

## Intisari

Nematoda akar padi (*Hirschmanniella* spp.) merupakan salah satu nematoda parasit penting yang menyebabkan kerusakan pada tanaman padi. Serangan *Hirschmanniella* spp. pada tanaman menyebabkan luka akar dengan warna merah yang disertai bau busuk. Ekstraksi DNA nematoda melalui berbagai metode untuk identifikasi spesies *Hirschmanniella* belum pernah dilakukan di Indonesia, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui metode ekstraksi DNA nematoda dan kuantitas nematoda yang optimal untuk proses identifikasi nematoda akar padi secara molekuler sampai level spesies. Pengambilan sampel nematoda dilakukan di lahan persawahan di daerah Kabupaten Bantul dan Kecamatan Berbah, Kabupaten Sleman. Metode ekstraksi DNA yang diuji dalam penelitian ini yaitu Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) dan Kit Komersial (Geneaid; Genomik DNA Mini Kit Jaringan). Setiap uji perlakuan metode ekstraksi dibuat pengulangan nematoda *Hirschmanniella* spp. dengan jumlah 1, 5, 10, 15 dan 20 ekor. Parameter yang dilihat dalam penelitian ini yaitu nilai kuantitas dan kualitas DNA hasil ekstraksi DNA nematoda. Analisis konsentrasi DNA dan kemurniannya diukur menggunakan mesin spektrofotometer, sedangkan analisis kualitas pita DNA diukur menggunakan UV illuminator. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) DNA nematoda akar padi menggunakan primer universal nematoda (D2A/D3B) pada daerah perpanjangan D2/D3 28s rRNA untuk mendeteksi pita DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode CTAB lebih optimal daripada metode Kit. Konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi diperoleh pada metode CTAB sebesar 189.57 ng/μL pada 5 ekor nematoda *Hirschmanniella* spp. dengan tingkat kemurnian ( $A_{260}/A_{280}$ ) berkisar 1.80 – 1.99, Sedangkan konsentrasi dan tingkat kemurnian terendah diperoleh pada metode Kit sebesar 0.43 ng/μL pada 15 ekor nematoda *Hirschmanniella* spp. dengan tingkat kemurnian ( $A_{260}/A_{280}$ ) berkisar 1.80 – 1.91. Hasil amplifikasi pita DNA pada semua metode ekstraksi dengan perlakuan jumlah nematoda 1, 5, 10, 15 dan 20 menunjukkan pita DNA pada  $\pm 766$  bp. Berdasarkan hasil analisis sekuens DNA menunjukkan bahwa spesies sampel nematoda yang diuji merupakan *Hirschmanniella oryzae*.

**Kata kunci:** Ekstraksi DNA, *Hirschmanniella* spp., Identifikasi spesies, Optimasi, Metode CTAB, Metode Kit Komersial.

### *Abstract*

Rice-root nematode (*Hirschmanniella* spp.) is one of the most important parasitic nematodes which causes damage to the rice plants. The attack of *Hirschmanniella* spp. in plants caused root damage with red color accompanied by a bad odor. The DNA extracation methods and nematode's number for *Hirschmanniella* species identification has never been carried out in Indonesia, so this research were conducted to determine the method of extracting DNA and the optimal number of the nematodes that can be used for the identification process up to the species level. The nematodes were carried out in rice field Bantul and Berbah. The DNA extraction method used in this research were Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) and Commercial Kit (Geneaid; Genomic DNA Mini Kit (Tissue). The ammount of 1, 5, 10, 15, and 20 *Hirschmanniella* spp. was used for both extraction methods. The parameters observed in this research were the quantity and quality of DNA. Analysis of DNA concentration and purity were measured using a spectrophotometer machine and DNA tape was showed by UV illuminator. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) with universal nematode primer (D2A/D3B) in the extension region of D2/D3 28s rRNA were used to detect DNA band. The result showed that the CTAB method is more optimal than the Kit method. The highest DNA concentration of 189,57 ng/μL was found in CTAB method using 5 nematodes of *Hirschmanniella* spp. with purity values ( $A_{260}/A_{280}$ ) ranging from 1.80 to 1.99. While the lowest DNA concentration 0.43 ng/μL was found in Kit method using 15 nematodes *Hirschmanniella* spp. with purity values ( $A_{260}/A_{280}$ ) ranging from 1.80 – 1.91. The results of DNA amplification of all extraction methods with 1, 5, 10, 15 and 20 nematode treatments showing DNA bands at  $\pm 766$  bp. Based on the results of DNA sequence analysis it was shown that the species used as samples were *Hirschmanniella oryzae*.

**Keywords:** DNA extraction, *Hirschmanniella* spp., Species identification, Optimization, CTAB method, Kit method.