

METODE EKSTRAKSI DNA PADA PLASMA NUTFAH JEWAWUT SULAWESI BARAT INDONESIA MENGGUNAKAN BUFFER CTAB (*Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide*)

Method of DNA Extraction of Foxtail Millet (*Setaria italica* L.) Germplasm from West Sulawesi Indonesia Using CTAB (*Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide*) Buffer

Ramlah^{1*}, Harli A. Karim², Sari Rahayu Rahman³, Amir M⁴, Marcia Bunga Pabendon⁵

^{1,3} Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sulawesi Barat, Indonesia

² Program Studi Agroteknologi, Universitas Al Asyariah Mandar, Indonesia

⁴ Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian dan Kehutanan, Universitas Sulawesi Barat, Indonesia

⁵ Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Serealia, Maros, Indonesia

*Email korespondensi : ramlahganis@gmail.com

Abstrak

Jewawut merupakan serealia pangan lokal non-beras yang telah lama didomestikasi di seluruh dunia termasuk di Sulawesi Barat, Indonesia sebagai pangan alternatif pengganti beras. Ekstraksi DNA merupakan tahap awal yang penting dalam analisis berbasis molekuler. Metode ekstraksi berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitasnya DNA yang dihasilkan dalam program pemuliaan tanaman jewawut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode ekstraksi DNA yang efisien pada plasma nutfah jewawut Sulawesi Barat menggunakan buffer ekstraksi CTAB. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa DNA yang diekstraksi mempunyai kualitas, kuantitas yang baik, dapat diamplifikasi PCR menggunakan primer SSR p16 menghasilkan pita DNA yang jelas dan bersih. Terdeteksi sebanyak tiga alel 200bp-249bp. Ketepatan dan efisiensi metode ekstraksi perlu disesuaikan dengan bentuk sampel, jenis tanaman, asal sampel, kondisi sampel, dan karakter sampel. Karakteristik metode ekstraksi DNA penting untuk mendukung program pemuliaan tanaman jewawut di masa mendatang.

Kata Kunci : Jewawut; Ekstraksi; DNA; CTAB; Sulawesi Barat

Abstract

Foxtail millet is a non-rice local food cereal that has long been domesticated throughout the world, including in West Sulawesi, Indonesia as an alternative food to replace rice. DNA extraction is an important early stage in molecular-based analysis. The extraction method affects the quality and quantity of DNA produced in the millet plant breeding program. This study aims to obtain an efficient DNA extraction method in West Sulawesi millet germplasm using CTAB method. The results showed that the extracted DNA had good quality, quantity, and was capable of PCR amplification using a p16 SSR primer producing clear and clean DNA bands. Three alleles were detected from 200bp-249bp. The accuracy and efficiency of the extraction method needs to be adjusted to the shape of the sample, the type of plant, the origin of sample, the condition of sample, and the character of sample. The characteristics of the DNA extraction method were important to support the millet plant breeding program in the future.

Keywords: Foxtail millet; Extraction; DNA; CTAB; West Sulawesi

1. Pendahuluan

Jewawut (*Setaria italica* L.) atau foxtail millet merupakan serealia yang telah banyak didomestikasi oleh masyarakat sebagai panganan alternatif pengganti beras. Jewawut memiliki kemampuan adaptasi pada lingkungan beriklim tropis maupun subtropis termasuk di Indonesia (Kole, 2017). Di Indonesia, jewawut dapat ditemukan di beberapa wilayah diantaranya di Sulawesi Barat (Ramlah *et al.*, 2020), Sulawesi Selatan, Bangka Belitung, Pulau Buru, Nusa Tenggara Timur, dan Jawa Tengah (Balitsereal, 2017), Papua (Tirajoh, 2015), Bengkulu, Sumatera Selatan, dan Jawa Barat (Miswanti *et al.*, 2012).

Di Indonesia, jewawut memiliki beberapa kultivar lokal yang beragam, banyak ditanam sebagai pakan burung (Nurmala, 2003), dan diolah oleh masyarakat lokal setempat menjadi beberapa produk

makanan khas daerah seperti dodol, apang, bolu, baje', bagea, balundake, gogos, katirimandi, kareppe', putu, dan bubur (Ramlah, *et al.*, 2020). Alimuddin (2014) menyatakan bahwa di Sulawesi Barat selain bubur dan dodol, jewawut juga diolah menjadi burasa, sokkol, bronis, kripik, jepa dan onde-onde. Disisi lain, selain menjadi bahan makanan, jewawut juga digunakan sebagai simbol dalam upacara-upacara penting, seperti perayaan di bulan muharram, acara pernikahan, kelahiran, dan akikah bayi (Ramlah, *et al.*, 2020). Berdasarkan kandungan nilai gizinya, jewawut kaya akan nutrisi antara lain karbohidrat 63.2 g, protein 11.2 g, lemak 4 g, dan serat 6.7 g (Bandyopadhyay *et al.*, 2017).

Pada program pemuliaan tanaman menggunakan molekuler, ekstraksi DNA adalah fase awal yang sangat berpengaruh terhadap diperolehnya DNA murni suatu sel. Dalam analisis molekuler

dibutuhkan kualitas dan kuantitas DNA murni untuk tahapan amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) hingga tahapan sekuensing. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah proses untuk amplifikasi/perbanyak fragmen DNA spesifik dari total DNA (genom) suatu individu atau spesies. PCR hanya membutuhkan sampel DNA dalam jumlah sedikit, kemudian diamplifikasi sehingga jumlahnya menjadi banyak. Proses PCR memerlukan template DNA, primer, nukleotida, dan DNA polimerase (Gabriyan dan Avashia, 2013).

Adanya kontaminasi dengan polisakarida merupakan salah satu masalah aktivitas segregasi DNA pada tanaman. Sampel DNA dari tanaman pada umumnya terkontaminasi dengan polisakarida, fenol, dan turunannya yang sangat mempengaruhi kualitas DNA genom yang diperoleh. (Menurut Fatchiyah *et al.*, (2011), beberapa kendala yang sering terjadi selama ekstraksi DNA adalah pembelahan DNA selama proses ekstraksi, degradasi DNA karena adanya enzim nuklease, kontaminasi senyawa polisakarida, dan segregasi metabolit sekunder. Keberadaan kontaminan ini dapat menghambat proses mulai dari pembelahan DNA hingga proses amplifikasi DNA. Oleh sebab itu diperlukan cara ekstraksi yang dapat memperoleh DNA dengan kuantitas dan kualitas baik.

Molekul DNA adalah biomolekul unik karena mampu memberi arahan untuk mereplikasi molekulnya sendiri serta menjadi *blueprint* seluruh karakter fenotip dan *metabolic pathway* suatu makhluk hidup. Informasi hereditas dalam molekul DNA tersimpan secara kimiawi dalam bentuk sekuen basa nukleotida adenin, guanin, sitosin, dan timin. Sekuen nukleotida diturunkan dari generasi ke generasi baik pada reproduksi seksual maupun aseksual. Urutan basa nukleotida yang spesifik menentukan susunan biokimia, aktifitas fisiologi, struktur anatomi, bahkan sifat psikologis makhluk hidup (Campbell, 2007).

Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengekstrak DNA dari tanaman adalah menggunakan Buffer CTAB (*Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide*). CTAB merupakan deterjen yang digunakan untuk membuka sel tanaman dan

melarutkan isinya. Proses ekstraksi melibatkan pemecahan atau digesti dinding sel untuk melepaskan konstituen seluler. Proses ekstraksi DNA yang sukses dengan metode ekstraksi DNA tanaman berbasis CTAB banyak digunakan, seperti jagung (Ramlah *et al.*, 2018), gandum (Hairuddin, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode ekstraksi DNA yang efisien pada plasma nutfah jawawut Sulawesi Barat menggunakan buffer ekstraksi CTAB.

2. Metode Penelitian

Kegiatan ini dilaksanakan di Balai Penelitian Tanaman Serealia. Materi tumbuhan terdiri dari plasma nutfah lokal jawawut asal Sulawesi Barat.

Bahan tanaman yang digunakan Genotipe plasma nutfah lokal jawawut ditanam pada polibag (15x20 cm) yang berisi campuran kompos dan tanah (1:1). Tanaman disimpan di rumah kaca dan disiram setiap hari sesuai dengan kondisi penanaman. Bagian tanaman yang diambil untuk proses ekstraksi adalah daun muda yang telah terbuka sempurna (10-15 hari setelah tanam), dipotong kecil-kecil, kemudian ditimbang 0,4 g/sampel. Proses ekstraksi, elektroforesis dan visualisasi DNA mengikuti prosedur George, *et al.*, (2004) dan Khan, *et al.*, (2004) dengan beberapa modifikasi. Modifikasi dilakukan melalui penambahan β -*mercaptoethanol*.

Adapun Bahan untuk membuat buffer ekstraksi terdiri dari 2% (b/v) CTAB (*Cethyl Trimetil Amonium Bromida*), 100 mM Tris-HCL pH 8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8.0. Kuantitas dan kualitas ekstrak DNA diukur dengan standar DNA melalui proses elektroforesis horizontal menggunakan gel agarosa 1% dan spektrofotometer.

Amplifikasi Primer dan PCR

Setiap sampel DNA tanaman dianalisis menggunakan mesin *Polimerase Chain Reaction* (PCR) PTC-200 *Peltier Thermal Cycler* memanfaatkan primer *Simple Sequence Repeat* (SSR) p16, Suhu *Annealing* 54°C, bin no.1, *Sequence Primer* (Kim, *et al.*, 2012).

Forward : TTTCTCCC TCTCTCGA TTCC ;
Reserve : AAATTGGCGTGCTAACAACC

Tabel 1. Reaksi PCR

No.	Larutan Stok	Volume (µl)
1.	MyTaq HS Red Mix, 2x (<i>Bioline</i>)	6,25
2.	Primer mix (<i>Forward</i> dan <i>Reserve</i>)	0,5
3.	Air ultrapure steril	2,25
4.	Template DNA	1
Volume total		10

Total reaksi untuk analisis PCR adalah 10 µl (Tabel 1). Proses amplifikasi selama 35 siklus (Tabel 2), terdiri dari denaturasi awal, denaturasi, *annealing*, ekstensi, kemudian siklus berulang ke langkah II sebanyak 35 kali, kemudian ekstensi akhir dan penyelesaian akhir.

Tabel 2. Siklus reaksi PCR

Step	Reaksi	Temperatur (°C)	Waktu	Siklus
1	<i>Initial denaturation</i>	94	4 menit	} 35
2	<i>Denaturation</i>	94	40 detik	
3	<i>Annealing</i>	54	40 detik	
4	<i>Extension</i>	72	1 menit	
5	<i>Final extension</i>	72	5 menit	
6	<i>Soak</i>	4	α	

Produk amplifikasi kemudian dipisahkan memanfaatkan mesin elektroforesis vertikal mini (*Dual Mini-Verticals Complete System MGV-202-33 CBG Scientific Co.*) memanfaatkan gel poliakrilamida non-denaturasi 8% dalam buffer 1X TBE, marker 1 g/l dan 20 g larutan NaOH, ditambahkan formaldehida 1000 L Hasilnya divisualisasikan di atas meja kaca berwarna putih agar nampak jelas. Produk visualisasi pola pita DNA dengan cara ael dihitung berat molekulnya berdasarkan posisi pola pita DNA terhadap marka DNA yang diketahui (marka *PhiX174*).

Elektroforesis pita DNA berbasis 8% Polyacrylamide Gel Elektroforesis (PAGE) dan Visualisasi pita DNA

Pemisahan pita DNA produk PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan PAGE 8% Tabel 3. Bahan Pembuatan PAGE 8%

No	Bahan	Volume
1.	8% Acrylamide	100 ml
2.	TEMED (<i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl ethylenediamine)	100 µl
3.	APS (<i>Ammonium persulfat</i>)	1000 µl

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi DNA bertujuan untuk memperoleh DNA murni dalam sel dan terbebas dari pengotor seperti protein, RNA, metabolit, dan biomolekul lain dalam sel. Metode isolasi DNA dari tumbuhan (memiliki dinding sel) secara fisik dapat digerus dengan mortar dengan penambahan buffer *Cetyl Trimerhyl Ammonium Bromide* (CTAB). Sampel jaringan dilakukan lisis terlebih dahulu untuk mengeluarkan DNA dan material lain yang terbungkus sitoplasma dan nukleus (khusus eukariot). Lisis dapat dilakukan dengan pemberian

mengikuti protokol CIMMYT. Tahap elektroforesis memanfaatkan *Dual Mini-Verticals Complete System MGV-202-33*. Menurut George *et al.* (2004) Visualisasi pola pita DNA yang nampak dari proses elektroforesis menggunakan teknik pewarnaan perak (*silver staining*).

Tahap awal pembuatan PAGE 8% yaitu mempersiapkan alat elektroforesis vertikal, plate kaca dibersihkan menggunakan tisu kimwipes dan ethanol 70% (dilakukan sebanyak 3 kali). *Gasket* dan *spacer* dipasang pada plate kaca. Kemudian plate kaca dirangkai dengan pasangannya. Plate kaca yang telah dirangkai, kemudian dijepit. Selanjutnya dibuat campuran bahan untuk pembuatan PAGE 8% (Tabel 3). Bahan-bahan tersebut dicampur dan dihomogenkan.

buffer CTAB. Proses lisis akan melepaskan seluruh isi sitoplasma dan nukleus (Dhaliwal, 2013).

Untuk menguji kemurnian hasil ekstraksi DNA, dapat digunakan spektrofotometri. Absorbansi yang digunakan adalah 260 nm dan 280 nm. Rasio antara A260:A280 yang kurang dari 1,8 menandakan hadirnya kontaminan dalam sampel hasil ekstraksi. Kontaminan dapat berupa sisa sel seperti protein, atau pelarut yang digunakan saat ekstraksi seperti fenol (Dhaliwal, 2013). Hasil ekstraksi DNA juga dapat langsung dielektroforesis untuk melihat adanya degradasi DNA dan kontaminasi RNA (Chovatia, 2010).

a. Kuantitas dan Kualitas DNA Jewawut

Table 4. Kuantitas dan kualitas konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer

Genotipe	DNA Concentration (ng/µl)	Purity (OD) 260/280
Tarreang	63.6	2.078
Minna'	56.2	2.022
Lasse'	56.4	1.993
Bulawang	52.9	2.019
Sikola'	42.9	1.941
Mapute	70	2.053

Hasil Ekstraksi DNA genom jiwawut dengan metode ekstraksi CTAB menghasilkan DNA dengan kemurnian yang cukup baik. Konsentrasi DNA (ng/ μ L) bervariasi dari 42.9 ng/ μ L hingga 70 ng/ μ L dan kemurniannya bervariasi dari 1.993 hingga 2.078 (Tabel 4). Konsentrasi DNA terendah dimiliki oleh genotipe *Sikola*, sedangkan konsentrasi tertinggi dimiliki oleh genotipe 70. Total DNA yang diperlukan untuk proses PCR setara dengan 50 ng/L. Oleh sebab itu, DNA yang masih cukup rendah di ekstraksi ulang, dan DNA yang tinggi diencerkan menggunakan rumus:

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

Keterangan:

M1 = Konsentrasi DNA stok

V1 = Volume stok yang akan dilarutkan

M2 = Konsentrasi larutan kerja

V2 = Volume larutan kerja yang disiapkan

Kualitas DNA adalah bagian penting yang mempengaruhi proses amplifikasi (perbanyak) DNA untuk proses PCR, DNA yang memiliki kualitas yang baik tidak mengandung kontaminan lain dari komponen sel. Menurut Tenriulo *et al.*, (2011) DNA yang mempunyai kualitas baik adalah bersih dan DNA yang tanpa kontaminasi. Kontaminasi oleh fenol dan bahan organik lainnya bisa diketahui dengan hadirnya latar belakang smear di sepanjang jalur pita DNA.

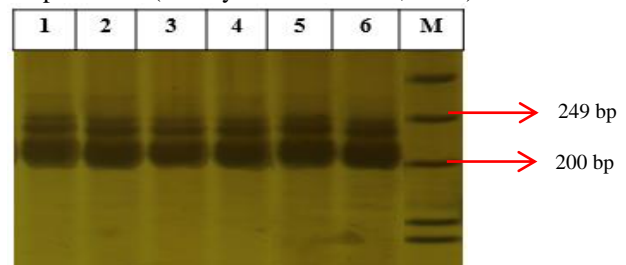
Amplifikasi PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) berguna untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik dari kumpulan DNA. Prinsip kerja PCR yaitu memanfaatkan kemampuan DNA polimerase yang dapat membentuk molekul DNA baru berdasarkan template DNA. Dengan menggunakan primer spesifik, mampu mendapatkan fragmen DNA tertentu yang diinginkan dan kemudian diamplifikasi untuk menggandakan fragmen tersebut dalam jumlah yang besar. PCR dapat mengamplifikasi sampel DNA yang jumlahnya sangat sedikit (Gabriyan dan Avashia, 2013).

Analisis PCR memerlukan template DNA, primer, nukleotida (dNTPs), dan enzim DNA polimerase. Template DNA merupakan sekuens nukleotida (sampel) yang akan diamplifikasi. Enzim DNA polimerase adalah enzim yang berfungsi untuk pemanjangan kopi DNA berdasarkan Template DNA yang sudah ditempel oleh primer. Primer merupakan sekuens DNA single-strand yang merupakan komplementer dari sekuens target. Primer dibutuhkan karena DNA polimerase hanya bisa mensintesis DNA dari primer yang sudah ada. Nukleotida (dNTPs) merupakan unit tunggal basa nitrogen A, T, G, dan C dan menjadi monomer untuk sintesis DNA saat amplifikasi (Gabriyan dan Avashia, 2013).

Alat yang digunakan untuk PCR adalah alat yang disebut dengan thermal cycler. Sesuai dengan

namanya, alat tersebut memiliki blok metal tempat meletakkan sampel dalam test tube yang mampu menaikkan dan menurunkan suhu blok metal secara akurat. Sampel dalam test tube berisi template DNA, primer, nukleotida (dNTPs), dan enzim DNA polimerase (TaqPolimerase) dipanaskan dalam blok hingga mencapai suhu yang mampu mendenaturasi template DNA dari untai ganda menjadi untai tunggal. Suhu denaturasi bergantung pada G-C content template DNA. Setelah langkah denaturasi, suhu diturunkan agar primer dapat menempel ke segmen target DNA dalam proses yang disebut dengan annealing. Temperatur kemudian dinaikkan lagi hingga suhu tertentu dimana enzim DNA polimerase aktif mensintesis DNA baru dengan cara menambahkan nukleotida baru dari primer. Langkah pemanjangan DNA baru dari primer disebut dengan extension. Ketiga langkah tersebut (denaturasi, annealing, dan extension) dilakukan berulang kali, sehingga kopi DNA akan bertambah secara eksponensial (Gabriyan and Avashia, 2013).



Gambar 1. Visualisasi DNA Hasil amplifikasi PCR menggunakan Primer *P16* (Size range 200bp –249 bp) 1; Tarreang, 2; Minna', 3; Lasse', 4; Bulawang, 5; Sikola, 6; Mapute; M; Marker)

Visualisasi DNA hasil amplifikasi PCR menggunakan primer *P16* memperlihatkan bahwa seluruh genotype menghasilkan pita DNA yang jelas dan bersih, terdeteksi tiga alel mulai dari 200bp hingga 249bp. Amplifikasi yang baik dari enam plasma nutfah jiwawut lokal menunjukkan bahwa penggunaan metode buffer CTAB untuk ekstraksi DNA memberikan hasil yang sangat efisien.

Pada beberapa kondisi sampel yang dianalisis dapat yang mengalami amplifikasi yang tidak sesuai atau data yang hilang. Data yang hilang ditunjukkan dengan tidak adanya pita DNA yang terlihat. Hal ini dapat terjadi karena cetakan DNA tidak menerima pasangan basa yang tepat pada primer yang digunakan.

Menurut Ruwaida *et al.*, (2009), terjadinya ketidakmerataan jumlah pita DNA yang diperoleh dari setiap primer dapat berbeda antar sampel yang dianalisis. Hal ini dikarenakan oleh perbedaan sekuens basa nukleotida primer atau interaksinya antara primer dan template DNA. Primer yang digunakan tidak teramplifikasi cukup baik untuk pasangan basa tertentu, sehingga pita DNA tidak muncul dan hanya sejumlah kecil DNA yang dapat dianalisis. Menurut Aswidinnoor *et al.*, (2016), keberadaan fragmen pita

DNA yang tidak terlihat secara visual atau pita yang sangat samar pada gel kemungkinan dipengaruhi oleh konsentrasi DNA yang terlalu kecil. Menurut Pabendon *et al.*, (2007) faktor penyebab hilangnya data tersebut antara lain adalah kualitas primer yang digunakan, temperatur annealing yang kurang tepat selama proses amplifikasi PCR, dan faktor teknis personel yang terlibat langsung dalam kegiatan laboratorium. Menemukan kondisi suhu annealing yang optimal sangat penting karena berkaitan dengan spesifitas dan sensitivitas hasil PCR. Munculnya pola pita DNA yang jelas dan tebal dari yang lain bisa disebabkan oleh kuantitas dan kualitas DNA yang buruk. Wati *et al.*, (2014) menyebutkan kuantitas dan kualitas DNA bisa berpengaruh terhadap intensitas hasil amplifikasi pita DNA yang dihasilkan dengan primer yang digunakan. Produk amplifikasi pita DNA yang samar bisa disebabkan oleh keberadaan senyawa seperti fenol dan polisakarida pada DNA template. Aswidinnoor *et al.*, (2016) menyatakan bahwa keberadaan pola pita DNA yang tampak tebal membuat perbandingan dengan pita lain menjadi sulit karena konsentrasi DNA yang cukup tinggi.

4. Kesimpulan

Metode ekstraksi DNA jiwawut lokal (*Setaria italica* L.) Sulawesi Barat menggunakan modifikasi buffer CTAB merupakan metode yang cukup efisien, memiliki kualitas dan kuantitas yang baik. Hasil amplifikasi PCR pada jiwawut lokal menggunakan primer p16 SSR jiwawut menunjukkan pita DNA yang jernih dan jelas. Terdeteksi sebanyak tiga alel 200bp-249 bp. Akurasi dan efisiensi metode perlu memperhatikan beberapa hal, seperti bentuk sampel, jenis organisme, asal sampel, kondisi sampel, dan karakter sampel. Karakteristik metode ekstraksi DNA sangat penting untuk mendukung program pemuliaan tanaman jiwawut di masa depan.

Daftar Pustaka

- Alimuddin, M.R., (2014). Kuliner Tarreang dan Ussulannya. AJI (Aliansi Jurnalis Independen) Indonesia.
- Aswidinnoor, H. A., Toruan-Mathius, N., & Purwantara, A. (2016). Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) berdasarkan metode Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) Genetic similarity of rubber clones (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) based on Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) method. E-Journal Menara Perkebunan, 71(1).
- Balitsereal. (2017). Jiwawut, Alternatif Sumber Pangan Sehat. Sulawesi Selatan. Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian-RI.
- Bandyopadhyay, T., Jaiswal, V., & Prasad, M. (2017). Nutrition potential of foxtail millet in comparison to other millets and major cereals. In *The Foxtail Millet Genome* (pp. 123-135). Springer, Cham.
- Campbell, N.A. (2007). *Biology 8th Edition*. Benjamin Cumming. San Fransisco. P : 305.
- Choviati, Mansi. (2010.) *Genomic DNA QC Using Standard Gel Electrophoresis*. US Dept. of Energy . P :1-11.
- Dhaliwal, A. (2013). DNA extraction and purification. *Mater. Methods*. Doi: 10/13070/mm.en.3.191.
- Fatchiyah, E. L., Arumingtyas, S., & Widyarti, S. Rahayu 2011 *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*.
- Hairuddin, R. (2015). Analisis DNA pada Tanaman Gandum (*Triticumaestivum* L.). *Dinamika*, 4(2).
- Gabriyan, L dan Avanshia, N. (2013). *Research Techniques Made Simple : Polymerase Chain Reaction (PCR)*. J.Invest Dematol. 133(3):e6. Doi 10.1038/ jid. 2013.1.
- George, M. L., Regalado, E., Warburton, M., Vasal, S., & Hoisington, D. (2004). Genetic diversity of maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica*, 135(2), 145-155.
- Khan, I. A., Awan, F. S., Ahmad, A., & Khan, A. A. (2004). A modified mini-prep method for economical and rapid extraction of genomic DNA in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 22(1), 89-89.
- Kim, E. J., Sa, K. J., Park, K. C., & Lee, J. K. (2012). Study of genetic diversity and relationships among accessions of foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] in Korea, China, and Pakistan using SSR markers. *Genes & Genomics*, 34(5), 529-538.
- Kole C. (2017). *The Foxtail Millet Genome*. Springer, New Delhi.
- Larekeng, S. H. (2019). Selection of dominant and co-dominant markers for Red Wood (*Pterocarpus indicus* Willd) polymorphism from five provenances in East Nusa Tenggara.
- Miswarti., M.D. Tatuhey dan Yulie Oktavia. 2018. *Eksplorasi Dan Karakterisasi Plasma Nutfah Jawawut (*Setaria Italica* L Beauv) Di Propinsi*

- Bengkulu, Sumatera Selatan Dan Jawa Barat. Jurnal Pangan. Vol 2 (1).
- Nurmala, T. (2003). Prospek Jawawut (*Pennisetum* spp.) Sebagai Tanaman Pangan Serealia Alternatif. *Bionatura*, 5(1).
- Pabendon, M. B., Mejaya, M. J., Koswara, J., & Aswidinnoor, H. (2007). Analisis keragaman genetik inbrida jagung berdasarkan marka SSR dan korelasinya dengan data fenotipik F1 hasil silang uji. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 26, 6977.
- Ramlah, R., Aziz, I. R., Muthiadin, C., Masri, M., Mustami, M. K., & Pabendon, M. B. (2018). Genetic Diversity Of Local Maize Germplasm Of Tana Toraja South Sulawesi Using SSR (*Simple Sequence Repeat*) Markers. *Ilmu Pertanian (Agricultural Science)*, 3(1), 1-10.
- Ramlah, R., Pabendon, M. B., & Daryono, B. S. (2020). Local food diversification of foxtail millet (*Setaria italica*) cultivars in West Sulawesi, Indonesia: A case study of diversity and local culture. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(1).
- Ruwaida, I. P., Yuniastuti, E., & Supriyadi, S. (2009). Analisis keragaman tanaman durian sukun (*Durio zibethinus*) berdasarkan penanda RAPD. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 6(2), 89-98.
- Tenriulo A, Suryati E and Parenrengi A Rosmiat. (2011) Ekstraksi DNA rumput laut *kappaphycus alvarezii* dengan Metod. fenol kloroform. *Mar. Chim. Acta* 2 6–10.
- Tirajoh, S. (2016). Utilization of Foxtail Millet (*Setaria italica*) from Papua as an Alternative Feedstuff to Substitute Corn.
- Wati, S. I. (2014). Analisis Keragaman Pola Pita DNA antar Varietas Ganyong (*Canna Edulis* Ker.) dari Daerah Karanganyar, Solo dan Boyolali Berdasarkan Penanda RAPD. *EL-VIVO*, 2(1).