resistant varieties is very limited. This research aims to detect the presence of the downy mildew resistance gene pathogenesis-related protein (PR-1) and analyze the genetic diversity of the F2 generation resulting from a cross between Mal-03 and Ty-001 corn. A total of 30 F2 generation accessions resulting from crossing Mal-03 and Ty-001 were used to detect the presence of downy mildew resistance genes with the marker PR-1 and using 15 SSR markers bnlg1007, bnlg1025, bnlg1258, bnlg1447, dupssr17, umc2281, bnlg1118, nc009, bnlg1740, umc2325, bnlg339, umc2042, phi028, umc2337 and bnlg1655 to analyze its genetic diversity. Based on the results of research on 30 F2 generation accessions, 20 accessions were detected to have downy mildew resistance genes and genetic diversity analysis of 30 F2 accessions resulting from the Mal-03 and Ty-001 cross were classified as "medium" with an average number of alleles of 2.93 alleles/locus and level of polymorphism ranged from 0.24 – 0.65 with an average value of 0.56. Cluster analysis shows that the similarity coefficient ranges from 0.56 – 0.89, where the similarity coefficient of 0.56 is divided into 2 main clusters, clusters I and II. Cluster I consists of 4 accessions and cluster 2 consists of 28 accessions. The long genetic distance possessed by the accession pair G17 (♀Mal-03/♂Ty-001-2-4B-4) and G23 (♀Ty-001/♂Mal-03-2-1B-2) which can be used as candidates parents for the next generation F3. SSR markers provide accurate and effective information regarding the genetic variability of the F2 generation of the Mal-03 and Ty-001 maize cross.

Keywords: F2 generation, crossing, PR-1 gene, genetic diversity, SSR

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Asal-usul dan Penyebaran Tanaman Jagung.....	5
2.2 Taksonomi dan Morfologi Jagung.....	5
2.3 Jagung Inducer Haploid.....	8
2.4 Penyakit Bulai	9
2.5 <i>Pathogenesis Related Proteins</i> (PR-1)	12
2.6 Marka Molekuler Berdasarkan SSR	14
2.7 Kerangka Pikir.....	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan.....	18
3.2.1 Alat.....	18

3.2.2 Bahan	18
3.3 Prosedur Kerja	20
3.3.1 Deteksi gen PR-1 resisten penyakit bulai.....	20
3.3.2 Keragaman Genetik 30 aksesi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001	21
3.4 Analisis Data	23
3.4.1 Deteksi gen PR-1 resisten penyakit bulai.....	23
3.4.2 Keragaman genetik F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Uji Kualitas dan Kuantitas RNA F2 Hasil Persilangan Mal-03 dan Ty-001	26
4.2 Deteksi Gen PR-1 Resisten Penyakit Bulai.....	28
4.3 Uji Kualitas dan Kuantitas DNA generasi F2 Hasil Persilangan Mal-03 dan Ty- 001	30
4.4 Amplifikasi DNA 30 Aksesi F2 Hasil Persilangan Mal-03 dan Ty-001 Menggunakan Marka SSR.....	33
4.5 Penanda Polimorfik /Informatif.....	40
4.6 Hubungan Kekerbatan 30 Aksesi F2 Hasil Persilangan Jagung Mal-03 dan Ty-001	43
4.7 Jarak Genetik 20 Aksesi F2 Generasi Hasil Persilangan Mal-03 dan Ty-001	46
BAB V PENUTUP	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	57

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Tahap pertumbuhan dan perkembangan jagung.....	6
2. Tanaman jagung terserang penyakit bulai.....	10
3. Diagram alir metode kerja.....	25
4. Amplifikasi DNA menggunakan primer PR-1.....	29
5. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1007.....	33
6. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1025.....	33
7. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1258.....	34
8. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1447.....	34
9. Amplifikasi DNA menggunakan marka dupssr17.....	35
10. Amplifikasi DNA menggunakan marka umc2281.....	35
11. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1118.....	36
12. Amplifikasi DNA menggunakan marka nc009.....	36
13. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1740.....	36
14. Amplifikasi DNA menggunakan marka umc2325.....	37
15. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg339.....	37
16. Amplifikasi DNA menggunakan marka umc2042.....	38
17. Amplifikasi DNA menggunakan marka phi028.....	38
18. Amplifikasi DNA menggunakan marka umc2337.....	39
19. Amplifikasi DNA menggunakan marka bnlg1655.....	39
20. Dendogram hubungan kekerabatan 30 aksesori F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001	45
21. Dendogram ketidakmiripan genetik 20 aksesori F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001.....	47

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Tiga puluh aksesi generasi F2 hasil persilangan jagung Mal 03 Dan Ty-001.....	18
2. Marka yang digunakan untuk analisis keragaman genetik.....	19
3. Hasil uji kualitas dan kuantitas RNA F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001.....	27
4. Hasil uji kualitas dan kuantitas DNA F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001.....	31
5. Profil data 15 marka SSR polimorfis yang digunakan pada 30 F2 hasil persilangan Mal-03 dan Ty-001.....	41
6. Matriks kesamaan genetik 30 aksesi F2 hasil persilangan Mal-03 dan TY-001 berdasarkan informasi 15 Primer SSR.....	44
7. Matriks jarak genetik 30 aksesi F2 hasil persilangan Mal-03 dan TY-001 berdasarkan informasi 15 Primer SSR.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Hasil skoring pita DNA menggunakan 15 primer SSR jagung.....	57
2. Dokumentasi kegiatan penelitian.....	59

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan salah satu tanaman pangan terpenting di dunia selain gandum dan padi (Tanklevska *et al.*, 2020). Jagung adalah salah satu sumber karbohidrat dan protein. Jagung kaya akan komponen pangan fungsional, termasuk serat pangan yang dibutuhkan tubuh, asam lemak esensial, isoflavone, mineral (Ca, Mg, K, Na, P, Ca dan Fe), antosianin, betakaroten (provitamin A), komposisi asam amino esensial dan lainnya (Suarni & Aqil, 2020). Berdasarkan Pusat Data dan Informasi Pertanian produksi jagung nasional tahun 2022 sebesar 25,18 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2023). Kebutuhan jagung di dalam negeri diperkirakan akan terus meningkat sehubungan dengan banyaknya manfaat jagung dan berkembangnya industri pangan dan pakan sehingga produksi jagung perlu ditingkatkan.

Salah satu masalah dalam peningkatan produksi jagung di Indonesia adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), terutama penyakit bulai (Purwanti *et al.*, 2023). Penyakit ini menyebabkan kerusakan yang serius pada tanaman jagung di seluruh dunia, terutama di negara-negara tropis Asia (Pakki, 2017). Apabila penyakit ini menginfeksi tanaman muda varietas rentan dapat mengakibatkan kerusakan tanaman sampai 100% (Ulhaq & Masnilah, 2019). Penyakit bulai pada jagung disebabkan oleh cendawan. Di Indonesia ada 3 jenis spesies cendawan dari genus *Peronosclerospora* yang dilaporkan menginfeksi tanaman jagung yaitu *P. maydis* yang dijumpai di Jawa Tengah dan Jawa Timur, *P. philippinensis* ditemukan di Sulawesi Selatan dan Gorontalo sedangkan *P. Sorghi* diperoleh di Sumatera Utara dan Jawa Barat (Muis *et al.*, 2016).

Menurut Prasetyo *et al.*, (2021) ada beberapa upaya pengendalian penyakit bulai yang dapat dilakukan seperti pengaturan periode lahan bebas pertanaman, sanitasi lingkungan, dan perbaikan pola tanam namun belum menunjukkan penekanan kehilangan hasil jagung yang signifikan. Upaya pengendalian penyakit bulai yang paling efisien adalah menggunakan varietas yang tahan karena lebih efektif dan relatif aman terhadap lingkungan, namun ketersediaan varietas tahan sangat terbatas.

Pengembangan kultivar jagung tahan penyakit bulai dengan karakter agronomi yang diinginkan merupakan tujuan utama pemuliaan tanaman jagung. Tersedianya genotipe jagung tahan penyakit bulai merupakan material seleksi untuk mendapatkan galur jagung tahan bulai. Seleksi secara konvensional biasanya dilakukan terhadap karakter tanaman melalui penanda morfologi karena praktis, mudah, serta pengamatannya dilakukan secara visual dan bersifat kuantitatif. Namun, kelemahan penanda morfologi yaitu kurang akurat untuk menganalisa keragaman dan struktur genetik tanaman karena dipengaruhi lingkungan serta fase perkembangan tanaman (Ajala *et al.*, 2019).

Teknik persilangan merupakan suatu cara memanfaatkan gen ketahanan terhadap penyakit bulai yang terdapat dalam suatu kultivar kemudian digabungkan kedalam kultivar jagung dengan sifat agronomi yang diinginkan (Dewi, 2017). Teknik persilangan ini sangat bermanfaat untuk pembentukan galur jagung inducer haploid yang tahan terhadap penyakit bulai bila dilakukan upaya penggabungan gen tahan penyakit bulai ke dalam kultivar jagung inducer haploid yang ditanam seperti jagung Mal-03 dan jagung Ty-001. Jagung Mal-03 adalah galur jagung yang dibentuk di Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia (BPSITS) Maros, Sulawesi Selatan. Asal dari galur ini diekstrak dari populasi rekomendasi galur-galur tahan terhadap penyakit bulai, sedangkan Ty-001 merupakan galur jagung inducer haploid yang berasal dari Cina yang rentan terhadap penyakit bulai.

Pembentukan jagung inducer haploid yang tahan terhadap penyakit bulai persilangan jagung Mal-03 dan jagung Ty-001 saat ini masih dalam tahap pengembangan F2 di Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN) yang bekerja sama dengan Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia (Syahrudin, 2022). Sumber gen ketahanan terhadap penyakit bulai pada persilangan ini diperoleh dari galur Mal-03. Mal-03 merupakan salah satu galur jagung yang diketahui mempunyai tingkat ketahanan tinggi terhadap penyakit bulai. Informasi mengenai keberadaan gen-gen pengendali ketahanan bulai ini akan membantu upaya pemulia tanaman untuk merakit kultivar jagung unggul tahan penyakit bulai melalui teknik persilangan.

Langkah awal pembentukan galur jagung tahan penyakit adalah pemilihan tetua persilangan. Sebagai tetua donor, kultivar yang dipilih harus memiliki ketahanan terhadap penyakit bulai. Metode yang dapat digunakan yaitu melalui studi literatur uji ketahanan (resistensi) terhadap penyakit (Stanley *et al.*, 2020). Langkah selanjutnya adalah menyisipkan gen *pathogenesis relate protein* (PR)

tahan penyakit bulai ke dalam kultivar tetua *recurrent*. Metode penyisipan gen yang dapat digunakan yaitu melalui persilangan. Hanya saja hal yang perlu diperhatikan adalah adanya kemungkinan terjadinya penurunan ketahanan pada galur jagung keturunan.

Proses seleksi yang tepat sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya penurunan ketahanan pada generasi keturunan hasil persilangan. Seleksi yang akurat terhadap suatu karakter yang diinginkan dari tanaman adalah dengan berdasarkan pada gen yang mengendalikan karakter tersebut. Marka molekuler adalah pelengkap yang bermanfaat bagi karakter morfologi dan fenologi karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan memperoleh hasil yang tepat dan dalam waktu yang singkat (Gedil & Menkir, 2019). Salah satu teknik marka molekuler yang dapat digunakan untuk menyeleksi galur-galur yang membawa karakter yang diinginkan berdasarkan deteksi DNA adalah metode *simple sequence repeat* (SSR). Metode SSR merupakan salah satu teknik molekuler yang sering digunakan untuk penelitian diversitas genetik karena keakuratan informasi yang tinggi dan sangat polimorfik. Hal ini dikarenakan marka SSR merupakan marka kodominan yang dapat membedakan heterosigos dan homosigos (Lebedev *et al.*, 2020). Marka SSR memanfaatkan pengetahuan mengenai fungsi gen untuk mendeteksi keberadaan gen pada tanaman. Aplikasi marka molekuler yang berbasis marka SSR dapat diterapkan secara efisien guna mendeteksi dan mengkuantifikasi pertukaran gen/genom hasil persilangan serta dapat mempercepat proses seleksi (Haque *et al.*, 2018). Berdasarkan pertimbangan tersebut, maka pada penelitian ini digunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk mendeteksi keberadaan gen PR-1 dan menganalisa keragaman genetik generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001.

Hoerussalam *et al.*, (2013) menyatakan marka yang diketahui terpaut dengan gen tahan penyakit bulai adalah *pathogenesis relate protein* (PR-1) dimana pada populasi hasil selfing generasi pertama F1 menunjukkan bahwa status ketahanan galur C20 pada perlakuan masuk kategori tahan yang berarti ketahanan hasil induksi tetap atau meningkat pada generasi selanjutnya. Selain itu, marka ini telah digunakan dan berhasil mendeteksi keberadaan gen PR-1 pada kultivar jagung, namun belum pernah digunakan pada kultivar yang digunakan pada penelitian ini. Pada penelitian ini digunakan jagung generasi F2 hasil persilangan Mal-03 (asal Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia) dan Ty-001 (asal Cina) untuk mendeteksi gen resisten bulai pada individu yang

memiliki gen resisten bulai yaitu marka PR-1, selanjutnya dilakukan seleksi untuk mencari galur yang dapat dijadikan tetua dengan menggunakan marka SSR.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001 mengandung gen resisten bulai *pathogenesis relate protein* (PR-1)?
2. Bagaimana keragaman genetik generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001 berdasarkan marka SSR?
3. Bagaimana menentukan calon galur untuk generasi lanjut F3?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendeteksi adanya gen resisten penyakit bulai *pathogenesis relate protein* (PR-1) pada generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001.
2. Mengalisis keragaman genetik generasi F2 hasil persilangan jagung Mal-03 dan Ty-001 berdasarkan marka SSR.
3. Memilih kandidat calon aksesi yang dapat dijadikan galur untuk generasi lanjut F3.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendeteksi secara dini jagung yang mengandung gen PR-1 sehingga mempercepat waktu seleksi untuk pembentukan galur tahan penyakit bulai
2. Memberikan informasi kepada pemulia dan peneliti jagung tentang informasi galur-galur yang resisten penyakit bulai berdasarkan marka SSR.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asal-usul dan Penyebaran Tanaman Jagung

Asal mula jagung adalah dari wilayah Amerika Tengah, dataran tinggi Meksiko dan menyebar dengan cepat ke tempat lain. Laporan arkeologi dan analisis phylogenetik menunjukkan bahwa domestika dimulai sekitar 6000 tahun yang lalu. Tanaman jagung tersebar ke Asia dan Afrika melalui kegiatan bisnis orang-orang Eropa ke Amerika. Sekitar abad ke-16 orang Portugal menyebarkanluaskannya ke Asia termasuk Indonesia (Iriany *et al.*, 2008).

Selama proses domestika jagung, setiap area tempat terjadinya domestika telah terjadi seleksi kultivar jagung. Penyebaran tanaman jagung sangat luas karena mampu beradaptasi dengan baik pada berbagai lingkungan. Jagung tumbuh baik di wilayah tropis hingga 50° LU dan 50° LS, dari dataran rendah sampai ketinggian 3.000 m di atas permukaan laut (dpl), dengan curah hujan tinggi, sedang, hingga rendah sekitar 500 mm per tahun (Indrawan *et al.*, 2017).

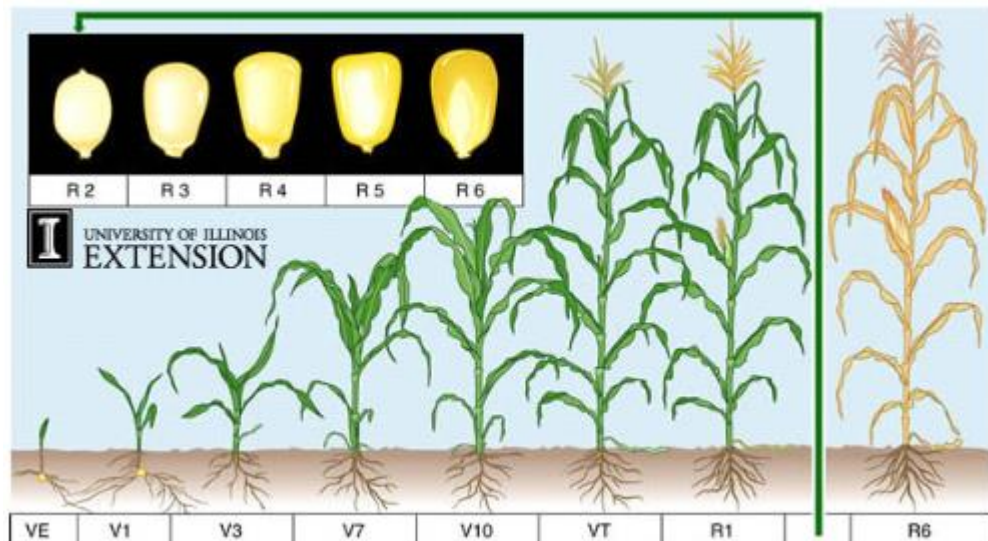
Tanaman jagung tumbuh optimal pada tanah yang gembur, drainase baik, dengan kelembaban tanah cukup, dan akan layu bila kelembaban tanah kurang dari 40% kapasitas lapang, atau bila batangnya terendam air. Pada dataran rendah, umur jagung berkisar antara 3-4 bulan, tetapi di dataran tinggi di atas 1000 m dpl berumur 4-5 bulan. Umur panen jagung sangat dipengaruhi oleh suhu, setiap kenaikan tinggi tempat 50 m dari permukaan laut, umur panen jagung akan mundur satu hari (Indrawan *et al.*, 2017).

2.2 Taksonomi dan Morfologi Jagung

Taksonomi tumbuhan jagung diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Subdivisio	: Spermatophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Genus	: <i>Zea</i>
Spesies	: <i>Zea mays</i> L. (<i>Integrated Taxonomic Information System</i> , 2023)

Tanaman jagung (*Zea mays* L.) merupakan tanaman semusim (annual). Satu siklus hidupnya sekitar 80-150 hari. Paruh pertama dari siklus merupakan tahap pertumbuhan vegetatif dan paruh kedua untuk tahap pertumbuhan generatif. Tahap pertumbuhan dan perkembangan tanaman jagung dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahap pertumbuhan dan perkembangan jagung
Sumber: Ritchie *et al.*, 1993. Iowa State University Extension

Tinggi tanaman jagung sangat bervariasi. Umumnya tanaman jagung berketinggian antara 1m sampai 4m, ada varietas yang dapat mencapai 6m. Tinggi tanaman biasa diukur dari permukaan tanah hingga ruas teratas sebelum bunga jantan. Jagung memiliki satu batang tegak (meskipun beberapa varietas dapat menghasilkan anakan/cabang lateral (*tiller*)). Kultivar daerah sedang lebih pendek dari kultivar tropis dan sub tropis.

Tanaman jagung berakar serabut dengan sistem perakaran terdiri dari tiga macam akar yaitu akar seminal yang berkembang dari radikula dan embrio yang pertumbuhannya akan melambat setelah plumula muncul ke permukaan tanah dan pertumbuhan akar seminal akan berhenti setelah tanaman berumur 10-18 hari setelah berkecambah; akar adventif adalah akar yang semula berkembang dari buku di ujung mesokotil, kemudian set akar adventif berkembang dari tiap buku secara berurutan dan terus ke atas antara 7-10 buku, semuanya di bawah permukaan tanah. Akar adventif berkembang menjadi serabut akar tebal. Akar adventif berperan dalam pengambilan air dan hara. Akar kait atau penyangga adalah akar adventif yang muncul pada dua atau tiga buku di atas permukaan

tanah. Fungsi dari akar penyangga adalah menjaga tanaman agar tetap tegak dan mengatasi rebah batang. Akar ini juga membantu penyerapan hara dan air (Muhadjir, 2018).

Batang jagung tegak dan mudah terlihat, namun terdapat mutan yang batangnya tidak tumbuh pesat sehingga tanaman berbentuk roset. Batang jagung cukup kokoh meskipun tidak banyak mengandung lignin. Batang jagung mempunyai batang yang tidak bercabang, berbentuk silindris, dan terdiri atas sejumlah ruas dan buku. Pada buku terdapat tunas yang berkembang menjadi tongkol. Dua tunas teratas berkembang menjadi tongkol yang produktif (Muhadjir, 2018).

Daun jagung terdiri atas helaian daun, ligula, dan pelepah daun yang erat melekat pada batang. Jumlah daun sama dengan jumlah buku batang. Jumlah daun umumnya berkisar antara 10-18 helai, rata-rata munculnya daun yang terbuka sempurna adalah 3-4 hari setiap daun (Muhadjir, 2018). Tanaman jagung di daerah tropis mempunyai jumlah daun relatif lebih banyak dibanding di daerah beriklim sedang (temperate). Genotipe jagung menentukan keragaman dalam hal panjang, lebar, tebal, sudut, dan warna pigmentasi daun. Lebar helai daun dikategorikan mulai dari sangat sempit (< 5 cm), sempit (5,1-7 cm), sedang (7,1-9 cm), lebar (9,1-11 cm), hingga sangat lebar (>11 cm) (Subekti *et al.*, 2008).

Jagung disebut juga tanaman berumah satu (*monoeciuous*) karena bunga jantan dan betinanya terdapat dalam satu tanaman. Bunga betina, tongkol, muncul dari axillary. Bunga jantan (tassel) berkembang dari titik tumbuh apikal di ujung tanaman. Pada tahap awal, kedua bunga memiliki primordia bunga biseksual. Selama proses perkembangan, primordia stamen pada axillary bunga tidak berkembang dan menjadi bunga betina. Demikian pula halnya primordia gynaecium pada apikal bunga, tidak berkembang dan menjadi bunga jantan (Muhadjir, 2018). Serbuk sari (pollen) adalah trinukleat. Pollen memiliki sel vegetatif, dua gamet jantan dan mengandung butiran-butiran pati. Dinding tebalnya terbentuk dari dua lapisan, exine dan intin, dan cukup keras. Adanya perbedaan perkembangan bunga pada spikelet jantan yang terletak di atas dan bawah dan ketidaksinkronan matangnya spike, maka pollen pecah secara kontinu dari tiap tassel dalam tempo seminggu atau lebih. Rambut jagung (silk) adalah pemanjangan dari saluran stylar ovary yang matang pada tongkol. Rambut jagung tumbuh dengan panjang hingga 30,5 cm atau lebih sehingga keluar dari ujung

kelobot. Panjang rambut jagung bergantung pada panjang tongkol dan kelobot (Subekti *et al.*, 2008)

Tanaman jagung mempunyai satu atau dua tongkol, tergantung varietas. Tongkol jagung diselimuti oleh daun kelobot. Tongkol jagung yang terletak pada bagian atas umumnya lebih dahulu terbentuk dan lebih besar dibanding yang terletak pada bagian bawah. Setiap tongkol terdiri atas 10- 16 baris biji yang jumlahnya selalu genap (Muhadjir, 2018).

Biji jagung disebut kariopsis, dinding ovari atau perikarp menyatu dengan kulit biji atau testa, membentuk dinding buah. Biji jagung terdiri atas tiga bagian utama, yaitu (a) pericarp, berupa lapisan luar yang tipis, berfungsi mencegah embrio dari organisme pengganggu dan kehilangan air; (b) endosperm, sebagai cadangan makanan, mencapai 75% dari bobot biji yang mengandung 90% pati dan 10% protein, mineral, minyak, dan lainnya; dan (c) embrio (lembaga), sebagai miniatur tanaman yang terdiri atas plamule, akar radikal, scutelum, dan koleoptil (Muhadjir, 2018).

2.3 Jagung Inducer Haploid

Penggunaan varietas hibrida memiliki peran penting untuk meningkatkan produktivitas tanaman jagung itu sendiri. Perakitan varietas hibrida membutuhkan waktu yang lama, karena diawali dengan pembentukan galur inbred sampai beberapa generasi. Cara mempersingkat waktu yaitu dengan memproduksi tanaman haploid. Pembentukan haploid membutuhkan tetua betina sebagai donor dan tetua jantan sebagai penginduksi. Penginduksi sangat menentukan keberhasilan dalam pembentukan haploid. Galur penginduksi haploid pertama telah ditemukan oleh Coe pada tahun 1959 dan dikenal dengan "stock 6". Galur ini digunakan untuk mengembangkan inbred dan sebagai penginduksi haploid. Galur ini mampu menginduksi haploid sebesar 3,2%. Galur ini sangat membantu dalam kegiatan untuk mendapatkan haploid dan pengembangan haploid. Hingga saat ini peneliti terus mengembangkan galur penginduksi haploid. Adapun galur penginduksi haploid dengan persentase haploid paling tinggi ialah penginduksi PHI yang mempunyai tingkat induksi HIR (*High Induction Rate*) 10-16% (Rotarencu *et al.*, 2010).

Haploid pada jagung dapat diperoleh melalui: *in vitro* (androgenesis) dan *in vivo*. Androgenesis mengacu pada perkembangan tanaman haploid dari polen yang belum matang oleh kultur anther atau kultur mikrospora. Namun, proses

untuk mendapatkan haploid melalui androgenesis tidak terbukti efisien pada jagung. Sebaliknya, induksi haploid secara *in vivo* sukses pada jagung dan dikomersialkan dalam program pemuliaaan tanaman. Haploid yang dilaporkan terjadi secara alami dalam penanaman jagung pada frekuensi sekitar 0,1% (Chidzanga *et al.*, 2017).

Induksi haploid secara *in vivo* melalui persilangan antara tanaman donor dengan penginduksi. Induksi secara *in vivo* ini adalah cara yang paling efektif pada beberapa spesies tanaman (Chidzanga *et al.*, 2017). Haploid diproduksi oleh genotipe penginduksi haploid melalui persilangan. Pada persilangan terdapat mekanisme maternal haploid yaitu tetua betina sebagai tanaman donor dan tetua jantan sebagai tanaman sebagai penginduksi. Tanaman donor digunakan sebagai penyumbang tongkol yang akan diserbuki oleh penginduksi. Keberhasilan dari pembentukan haploid ditentukan oleh penginduksinya. Selain mekanisme maternal haploid terdapat juga mekanisme paternal haploid yang merupakan tetua jantannya sebagai donor dan tetua betina sebagai penginduksi (Trentin *et al.*, 2020)

Jagung Ty-001 merupakan salah satu galur inducer haploid. Galur Ty-001 sebagai penginduksi haploid yang berasal dari Cina. Galur Ty-001 pada saat ini masih dalam tahap pengembangan dalam pembentukan galur inducer haploid yang tahan terhadap penyakit bulai di Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN) (Syahrudin, 2022). Galur Ty-001 digunakan sebagai inducer haploid dalam penelitian ini yang disilangkan dengan galur Mal-03 yang berasal dari Balai Pengujian Standarisasi Instrumen Tanaman Sereal (BPSITS) Maros Sulawesi Selatan.

2.4 Penyakit Bulai

Penyakit bulai adalah salah satu penyakit utama pada tanaman jagung. Penyakit bulai disebabkan oleh cendawan *Peronosclerospora* spp. dan apabila menginfeksi tanaman pada saat awal pertumbuhan bisa menyebabkan kehilangan hasil mencapai 80-100%, bahkan tanaman bisa puso, terutama bila penyakit menyerang varietas yang rentan (Ulhaq & Masnilah, 2019). Penyakit ini dilaporkan dapat menginfeksi lebih luas tanaman jagung dan menyebabkan kerugian yang besar di berbagai negara produsen jagung (Pakki, 2017).

Penyakit bulai disebabkan oleh 10 spesies cendawan yang tergolong dalam 3 genus yaitu 7 spesies dari genus *Peronosclerospora*, 2 spesies dari

Sclerophthora, dan 1 spesies dari *Sclerospora* (Rustiani *et al.*, 2015). Di Indonesia, penyakit bulai baru teridentifikasi sebanyak 3 jenis cendawan *Peronosclerospora* spp, yaitu *P. maydis*, *P. Sorghi*, *P. philippinensis*. Secara morfologi biasanya *P. Maydis* banyak menyerang tanaman jagung di daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur, *P. Sorghi* banyak menyerang tanaman jagung di Sumatra Utara dan Jawa Barat. Sedangkan *P. Phillipinensis* dengan wilayah penyebaran di Sulawesi Selatan dan Gorontalo sekitarnya (Muis *et al.*, 2016).

Cendawan *Peronosclerospora* spp. menyebabkan penyakit bulai, yang ditularkan oleh angin pada tanaman jagung dipagi hari (Muis *et al.*, 2016). Konidiofor terbentuk mulai jam 12 malam dan sekitar jam satu pagi konidia mulai terbentuk. Konidia mulai matang pada jam empat pagi dan pada jam lima pagi sudah banyak yang berkecambah. Proses pembentukan konidia dan konidiofor sangat dipengaruhi oleh suhu dan kelembapan. Konidia dan Konidiofor terbentuk pada kelembapan yang tinggi (kurang lebih 90%) dan suhu di bawah 24°C. Saat kondisi daun terserang telah tua dan mengering, oospora yang dapat bertahan di dalam tanah dapat ditemukan pada bagian daun tersebut, tergantung pada spesiesnya (Kim *et al.*, 2020).

Munculnya penyakit bulai pada tanaman jagung disebabkan oleh cendawan memicu perubahan warna daun. Proses infeksi cendawan *Peronosclerospora* spp. konidia yang tumbuh di permukaan daun akan masuk dalam jaringan tanaman muda melalui stomata, selanjutnya terjadi luka lokal dan berkembang ke titik tumbuh yang menyebabkan infeksi sistemik sehingga terbentuk gejala bulai yang khas. Gejala khas tanaman jagung yang terserang penyakit bulai adalah daun berwarna kuning pucat dengan garis-garis klorosis memanjang sejajar urat daun dengan batas jelas, sedangkan daun sehat berwarna hijau normal (Ginting *et al.*, 2020).



Gambar 2. Tanaman jagung terserang penyakit bulai
Sumber: Dokumentasi Pribadi. 2023

Pada awalnya, klorosis lokal dapat berkembang secara bertahap, dan ketika kondisi lingkungan mendukung memungkinkan pertumbuhannya, gejala bulai menjadi sistemik. Gejala klorosis sistemik terjadi hanya pada daun-daun baru yang kemudian terbentuk setelah serangan patogen mencapai titik tumbuh. Gejala ini berakibat pada sangat terhambatnya pertumbuhan, tanaman menjadi kerdil. Beberapa kemungkinan gejala malformasi tongkol terbentuk akibat tanaman jagung terserang penyakit bulai adalah sebagai berikut:

- 1). Tongkol terbentuk, tetapi biji yang diproduksi sangat sedikit, banyak tongkol yang ompong.
- 2). Tongkol terbentuk tanpa klobot dan ukurannya jauh lebih panjang dari ukuran normal.
- 3). Tongkol yang terbentuk pada satu bagian tidak hanya satu, tetapi banyak, tongkol kecil-kecil hanya berupa klobot yang tumbuh berwarna hijau seperti daun.

Pengendalian penyakit bulai dapat dilakukan dengan menggunakan varietas tahan penyakit, sanitasi lingkungan, pergiliran tanaman, pengaturan waktu tanam serentak, dan perlakuan benih dengan menggunakan fungisida sintesis (bahan aktif metalaxyl) (Prasetyo *et al.*, 2019). Fungisida sintesis dan bersifat sistemik yang sampai saat ini masih digunakan menyebabkan patogen resisten. Oleh karena itu, perlu dicari teknik pengendalian yang efektif dan tidak menyebabkan patogen resisten. Penggunaan varietas tahan merupakan cara praktis dan aman bagi lingkungan, namun ketersediaan varietas tahan sangat terbatas (Prasetyo *et al.*, 2021).

Munculnya beberapa spesies patogen dan dipicu oleh perubahan iklim yang dramatis merupakan tantangan besar dalam menghadapi permasalahan bulai. Peraturan pelepasan varietas jagung telah mensyaratkan tahan terhadap cekaman penyakit bulai. Oleh karena itu, dalam perakitan Varietas Unggul Baru (VUB) jagung akan dibutuhkan inbrida-inbrida elit yang dapat digunakan sebagai donor gen toleran cekaman penyakit bulai. Seleksi berbasis genomik menggunakan marka SSR akan sangat membantu dalam mengidentifikasi gen-gen toleran cekaman penyakit bulai (Muis *et al.*, 2016).

2.5 Pathogenesis Related Proteins (PR-1)

Pathogenesis related proteins (PR-1) adalah sekelompok protein yang diproduksi tanaman sebagai respons terhadap berbagai patogen. Kelompok ini termasuk dalam sistem resistensi sistemik, jenis mekanisme pertahanan yang memanfaatkan aktivasi gen dan pembuatan molekul untuk mencegah atau menghancurkan patogen yang menyerang (Kattupalli *et al.*, 2021). *Pathogenesis related proteins* (PR-1) adalah kunci utama dari mekanisme kompleks untuk melindungi diri dari patogen pada tumbuhan, dan diaktifkan sebagai respon terhadap serangan patogen. *Pathogenesis related protein* (PR-1) adalah gen protein yang berperan penting dalam metabolisme tanaman sebagai respon terhadap cekaman biotik dan abiotik untuk melindungi tanaman dari kerusakan (Farrakh *et al.*, 2018). Gen ini mengatur produksi beberapa protein, peptida atau senyawa yang beracun bagi patogen atau mencegah infeksi patogen dimana gen tersebut berasal (Li *et al.*, 2021)

Pathogenesis related protein (PR-1) terdiri dari molekul berbeda yang distimulasi oleh fitopatogen dan molekul pensinyalan yang terkait dengan pertahanan. PR-1 banyak digunakan sebagai molekul diagnostik penanda untuk jalur pensinyalan pertahanan karena mereka terdiri dari sebagian besar sistem kekebalan bawaan (Sels *et al.*, 2008). Gen PR-1 telah terbukti meningkatkan ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik serta menjadikannya strategi yang menjanjikan untuk menciptakan varietas tanaman yang bisa menahan berbagai tekanan lingkungan (Ali *et al.*, 2018). Memiliki aktivitas anti jamur, PR-1 merupakan bagian utama dari protein PR yang diinduksi oleh patogen atau asam salisilat. Golongan pertama dari gen *pathogenesis related protein*, PR1-a teridentifikasi pada tanaman *Nicotiana tabacum* yang terinfeksi Tobacco Mosaic Virus (TMV) (Akbulak *et al.*, 2020). Selanjutnya, beberapa protein PR-1 lainnya telah diidentifikasi dan dikarakterisasi pada spesies tanaman monokotil dan dikotil, dan fungsinya telah dilaporkan sebagai respons terhadap kondisi stres (Métraux, 2013). Gen *pathogenesis related proteins* (PR-1) memiliki protein PR (dikenal sebagai peptida antimikroba) yang diklasifikasikan menjadi 17 famili berdasarkan kesamaan urutan protein, aktivitas enzimatis dan fitur biologis lainnya (Kaur *et al.*, 2017). PR ini memiliki beragam fungsi, berkontribusi terhadap kekakuan dinding sel, transduksi sinyal, dan aktivitas antimikroba, dan PR ini diekspresikan pada tanaman sebagai kitinase, glukukanase, dan protein miripthaumatin (Farrakh *et al.*,

2018). Banyak PR yang didistribusikan dicelah dan vakuola sel tumbuhan, dan distribusinya terkait dengan titik isoelektrik dan paparan stres (Jo *et al.*, 2020)

Indikator terjadinya induksi resisten secara sistemik diantaranya akumulasi pembentukan *pathogenesis related protein* (PR-protein)(Chen *et al.*, 2000). Kelompok PR-protein yang umum dikenal antara lain peroksidase (Ramamoorthy *et al.*, 2001). Fungsi peroksidase adalah memperkuat dinding sel terhadap degradasi enzim yang dihasilkan oleh patogen melalui pembentukan protein struktural pada dinding sel. Peroksidase adalah enzim yang berperan sebagai katalisator pada tahap akhir proses biosintesis lignin dan hydrogen peroksidase. Beberapa jenis enzim telah dilaporkan meningkat aktivitasnya setelah mendapat perlakuan agen biokontrol, antara lain peroksidase, fenilalanin, ammonia-liase, dan polifenol oksidase (Chen *et al.*, 2000).

Ekspresi gen PR-1 pada jagung adalah salah satu indikator ketahanan tanaman terhadap penyakit bulai, yaitu penyakit yang disebabkan oleh cendawan. Gen PR-1 ini adalah gen yang mengkode protein peroksidase yang berperan dalam proses pertahanan tanaman jagung terhadap patogen bulai. Ekspresi gen PR-1 pada jagung adalah subjek beberapa studi penelitian. Hoerussalam *et al.* (2013) yang menggunakan varietas jagung C20 sebagai subjek percobaan, menemukan bahwa varietas C20 memiliki peningkatan status ketahanan terinduksi setelah diaplikasikan elisitor Bio2 dan Abio2, serta peningkatan kandungan asam salisilat dan deteksi gen PR-1 pada daun dan akar. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa status ketahanan terinduksi diturunkan pada populasi generasi S1 dan mengikuti pola pewarisan Mendel untuk rasio 15:1. Penelitian lain analisis genom famili gen PR-1 pada jagung dan profil ekspresi yang diinduksi oleh hormon tanaman dan fitopatogen jamur dilakukan oleh Ma *et al.*, (2022), sebanyak 17 gen ZmPR-1 teridentifikasi pada jagung, dan gen tersebut tersebar tidak merata pada 8 kromosom jagung. Analisis data microarray menunjukkan bahwa ZmPR-1 menampilkan pola ekspresi spesifik jaringan pada berbagai tahap perkembangan, dan merespons infeksi lima patogen jagung. Selain itu, empat gen ZmPR-1 (ZmPR-1-5, 12, 14 dan 16) secara signifikan diregulasi setelah infeksi *Setosphaeria turcica*, dan juga dipengaruhi oleh isyarat eksogen seperti *salicylic acid* (SA), *methyl jasmonate* (MeJA) dan H₂O₂. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ali *et al.*, (2018) mengidentifikasi dan menganalisis ekspresi homolog gen PR-1 pada *Sorghum bicolor*, dan menunjukkan bahwa ekspresi seperti PR-1 diregulasi sebagai respons terhadap infeksi jamur. Morris *et al.*, (1998) juga melaporkan

bahwa inducer kimia dapat berfungsi pada tanaman jagung. Bahan penginduksi tersebut dapat meningkatkan ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai dan mengaktifkan ekspresi gen PR-1 dan PR-5 pada jagung. Gen tersebut juga aktif pada saat terjadi infeksi oleh patogen dan berfungsi sebagai indikator reaksi pertahanan tanaman.

2.6 Marka Molekuler Berdasarkan SSR

Marka molekuler berbasis *Simple Sequence Repeats* (SSR) banyak digunakan pada berbagai spesies tanaman untuk analisis dan identifikasi genetik. Penanda molekuler adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk melengkapi informasi morfologi (Dorice *et al.*, 2020). Marka SSR adalah rangkaian DNA pendek yang berulang beberapa kali dalam genom dan dapat digunakan untuk mendeteksi polimorfisme genetik antar individu atau kultivar (Avvaru *et al.*, 2017). Menurut Semagn *et al.*, (2006), definisi marka (penanda) molekuler adalah sekuen DNA yang dapat diidentifikasi yang terdapat pada lokasi tertentu pada genom, dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Ibaratnya sebuah barcode, keberadaan marka molekuler tersebut secara prinsip memiliki perbedaan, sehingga untuk memilih dan pengaplikasian harus dengan hati-hati.

Definisi marka genetik merupakan gen yang terekspresi dan membentuk fenotip, biasanya mudah dibedakan, digunakan untuk identifikasi individu atau sel yang membawanya, atau sebagai probe untuk menandai inti, kromosom, atau lokus. Marka genetik terbagi menjadi tiga kelas besar yaitu : (i) marka yang berdasar sifat yang secara visual dapat diduga (marka morfologi); (ii) marka yang berdasar pada produk gen (marka biokimia); dan (iii) marka yang berdasar pada pengujian DNA (marka molekuler) (Semagn *et al.*, 2006). Marka morfologi dikarakterisasi visual secara fenotipik seperti warna bunga, bentuk biji, tipe tumbuh atau pigmentasi. Marka isozym adalah marka yang dapat membedakan enzim yang dideteksi melalui elektroforesis dan merupakan penanda spesifik. Keterbatasan dari marka morfologi dan biokimia adalah dalam jumlah dan keterlibatan pengaruh faktor lingkungan atau fase perkembangan tanaman. Marka molekuler mempunyai beberapa keunggulan seperti tidak terpengaruh oleh lingkungan, dapat digunakan pada semua fase pertumbuhan tanaman, dan dapat mendeteksi keragaman genetik pada daerah yang gennya tidak berekspresi (Gedil & Menkir, 2019).

Pemilihan marka molekuler yang akan digunakan dalam analisis genetik perlu mempertimbangkan tujuan yang diinginkan, sumber dana yang dimiliki, fasilitas yang tersedia serta kelebihan dan kekurangan masing-masing tipe marka. Penanda molekuler yang diinginkan yaitu; kemudahan akses (diperdagangkan dan cepat didapat), kemudahan prosedur analisis, polymorphismenya tinggi, kodominan (dapat membedakan homozigot dan heterozigot) dan reproduksibilitinya tinggi (Lebedev *et al.*, 2020)

Saat ini marka molekuler SSR merupakan marka yang banyak dipilih oleh peneliti genetika molekuler karena sifatnya sangat polimorfik bahkan untuk spesies maupun galur yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat; membutuhkan DNA dalam jumlah kecil; dan dapat dilakukan secara otomatis. SSR sering juga disebut dengan mikrosatelit merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotipe untuk karakter yang diinginkan. Kelebihan marka ini yaitu bersifat kodominan sehingga tingkat heterozigositasnya tinggi yang berarti memiliki daya pembeda antar individu sangat tinggi serta dapat diketahui lokasinya pada DNA sehingga dapat mendeteksi keragaman alel pada level yang tinggi, mudah dan ekonomis dalam pengaplikasiannya karena menggunakan proses PCR (Pandey *et al.*, 2016).

Marka molekuler SSR adalah salah satu marka yang telah dikembangkan pada komoditas tanaman pangan. Marka molekuler ini telah dibuktikan memiliki keefektifan yang baik untuk proses pengorganisasian materi genetik berdasarkan jarak genetik serta pemetaan gen. Penanda DNA telah banyak digunakan pada jagung untuk studi keanekaragaman karena biayanya yang rendah dibandingkan dengan studi fenotipik (Saiyad & Kumar, 2018). Marka molekuler memberikan informasi tentang keragaman genetik yang akan membantu dalam memilih pendekatan pemuliaan yang terbaik, seleksi generasi tetua, dan pengembangan berbasis genetik plasma nutfah jagung dalam program pemuliaan (Ajala *et al.*, 2019). Informasi ini juga penting untuk menilai seberapa besar keragaman genetik karena konservasi atau seleksi (Badu-Apraku *et al.*, 2021).

Menurut Stanley *et al.*, (2020) menentukan keragaman genetik dan keterkaitan antara plasma nutfah jagung merupakan langkah penting dalam perbaikan tanaman jagung. Memahami keragaman genetik di antara galur inbrida jagung adalah penting, karena persilangan dalam pemilihan tetua yang berbeda secara genetik dapat menghasilkan hibrida dengan efek heterotik tinggi. Menilai

keragaman genetik menggunakan metode fenotipe mahal dan tidak praktis, dan datanya bisa jadi tidak akurat karena sangat dipengaruhi oleh lingkungan (Ajala *et al.*, 2019). Penggunaan marka molekuler untuk melihat keragaman genetik jagung dalam pengembangan jagung telah banyak dilakukan oleh peneliti, Kumar *et al.*, (2022) telah menganalisa keragaman molekuler, struktur populasi, dan pola *linkage disequilibrium* (LD) dalam 314 jagung normal tropis, dua jagung manis, dan 6 galur inbrida jagung popcorn yang dikembangkan oleh 17 penelitian pusat di India, dan 62 jagung normal dari CIMMYT. Dalam penelitian deFaria *et al.*, (2022) juga melakukan karakterisasi 187 galur inbrida jagung tropis dari pemuliaan umum program Universidade Federal de Viçosa (UFV) di Brasil berdasarkan 18 sifat agronomi dan 3.083 sifat tunggal penanda polimorfisme nukleotida (SNP) untuk mengevaluasi apakah kumpulan generasi bawaan ini mewakili galur tropis bawaan jagung untuk analisis pemetaan dan menyelidiki struktur dan pola populasi hubungan antar galur bawaan dari UFV untuk eksploitasi yang lebih baik dalam program pemuliaan jagung. Analisis keragaman genetik jagung juga telah banyak dilakukan dengan menggunakan marka SSR untuk mengetahui seberapa besar variasi genetik antara genotipe jagung yang berbeda, serta untuk mengetahui hubungan kekerabatan dan potensi persilangan antara genotipe jagung tersebut. (Adu *et al.*, 2019; Vathana *et al.*, 2019; Yani *et al.*, 2022; Islam *et al.*, 2023)

2.7 Kerangka Pikir

