

# Karakterisasi Kemiripan Genetik Koleksi Inbrida Jagung Berdasarkan Marka Mikrosatelit

Marcia B. Pabendon<sup>1</sup>, M. Dahlan<sup>1</sup>, Sutrisno<sup>2</sup>, dan M.L.C. George<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Serealia, Jalan Dr. Ratulangi, Kotak Pos 173 Maros 90514

<sup>2</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

<sup>3</sup>CIMMYT-Asian Maize Biotechnology Network

## ABSTRACT

**Microsatellite Marker-based Genetic Characterization of Indonesian Maize Inbred Collections.** Marcia B. Pabendon, M. Dahlan, Sutrisno, and M.L.C. George. Information on genetic relationships among available crop germplasm such as maize inbred lines, has important implications to breeding programs. A set of 26 maize inbreds together with six standard lines from CIMMYT (CML51, CML292, CML202, CML206, CML236, dan CML396), was characterized using 26 SSR markers, which were coverage of the maize genomes. The objective of this study was to analyze genetic diversities among the Indonesian maize inbred collections. Polymorphism Information Content (PIC) value and the observed genetic distance indicated the existence of large variabilities among the inbreds. Cluster analysis based on 27% of the Jaccard's similarity coefficient placed the inbreds into three groups. Genetic distances among all the possible pairs without the standard maize lines varied from 0.32 (K5X360F2-5-1-3-1v vs K5X2601F2-5-1-1-v) to 0.88 (PT963298-1-B-B-Bv vs Mr13). Cluster and Principal Coordinate Analysis of the genetic distances, revealed a clear differentiation of the inbred lines into groups according to their source populations. This clustering were consistent with those of the known pedigree records of the inbreds based on their morphological characters. These results support the use of morphological traits in the production of maize hybrids. The SSR markers proved to be effective to characterize, identify, and demonstrate genetic similarities among the maize inbred lines.

**Key words:** Maize inbreds, genetic similarity, microsatellite.

## PENDAHULUAN

Kebutuhan produk berbahan baku jagung di Indonesia antara lain pakan ternak, pangan, dan industri lainnya semakin meningkat. Pada tahun 2001 proporsi penggunaan biji jagung di Indonesia sebanyak 10,26 juta ton adalah 57% untuk pakan, 34% untuk pangan, dan sisanya 9% untuk kebutuhan lainnya (Badan Litbang Pertanian 2002).

Permintaan jagung nasional sejak 1991-2000 meningkat sebesar 6,4% per tahun, sementara peningkatan produksi meningkat hanya sekitar 5,6% per tahun. Sejak tahun 2000, produksi domestik tidak dapat memenuhi permintaan yang terus meningkat sehingga

import juga semakin meningkat. Kasryno dan Pasandaran (2005) mengemukakan bahwa sejak tahun 1980-an sampai sekarang, penggunaan hibrida di Indonesia tidak mengalami peningkatan, yaitu sekitar 31%. Di lain pihak dikemukakan bahwa Indonesia merencanakan untuk swasembada jagung pada tahun 2007. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dipikirkan untuk meningkatkan produk domestik baik melalui program intensifikasi maupun ekstensifikasi. Salah satu peluang yang dapat dilakukan adalah penggunaan varietas hibrida potensi tinggi dan spesifik lokasi. Untuk memenuhi hal tersebut maka harus diupayakan untuk bisa menghasilkan varietas hibrida potensi tinggi dalam kuantitas dan kualitas yang memadai.

Pengetahuan tentang keragaman plasma nutfah dan hubungan di antara materi pemuliaan sangat penting untuk perencanaan persilangan dalam menghasilkan hibrida dan pembentukan galur (Senior *et al.* 1998). Hal tersebut juga bermanfaat untuk manajemen konservasi plasma nutfah (Munn dan Dudley 1994). Informasi keragaman genetik di antara koleksi inbrida di Indonesia yang didukung oleh data molekuler masih sangat kurang. Walaupun demikian, informasi pedigree dan karakter-karakter morfologi telah banyak memberi manfaat dalam membentuk sejumlah kultivar hibrida sejak tahun 1950-an. Meskipun demikian, karakter-karakter morfologi sering tidak tepat menjelaskan hubungan genetik antar individu oleh karena interaksi lingkungan, dan kadang-kadang data pedigree tidak tersedia untuk semua materi. Oleh karena itu, penggunaan markah molekuler sebagai alat bantu yang langsung melihat perbedaan genetik di antara galur-galur inbrida tampaknya merupakan alternatif yang rasional.

Di antara sejumlah marka molekuler yang tersedia untuk tujuan tersebut, mikrosatelit telah menjadi sistem marka yang sering digunakan pada jagung (Smith *et al.* 1997). Mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeats* (SSRs) terdiri dari susunan DNA dengan motif 1-6 pasang basa, berulang sebanyak lima kali atau lebih secara tandem (Vigouroux *et al.* 2002). SSR polimorfis telah digunakan secara ekstensif sebagai marka genetik pada studi genetik jagung seperti pada konstruksi pemetaan keterpautan gen dan pemetaan

*Quantitative Trait Loci* (QTL) (Romero-Severson 1998; Frova *et al.* 1999) atau analisis keragaman genetik dan evolusi (Senior *et al.* 1998; Pejic *et al.* 1998; Lu dan Bernardo 2001; Matsuoka *et al.* 2002).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kemiripan genetik di antara koleksi inbrida Indonesia menggunakan marka mikrosatelit.

## BAHAN DAN METODE

### Materi Tanaman

Ke-26 inbrida yang dikarakterisasi (Tabel 1), adalah koleksi Balai Penelitian Tanaman Sereal (Balitserreal) yang sebagian besar diperoleh dari *International Maize and Wheat Improvement Center* (CIMMYT) Asia (Thailand), kemudian diadaptasikan sesuai lingkungan di Indonesia dan digunakan dalam program pemuliaan. Enam genotipe yang disertakan dalam analisis ini adalah inbrida standar yang sering digunakan sebagai tetua hibrida di CIMMYT, yaitu CML51, CML292, CML202, CML206, CML236, dan CML396. Inbrida Mr4 dan Mr14 memiliki daya gabung yang baik dan merupakan tetua kultivar hibrida Bima-1, sedangkan inbrida

Mr13 juga adalah salah satu tetua dari kultivar hibrida Semar-10.

Semua benih inbrida kecuali inbrida standar, diperoleh dari Balitserreal, Maros. Informasi data pedigree diperoleh dari Balitserreal dan laboratorium servis AMBIONET (<http://www.cimmyt.org/ambionet>).

### Marka Mikrosatelit

Tiga puluh marka mikrosatelit yang polimorfis dan menyebar merata pada seluruh kromosom jagung yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *Research Genetics Inc. (Huntsville, Ala.)* melalui proyek AMBIONET. Pada saat amplifikasi, ke-30 primer tersebut didampingi oleh alel standar yang diperoleh dari laboratorium servis AMBIONET. Dengan demikian data yang diperoleh dari penelitian ini dapat digabungkan dengan dataset yang lain yang juga menggunakan alel standar yang sama. Susunan basa dari masing-masing primer yang digunakan diperoleh dari *MaizeDB* (<http://www.agron.missouri.edu/ssr.html>). Sekuen dari 30 marka mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini tertera pada Tabel 2.

**Tabel 1.** Pedigree, tipe endosperm, dan sumber materi dari 32 genotipe jagung.

Pedigree	Tipe endosperm	Sumber
CML51: Mexico: Pop79/STA.ROSA8079-1-2-3-###	Tropical YF	ASL
CML292: Mexico: Pop28/(Pop28xTSR)-33-2-7-1-2-BB-f	Tropical YF	ASL
CML202: Mexico: ZSR/ZSR923S4B4BULK-5-1-b-b	Tropical WSD	ASL
CML206: Mexico: EV7992/(EV7992#EVPO44-SRBC3)#bF37sr-2-4-3-b-b	Tropical WSD	ASL
CML236: Mexico: P32/[LB(1)8232-SR(BC3)]-140-1-1-1-b	Tropical WF	ASL
CML396: Mexico: Pop21/P21C5HC109-3-1-5-4-B-4-3-##-2-B*6	Tropical WD	ASL
Mr4-1: MS.J2(RRS)C1	Tropical YF	Indonesia
Mr13-10: MS.J1(RRS)C1	Tropical YF	Indonesia
Mr14-1: Suwan3(S1)C7	Tropical YF	Indonesia
J2-70	Tropical YF	Indonesia
POP.352CO-HS85-2-1-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963280-1-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
POP352CO-HS315-2-1-B-B	Tropical YF	Indonesia
KTX3753F2-5-1-1-2-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PIO.3011F2-3-5-6-1-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963298-1-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963010-B-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
KTX3604F2-3-1-1-2-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
POP351CO-HS59-1-2-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963300-B-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
POP351CO-HS61-1-1-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963054-B-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963052-B-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
KSX2601F2-5-1-1-2-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
AMATLCOHS71-1-1-2-1-1-1-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
KSX360F2-5-1-3-1-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
POP351CO-HS129-1-1-B-B	Tropical YF	Indonesia
KSX360F2-5-1-3-2-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963036-1-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
POP351CO-HS310-2-2-B-B	Tropical YF	Indonesia
P345C3S3B-2-7-5-1-1-1-2-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia
PT963216-B-B-B-B-B-B	Tropical YF	Indonesia

YF = yellow flint, WSD = white semi-dent, WF = white flint, WD = white dent, ASL = AMBIONET Service Laboratory.

**Tabel 2.** Sekuen dari 30 marka mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian.

Lokus SSR	No. Bin	Susunan basa*	Sekuen primer
phi109275	1.00	AGCT	AAGCTCAGAAGCCGGAGC//GGTCATCAAGCTCTCTGATCG
umc1122	1.06	(CGT)7	CACAACCTCCATCAGAGGACAGAGA//CTGCTACGACATACGCAAGGC
phi109642	2.00	ACGG	CTCTCTTTCCCTCCGACTTTCC//GAGCGAGCGAGAGAGATCG
phi96100	2.00	ACCT	AGGAGGACCCCAACTCCTG//TTGCACGAGCCATCGTAT
phi101049	2.09	AGAT	CCGGGAACCTGTTTCATCG//CCACGTCCATGATCACACC
phi374118	3.02	ACC	TACCCGGACATGGTTGAGC//TGAAGGGTGTCTTCCGAT
phi102228	3.04	AACG	ATTCCGACGCAATCAACA//TTCATCTCCTCCAGGAGCCTT
phi079	4.05	AGATG	TGGTGTCTGTTGCCAATCTAGCA//GCAGTGGTGGTTTCGAACAGACAA
phi093	4.08	AGCT	AGTGCCTCAGCTTCTCGCTACAAG//AGGCCATGCCTGTTGCAACAATGGATACA
umc1109	4.10	ACG	GCAACACAGGACCAAATCATCTCT//GTTGGGTCCGTAGAAGAACTCTCA
phi109188	5.00	AAAG	AAGCTCAGAAGCCGGAGC//GGTCATCAAGCTCTCTGATCG
phi331888	5.04	AAG	TTGCGCAAGTTTGTAGCTG//ACTGAACCGCATGCCAAC
umc1153	5.09	(TCA)4	CAGCATATAGCTTGCCTTCGATT//TGGGTTTTGTTTGTGTTGTTG
phi423796	6.01	AGCC	CACTACTCGATCTGAACCACCA//CGCTGTGAATTTGCTAGCTC
phi089	6.08	ATGC	GAATTTGGGAACAGACCACCCAA//ATTTCCATGGACCATGCCTCGCT
phi299852	6.08	AGC	GATGTGGGTGCTACGAGCC//AGATCTCGGAGCTCGGCTA
phi034	7.03	GCCT	TAGCAGCAGGATGGCTCTTCT//GGGGAGCACGCCTTCGTCT
phi114	7.03	GCCT	CCGAGACCGTCAAGACCATCAA//AGCTCCAAACGATTCTGAACCTCGC
phi328175	7.04	AGG	GGGAAGTGCTCCTTGCGAG//CGGTAGGTGAACGCGGTA
phi420107	8.00	CCG	GATGTTTTCAAACCCACCCAGA//ATGGCACGAATAGCAACAGG
umc1304	8.02	(TCGA)4	CATGCAGCTCCTCAAATTAATCC//GCCAACTAGAACACTGCTGCTCC
phi233376	8.03	CCG	CCGGCAGTCGATTACTCC//CGAGACCAAGAGAACCCTCA
umc1161	8.06	(GCTGGG)5	GGTACCCTACTGCTTGTACTGC//GCTCGCTGTTGGTAGCAAGTTTA
umc1279	9.00	(CCT)6	GATGAGCTTGACGACGCCTG//CAATCCAATCCGTTGCAGGTC
phi032	9.04	AAAG	CTCCAGCAAGTGATGCGTGAC//GACACCCGGATCAATGATGGAAC
phi448880	9.05	AAG	CGATCCGGAGGAGTTCCTTA//CCATGAACATGCCAATGC
phi041	10.00	AGCC	TTGGCTCCCAGCGCCGCAAA//GATCCAGAGCGATTTGACGGCA
phi96342	10.02	ACTT	GTAATCCCACGTCTATCAGCC//TCCAACCTGAACGAACTCCTC
umc1061	10.06	(TCG)6	AGCAGGGTACCCATGAAAGTCC//TATCACAGCACGAAGCGATAGATG
umc1196	10.07	CACACG	CGTGCTACTACTGCTACAAAGCGA//AGTCGTTCTGTCTTCCGAACT

### Metode Standar Sidik Jari (*Fingerprinting*)

Protokol untuk sidik jari dengan marka SSR, termasuk ekstraksi DNA, amplifikasi, elektroforesis, dan visualisasi pola pita DNA yang digunakan diadopsi dari laboratorium servis AMBIONET, seperti yang dijelaskan oleh George *et al.* (2004a) dengan sedikit modifikasi sesuai kondisi laboratorium. Aktivitas ini dilakukan di laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Amplifikasi untuk semua primer dilakukan hanya pada satu temperatur *annealing*, yaitu 56°C selama 1 menit menggunakan PTC-100 *Programmable Thermal Controller* (MJ Research, Waltham, Mass).

### Analisis Statistik

Untuk masing-masing lokus SSR, dilakukan perhitungan terhadap jumlah alel rata-rata per lokus dan informasi tingkat polimorfisme (PIC). Nilai PIC (Smith *et al.* 1997; Senior *et al.* 1998) dihitung mengikuti Nei (1978) dengan persamaan:

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

di mana  $f_i^2$  adalah frekuensi alel ke- $i$ .

Analisis kluster didasarkan pada 26 lokus SSR dan dibentuk berdasarkan matriks jarak genetik menggunakan metode pautan rata-rata UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic average*) dengan alat bantu program NTSYS-pc 2.1 (Rohlf 2000). Nilai jarak genetik diperoleh dari hasil analisis kemiripan genetik (Lee 1998), dengan formula:  $S = 1 - GS$ , di mana  $S$  = jarak genetik dan  $GS$  = kemiripan genetik (*genetic similarity*).

Analisis *Boot-Strapping* dilakukan untuk mengetahui tingkat kepercayaan pengelompokan dengan menggunakan program *WinBoot*. Koefisien korelasi kofenetik ( $r$ ) juga dihitung yang dilanjutkan dengan uji Mantel (Mantel 1967) untuk melihat *goodness of fit* dari hasil analisis kluster. *Principal Coordinate Analysis* (PCA) (Dillon dan Goldstein 1984), dilakukan untuk mengetahui posisi relatif dari inbrida yang dianalisis pada ruang dua dimensi.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah inbrida yang dianalisis sebanyak 32 termasuk enam inbrida standar (CML51, CML292, CML202, CML236, dan CML396). Dari 30 primer SSR yang digunakan, hanya 26 primer yang dianalisis lebih lanjut, karena ada 4 primer yang mempunyai *missing*

data >15%, yaitu phi041, phi420701, umc1122, dan umc1161. Profil 30 marka mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3

Jumlah alel per lokus SSR bervariasi dari 2 sampai 8, dengan rata-rata 3,48 dan total alel yang diidentifikasi sebanyak 94 alel. Jumlah alel rata-rata per lokus SSR pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh peneliti lain seperti Lu dan Bernardo (2001), yang menggunakan 40 inbrida U.S dengan 83 marka SSR dan menghasilkan 4,9 alel per lokus. Senior *et al.* (1998) mendapatkan 5,0 alel per lokus untuk 94 inbrida jagung elit dengan menggunakan 70 marker. Selain itu, Pejic *et al.* (1998) menggunakan 33 inbrida U.S *corn belt* dan 27 SSRs, menghasilkan 6,8 alel per lokus. Menurut George *et al.* (2004b), Indonesia mempunyai sejarah yang panjang dalam pertukaran plasma nutfah dengan CIMMYT yang digunakan dalam program pemuliaan. Hal tersebut ditunjukkan oleh adanya sejumlah materi plasma nutfah yang berkerabat lebih dekat dengan inbrida dari CIMMYT.

Tingkat polimorfisme bervariasi dari 0,17 sampai 0,83, dengan rata-rata 0,53. Hasil ini juga lebih rendah dibandingkan dengan hasil peneliti lain sebelumnya seperti hasil studi keragaman genetik di antara inbrida jagung U.S, yaitu 0,62 (Smith *et al.* 1997) dan 0,59

(Senior *et al.* 1998). Hasil yang lebih rendah dalam studi ini karena jumlah alel rata-rata per lokus lebih rendah. Pejic *et al.* (1998) melaporkan hasil studinya dengan nilai polimorfisme yang cukup tinggi, yaitu 0,72 mengatakan bahwa jumlah alel yang tinggi diperoleh karena jumlah alel rata-rata yang terdeteksi cukup tinggi.

Hasil dendrogram (Gambar 1) menunjukkan hampir semua inbrida dapat dibedakan antara satu inbrida dengan inbrida lainnya. Angka yang berada di atas garis pada Gambar 1 menunjukkan tingkat kepercayaan pengelompokan. Berdasarkan dendrogram yang terbentuk, ada tiga klaster yang ditetapkan pada tingkat kemiripan genetik 27%. Klaster-1 terdiri atas 15 aksesi, klaster-2 terdiri atas 7 aksesi, dan klaster-3 yang terdiri atas 9 aksesi. Pada dendrogram, aksesi dengan tetua awal yang sama pada umumnya berada pada kelompok yang sama. Namun demikian, ada beberapa aksesi dari tetua awal yang sama menyebar pada ketiga klaster, seperti keturunan dari tetua awal POP dan PT. Hal tersebut bisa juga disebabkan oleh jumlah primer yang digunakan sedikit sehingga belum mewakili seluruh genom. Dengan demikian, masih ada sejumlah karakter yang tidak terdeteksi yang sebenarnya berpotensi untuk mengelompokkan inbrida dengan tetua awal yang sama berada pada kelompok yang sa-

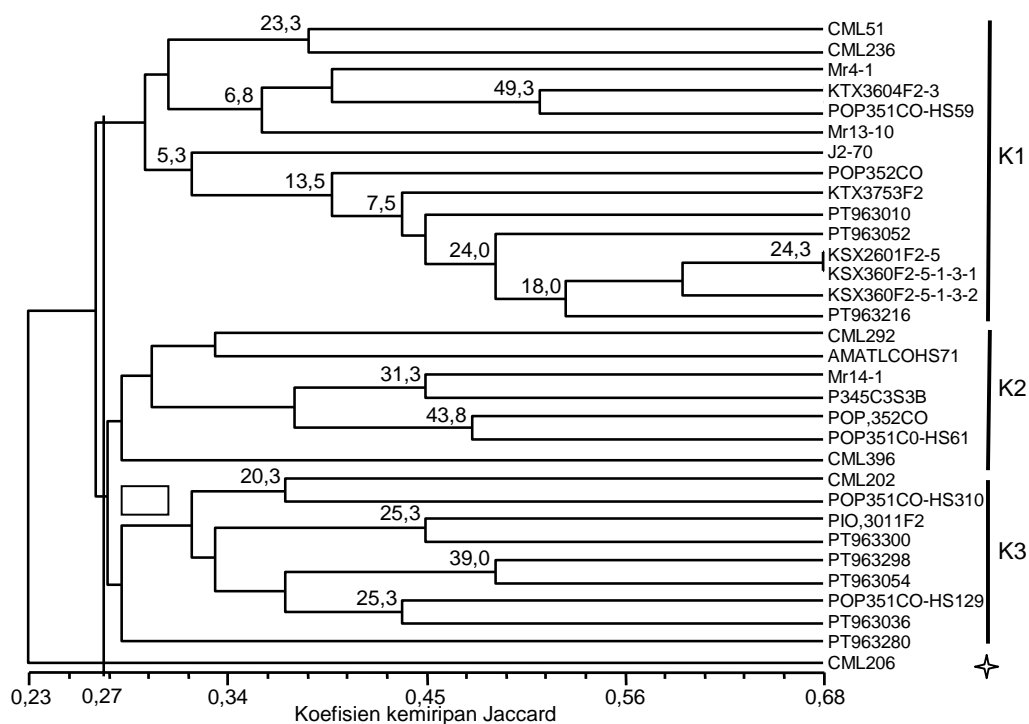
**Tabel 3.** Profil data 26 marka mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian.

No.	Lokus SSR	No. Lokus	Susunan basa*	Tingkat polimorfisme	Jumlah alel	Kisaran (bp)
1.	phi109275	1,00	AGCT	0,69	4	125-137
2.	phi109642	2,00	ACGG	0,44	2	136-144
3.	phi96100	2,00	ACCT	0,68	4	269-297
4.	phi101049	2,09	AGAT	0,83	8	226-277
5.	phi374118	3,02	ACC	0,77	5	217-232
6.	phi102228	3,04	AACG	0,44	2	123-127
7.	phi079	4,05	AGATG	0,69	4	180-193
8.	phi093	4,08	AGCT	0,56	3	274-294
9.	umc1109	4,10	ACG	0,59	4	104-116
10.	phi109188	5,00	AAAG	0,63	5	148-172
11.	phi331888	5,04	AAG	0,56	3	130-136
12.	umc1153	5,09	(TCA)4	0,70	4	108-114
13.	phi423796	6,01	AGCC	0,17	2	128-133
14.	phi089	6,08	ATGC	0,50	2	92-94
15.	phi299852	6,08	AGC	0,71	5	110-146
16.	phi034	7,03	GCCT	0,50	4	122-143
17.	phi114	7,03	GCCT	0,62	4	137-169
18.	phi328175	7,04	AGG	0,64	4	100-130
19.	umc1304	8,02	(TCGA)4	0,34	2	129-137
20.	phi233376	8,03	CCG	0,57	4	140-154
21.	umc1279	9,00	(CCT)6	0,49	4	92-101
22.	phi032	9,04	AAAG	0,43	2	233-241
23.	phi448880	9,05	AAG	0,45	3	179-188
24.	phi96342	10,02	ACTT	0,22	3	238-246
25.	umc1061	10,06	(TCG)6	0,52	4	101-110
26.	umc1196	10,07	CACACG	0,56	3	143-161
Rata-rata				0,53	3,48	
				0,17-0,83	2-8	

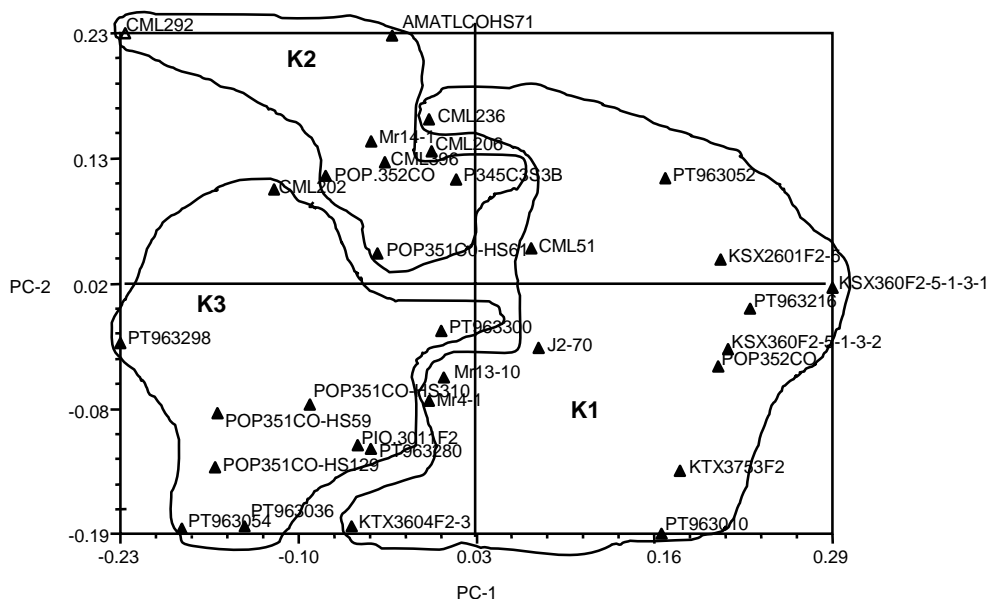
\* Sumber: <http://www.agron.missouri.edu/ssr.html>.

ma. Oleh sebab itu, marka molekuler sangat diperlukan sebagai klarifikasi. Menurut Warburton *et al.* (2005) galur tidak terklaster berdasarkan fenotipe, adaptasi lingkungan, tipe atau warna biji, umur panen, atau respon heterotik, tapi galur yang berkerabat secara pedigree biasanya berada pada klaster yang sama.

Gambar 2 memperlihatkan posisi relatif dari inbrida yang dianalisis. Dari ketiga kelompok, hampir semua inbrida berada pada kelompoknya sesuai dengan data dendrogram, kecuali genotipe POP351CO-HS59 menjadi pencilon dari klaster-1 dan berada pada klaster-3. Selain itu, posisi dari inbrida di dalam kelompok juga kelihatan menyebar. Hal tersebut menunjukkan



Gambar 1. Dendrogram 26 inbrida jagung dengan 6 inbrida referensi menggunakan 26 marka SSR dan dikonstruksi berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard.



Gambar 2. Posisi relatif 26 inbrida jagung dan 6 inbrida standar menggunakan 26 marka SSR berdasarkan hasil analisis PCA dua dimensi.

bahwa tingkat kekerabatan di antara inbrida tidak terlalu tinggi, seperti yang ditunjukkan pada data dendrogram (Gambar 1) dengan nilai 0,23-0,68. Kemungkinan lain disebabkan karena primer yang digunakan relatif sedikit.

Berdasarkan nilai matriks jarak genetik (data tidak ditampilkan), maka jarak genetik tertinggi diperoleh sebesar 0,96 (KTX3753F2-5-1-1-v vs CML292), di mana genotipe KTX3753F2-5-1-1-v berada pada klaster-1 sedangkan genotipe CML292 berada pada klaster-2. Jarak genetik tertinggi di luar inbrida standar sebesar 0,88 (PT963298-1-B-B-Bv vs Mr13). Genotipe PT963298-1-B-B-Bv berada pada klaster-3 sedangkan Mr-13 berada pada klaster-1. Jarak genetik terendah adalah sebesar 0,32 (KSX360F2-5-1-3-1v vs KSX2601F2-5-1-1-v). Kedua genotipe tersebut berada pada klaster-1. Jarak genetik antara Mr 4 dan Mr14 cukup jauh, yaitu sebesar 0,70. Hal tersebut menunjukkan bahwa Mr4 dan Mr14 yang berada pada kelompok heterotik yang berbeda dan keduanya merupakan pasangan heterotik yang baik berdasarkan karakter morfologi (Dahlan *et al.* 1996), dan didukung oleh data marka molekuler.

Koefisien korelasi kofenetik ( $r$ ) sebesar 0,69, tergolong *good fit*. Hasil penelitian sebelumnya (Pabendon *et al.* 2003) pada materi genetik yang berbeda, dengan jumlah primer yang lebih banyak (42), diperoleh nilai  $r$  yang lebih tinggi, yaitu 0,85. Pejic *et al.* (1998) mengemukakan bahwa nilai  $r$  menggambarkan akurasi pengelompokan secara genotipik, yang dapat dihasilkan berdasarkan estimasi kemiripan genetik di antara inbrida yang dikarakterisasi dengan jumlah primer yang digunakan. Semakin banyak primer polimorfis yang digunakan maka nilai  $r$  akan semakin besar.

Inbrida standar menyebar pada seluruh kelompok kecuali CML206 yang tidak masuk pada salah satu dari ketiga kelompok yang terbentuk. Inbrida Mr4 dan Mr14, yang biasa digunakan sebagai tester di lapang, masing-masing berada pada klaster yang berbeda, yaitu masing-masing pada klaster-1 dan klaster-4. Kultivar Semar-10 adalah hibrida yang dihasilkan melalui silang tiga jalur inbrida Mr4, Mr13, dan Mr14 dengan model persilangan (Mr4xMr13)xMr14, sedangkan kultivar Bima-1 adalah hibrida hasil silang tunggal dari tetua inbrida Mr4 dan Mr14 (Mejaya *et al.* 2005). Hasil ini sesuai dengan data molekuler di mana pada kultivar Semar-10, inbrida Mr4 dan Mr13 yang berkerabat dekat disilangkan terlebih dahulu. Selanjutnya, hasil hibrida silang tunggal tersebut disilangkan lagi dengan inbrida Mr14 yang berkerabat lebih jauh atau yang berada pada kelompok heterotik yang lain. Inbrida Mr4 dan Mr14 juga berada pada kelompok heterotik yang berbeda. Dengan demikian, pembentukan hibrida

Semar-10 dan Bima-1 yang dibentuk berdasarkan karakter morfologi dan data pedigree didukung oleh data molekuler. Oleh sebab itu, untuk ke depan persilangan yang dilakukan di lapang dapat dikurangi dengan bantuan informasi marka molekuler.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa variasi genetik inbrida yang dianalisis cukup luas dengan tingkat kemiripan genetik dari 0,23 sampai 0,68, dan masing-masing inbrida dapat dibedakan antara satu dengan lainnya. Selain itu, ada tiga klaster yang terbentuk pada tingkat kekerabatan 27%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Litbang Pertanian.** 2002. Festival jagung pangan pokok alternatif. Istana Bogor, 26-27 April 2002. Badan Litbang Pertanian, Deptan.
- Dahlan, M.M., S. Slamet, M.J. Mejaya, Mudjiono, J.A. Bety, dan F. Kasim.** 1996. Peningkatan heterosis populasi jagung untuk pembentukan varietas hibrida. Balitjas. Maros. hlm. 50.
- Dillon, W.R. and M. Goldstein.** 1984. Multivariate Analysis Methods and Applications. John Willey and Sons. 581 p.
- Frova, C., P. Krajewski, N. Di Fonzo, M. Villa, and M. Sari-Gorla.** 1999. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. I. Yield components. *Theor. Appl. Genet.* 99:280-288.
- George, M.L.C., E. Regalado, M. Warburton, S. Vasal, and D. Hoisington.** 2004a. Genetic diversity of maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica* 135:145-155.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M. Cao, M. Dahlan, M. Pabendon, M.L. Warburton, X. Xianchun, and D. Hoisington.** 2004b. Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor. Appl. Genet.* 109:80-91.
- 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, August 25, 1998.
- Lu, H. and R. Bernardo.** 2001. Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds. *Theor. Appl. Genet.* 103:613-617.
- Kasryno, F. dan E. Pasandaran.** 2005. Dinamika produksi dan pengembangan sistem agribisnis komoditi jagung Indonesia.
- Mantel, N.** 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27:209-220.

- Matsuoka, Y., S.E. Mitchell, S. Kresovich, M. Goodman, and J. Doebley. 2002.** Microsatellite in *Zea-variability*, patterns of mutation, and use for evolutionary studies. *Theor. Appl. Genet.* 104:436-450.
- Mejaya, M.J., M.B. Pabendon, dan M. Dahlan. 2005.** Pola heterosis dalam pembentukan varietas unggul jagung bersari bebas dan hibrida. Makalah disampaikan pada Seminar Puslitbangtan, Bogor, 12 Mei 2004.
- Munn, R.H. and J.W. Dudley. 1994.** A classification of 148 US maize inbreds. Cluster analysis based on RFLPs. *Crop Sci.* 34(4):842-851.
- Nei, M. 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Pabendon, M.B., E. Regalado, Sutrisno, M. Dahlan, dan M.L. George. 2003.** Pembentukan kelompok genotipe jagung berdasarkan marka SSR (*Simple Sequence Repeat*). *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 22(1):23-30.
- Pejic, I., P. Ajmone-Marshan, 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.
- Rohlf, F.J. 2000.** NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. Exeter Publications, NY.
- Romero-Severson, J. 1998.** Maize microsatellite-RFLP consensus map. MaizeDB (<http://www.agron.missouri.edu>).
- Senior, M.L., J.P. Murphy, M.M. Goodman, and C.W. Stuber. 1998.** Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationship in maize using agarose gel system. *Crop Sci.* 38:1088-1098.
- Smith, J.S.C., E.C.L. Liu, H. Shu, O.S. Smith, S.J. Wall, M.L. Senior, S.E. Mitchell, S. Kresovich, and J. Zeigle. 1997.** An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparison with data from RFLPs and pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 95:163-173.
- Vigouroux, Y., J.S. Jaqueth, Y. Matsuoka, O.S. Smith, W.D. Beavis, J.S.C. Smith, and J. Doebley. 2002.** Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. *Mol. Biol. Evol.* 19(8):1251-1260.
- Warburton, M.L., J.M. Ribaut, J. Franco, J. Crossa, P. Dubreuil, and F.J. Betran. 2005.** Genetic characterization of 218 elite CIMMYT maize inbred lines using RFLP markers. *Euphytica* 142:97-106.
-