

Standardisasi Proses Analisis Sidik Jari DNA Jagung Hibrida Nasional

Nining Nurini Andayani¹, Muhammad Aqil¹, Roy Efendi¹, Muzdalifah Isnaini², dan Muhammad Azrai³

¹) Pusat Riset Tanaman Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, BRIN

²) Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Serealia

³) Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin

Email: ningiceri@gmail.com

ABSTRAK

Standardisasi dan karakterisasi pada varietas jagung komersial JH 37 serta galur tetuanya dapat dilakukan dengan menggunakan marka mikrosatelit. Standardisasi ini mengembangkan prosedur analisis sidik jari DNA pada varietas jagung hibrida JH 37 dengan memanfaatkan teknik penanda molekuler. Sidik jari DNA memungkinkan untuk membedakan varietas secara genetik, serta menjaga kemurnian genetik dan memverifikasi keaslian varietas. Prosedur dimulai dengan ekstraksi DNA berkualitas tinggi, diikuti dengan amplifikasi segmen DNA spesifik menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR) yang dipilih berdasarkan kemampuannya dalam memisahkan jenis varietas jagung. Standar efisiensi ekstraksi DNA, optimalisasi kondisi PCR, dan konsistensi pola pita DNA pada gel elektroforesis dievaluasi. Hasil menunjukkan bahwa prosedur yang distandardisasi mampu menghasilkan profil sidik jari genetik yang akurat dan memudahkan identifikasi varietas JH 37 secara akurat. Standardisasi prosedur ini sangat penting untuk program pemuliaan tanaman, sertifikasi varietas, pengelolaan Hak PVT, dan mampu memberikan alat yang handal dalam pemantauan kualitas serta pengendalian proses produksi jagung hibrida.

PENDAHULUAN

Kemurnian genetik suatu varietas dapat diketahui menggunakan teknik identifikasi yang presisi. Sidik jari DNA (*DNA fingerprinting*) merupakan metode molekuler yang digunakan untuk mengidentifikasi varietas secara genetik. Teknik ini tidak hanya mendukung upaya menjaga kemurnian genetik, tetapi juga penting dalam sertifikasi varietas dan perlindungan hak kekayaan intelektual. Kemajuan teknologi penanda molekuler, seperti SSR, sidik jari DNA, telah banyak diterapkan pada berbagai tanaman, termasuk jagung, untuk memperkuat program pemuliaan, studi keragaman genetik, dan perlindungan varietas tanaman (Harshitha and Sandal, 2022; Zhang *et al.*, 2024).

Teknologi SSR memiliki

keunggulan dalam mendeteksi variasi genetik secara presisi. Penanda SSR mampu mengidentifikasi perbedaan spesifik dalam urutan DNA, memungkinkan analisis genetik yang lebih akurat antara satu varietas dengan yang lain. Penerapannya pada berbagai tanaman, termasuk jagung, telah terbukti efektif dalam pengelolaan sumber daya plasma nutfah serta mendukung pemuliaan berbasis molekuler (MAS). Tingkat polimorfisme yang tinggi dan reproduktibilitas SSR menjadikannya alat yang efisien untuk karakterisasi dan identifikasi genotipe tanaman (Fu *et al.*, 2023; Yin *et al.*, 2023). Pengembangan prosedur yang distandardisasi dalam analisis sidik jari DNA untuk varietas jagung JH 37 penting untuk memastikan hasil yang konsisten dan akurat. Standardisasi ini meliputi evaluasi

efisiensi ekstraksi DNA, optimalisasi kondisi PCR, serta konsistensi pola pita DNA pada gel elektroforesis. Hasil akhir dari prosedur ini diharapkan dapat memberikan informasi genetik yang jelas dan dapat diandalkan bagi varietas tersebut, yang pada akhirnya akan mendukung pemuliaan tanaman, sertifikasi varietas, dan perlindungan Hak PVT atas varietas hibrida.

PEMBAHASAN

Prosedur ini dirancang untuk menstandarisasi analisis sidik jari DNA pada varietas jagung menggunakan teknik penanda molekuler SSR. Standardisasi ini mencakup beberapa tahapan penting, mulai dari pengumpulan sampel hingga analisis data dengan

fokus pada akurasi dan konsistensi hasil di berbagai laboratorium.

1. Pengumpulan Sampel

Sampel daun segar varietas jagung dikumpulkan dari tanaman yang tumbuh di lapangan. Untuk memastikan kualitas DNA tetap terjaga, sampel segera disimpan pada suhu -20°C sebelum diekstraksi.

2. Ekstraksi DNA

Proses ekstraksi DNA mengikuti metode CTAB (*Cetyl trimethylammonium bromide*) yang sudah umum digunakan untuk tanaman. Daun dihancurkan dan dicampur dengan larutan CTAB yang dipanaskan pada suhu 60°C untuk memecah membran sel. Setelah itu, DNA dipisahkan melalui proses sentrifugasi dan pencucian dengan etanol, lalu diuji menggunakan spektrofotometer untuk memastikan kualitas dan kuantitas DNA yang memadai.

3. Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi dilakukan menggunakan PCR dengan penanda SSR spesifik. Reaksi PCR terdiri dari DNA template, primer forward dan reverse, dNTP, buffer PCR, dan enzim Taq polymerase. Program thermocycler diatur dalam siklus denaturasi, annealing, dan ekstensi, untuk memastikan amplifikasi DNA yang optimal dan reproduktif.

4. Elektroforesis Gel

Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa 2%. Gel ini digunakan untuk memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran.

5. Pewarnaan Gel

Setelah selesai elektroforesis, gel dimasukkan ke dalam larutan pewarna ethidium bromide (EtBr Green) atau *Redsafe* atau *SYBR Green*, untuk dapat memvisualisasikan fragmen DNA di bawah sinar UV.

6. Interpretasi Pita DNA

Fragmen DNA hasil PCR akan muncul sebagai pita-pita DNA pada gel yang menandakan bahwa PCR tersebut mampu memperbanyak fragmen SSR yang ditargetkan. Ukuran pita DNA yang muncul dibandingkan dengan DNA marker untuk memastikan ukuran fragmen yang diperbanyak sesuai dengan yang diharapkan.

7. Analisis Data

Pola pita DNA dan statistik polimorfisme dihitung untuk menilai kemampuan penanda SSR dalam membedakan varietas jagung. Interpretasi hasil dilakukan dengan bantuan perangkat lunak Power Marker V3.25.

Proses PCR yang berhasil menghasilkan pita DNA yang jelas dan tepat menunjukkan bahwa segmen SSR spesifik pada DNA jagung dan siap untuk diinterpretasikan lebih lanjut dalam analisis sidik jari DNA atau pemetaan genetik.

Band DNA yang terbentuk pada gel menunjukkan keberadaan alel SSR. Ukuran band dapat dibandingkan dengan marker DNA (ladder) untuk menentukan panjang fragmen SSR. Fragmen yang berbeda mengindikasikan variasi genetik antar individu atau varietas jagung yang diuji. Sebagai catatan pemilihan primer SSR sangat penting untuk keberhasilan PCR. Pastikan primer yang digunakan spesifik untuk lokus yang ditargetkan pada genom jagung. Pastikan kualitas DNA yang dihasilkan cukup baik dan bebas dari kontaminan protein atau RNA. Prosedur ini dapat disesuaikan tergantung pada kebutuhan spesifik pengguna.

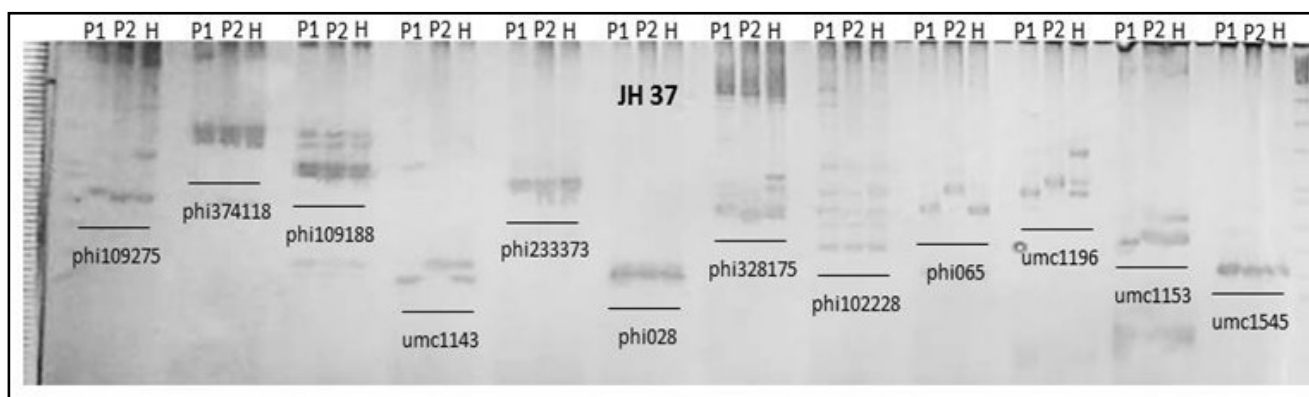
Analisis Pita DNA Hasil SSR

Studi sidik jari DNA menggunakan 38 penanda SSR, di mana diperoleh

19 penanda bersifat polimorfik dan 19 lainnya monomorfik. Hal ini menunjukkan adanya variasi genetik yang mencerminkan karakter asli hibrida serta keturunan tetuanya. Variasi genetik dapat dipengaruhi oleh kontaminasi serbuk sari asing yang menyebabkan pencilaan pada sejumlah besar lokus. Selain itu, pita heteroduplex dapat muncul ketika dua DNA fragmen memiliki urutan atau panjang yang tidak sama, sehingga memperlambat perpindahan pita selama elektroforesis dan menyumbang pada heterogenitas sidik jari SSR (Gambar 1).

Marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini efektif dalam mendeteksi polimorfisme pada jagung hibrida dan tetuanya. Penanda SSR memberikan polimorfisme yang cukup untuk mengidentifikasi hibrida individu dan tetuanya, serta dapat diaplikasikan pada setiap tahap perkembangan tanaman. Karakterisasi sidik jari varietas JH 37 dan tetuanya, yang bersifat polimorfik memiliki jumlah frekuensi alel rata-rata 0,67, lebih rendah dari nilai ideal 0,95. Penanda SSR spesifik yang diidentifikasi dalam penelitian ini memiliki potensi untuk digunakan dalam identifikasi langsung hibrida dan tetua (Tabel 1).

Frekuensi alel mayor dalam populasi menunjukkan proporsi alel yang paling umum, dengan nilai berkisar antara 0.50 hingga 0.83. Hal ini mencerminkan variasi yang cukup luas di antara lokus yang dianalisis. Lokus dengan frekuensi alel mayor yang tinggi, seperti phi420701, menunjukkan dominasi satu alel dalam populasi, sementara lokus dengan frekuensi alel mayor yang lebih rendah, seperti phi227562, menunjukkan keberadaan alel alternatif yang lebih signifikan. Secara keseluruhan, frekuensi alel mayor yang mencapai 0.67 menandakan bahwa alel mayor cukup dominan dalam populasi



Gambar 1. Pita DNA varietas JH 37

Tabel 1. Profil data 19 lokus SSR varietas JH 37 dan tetuannya menggunakan Power Marker V3.25.

Marker	Frekuensi Alel Mayor	Keragaman Gen	Heterozigositas	PIC	f
Phi109275	0.67	0.44	0.00	0.35	1.00
phi227562	0.50	0.50	1.00	0.38	-1.00
phi420701	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
phi104127	0.50	0.61	0.33	0.54	0.60
phi213984	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
phi331888	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
phi087	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
umc1153	0.50	0.61	0.33	0.54	0.60
umc1143	0.50	0.50	0.33	0.38	0.50
phi078	0.67	0.44	0.00	0.35	1.00
phi123	0.67	0.44	0.00	0.35	1.00
bnlg1200	0.67	0.44	0.67	0.35	-0.33
phi328175	0.50	0.50	0.33	0.38	0.50
umc1161	0.50	0.61	0.33	0.54	0.60
phi065	0.67	0.44	0.00	0.35	1.00
phi032	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
phi050	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
bnlg1028	0.83	0.28	0.33	0.24	0.00
umc1196	0.50	0.50	0.33	0.38	0.50
Rata-rata	0.67	0.42	0.32	0.34	0.43

tersebut.

Keberagaman gen (*gene diversity*) juga menunjukkan keragaman genetik yang ada dalam populasi, dengan nilai berkisar dari 0.28 hingga 0.61 dan rata-rata sebesar 0.42. Angka ini mencerminkan potensi variasi yang lebih banyak dalam karakteristik genetik, yang penting untuk pemuliaan tanaman dan pengembangan varietas baru. Selain itu, nilai heterozigositas yang diukur

menunjukkan proporsi individu yang heterozigot pada setiap lokus. Beberapa lokus menunjukkan heterozigositas rendah (0.00), artinya tidak ada variasi genetik yang signifikan, sedangkan lokus dengan heterozigositas 1.00, seperti phi227562, menunjukkan adanya perbedaan genetik substansial, penting untuk diversifikasi genetik. Rata-rata heterozigositas populasi mencapai 0.32, meskipun masih terdapat beberapa lokus dengan nilai

0.00. Nilai Polymorphic Information Content (PIC) berkisar antara 0.24 hingga 0.54, dengan rata-rata PIC sebesar 0.34, yang menunjukkan penanda yang digunakan secara keseluruhan cukup efektif dalam mendeteksi variasi genetik. Nilai f menunjukkan deviasi dari Hardy-Weinberg equilibrium, dengan beberapa lokus memiliki nilai f negatif yang mengindikasikan defisit heterozigositas, sementara nilai f keseluruhan mencapai 0.43 yang menunjukkan adanya sedikit kelebihan heterozigositas di antara lokus-lokus yang dianalisis. Profil data ini memberikan informasi penting dalam pemuliaan jagung, terutama dalam hal pemilihan dan pengelolaan sumber daya genetik tanaman. Dengan memahami keragaman genetik yang ada, pemulia dapat mengembangkan strategi pemuliaan yang efektif untuk menciptakan varietas jagung yang unggul dan beradaptasi baik terhadap lingkungan dan tantangan biotik. Selain itu, informasi ini juga penting untuk perlindungan hak kekayaan intelektual varietas yang telah dikembangkan.

Selain karakterisasi genotipik, diperlukan juga karakterisasi fenotipik untuk memahami sejauh mana variasi genetik yang terdeteksi pada tingkat molekuler berhubungan dengan karakteristik fisik atau agronomis di lapangan (fenotipe). Melalui teknologi SSR, pemulia dapat mengidentifikasi gen-gen

Tabel 2. Karakter morfologi varietas JH 37 (MAL03 x CLYN231)			
Karakter	F1 (JH 37)	Tetua Betina (MAL03)	Tetua Jantan (CLYN231)
Tipe percabangan malai			
Notasi Tongkol: Intensitas warna antosianin pada rambut			
Notasi Tongkol: Tipe biji			
Notasi Malai : pewarnaan antosianin pada dasar sekam			
Notasi			



Gambar 2. Penutupan Kelobot

penting yang memengaruhi sifat-sifat agronomis utama, mempercepat proses seleksi tanaman dengan sifat unggul, dan menciptakan varietas jagung yang lebih tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik. Meskipun ada tantangan dalam hal kompleksitas genetik dan variabilitas lingkungan, penggunaan SSR sebagai alat molekuler tetap memberikan manfaat besar dalam upaya peningkatan kualitas dan produktivitas jagung di masa depan.

Karakter Morfologi Varietas JH 37 (MAL03 X CLYN231)

Varietas jagung JH 37 yang dihasilkan dari persilangan galur MAL03 x CLYN231, menunjukkan perbedaan signifikan dalam berbagai karakter morfologi yang dapat memengaruhi hasil dan kualitas tanaman. Penampilan karakter morfologi varietas JH 37 menunjukkan bagaimana faktor genetik dari tetuanya memengaruhi hasil akhir dari varietas ini. Karakter tersebut tidak hanya memengaruhi kualitas dan hasil, tetapi juga memberikan wawasan penting bagi pemuliaan jagung di masa depan. Dengan memahami perbedaan ini, pemulia dapat lebih baik dalam memilih varietas yang sesuai dengan tujuan budi daya dan kondisi lingkungan tertentu (Tabel 2).

Percabangan malai merupakan salah satu aspek penting yang memengaruhi produktivitas tanaman jagung. Varietas JH 37 cenderung memiliki percabangan malai yang cukup banyak dan kompleks. Percabangan ini memungkinkan JH 37 menghasilkan lebih banyak bunga jantan, yang dapat meningkatkan peluang penyerbukan, yang dapat memengaruhi jumlah biji yang dihasilkan.

Warna antosianin pada rambut jagung berperan dalam menarik polinator serta menjadi indikator

kesehatan tanaman. Warna yang lebih gelap ini juga meningkatkan daya tarik visual tanaman. Tipe biji dengan ukuran dan bobot biji yang besar, dapat meningkatkan nilai jual. Biji dengan tipe mutiara (*flint*) biasanya memiliki lapisan luar yang lebih keras, yang membantu memperpanjang daya simpan serta tetap memberikan potensi hasil yang baik dalam kondisi yang tepat. Tipe biji ini juga lebih tahan dan mudah ditanam dalam berbagai kondisi lingkungan.

Penutupan kelobot yang rapat pada jagung merupakan sifat penting karena berperan dalam melindungi tongkol dari serangan hama, penyakit, serta masuknya air hujan yang dapat menyebabkan pembusukan biji. Kelobot yang menutup rapat juga membantu menjaga kualitas dan kekeringan biji selama masa pematangan. Sifat yang dipengaruhi faktor genetik ini dapat menjadi kriteria seleksi dalam program pemuliaan untuk menghasilkan varietas jagung yang lebih tahan terhadap kondisi lingkungan dan memiliki mutu hasil panen yang lebih baik.

PENUTUP

Standardisasi prosedur analisis sidik jari DNA pada varietas jagung merupakan langkah penting dalam memastikan konsistensi identifikasi genetik dan pengelolaan varietas yang lebih efisien. Proses ini melibatkan analisis genotipik dengan penanda molekuler SSR yang efektif dalam mendeteksi keragaman genetik, serta pengamatan fenotipik pada karakteristik morfologi tanaman seperti tinggi, ukuran tongkol, dan ketahanan terhadap penyakit. Hasil analisis SSR menunjukkan perbedaan signifikan pada beberapa lokus yang menjadi dasar identifikasi varietas dan menjaga kemurnian genetik. Informasi genetik ini

sangat bermanfaat untuk sertifikasi varietas serta perlindungan hak kekayaan intelektual. Kombinasi analisis genotipik dan fenotipik memberikan gambaran lebih lengkap tentang performa varietas, termasuk respons terhadap faktor lingkungan dan patogen. Prosedur standarisasi ini membantu proses identifikasi varietas menjadi lebih cepat dan akurat. Standarisasi ini juga mendukung praktik pertanian yang lebih efisien, terutama dalam pemuliaan jagung hibrida, serta mendorong pengembangan metode identifikasi genetik yang lebih maju.

DAFTAR PUSTAKA

- Fu, X., Yang, N., Du, Y., Kamran, H.M., Wang, H., Chen, S., Longqing Chen, L., 2023. Development of SSR Molecular Markers and Genetic Diversity Analysis of TPS Gene Family in *Chimonanthus praecox*. *Agriculture*13(4):893. <https://doi.org/10.3390/agriculture13040893>.
- Harshitha, N.S., Sandal, S.S., 2022. DNA Fingerprinting and Its Applications in Crop Improvement: A Review. *The Pharma Innovation Journal* 2022, SP-11(5):792-797.
- Yin, J., Zhao, H., Wu, X., Ma, Y., Zhang, J., Li, Y., Shao, G., Chen, H., Han, R., Xu, Z., 2023. SSR Marker Based Analysis for Identification and of Genetic Diversity of Non-Heading Chinese Cabbage Varieties. *Plant Breeding, a section of the journal Frontiers in Plant Science*. DOI 10.3389/fpls.2023.1112748.
- Zhang, X., Chen, W., Yang, Z., Luo, C., Zhang, W., Xu, F., Ye, J., Liao, Y., 2024. Genetic Diversity Analysis and DNA Fingerprint Construction of *Zanthoxylum* Species Based on SSR and iPBS Markers. *BMC Plant Biology* 24:843. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05373-1>.