

Keragaman Genetik Inbrida Jagung QPM dan Provit-A Berdasarkan Marka SSRs (*Simple Sequence Repeats*)

Genetic Diversity of QPM and Provit-A Maize Genotypes Based on SSRs (Simple Sequence Repeats) Markers

Nining Nurini Andayani, M. Yasin HG dan Marcia B. Pabendon

Balai Penelitian Tanaman Serealia
Jalan Dr. Ratulangi 274 Maros, Sulawesi Selatan, Indonesia
E-mail: ning02_iceri@yahoo.com

Naskah diterima 16 September 2015, direvisi 16 Februari 2016, disetujui diterbitkan 2 Maret 2016

ABSTRACT

Information on genetic diversity of QPM and Provit-A maize germplasm is important to support breeding program, in order to form a high yielding maize hybrid. Simple sequence repeats (SSR) have been extensively utilized as genetic markers to study the genetic diversity, cultivar identification, and gene mapping. The objectives of this research were to investigate the genetic diversity and to obtain information the genetic relationship among 20 maize accessions using 29 SSRs. The research was carried out at the Molecular Biology Laboratory of Indonesian Cereals Research Institute (ICERI) in Maros, South Sulawesi. Twenty nine polymorphic primers that covered the 10 maize chromosomes were used to fingerprint the genotype of the lines, detecting 83 alleles, with an average allele number of 3 alleles per locus, ranging from 2 to 6 alleles per locus. The results indicated that polymorphism information content (PIC) ranged from 0.10 (*nc133* and *phi072*) to 0.74 (*phi064*) with the average of 0.45. Genetic distance based on genetic similarity estimate ranged from 0.39 to 0.92. The high level of PIC values and wide genetic distances indicated the large variability among maize germplasm. Cluster analysis divided the 20 maize accessions into three groups. Coefficient of genetic value (*r*) was 0.85 indicated a good fit based on the genetic similarity value. As many as 30 inbred heterotic recombinants were derived by incorporating 20 QPM and Provit-A with genetic distance of ≤ 0.65 . The SSRs proved to be reliable and is practical technique for revealing the relationship among specialty maize genotypes.

Keywords: QPM and Provit-A maize, inbred, genetic distance, simple sequence repeats (SSRs).

ABSTRAK

Informasi keragaman genetik inbrida jagung QPM dan Provit-A diperlukan untuk mendukung program pemuliaan jagung varietas hibrida unggul. Marka SSR telah banyak digunakan dalam studi keragaman genetik, identifikasi varietas tanaman dan pemetaan gen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik satu set inbrida jagung QPM dan Provit-A menggunakan 29 marka SSR. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Badan Litbang Pertanian, Balai Penelitian Serealia di Maros. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari total 90 inbrida hanya 20 inbrida yang dapat dimasukkan dalam program hibrida dengan homosisitas

>80% dan diperoleh 83 alel dengan kisaran 2-6 alel/lokus, rata-rata 3 alel/lokus SSR. Nilai polimorfisme berkisar dari 0,10 sampai 0,74, rata-rata 0,45. Koefisien kemiripan genetik berkisar antara 0,39-0,92. Nilai jarak genetik berkisar antara 0,08-0,75. Berdasarkan analisis kluster 20 inbrida, terbentuk tiga kluster pada koefisien kemiripan genetik 0,41. Nilai koefisien korelasi kofenetik (*r*) 0,85 tergolong baik terhadap matrik kemiripan genetik. Diperoleh prakiraan 30 rekombinan yang bersifat heterosis yang melibatkan 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A, yang memiliki jarak genetik $\leq 0,65$. Marka SSR memberikan informasi yang akurat dan efektif tentang variabilitas genetik 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A, yang bermanfaat dalam pembentukan hibrida.

Kata kunci: Jagung QPM, jagung Provit-A, inbrida, jarak genetik, SSRs.

PENDAHULUAN

Jagung QPM (*Quality Protein Maize*) mengandung asam amino esensial lisin dan triptofan dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan jagung biasa (Yasin *et al* 2010), sehingga meningkatkan mutu nutrisi jagung sebagai pangan dan pakan. Jagung QPM ditemukan oleh Linn Bates dari Universitas Purdue, Amerika Serikat pada tahun 1962 (Mertz 1992 dalam Yasin *et al.* 2014). Kandungan protein jagung pada umumnya 8-11% (Vasal 2000). Menurut Cordova (2001), jagung hanya mengandung dua asam amino esensial, yaitu lisin (0,225%) dan triptofan (0,05%). Jagung QPM dikendalikan oleh gen *opaque-2 (o2)* dan *floury2 (fl2)* yang sering dimanfaatkan dalam memperbaiki sifat endosperm jagung (Mertz *et al.* 1964, Nelson *et al.* 1965 dalam Azrai *et al.* 2007). Jagung QPM kurang diminati karena pengaruh *pleiotrofik* sifat fisik endosperm yang lunak, rentan hama gudang dan busuk tongkol, hasil rendah, dan biji lama kering. Hasil penelitian menunjukkan pemindahan gen *opaque-2 (o2)* ke dalam jagung biasa dapat meningkatkan kualitas protein serta kandungan *lysine* dan *tryptophan* (Kasim *et al.* 2004).

Penanaman jagung QPM sintetik dan hibrida telah dilakukan di beberapa negara seperti Brazil, Columbia, India, Amerika Serikat, Afrika Selatan, dan Hungaria (Bjarnason and Vasal 1992). Bourlaug (1992) dan Mertz (1992) menyatakan beberapa manfaat jagung QPM, di antaranya mengatasi penyakit busung lapar, terutama pada anak balita di beberapa negara Afrika, menjaga keseimbangan bobot badan, menambah nutrisi pada ibu hamil, dan meningkatkan kualitas daging ternak.

Jagung Provit-A berasal dari Cina, di Indonesia baru mulai diperkenalkan sejak tahun 2000-an (Yasin *et al.* 2014). Jagung Provit-A mengandung vitamin A (*betacarotene*) 300–350 ppm, yang bermanfaat untuk mencegah defisiensi vitamin A. Manfaat lain dari jagung Provit-A adalah untuk menghindari penyakit rabun dan buta dini atau katarak, membantu pertumbuhan jaringan tulang dan gigi, membantu pembentukan hormon reproduksi, mengatur sistem kekebalan tubuh, dan mencegah infeksi saluran pernafasan bagian atas (ISPA) (Nutra 2008, Cong Khan 2007, Bwibo *et al.* 2003). Kandungan karotenoid (provitamin A) pada biji jagung akan dikonversi menjadi vitamin A. Karotenoid merupakan kelompok pigmen isoprenoid bernilai gizi sebagai senyawa provitamin A, warnanya bervariasi, bisa menambah nilai komersial untuk pewarna makanan (Matthews *et al.* 2007). Ketersediaan jagung kaya nutrisi seperti QPM dan Provit-A dengan hasil tinggi dapat membantu perbaikan gizi masyarakat. Rekombinasi inbrida elit jagung QPM dan Provit-A merupakan salah satu peluang untuk menghasilkan inbrida jagung kaya nutrisi sebagai bagian dari pangan fungsional.

Aplikasi marka molekuler berguna untuk mengetahui perbedaan genetik di antara pasangan inbrida. Marka molekuler diharapkan lebih efektif dan akurat dalam mengkarakterisasi plasma nutfah dalam jumlah banyak (Blair *et al.* 1999). Marka SSR adalah salah satu penanda DNA berupa urutan dinukleotida sampai tetranukleotida yang berulang dan berurutan (Varshney *et al.* 2005). Selain itu, SSRs dapat diaplikasikan tanpa merusak bahan tanaman karena hanya memerlukan sedikit bahan seperti biji atau polen untuk ekstraksi DNA (Senior *et al.* 1996). Teknologi SSRs hanya menggunakan DNA dalam jumlah kecil dengan daerah amplifikasi kecil, sekitar 100-300 bp (*base-pair*) dari genom. Marka SSR merupakan salah satu alat bantu molekuler yang sering digunakan untuk penelitian keragaman genetik karena keakuratan informasi dan sangat polimorfik, bahkan untuk spesies atau inbrida yang berkerabat dekat (Robinson *et al.* 2004, Clerc *et al.* 2005, Cholostova *et al.* 2011).

Variasi genetik yang tinggi pada suatu karakter telah banyak dilaporkan. Krishna *et al.* (2014) telah meneliti keragaman genetik 63 inbrida jagung QPM di India dan

mendapatkan 151 allel, rata-rata 2-6 allel/lokus. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Hoxha *et al.* (2004), Nikhou *et al.* (2013), Krishna *et al.* (2012), Kalyanababu *et al.* (2009), Al-Badeiry *et al.* (2014), dan Pabendon *et al.* (2010). Hoxha *et al.* (2004) juga menambahkan bahwa marka SSR dapat menghasilkan keakuratan dalam mendeteksi keragaman genetik pada populasi jagung.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A berdasarkan marka SSR, mengelompokkan genetik berdasarkan kekerabatannya, dan mengetahui pasangan-pasangan potensial dalam membentuk rekombinasi berdasarkan nilai jarak genetik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Rumah Kaca, Balai Penelitian Tanaman Sereal (Balitsereal), Maros, pada bulan Maret-Agustus 2014. Materi yang digunakan adalah 90 inbrida jagung yang terdiri atas inbrida jagung QPM dan Provit-A. Marka yang digunakan untuk pengujian SSR dipilih melalui Maize GDB (*Maize Genetics and Genomics Data Base* 2010) yang menyebar secara merata pada 10 kromosom jagung sebanyak 29 primer.

Sebanyak 10 biji dari masing-masing inbrida uji ditanam pada baki plastik (32 cm x 15 cm x 42 cm) berisi 5 kg media tanah. Daun muda tanaman berumur 10-15 hari dipilih dari 5-8 individu tanaman setiap galur (inbrida). Daun dipilih yang telah membuka sempurna, dipotong kecil, ditimbang 0,4 g per sampel kemudian diekstraksi DNA-nya.

Proses isolasi, pemurnian, dan penentuan konsentrasi DNA mengikuti prosedur George *et al.* (2004) yang dimodifikasi dengan mengganti nitrogen cair dengan bufer CTAB saat penggerusan jaringan segar tanaman (Khan *et al.* 2004). Kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi diukur melalui elektroforesis horizontal menggunakan 0,9% gel agarose dengan nano spectrophotometer.

Proses amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) mengikuti prosedur George *et al.* (2004). Amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus, sesuai protokol CIMMYT (2004), yaitu denaturasi 2 menit pada suhu 94°C, dilanjutkan 30 detik pada suhu yang sama, 1 menit pada suhu 65°C, dan 1 menit pada suhu 72°C. Suhu *annealing* diturunkan dari 1°C setiap dua siklus hingga berakhir pada saat *annealing* tercapai. Tahap kedua diulang 29 kali dan berakhir dengan siklus pemanjangan pada suhu 72°C dan pendinginan pada suhu 4°C, kemudian reaksi dihentikan. Hasil PCR dipisahkan melalui proses elektroforesis vertikal

menggunakan *Dual Mini-Verticals Complete System* MGV-202-33 dengan 8% gel poliakrilamid.

Analisis data dilakukan berdasarkan hasil skoring pola pita DNA yang muncul pada hasil elektroforesis. Data diberi skor dalam bentuk data biner, jika muncul pita ditulis satu (1), tidak muncul pita ditulis nol (0). Pita-pita yang kabur dan terlalu sukar untuk diskor diberi tanda missing data dengan angka 9. Alel-alel diberi label berdasarkan posisi relatif dari pita-pita DNA terhadap fragmen ϕ X174/*Hin* fl.

Tingkat polimorfisme (PIC) *Polimorphic Information Content* dihitung untuk masing-masing marka SSR (Smith *et al.* 1997). Nilai PIC digunakan dalam mengukur diversitas alel pada satu lokus dengan formula:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2, i = 1,2,3,\dots,n \quad (1)$$

dimana f_i^2 adalah frekuensi alel ke-i.

Analisis kluster berdasarkan matriks kemiripan genetik dikonstruksi berdasarkan UPGMA (*Unweighted Pair Group Using Arithmetic Average*) menggunakan koefisien Jaccard. Jarak matriks dan dendrogram dibentuk menggunakan program NTSYS-pc (*Numerical Taxonomic System*) versi 2.1 (Rohlf 2000).

Tingkat kemiripan genetik adalah tingkat kemiripan karakter, dalam hal ini fragmen pita yang dimiliki secara bersama dari genotipe yang diidentifikasi. Tingkat kemiripan genetik (GS) diestimasi dari data jumlah alel menggunakan koefisien Jaccard (Rohlf 2000) dengan formula:

$$GS = \frac{m}{(n+u)} \quad (2)$$

di mana:

m = jumlah pita (alel) DNA yang sama posisinya

n = total pita DNA

u = jumlah pita (alel) DNA yang tidak sama posisinya

Matriks jarak genetik dapat diperoleh dari hasil analisis kemiripan genetik (Lee 1998) dengan formula:

$$S = 1 - GS \quad (3)$$

di mana :

S = jarak genetik

GS = kemiripan genetik (*Genetic similarity*)

Jika nilai rata-rata jarak genetik dalam kluster lebih besar dari rata-rata umum, maka persilangan antarkluster bisa dilakukan.

Analisis koefisien korelasi kofenetik (r) ditentukan oleh nilai *Goodness of fit* pada MXCOMP program NTSYS-pc versi 2.1 (Rohlf 2000) dengan formula:

$$r = \frac{\sum_{i<j} (X_{(i,j)} - X)(t_{(i,j)} - t)}{\sqrt{[\sum_{i<j} (X_{(i,j)} - X)^2][\sum_{i<j} (t_{(i,j)} - t)^2]}} \quad (4)$$

dimana :

r = koefisien korelasi kofenetik

X_{ij} = jarak Euclidiean antara pengamatan i dan j

t_{ij} = jarak dendrogram antara model poin t_i dan t_j

X = rata-rata $X_{(i,j)}$ dan t = rata-rata $t_{(i,j)}$

Nilai r ditetapkan berdasarkan interpretasi koefisien kofenetik dari Rohlf dan Fisher (1968), di mana $r > 0,9$ (very good fit), $0,8 < r < 0,9$ (good fit), $0,7 < r < 0,8$ (poor fit), dan $r < 0,7$ (very poor fit).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 90 inbrida jagung QPM dan Provit-A yang ditanam, 82 inbrida tumbuh dengan baik dan dapat dilakukan ekstraksi DNA. Untuk menghasilkan data dengan validasi tinggi, maka inbrida-inbrida yang memiliki tingkat heterosigositas alel $\leq 20\%$ dan missing data $\leq 15\%$ dapat dianalisis. Dari hasil seleksi diperoleh 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A (Tabel 1), serta 29 marka SSR (Tabel 2) yang memiliki homosigositas $\geq 80\%$ dan bersifat

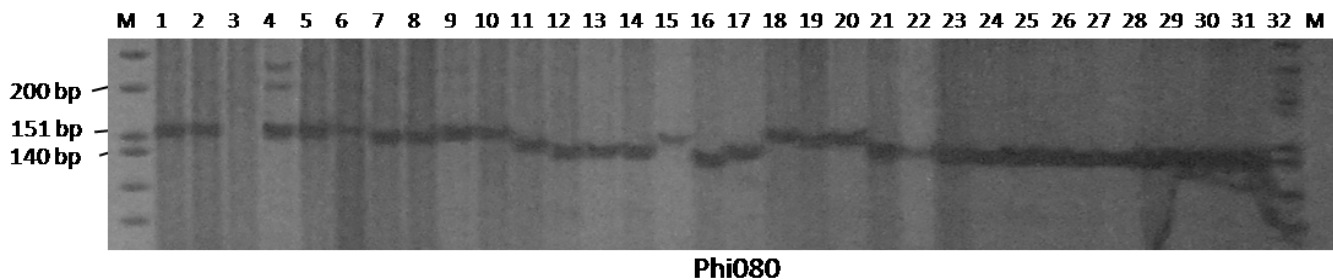
Tabel 1. Materi genetik inbrida jagung QPM dan Provit-A hasil seleksi.

No.	Inbrida (Pedigree)	Tipe	Asal	No.	Inbrida (Pedigree)	Tipe	Asal
1	MSQ(S1)CØ-2-1-3-1-1	QPM Kuning	Populasi MSQ(S1)CØ	11	CLP-11-5-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu
2	MSQ(S1)CØ-81-1-3-4	QPM Kuning	Populasi MSQ(S1)CØ	12	CLP-12-1-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu
3	MSQ(S1)CØ-14-4-3-1	QPM Kuning	Populasi MSQ(S1)CØ	13	CLP-17-1-#	Pro. A Lokal	Lembah Palu
4	MSQ(S1)CØ-171-1-1-3-#	QPM Kuning	Populasi MSQ(S1)CØ	14	CLP-30-2-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu
5	CML169-1-1-#	QPM Kuning	CIMMYT Meksiko	15	CLP-33-4-5	Pro. A Lokal	Lembah Palu
6	CLP-5-2-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu	16	CLP-33-5-6	Pro. A Lokal	Lembah Palu
7	CLP-6-2-3	Pro. A Lokal	Lembah Palu	17	CLP-39-1-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu
8	CLP-6-3-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu	18	CLP-39-3-4	Pro. A Lokal	Lembah Palu
9	CLP-6-4-2	Pro. A Lokal	Lembah Palu	19	CLP-40-1-1	Pro. A Lokal	Lembah Palu
10	CLP-8-2-3	Pro. A Lokal	Lembah Palu	20	B-16-1	Pro. A CIMMYT	CIMMYT Thailand

QPM : Quality Protein Maize, Pro.A : Provitamin A

Tabel 2. Profil data 29 marka SSR hasil karakterisasi 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A.

No.	Primer	Sekuen basa berulang	Posisi dalam kromosom	Tingkat Polimorfisme	Jumlah allel/ lokus SSR	Kisaran basa (bp)
1	phi109275	AGCT	1,00	0,54	4	106,0-187,7
2	phi064	ATCC	1,11	0,74	6	71,3-140,0
3	phi109642	ACGG	2,00	0,56	3	132,6-182,5
4	nc133	GTGTC	2,05	0,10	3	115,4-145,5
5	phi101049	AGAT	2,09	0,58	4	236,7-427,0
6	phi374118	ACC	3,02	0,63	3	163,2-236,7
7	phi102228	AACG	3,04	0,56	3	109,0-140,0
8	umc1504	(AAAAG)5	3,04	0,61	4	145,5-200,0
9	umc1136	(GCA)5	3,10	0,49	3	132,7-200,0
10	phi072	AAAC	4,00	0,10	2	140,0-151,0
11	phi079	AGATG	4,05	0,40	2	187,7-280,0
12	umc1109	ACG	4,10	0,45	2	104,5-115,0
13	nc130	AGC	5,00	0,52	3	145,5-249,0
14	phi109188	AAAG	5,03	0,28	2	163,2-200,0
15	phi331888	AAG	5,04	0,52	2	129,0-167,3
16	umc1143	AAAAT	6,00	0,55	2	74,0-88,0
17	phi423796	AGCC	6,01	0,50	4	118,0-167,3
18	phi452693	AGCC	6,06	0,69	4	118,0-200,0
19	phi299852	AGC	6,08	0,18	2	112,0-125,3
20	umc1545	(AAGA)4	7,00	0,18	2	72,4-82,0
21	phi034	GCCT	7,02	0,45	3	118,0-145,5
22	phi114	GCCT	7,02	0,44	3	129,0-236,7
23	phi233376	CCG	8,03	0,46	3	126,8-163,2
24	umc1161	(GCTGGG)5	8,06	0,52	2	138,0-151,0
25	phi080	AGGAG	8,08	0,42	2	144,4-154,1
26	phi065	CACTT	9,03	0,42	2	145,5-170,6
27	phi448880	AAG	9,06	0,30	2	145,5-187,7
28	phi96342	ACTT	10,02	0,18	2	229,4-280,0
29	umc1196	CACACG	10,07	0,65	4	134,5-200,0
Total				13,00	83	
Rata-rata				0,45	3	71,3-427,0



Gambar 1. Visualisasi pola pita DNA menggunakan marka SSR phi080.

polimorfis. Gambar 1 merupakan salah satu lokus SSR yang menunjukkan variasi pola pita genetik dari inbrida yang dikarakterisasi.

Analisis Polimorfisme (PIC) pada 29 Lokus SSR

Semua inbrida jagung QPM dan Provit-A yang dikarakterisasi dapat dibedakan berdasarkan jenis primer SSR yang digunakan. Profil data 29 marka SSR hasil karakterisasi ditunjukkan pada Tabel 2. Sebanyak

29 lokus SSR yang dianalisis memiliki kisaran relatif pasang basa antara 71,3-427,0 bp. Dari 20 inbrida uji, diperoleh 83 alel dengan kisaran 2-6 alel/lokus, rata-rata 3 alel/lokus SSR. Tingkat polimorfisme berkisar antara 0,10-0,74 dengan rata-rata 0,45. Data ini mengindikasikan rata-rata variasi genetik dalam setiap karakter cukup tinggi. Tingkat polimorfisme tinggi mengindikasikan variasi genetik masing-masing karakter dari inbrida yang dianalisis cukup besar. Tingginya variabilitas genetik menambah keleluasaan dalam memilih karakter-

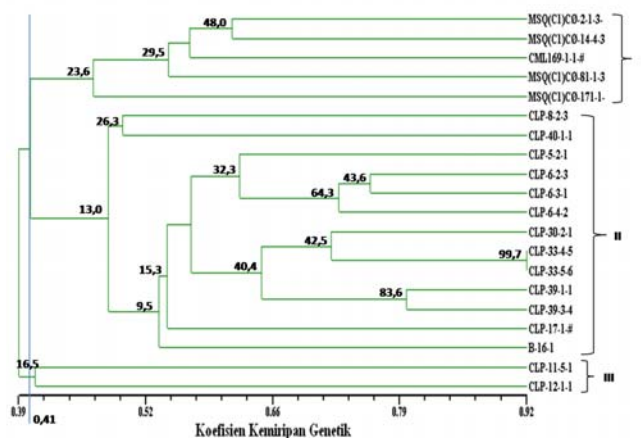
karakter yang diinginkan untuk melakukan rekombinasi dalam perbaikan varietas. Dari profil data diketahui marka phi064 memiliki nilai PIC tertinggi (0,74) (Tabel 2), yang menunjukkan primer tersebut bisa menghasilkan sejumlah besar karakter pembeda antarinbrida yang diteliti.

Pengelompokan Inbrida

Hasil karakterisasi genetik penting artinya bagi pemulia untuk mendapatkan informasi inbrida-inbrida yang layak dijadikan tetua dalam pembentukan varietas unggul. Hasil analisis kluster berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan genetik dalam bentuk dendrogram dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai koefisien kemiripan genetik (*genetic similarity*) berkisar antara 0,39–0,92. Artinya ke-20 inbrida ini memiliki tingkat kekerabatan genetik dari dekat sampai jauh (variabilitas tinggi). Berdasarkan dendrogram, kekerabatan genetik dapat dikelompokkan menjadi tiga kluster (kelompok heterotik). Kluster I yang terdiri atas lima inbrida yang didominasi oleh inbrida MSQ dan satu inbrida berbeda yaitu inbrida CML yang merupakan kelompok QPM. Kluster II terdiri atas 13 inbrida yang didominasi oleh inbrida CLP dan satu inbrida berbeda yaitu inbrida B-16-1 yang merupakan kelompok Provit-A lokal dan CIMMYT. Kluster III terdiri atas dua inbrida dengan inbrida yang sama, yaitu inbrida CLP yang merupakan kelompok Provit-A lokal.

Inbrida MSQ dan CML termasuk tipe QPM. Dalam dendrogram, tipe QPM masuk dalam satu kluster, yaitu kluster I. Kelompok QPM merupakan populasi generasi lanjut, sehingga homosigotasnya lebih dari 80%. Inbrida CLP dan B-16-1 termasuk tipe Provit-A lokal dan Provit-A CIMMYT. Kelompok Provit-A terbagi menjadi dua kluster yaitu kluster II dan III. Provit-A berasal dari plasma nutfah lokal yang mempunyai variabilitas yang cukup luas. Setelah melalui proses penggaluran selama beberapa generasi terbentuk genotipe dengan homosigotas tinggi, sehingga terdapat beberapa perbedaan genetik dari karakter yang muncul. Inbrida masing-masing kluster didominasi oleh kode pedigree yang sama, yang menunjukkan inbrida tersebut berasal dari populasi yang sama, sehingga tingkat kekerabatannya tergolong dekat. Pada kluster I dan II terdapat satu inbrida yang mempunyai pedigree berbeda yaitu CML169-1-1-# dan B16-1, tetapi masih berkerabat dekat. Oleh sebab itu, pemilihan tetua hibrida yang hanya berdasarkan pedigree berbeda belum menjamin untuk mendapatkan heterosis.

Tingkat kepercayaan tinggi (99,7%) antara CLP-33-4-5 dan CLP-33-5-6 menunjukkan kedua inbrida sangat mirip (dekat) dan stabil dalam kluster tersebut. Semakin



Gambar 2. Dendrogram 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A menggunakan 29 marka SSR berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard ($r = 0,85$).

tinggi tingkat kepercayaan pengelompokan semakin kuat kluster tersebut. Apabila dilakukan persilangan antarindividu dalam kluster yang sama (secara genetik memiliki kemiripan genetik yang kuat atau berkerabat dekat), semakin tinggi koefisien inbreedingnya. Peluang untuk memperoleh heterosis yang tinggi adalah dengan melakukan rekombinasi inbrida antarkluster. Semakin jauh jarak genetik antarinbrida, diharapkan memiliki efek heterosis yang tinggi jika disilangkan.

Nilai koefisien korelasi kofenetik (r) cukup tinggi yaitu 0,85 atau termasuk kategori *good fit* (Rohlf 2000). Hal ini menunjukkan primer yang digunakan dalam pengelompokan genetik cukup tinggi tingkat akurasi. Kluster (kelompok heterotik) dalam dendrogram sudah cukup akurat dan stabil yang didukung oleh nilai r tinggi, walaupun tingkat kepercayaan antarkluster kecil. Hasil penelitian serupa juga ditemukan Pabendon *et al.* (2003) menggunakan 30 primer, dengan nilai r 0,87. Nilai koefisien korelasi kofenetik menggambarkan akurasi pengelompokan secara genotipik, yang dapat dikarakterisasi dengan jumlah primer yang digunakan (Pejic *et al.* 1998). Semakin banyak primer polimorfisme yang digunakan semakin besar nilai r (Rohlf 2000).

Analisis Keragaman Genetik (GS) dan Jarak Genetik (S)

Berdasarkan pola pita 29 lokus SSR diperoleh matriks kemiripan genetik 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A menurut koefisien Jaccard. Pasangan dengan nilai jarak genetik $>0,60$ berpeluang untuk heterosis dan dapat dijadikan materi rekombinasi dalam pembentukan varietas jagung hibrida atau komposit. Variabilitas genetik 20 inbrida cukup luas, sehingga peluang persilangan dengan jarak genetik $>0,60$ cukup banyak. Oleh karena

itu, dalam penelitian ini dipilih jarak genetik $\geq 0,65$. Berdasarkan matriks jarak genetik diperoleh 190 pasangan persilangan antarklaster, tetapi hanya 30 pasangan persilangan yang mempunyai peluang rekombinasi heterosis dengan jarak genetik di atas rata-rata ($\geq 0,65$).

Sebanyak 30 pasang hibrida yang diharapkan memperoleh peluang rekombinasi heterosis tinggi, semuanya terbentuk antarklaster (Tabel 4). Jika nilai rata-rata jarak genetik dalam klaster lebih kecil dari rata-rata umum, maka persilangan dalam klaster harus dihindari. Sebaliknya, jika nilai rata-rata jarak genetik dalam klaster lebih besar dari nilai rata-rata umum, persilangan antarinbrida pada klaster yang sama dapat dilakukan (Pabendon *et al.* 2007). Persilangan antarklaster II dan klaster I berjumlah 20 persilangan, antarklaster III dan klaster I berjumlah lima persilangan, dan antarklaster II dan klaster III berjumlah lima persilangan.

Informasi jarak genetik untuk kombinasi persilangan dibutuhkan pemulia untuk mempermudah dalam menentukan pasangan persilangan yang diharapkan bisa menghasilkan keturunan heterotik. Pembentukan klaster berdasarkan kemiripan genetik dan peluang rekombinasi heterosis menunjukkan kelebihan penggunaan marka molekuler, karena proses seleksi dapat dilakukan lebih cepat dan relatif murah, sehingga jumlah persilangan dapat diefisienkan. Namun pencapaian heterosis tinggi bukan hanya berdasarkan jarak genetik, namun juga melibatkan faktor-faktor lain seperti potensi genetik dari inbrida itu sendiri, sehingga verifikasi lapangan masih diperlukan (El-Maghraby *et al.* 2005).

Hibrida yang heterotik berdasarkan jarak genetik masih bersifat harapan, sehingga diperlukan silang uji (*test cross*) dan uji daya gabung khusus (uji SCA). Pabendon *et al.* (2010) melaporkan bahwa hasil silang uji dengan Mr14 sebagai penguji (tester) menghasilkan nilai jarak genetik terendah (0,52) dari persilangan Bisma137xMr14 dengan bobot biji 76,0 g/tanaman. Nilai jarak genetik tertinggi (0,87) pada persilangan P5/GM25-42xMr14 menghasilkan bobot biji 146,0 g/tanaman. Bobot biji tertinggi 178,5 g/tanaman diperoleh dengan jarak genetik 0,84 dari hasil persilangan Bisma-3-1xMr14.

Dari uji daya gabung khusus penelitian Pabendon *et al.* (2009) diperoleh bobot biji tertinggi 168,5 g/tanaman dengan nilai jarak genetik 0,74 dari pasangan P5/GM26-22xSP008-120 dan bobot biji 170,7 g/tanaman dengan nilai jarak genetik 0,70 dari pasangan Bisma-140-2xMr14. Artinya, nilai jarak genetik dan bobot biji tidak selalu konsisten, seperti bobot biji tertinggi terdapat pada pasangan hibrida dengan nilai jarak genetik sedang. Sebaliknya, nilai jarak genetik tertinggi tidak selalu diikuti

Tabel 4. Pasangan persilangan berdasarkan jarak genetik.

No. Pasangan Persilangan	Jarak genetik	Pasangan kelompok heterotik	
1	CLP-6-2-3 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,69	K.2 vs K.1
2	CLP-6-3-1 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,70	K.2 vs K.1
3	CLP-6-4-2 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,72	K.2 vs K.1
4	CLP-8-2-3 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,74	K.2 vs K.1
5	CLP-17-1-# vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,69	K.2 vs K.1
6	CLP-30-2-1 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,70	K.2 vs K.1
7	CLP-33-4-5 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,65	K.2 vs K.1
8	CLP-33-5-6 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,68	K.2 vs K.1
9	CLP-39-3-4 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,72	K.2 vs K.1
10	CLP-40-1-1 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,73	K.2 vs K.1
11	CLP-6-4-2 vs MSQ(C1)CØ-81-1-3-4	0,65	K.2 vs K.1
12	CLP-30-2-1 vs MSQ(C1)CØ-81-1-3-4	0,66	K.2 vs K.1
13	CLP-40-1-1 vs MSQ(C1)CØ-81-1-3-4	0,68	K.2 vs K.1
14	B-16-1 vs MSQ(C1)CØ-81-1-3-4	0,68	K.2 vs K.1
15	CLP-8-2-3 vs MSQ(C1)CØ-14-4-3-1	0,66	K.2 vs K.1
16	CLP-40-1-1 vs MSQ(C1)CØ-14-4-3-1	0,68	K.2 vs K.1
17	CLP-8-2-3 vs MSQ(C1)CØ-171-1-1-3-#	0,75	K.2 vs K.1
18	CLP-40-1-1 vs MSQ(C1)CØ-171-1-1-3-#	0,72	K.2 vs K.1
19	CLP-39-3-4 vs MSQ(C1)CØ-171-1-1-3-#	0,66	K.2 vs K.1
20	CLP-40-1-1 vs CML169-1-1-#	0,69	K.2 vs K.1
21	CLP-11-5-1 vs MSQ(C1)CØ-2-1-3-1-1	0,71	K.3 vs K.1
22	CLP-11-5-1 vs MSQ(C1)CØ-81-1-3-4	0,73	K.3 vs K.1
23	CLP-11-5-1 vs MSQ(C1)CØ-14-4-3-1	0,66	K.3 vs K.1
24	CLP-12-1-1 vs MSQ(C1)CØ-171-1-1-3-#	0,75	K.3 vs K.1
25	CLP-11-5-1 vs CML169-1-1-#	0,65	K.3 vs K.1
26	CLP-39-1-1 vs CLP-11-5-1	0,65	K.2 vs K.3
27	CLP-39-3-4 vs CLP-11-5-1	0,67	K.2 vs K.3
28	CLP-40-1-1 vs CLP-11-5-1	0,67	K.2 vs K.3
29	CLP-39-3-4 vs CLP-12-1-1	0,65	K.2 vs K.3
30	CLP-40-1-1 vs CLP-12-1-1	0,67	K.2 vs K.3

K = Klaster

oleh bobot biji tertinggi. Hal yang sama juga terjadi pada nilai duga SCA dan heterosis. Secara umum nilai jarak genetik sedang sampai tinggi menghasilkan bobot biji sedang sampai tinggi, sedangkan nilai jarak genetik rendah menghasilkan bobot biji yang rendah. Dengan demikian bobot biji tertinggi tidak selalu menghasilkan pasangan persilangan yang mempunyai nilai jarak genetik tertinggi.

KESIMPULAN

Dari 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A yang diteliti jarak genetiknya didapatkan tingkat polimorfisme 0,45 yang menunjukkan variabilitas tinggi. Pengelompokan 20 inbrida tersebut berdasarkan kemiripan genetiknya menghasilkan tiga klaster dendrogram dengan nilai r 0,85, termasuk dalam kategori *good fit*.

Berdasarkan jarak genetik diperoleh 30 rekombinasi heterotik putatif yang melibatkan 20 inbrida jagung QPM dan Provit-A dengan jarak genetik $\geq 0,65$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboran Haryati, Edita Dwi Jayanti dan Fristi Damanik yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini, khususnya di Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Badeiry, N.A.H., A.H. Al-Saadi, and T.K. Mezra. 2014. Analysis of genetic diversity in maize (*Zea mays* L.) varieties using simple SSR markers. *Babylon Univ. Pure and Appl. Sci.* 6:22.
- Azrai, M., M.J. Mejaya, dan M. Yasin HG. 2007. Pemuliaan jagung khusus. Bunga Rampai Buku Jagung. Teknik Produksi dan Pengembangan. Pusat Penelitian Tanaman Pangan, Bogor. p.96-109.
- Blair, M.W., O. Panaud, and S.R. McCouch. 1999. Intersimple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and finger-printing in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98:780-792.
- Bjarnason, M. and S.K. Vasal. 1992. Breeding of quality protein maize (QPM). *CIMMYT. Lisboa* 27. D. F. Meksiko. p.182.
- Bourlaug, N. 1992. Potential role of quality protein maize in sub Saharan Africa. Department of Soils and Crops Texas A&M. University College Station. The American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota, USA. pp.94-95.
- Bwibo, N.O. and C.G. Neumann. 2003. Supplement: Animal source food to improve micronutrient nutrition in developing countries. *The American Society for Nutritional Science. J. Nutr.* 133:3936S-3940S.
- Cholastova, T., M. Soldano, and R. Pokorny. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and simple sequence repeats (SSR) marker efficacy for maize hybrid identification. *African J. Biotechnol.* 10(24):4794-4801.
- Chong Khan, N., C.E. West, A.D. Pee, D. Bosch, H.D. Phung, P.Jm. Hulshof, H.H. Khoi, H. Verhoef, H., and G.A.J. Hautvast. 2007. The contribution of plant foods to the vitamin A supply of lactating women in Vietnam: a randomized controlled trial. *American Clinical Nutr.* 85(4):1112-1120.
- CIMMYT. 2004. Protokol untuk karakterisasi jagung secara genotipik menggunakan marka SSR serta analisis data. Metro Manila, Philippines.
- Clerc, V.L., F. Bazante, C. Baril, J. Guiard, and D. Zhang. 2005. Assessing temporal changes in genetic diversity of maize using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 110:294-302.
- Cordova, H. 2001. The improvement and promotion of QPM in selected developing countries. Final Progress Report. CIMMYT, El Batan, Mexico.
- El-Maghraby, M.A., M.E. Moussa, N.S. Hana, and H.A. Agrama. 2005. Combining ability under drought stress relative to SSR diversity in common wheat. *Euphytica* 14:301-308.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M. Cao, M. Dahlan, M.B. Pabendon, Warbuton, X. Xianchun, and D. Hoisington. 2004. Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor. Appl. Genet.* 109:80-91.
- Hoxha, S., M.R. Shariflou, and P. Sharp. 2004. Evaluation of genetic diversity in Albanian maize using SSR markers. *Maydica* 49:97-103.
- Kalyanababu, B., P.K. Agrawal, V. Mahajan, and H.S. Gupta. 2009. Molecular and biochemical characterization of short duration quality protein maize (QPM). *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 18(1):93-96.
- Kasim, F., M. Yasin H.G., E. Hosang, dan Koesnang. 2004. Penampilan jagung bermutu protein tinggi (QPM) pada dua lingkungan tumbuh. Makalah Seminar Review Ilmiah. Puslit Tanaman Pangan. Bogor, 8 Juli 2004.12p.
- Khan, I.A., F.S. Awan, A. Ahmad, and A.A. Khan. 2004. A modified mini-prep method for economical and rapid extraction of genomic DNA in plants. *Plant Mol. Biol. Rptr.* 22:89a-89e.
- Krishna, M.S.R., S.S. Reddy, and V.C.B. Naik. 2014. Assessment of genetic diversity in quality protein maize (QPM) line using simple sequence repeat (SSR) markers. *Afr. J. Biotechnol.* 11(98):16427-16433.
- Krishna, M.S.R., S.S. Reddy, CHV. Durgarani, D.T. Reddy, and F. Zabeen. 2012. Detection of QPM donors for conversion of non QPM elite maize inbreds to QPM inbreds using opaque2 gene specific SSR markers. *J. Res. ANGRAU* 40(2):28-31.
- Lee, M. 1998. DNA markers for detecting genetic relationship among germplasm revealed for establishing heterotic groups. Presented at the Maize Training Course, CIMMYT, Texcoco, Mexico, 25 August, 1998.
- Maize Genetics and Genomics Database. 2010. <http://www.maizegdb.org>. Diakses tanggal 10 November 2014.
- Matthews, P.D., R. Luo, and E.T. Wurtzel. 2007. Maize phytoene desaturase and betacarotene desaturase catalyze a poly-Z desaturation pathway: implications for genetic engineering of carotenoid content among cereal crops. *J. Exp. Bot.* 54:2215-2230.
- Mertz, E.T., Bates, L.S. and Nelson O E. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Department of Biochemistry and Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, Lafayette, IN. *Science* 145:279-80.
- Mertz, E.T. 1992. Discovery of high lysine, high tryptophan cereals. Department of Agronomy. Purdue University West Lafayette. Indiana. The American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota, USA. pp.94-95.
- Nikhou, F., A. Ebrahimi, and M. Shiri. 2013. Genetic diversity assessment among maize hybrids with using SSR markers. *TJEAS Journal.* 3:3831-3834.
- Nutra. 2008. ALA can benefit dry eye syndrome. News Head Lines Research. Ingredients. Corn. Breaking News on Supplements and Nutrition. Canada, Nort America.
- Pabendon, M.B., E. Regalado, Sutrisno, M. Dahlan, dan M.L. George. 2003. Pembentukan klaster inbrida jagung berdasarkan markah SSR (*Simple Sequence Repeat*). *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 22(1):23-30.
- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, H. Aswidinnoor, dan J. Koswara. 2009. Korelasi antara jarak genetik inbrida dengan penampilan fenotipik hibrida jagung. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 28(2):69-77.
- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, J. Koswara, dan H. Aswidinnoor. 2010. Korelasi jarak genetik berbasis marka mikrosatelit inbrida jagung dengan bobot biji F1. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 29(1):11-17.
- Pejic, I., P. Ajmon-Marsan, M. Morgante, V. Kozumplick, P. Castiglioni, G. Taramino, and M. Motto. 1998. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 97:1248-1255.

- Robinson, A.J., C.G. Love, J. Batley, G. Barker, and D. Edwards. 2004. Simple sequence repeat marker loci discovery using SSR primer. *Bioinformatics Appl. Note* 20(9):1475-1476.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. Applied Biostatistics Inc., New York.
- Rohlf, F.J. and David L. Fisher. 1968. Test for hierarchical structure in random data sets. *Systematic Zool.* 17:407-412.
- Senior, M.L., E.C.L. Chin, M. Lee, J.S.C. Smith, and C.W. Stuber. 1996. Simple sequence repeat markers developed from maize sequence found in the genbank database: Map contraction. *Crop Science* 36:1676-1683.
- Smith, J.S.C., E.E.L. Chin, H. Shu, O.S. Smith, S.J. Wall, M.L. Senior, S.E. Mitchell, S. Kresovich, and J. Ziegler. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 95:163-173.
- Varshney, R., A. Graner, and M.E. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants : Feature and Applications. *Trend in Biotechnology* 23:48-56.
- Vasal, S.K. 2000. The quality protein maize story. *Food and Nutrition Bulletin* 21(4):445-450.
- Yasin, M.,HG., Masmawati, dan Syuryawati. 2010. Stabilitas hasil calon hibrida jagung QPM pada dataran rendah. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 29(2):124-129.
- Yasin, M.,HG., Sumarno, dan A. Nur. 2014. Perakitan varietas unggul jagung fungsional. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. IAARD Press, Jakarta.
-