

Kekerabatan Beberapa Aksesori Padi Lokal Tahan Hama Penyakit Berdasarkan Analisis Polimorfisme Marka SSR (Phylogeny of Some Local Paddy Accession Tolerant to Host Pest Based on Polymorphism Analysis of SSR Markers)

Wage R. Rohaeni*, Untung Susanto, Nani Yunani, N. Usyati, dan Satoto

Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Jl. Raya 9, Sukamandi, Tromol Pos 11, Cikampek, Subang 41256, Jawa Barat, Indonesia
Telp. (0260) 520157; Faks. (0260) 521104; *E-mail: wagebbpadi@gmail.com

Diajukan: 6 Juni 2016; Direvisi: 2 Agustus 2016; Diterima: 24 Oktober 2016

ABSTRACT

The level of phylogeny among local rice that has identified the resistances to plant pests and diseases needs to be studied to determine the genetic distance, so that information can be used for a recommendation parental crosses. Simple sequence repeat (SSR) markers could be used as one tool to know the degree of phylogeny and the genetic distance between genotypes. The aim of this study was to determine phylogenetic tree and the coefficient of genetic distance of several local rice resistant to host and pest based polymorphic analysis of SSR markers. Fifteen host and pest resistant local rice and one popular variety (Ciherang) were used. Molecular analysis was carried out using eighteen SSR markers. The banding patterns of DNA amplification resulted from PCR on polyacrylamide electrophoresis gel was documented by using UV Transilluminator. The phylogenetic tree showed three clearly separated clusters. Cluster 1 consisted of *indica* accessions resistant to blast and BLB: Gadis Langsat, Kebo, Bandang Si Gadis, Ciherang, Jawa Wangi Sleman, Marahmay, Takong, Ampek Panjang, Benoraja, and Siawak. Cluster 2 consisted of *javanica* and *indica* accessions resistant to BPH, tungro, blast, and BLB: Ase Balucung, Ase Bukne, Pare Lottong, Pare Pulu, and Jadul. Cluster 3 consisted of *japonica* accession resistant to blast: Kapas. The farthest genetic distance was between Pare Pulu and Ampek Panjang (DA = 0.816). The closest genetic distance was between Pare Pulu dan Pare Lottong (DA = 0.098). This research data can be used as a reference in determining the crossing parents that will be used in plant breeding program for varieties improvement of Indonesian local rice.

Keywords: Genetic distance, local rice, kinship, SSR markers.

ABSTRAK

Tingkat kekerabatan antarpadi lokal dengan keunggulan tahan terhadap hama dan penyakit tanaman (HPT) perlu dipelajari untuk mengetahui seberapa jauh kekerabatannya, sehingga informasi yang diperoleh dapat digunakan untuk kebutuhan pemilihan tetua persilangan. Marka *simple sequence repeat* (SSR) dapat dijadikan salah satu alat bantu untuk mengetahui tingkat kekerabatan antargenotipe. Penelitian ini bertujuan mengetahui tingkat kekerabatan dan jarak genetik beberapa aksesori padi lokal unggul tahan HPT berdasarkan analisis polimorfisme marka SSR. Materi genetik yang digunakan adalah lima belas padi lokal tahan HPT dan varietas Ciherang. Analisis molekuler dilakukan menggunakan delapan belas marka SSR. Pola pita DNA hasil amplifikasi PCR pada elektroforesis gel poliakrilamida didokumentasi dengan visualisasi *gel doc/UV transilluminator*. Pohon kekerabatan menunjukkan tiga klaster yang terpisah jelas. Klaster 1 terdiri atas aksesori-aksesori subspecies *indica* tahan blas dan HDB, yaitu Gadis Langsat, Kebo, Bandang Si Gadis, Ciherang, Jawa Wangi Sleman, Marahmay, Takong, Ampek Panjang, Benoraja, dan Siawak. Klaster 2 terdiri atas aksesori-aksesori subspecies *javanica* dan *japonica* tahan WBC, tungro, blas, dan HDB, yaitu Ase Balucung, Ase Bukne, Pare Lottong, Pare Pulu, dan Jadul. Klaster 3 berisi aksesori subspecies *japonica* tahan blas, yaitu Kapas. Kekerabatan paling jauh dimiliki antara Pare Pulu dan Ampek Panjang dengan koefisien jarak genetik 0,816. Kekerabatan paling dekat dimiliki antara Pare Pulu dan Pare Lottong dengan jarak genetik 0,139. Data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi dalam penentuan tetua yang akan digunakan dalam program pemuliaan tanaman untuk perbaikan varietas padi lokal Indonesia.

Kata kunci: Jarak genetik, padi lokal, kekerabatan, marka SSR.

PENDAHULUAN

Padi lokal memiliki keragaman genetik yang luas dan merupakan sumber gen yang mengendalikan sifat-sifat penting. Penggunaan varietas lokal sebagai salah satu tetua persilangan sangat dianjurkan guna mendapatkan gen-gen sifat unggul dan untuk memperluas latar belakang genetik varietas unggul yang akan dihasilkan (Sitaesmi *et al.*, 2013). Pemanfaatan padi lokal yang telah terkarakterisasi dan dievaluasi perlu lebih ditingkatkan dan diintegrasikan dengan program pemuliaan (Silitonga, 2004; Sumarno dan Zuraida, 2008). Di antara beberapa sifat penting dalam program pemuliaan padi, sifat tahan terhadap hama dan penyakit tanaman (HPT) dimiliki oleh banyak padi lokal dan padi liar (Daradjat *et al.*, 2009; Hairmansis *et al.*, 2015). Tercatat sebanyak 456 aksesori padi lokal asal Indonesia yang telah dipublikasikan memiliki gen ketahanan terhadap HPT (Sitaesmi *et al.*, 2013).

HPT merupakan cekaman biotik yang dapat menurunkan produksi, bahkan dapat menyebabkan gagal panen. Wereng batang cokelat (WBC), tungro, blas, dan hawar daun bakteri (HDB) merupakan HPT utama yang dapat menyebabkan tanaman padi puso (Baehaki dan Mejaya, 2014; Kadir *et al.*, 2009; Nasution dan Usyati, 2015; Susilawati, 2014). HPT tersebut dapat diatasi secara efektif dan efisien dengan pendekatan penggunaan varietas unggul tahan HPT (Nafisah *et al.*, 2006; Sudir *et al.*, 2013).

Informasi karakter fenotipik plasma nutfah padi lokal perlu dilengkapi dengan informasi genotipik. Salah satunya adalah informasi kekerabatan dan jarak genetik. Informasi ini penting dalam penentuan tetua persilangan berkerabat jauh karena padi lokal yang berasal dari daerah yang sama dapat berkerabat jauh ataupun dekat. Seperti halnya hasil penelitian Susilawati *et al.* (2014), diperoleh empat genotipe plasma nutfah padi asal Jawa Tengah dengan nama yang berbeda, namun memiliki jarak genetik yang dekat. Hasil penelitian Sajak *et al.* (2013) menunjukkan Pare Lea dan Pare Bumbungan asal Tana Toraja memiliki jarak genetik yang dekat. Penelitian Rusdiansyah dan Intara (2015) menunjukkan tingkat kemiripan paling dekat antarpadi lokal, sebesar 80%. Dengan demikian, penyediaan informasi jarak genetik padi lokal yang berasal dari satu daerah ataupun berbeda daerah sangat penting untuk diketahui.

Teknologi marka dapat digunakan sebagai alat bantu untuk menjelaskan keragaman genetik, klasifikasi, dan jarak genetik plasma nutfah padi. Di antara banyak teknologi marka molekuler, marka mikrosatelit atau *simple sequence repeat* (SSR) paling banyak

digunakan untuk analisis kekerabatan karena kelebihannya yang lebih efisien dibanding dengan analisis molekuler lainnya (Garris *et al.*, 2005). Selain itu, ribuan marka SSR yang tersebar rapat di seluruh bagian genom tanaman padi telah diteliti dan divalidasi (Zhonghua *et al.*, 2007).

Marka-marka SSR dapat digunakan, baik untuk mendeteksi perbedaan antarvarietas maupun untuk mencirikan varietas (Moeljopawiro, 2010; Susanto *et al.*, 2015), seleksi *background* dengan *marker-assisted backcrossing* (MAB) untuk ketahanan terhadap defisiensi hara (Prasetiyono *et al.*, 2008), seleksi ketahanan terhadap hama penyakit (Tasliyah *et al.*, 2015), untuk evaluasi galur-galur berumur genjah (Prasetiyono *et al.*, 2014), dan untuk evaluasi eksersi stigma (Miyata *et al.*, 2007). Teknologi ini memberikan hasil yang cepat, efektif, akurat, dan telah banyak diaplikasikan pada komoditas padi, di antaranya keragaman 330 varietas tradisional Indonesia (Thomson *et al.*, 2007), keragaman genetik padi lokal (*landrace*) Brasil berdasarkan marka SSR putatif (Borba *et al.*, 2009), keragaman 96 aksesori plasma nutfah padi terkait umur genjah (Utami *et al.*, 2011), kekerabatan 26 varietas unggul baru asal Indonesia (Susanto *et al.*, 2014), dan keragaman genetik beras berwarna berdasarkan marka terkait sifat warna beras (Kristantini *et al.*, 2014; Patel *et al.*, 2014; Suzuki *et al.*, 2004; Utami *et al.*, 2009), serta keragaman daun padi liar (Dechkrong *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan mengetahui kekerabatan dan jarak genetik beberapa plasma nutfah padi lokal yang telah teridentifikasi secara fenotipik tahan terhadap beberapa jenis HPT berdasarkan analisis polimorfisme beberapa marka SSR.

BAHAN DAN METODE

Materi Penelitian

Materi genetik yang digunakan adalah enam belas plasma nutfah padi yang terdiri atas lima belas padi lokal unggul hasil skrining ketahanan terhadap beberapa HPT dari kegiatan DIPA TA 2014 dan varietas populer Ciharang (Tabel 1). Analisis marka yang digunakan adalah analisis marka SSR yang dipilih berdasarkan hasil amplifikasi PCR. Sebanyak delapan belas marka teramplifikasi dengan baik pada kegiatan survei polimorfisme. Marka yang polimorfis dan memiliki pola pita yang jelas untuk analisis keragaman tersebut ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Materi genetik yang digunakan dalam penelitian.

No. aksesori	Aksesori/varietas	Asal provinsi (<i>origin</i>)	Tahun koleksi	Subspesies/golongan	Sifat unggul*
33	Bandang Si Gadis	Sumatera Utara	2013	<i>indica</i>	Tahan blas ras 133 dan 173
268	Siawak	Bengkulu	2013	<i>indica</i>	Tahan blas ras 073 dan 133
289	Takong	Kalimantan Timur	2013	<i>indica</i>	Tahan blas daun kondisi lapangan
519	Beronaja	Banten	2013	<i>indica</i>	Tahan virus tungro strain 033
582	Jawa Wangi Sleman	DI Yogyakarta	2013	<i>indica</i>	Tahan blas ras 033
6966	Gadis Langsung	Kalimantan Timur	2013	<i>indica</i>	Tahan HDB patotipe III stadia generatif
7786	Kebo	Jawa Barat	2013	<i>indica</i>	Tahan blas ras 073
7787	Marahmay	Banten	2013	<i>indica</i>	Tahan blas daun kondisi lapangan dan toleran sulfat masam
2720	Ampek Panjang	Sumatera Barat	2013	<i>indica</i>	Tahan HDB patotipe III stadia vegetatif
502	Ase Bukne	Sulawesi Tengah	2013	<i>javanica</i>	Tahan blas ras 033, 073, dan 133
793	Ase Balucung	Sulawesi Selatan	2013	<i>javanica</i>	Tahan HDB patotipe III stadia vegetatif dan generatif
7928	Pare Lottong	Sulawesi Selatan	2013	<i>javanica</i>	Tahan virus tungro strain 033
7929	Pare Pulu	Sulawesi Selatan	2013	<i>javanica</i>	Tahan virus tungro strain 073
7944	Jadul	Kalimantan Tengah	2013	<i>japonica</i>	Tahan WBC biotipe 3
458	Kapas Ciherang (Varietas populer)	Jawa Barat	2013	<i>japonica</i>	Tahan blas daun kondisi lapangan dan blas ras 073
		-	2000	<i>indica</i>	Varietas populer tahan WBC biotipe 1 dan 3, tahan HDB patotipe III dan IV

*Hasil karakterisasi fenotipik dari kegiatan DIPA Plasma Nutfah TA 2013.

Tabel 2. Daftar marka SSR dan karakter yang terpaut.

Marka SSR	Kromosom	Urutan basa nukleotida	Karakter yang diduga terpaut	Referensi
RM259	1	F: CTTGTTGCATGGTGCCATGT R: TGGAGTTTGAGAGGAGGG	Jumlah malai	Gramene (2006)
RM1287	1	F: GTGAAGAAAGCATGGTAAATG R: CTCAGCTTGCTTGTGGTTAG	Toleransi salinitas	Thomson <i>et al.</i> (2010)
RM315	1	F: GAGGACTTCCTCCGTTTCAC R: AGTCAGCTCACTGTGCAGTG	Pemulih kesuburan (gen <i>Rf3</i>)	Gramene (2006)
RM443	1	F: GTGGTTTTTCATCGGCTACG R: AGTCCCAGAATGTCGTTTCG	Toleransi salinitas	Kabir <i>et al.</i> (2008)
RM250	2	F: GGTTCAAACCAAGACTGATCA R: GATGAAGGCCTTCCACGCAG	Ketahanan terhadap WBC	Chaerani <i>et al.</i> (2014)
RM282	3	F: CTGTGTCGAAAGGCTGCAC R: CAGTCCGTGTTGCAGCAAG	Bobot bulir	Guo <i>et al.</i> (2009)
RM6308	3	F: TCGACCTGGCTCTCCTCTAG R: TATCAACCTGCTCCTCCTGG	Panjang stigma	Liu <i>et al.</i> (2015)
RM261	4	F: CTACTTCTCCCCTTGTGTGCG R: TGTACCATCGCCAAATCTCC	Ketahanan terhadap WBC (<i>Bph14</i>)	Yang <i>et al.</i> (2002)
RM241	4	F: GAGCCAAATAAGATCGCTGA R: TGCAAGCAGCAGATTTAGTG	Tinggi tanaman	Susanto <i>et al.</i> (2015)
RM8213	4	F: AGCCCAGTGATACAAAGATG R: GCGAGGAGATACCAAGAAAG	Ketahanan terhadap WBC (<i>Bph17</i>)	Sun <i>et al.</i> (2005)
RM510	6	F: AACCGGATTAGTTTCTCGCC R: TGAGGACGACGAGCAGATTC	Konsistensi gel	Susanto <i>et al.</i> (2015)
RM190	6	F: CTTTGTCTATCTCAAGACAC R: TTGCAGATGTTCTTCCTGATG	Gen <i>Waxi</i>	Chen <i>et al.</i> (2008)
RM248	7	F: TCCTTGTGAAATCTGGTCCC R: GTAGCCTAGCATGGTGCATG	Pertumbuhan akar	Selvi <i>et al.</i> (2015)
RM3701	11	F: GAGCTAGAGGGAGGAGGTGC R: TTGACTGATAGCCGATTGGG	Panjang malai	Gramene (2006)
RM5953	12	F: AAACTTTCTGTGATGGTATC R: ATCCTTGTCTAGAATTGACA	Ketahanan terhadap WBC (<i>Bph17</i> dan <i>Bph20</i>)	Sun <i>et al.</i> (2005)
AMs	2	F: CTCCAAGGACCCCATCCT R: CCCAACATCTCCGTCAGAAT	Rasa dan aroma	Lestari <i>et al.</i> (2009), Lestari dan Koh (2013)
CBG	10	F: AGCTCCCTAATGGCTTCGT R: ATTTGCCAACTTTTGGATGG	Rasa dan aroma	Lestari <i>et al.</i> (2009)
GPA	11	F: AATACGCGCCTTCTCCTAT R: TTGATCCGAATGGGTCAAAT	Rasa dan aroma	Lestari <i>et al.</i> (2009)

Isolasi DNA Plasma Nutfah Padi

Enam belas genotipe plasma nutfah padi disemai dan sampel daun mudanya diambil pada umur 21 hari setelah semai (HSS), sebanyak lima helai daun masing-masing. Isolasi DNA dilakukan dengan metode CTAB, berdasarkan metode Murray dan Thompson (1980) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan karena proses penggerusan sampel tidak menggunakan nitrogen cair. Modifikasi dilakukan dengan penambahan bufer CTAB 2× sebanyak 800 µl secara bertahap (400 µl pada penggerusan pertama, 400 µl pada penggerusan kedua). Pelet hasil isolasi dilarutkan dalam 200 µl bufer TE dan siap menjadi *stock solution* DNA.

Pengecekan Kuantitas dan Kualitas DNA Sampel

Pengujian kuantitas dan kualitas DNA sampel dilakukan dengan mesin spektrofotometer Nanodrop (Thermo Scientific™, USA). Sampel yang digunakan sebanyak 2 µl per sampel DNA yang telah dilarutkan dalam 200 µl bufer TE. Kualitas DNA dilihat pada panjang gelombang 260/280.

Reaksi PCR dan Elektroforesis

Reaksi PCR materi sidik jari DNA diaplikasikan menggunakan delapan belas marka SSR terpilih. *Cocktail* PCR dibuat dalam volume 25 µl, terdiri atas 50 ng sampel DNA, 0,25 µM baik primer *forward* maupun *reverse*, dNTPs 100 µM masing-masing, bufer PCR 1× (Tris 20 mM [pH 8,3], KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM, dan gelatin 0,01%), dan 0,5 unit Taq DNA polimerase. Profil reaksi PCR adalah 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 35 kali siklus 94°C selama 1 menit, *annealing* pada 55°C atau 61°C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 2 menit, selanjutnya ekstensi terakhir pada 72°C selama 5 menit. Produk PCR dielektroforesis pada gel poliakrilamida 8% (37 ml ddH₂O, 2,5 ml TBE 10×, 10 ml akrilamida 40%, 500 µl APS 10%, dan 41,5 µl TEMED) pada tegangan 100 volt selama 60 menit dalam bufer TBE 1×. *Loading dye* diberikan sebagai pemberat dan penanda pergerakan DNA. 1 kb DNA *ladder* disertakan sebagai ukuran fragmen sampel DNA.

Analisis Data Pita DNA

Pola pita DNA pada gel poliakrilamida didokumentasi dengan visualisasi *gel doc/UV transilluminator*. Skoring terhadap pita-pita marka SSR yang terbentuk dilakukan dengan bantuan Ms. Excel. Data berupa data biner, yaitu skor 1 bila pita ada dan 0 bila pita tidak ada. Data yang diolah adalah konversi dari data biner ke dalam data bentuk

heterozigot. Data pola pita hasil skoring dianalisis menggunakan program PowerMarker versi 3.23 (Liu dan Muse, 2005). Hasil olah data di antaranya adalah profil keragaman alel berdasarkan sidik jari DNA delapan belas marka SSR, yaitu jumlah alel per lokus, frekuensi alel mayor, keragaman alel, dan nilai *polymorphism information content* (PIC) marka SSR. Selanjutnya adalah konstruksi filogram/pohon kekerabatan antaraksesi dan pengukuran koefisien jarak genetik berdasarkan data frekuensi alel.

Secara matematis, penghitungan nilai PIC adalah sebagai berikut (Liu dan Muse, 2005).

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

dengan P_{ij} = frekuensi alel j pada lokus i dan n = jumlah alel pada lokus.

Koefisien jarak genetik direpresentasikan dengan nilai jarak geometri berdasarkan Nei dan Takezaki (1983) dalam Takezaki dan Nei (1996). Penghitungan ini dilakukan dengan asumsi tidak ada mutasi dan semua perubahan frekuensi alel terjadi karena penyimpangan genetik.

$$D_A = 1 - \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \sum_{t=1}^{q_j} \sqrt{p_{ij}q_{tj}}$$

dengan D_A = koefisien jarak genetik, p_{ij} = frekuensi alel i pada lokus j pada populasi P , q_{tj} = frekuensi alel t pada lokus j pada populasi Q , m = jumlah lokus yang diperiksa, dan q_j = jumlah alel pada lokus j .

HASIL DAN PEMBAHASAN

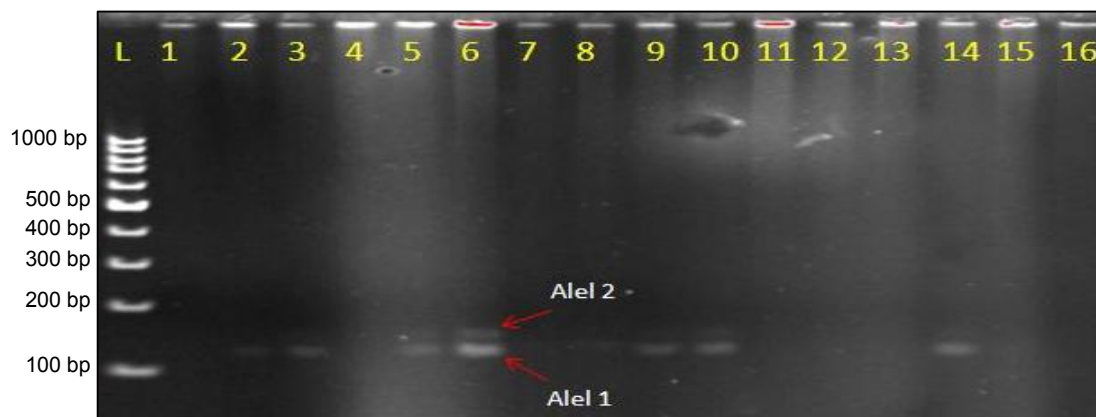
Analisis Polimorfisme Marka SSR

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir semua aksesori padi lokal yang digunakan memiliki sidik jari DNA atau identitas genetik yang unik. Dari hasil analisis menggunakan delapan marka SSR pada enam belas aksesori padi, terdeteksi 77 alel dengan kisaran antara 2–8 alel per lokus. Keragaman alel (*gene diversity*) rata-rata sebesar 0,6207 (Tabel 3). Hal ini mengindikasikan kedelapan belas marka SSR yang digunakan mampu menjelaskan >50% keragaman genetik enam belas aksesori yang dianalisis. Sementara itu, berdasarkan nilai frekuensi alel mayor/dominan, diperoleh nilai frekuensi alel dominan (0,8215) pada marka RM443 yang mendeteksi dua macam alel (Gambar 1).

Untuk kepentingan analisis keragaman genetik dan kekerabatan plasma nutfah koleksi, nilai PIC marka SSR yang digunakan sangat penting untuk diketahui. Marka molekuler yang polimorfis atau dapat menghasilkan pola pita yang beragam antarvarie-

Tabel 3. Profil keragaman alel yang terdeteksi berdasarkan sidik jari DNA menggunakan delapan belas marka SSR.

Marka	Jumlah alel per lokus	Frekuensi alel	Keragaman alel	PIC
RM259	3	0,4667	0,6400	0,5679
RM1287	3	0,6000	0,5600	0,4992
RM315	5	0,4286	0,6505	0,5860
RM443	2	0,8125	0,3047	0,2583
RM250	6	0,4667	0,7089	0,6736
RM282	3	0,5882	0,5692	0,5069
RM6308	4	0,3214	0,6888	0,6239
RM261	3	0,5000	0,5762	0,4864
RM241	3	0,5000	0,5293	0,4185
RM8213	8	0,1786	0,8571	0,8404
RM510	6	0,3571	0,7526	0,7137
RM190	5	0,4231	0,7160	0,6717
RM248	5	0,3000	0,7750	0,7386
RM3701	6	0,3824	0,7647	0,7332
RM5953	2	0,6000	0,4800	0,3648
Ams	2	0,6667	0,4444	0,3457
GPA	2	0,7273	0,3967	0,3180
CBG	5	0,3125	0,7578	0,7168
Rerata	4,06	0,4795	0,6207	0,5591

**Gambar 1.** Produk PCR dengan marka RM443 pada enam belas plasma nutfah padi. L = 1 kb DNA *ladder*, 1 = Bandang Si Gadis, 2 = Jadul, 3 = Siawak, 4 = Takong, 5 = Kapas, 6 = Ase Bukne, 7 = Beronaja, 8 = Jawa Wangi Sleman, 9 = Pare Lottong, 10 = Pare Pulu, 11 = Marahmay, 12 = Gadis Langsung, 13 = Kebo, 14 = Ase Balucung, 15 = Ampek Panjang, 16 = Ciherang.

tas/aksesi plasma nutfah adalah lebih baik daripada marka molekuler yang bersifat monomorfik/pola pita sama antarvarietas/aksesi untuk kegiatan analisis kekerabatan plasma nutfah. Berdasarkan hasil analisis PIC dengan PowerMarker, RM8213 merupakan marka SSR yang memiliki nilai PIC paling tinggi. Marka ini terkait ketahanan terhadap WBC dan memiliki sifat polimorfisme yang tinggi (Pertiwi *et al.*, 2014). Nilai PIC rata-rata delapan belas marka adalah 0,5991 dengan kisaran nilai PIC antara 0,2583–0,7168. Hal tersebut mengindikasikan bahwa marka SSR yang digunakan mampu mendeteksi polimorfisme dalam suatu populasi sebesar 25,82–71,68%. Tingkat keinformatifan marka ditentukan oleh nilai PIC (Weir, 1996). Semakin tinggi nilai PIC, semakin informatif hasil amplifikasi DNA dengan marka tersebut (Anderson *et al.*, 1993). Nilai PIC >0,50 adalah nilai yang diharapkan untuk identifikasi sidik jari DNA. Kristamtini *et al.*

(2014) melaporkan bahwa nilai PIC yang menggambarkan diversitas dan frekuensi alel antara aksesori padi yang diamati juga menunjukkan variasi alel antarlokus.

Analisis Kekerabatan

Hasil analisis kekerabatan menunjukkan filogram membentuk tiga kluster yang terlihat jelas pemisahannya. Kluster 1 terdiri atas Gadis Langsung, Kebo, Bandang Si Gadis, Ciherang, Jawa Wangi Sleman, Marahmay, Takong, Ampek Panjang, Beronaja, dan Siawak. Kluster 2 terdiri atas Ase Balucung, Ase Bukne, Jadul, Pare Lottong, dan Pare Pulu. Kluster 3 terdiri atas varietas lokal Kapas (Gambar 2).

Berdasarkan hasil analisis kekerabatan (Gambar 2) dan dikaitkan dengan data Tabel 1, diketahui

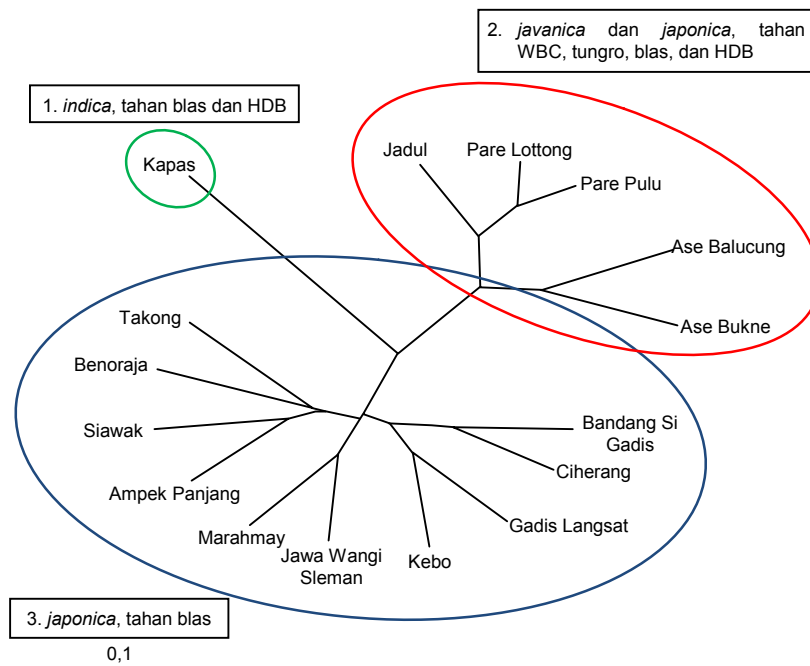
bahwa klaster yang terbentuk terdiri atas aksesi yang memiliki sifat ketahanan berbeda. Klaster 1 didominasi oleh aksesi yang memiliki sifat unggul tahan blas. Semua aksesi yang memiliki sifat tahan blas dalam penelitian ini termasuk subspecies *indica*. Diduga bahwa sifat ketahanan terhadap penyakit blas mayoritas terdapat pada padi lokal subspecies *indica*. Selain blas, terdapat aksesi yang tahan terhadap HDB, seperti Ampek Panjang dan Bandang Si Gadis. Klaster 2 beranggotakan aksesi-aksesi subspecies *japonica* dan *javanica* tahan WBC, tungro, blas, dan HDB. Hal yang menjadi perhatian pada Klaster 2 adalah bahwa klaster ini terdiri atas padi-padi asal pulau Sulawesi, seperti Ase Bukne, Ase Belacung, Pare Lottong, dan Pare Pulu. Padi-padi lokal tersebut diduga memiliki keunikan genetik terhadap penyakit tungro. Klaster 3 diisi oleh hanya satu aksesi yang memiliki ketahanan terhadap blas daun ras 073 pada kondisi lapangan, yaitu Kapas. Padi lokal Kapas tergolong sub spesies *japonica*.

Sebagai informasi tambahan, bentuk gabah Jadul lebih mirip dengan Kapas, yaitu bulat seperti cere dan berdasarkan karakterisasi fenotipik, dua aksesi ini tergolong subspecies *japonica*, namun berada dalam klaster yang berbeda. Dengan demikian, dua aksesi yang memiliki fenotipe bentuk gabah atau karakter lain yang sama/mirip belum tentu berada dalam satu klaster. Hal yang menarik, Jadul merupakan aksesi yang tergolong subspecies *japonica*, namun berada dalam satu klaster dengan

Ase Bukne, Ase Belacung, Pare Lottong, dan Pare Pulu yang tergolong dalam subspecies *javanica* (*tropical japonica*). Terdapat kemungkinan aksesi lokal Jadul telah beradaptasi di lingkungan tropis (Kalimantan Tengah) sehingga memiliki keragaman alel yang lebih mirip dengan *gene pool javanica* (*tropical japonica*) dibanding dengan *japonica*.

Aksesi-aksesi yang berasal dari lokasi adaptasi yang sama (wilayah/provinsi sama) memiliki jarak genetik yang dekat. Aksesi Ase Bukne, Ase Belacung, Pare Lottong, dan Pare Pulu berada dalam satu klaster. Empat aksesi ini memiliki jarak genetik dekat satu dengan lainnya dengan nilai PIC <0,40. Keempatnya memiliki umur yang dalam (Yunani *et al.*, 2014), berasal dari subspecies *javanica*, dan dari wilayah/provinsi yang sama, yaitu Sulawesi Selatan sehingga besar kemungkinan empat aksesi ini berasal dari satu kerabat. Berdasarkan laporan Sajak *et al.* (2013), 86,6% padi lokal yang berada di Sulawesi Selatan memiliki kemiripan genetik yang tinggi, dengan tingkat kemiripan tertinggi sebesar 0,84 (tingkat perbedaan 0,16). Aksesi Takong dan Gadis Langsung berasal dari Kalimantan Timur, memiliki jarak genetik dekat, dan berada dalam klaster yang sama. Demikian pula dengan aksesi Beronaja dan Marahmay yang berasal dari Banten dan berada dalam satu klaster.

Analisis koefisien jarak genetik menunjukkan bahwa jarak genetik yang sangat beragam dengan



Gambar 2. Filogram/pohon kekerabatan beberapa plasma nutfah unggul tahan HPT koleksi BB Padi berdasarkan data polimorfisme delapan belas marka SSR.

kisaran antara 0,098–0,816. Koefisien jarak genetik paling jauh dimiliki antara Pare Pulu dan Ampek Panjang, sebesar 0,816. Artinya, Pare Pulu memiliki perbedaan genetik sebesar 81,6% terhadap Ampek Panjang. Jarak genetik terjauh kedua dan ketiga adalah antara Kapas dan Beronaja sebesar 0,755 dan antara Kapas dan Pare Lottong sebesar 0,753. Kekerabatan paling dekat dimiliki antara Pare Pulu dan Pare Lottong dengan jarak genetik 0,139 yang artinya perbedaannya hanya sebesar 13,9% (Tabel 4). Pabendon *et al.* (2009) melaporkan bahwa terdapat korelasi antara jarak genetik dan nilai heterosis hasil persilangan. Hasil persilangan dua tetua genotipe jagung dengan jarak genetik $>0,7$ akan menghasilkan nilai heterosis yang lebih tinggi dibanding dengan hasil persilangan dua tetua dengan jarak genetik $<0,7$.

Persilangan antartetua yang memiliki jarak genetik yang jauh kemungkinan besar akan menghasilkan keturunan yang memiliki tingkat keragaman yang tinggi dan terdapat peluang untuk memperoleh galur keturunan yang memiliki sifat unggul lebih baik daripada kedua tetuanya (heterosis). Melchinger dan Gamber (1998) melaporkan bahwa heterosis akan meningkat bila kedua tetua yang disilangkan memiliki jarak genetik lebih jauh. Pabendon *et al.* (2010) melaporkan bahwa nilai jarak genetik berdasarkan marka molekuler bermanfaat dalam menyaring sejumlah besar inbrida, yaitu berdasarkan nilai jarak genetik antara inbrida yang diuji dengan inbrida pengujinya sehingga dapat mengurangi materi pengujian. Namun demikian, menurut Mulsanti *et al.* (2013), pengaruh heterosis pada padi dikendalikan oleh banyak gen sehingga heterosis tidak cukup diterangkan hanya melalui jarak genetik. Akan tetapi, pemulia dapat memanfaatkan plasma nutfah dengan jarak genetik yang jauh sehingga pilihan galur-galur lebih banyak.

Ampek Panjang memiliki keunggulan tahan HDB patotipe III stadia vegetatif dan Pare Pulu memiliki

sifat ketahanan terhadap penyakit tungro. Persilangan antara dua aksesori ini sangat baik dalam merakit padi tahan HDB dan tungro. Koefisien jarak genetik dua aksesori ini sangat jauh sehingga peluang memperoleh keragaman genetik akan besar dan pada akhirnya akan meningkatkan efektivitas seleksi pada tahap pemuliaan selanjutnya.

Dalam penelitian ini dianalisis juga kekerabatan aksesori padi lokal dengan varietas populer Ciherang. Ciherang paling dekat kekerabatannya dengan aksesori Bandang Si Gadis. Koefisien jarak genetik antara Ciherang dan Bandang Si Gadis adalah 0,281 atau terdapat perbedaan sebesar 28,1%. Koefisien jarak genetik terjauh adalah dengan Ase Balucung dan Ase Bukne, berturut-turut sebesar 0,699 dan 0,622. Berdasarkan hasil penelitian ini, perakitan varietas unggul padi dengan sifat ketahanan terhadap semua penyakit utama dapat diperoleh dengan menyilangkan Ciherang dengan Ase Bukne. Ciherang merupakan varietas populer dan sangat diminati, baik oleh petani maupun pedagang beras, memiliki sifat tahan terhadap WBC biotipe 1 dan 3, serta tahan HDB. Kelemahan varietas ini adalah rentan terhadap penyakit blas. Tambahan sifat ketahanan terhadap tiga ras blas dari Ase Bukne dapat diperoleh melalui *backcross* dengan Ciherang sebagai tetua betina. Dua genotipe ini terdapat dalam klaster yang berbeda sehingga peluang memperoleh keragaman genetik keturunan akan besar guna memperoleh hasil seleksi selanjutnya yang efektif.

Analisis marka SSR merupakan salah satu alat bantu untuk menunjang kegiatan pemuliaan, terutama dalam penentuan tetua persilangan yang diharapkan memberikan keturunan dengan tingkat keragaman yang sangat tinggi dan nilai keragaman agronomis yang lebih baik daripada tetuanya (heterosis). Dengan alat bantu ini, penentuan tetua dapat dibuat dengan melihat jarak genetiknya. Sebelumnya, direkomendasikan oleh Pabendon *et al.*

Tabel 4. Koefisien jarak genetik antarplasma nutfah unggul berdasarkan delapan belas marka SSR dengan metode Nei dan Takezaki (1983).

OTU	Ase Balucung	Ampek Panjang	Ase Bukne	Bandang Si Gadis	Beronaja	Ciherang	Gadis Langsat	Jadul	Jawa Wangi Sleman	Kapas	Kebo	Marahmay	Pare Lottong	Pare Pulu	Siawak	Takong
A. balucung	0,000															
Ampek Panjang	0,613	0,000														
Ase bukne	0,287	0,679	0,000													
B. Si Gadis	0,691	0,636	0,692	0,000												
Beronaja	0,731	0,446	0,692	0,481	0,000											
Ciherang	0,699	0,566	0,622	0,281	0,608	0,000										
Gadis Langsat	0,667	0,417	0,649	0,343	0,329	0,390	0,000									
Jadul	0,545	0,708	0,353	0,588	0,550	0,663	0,618	0,000								
Jwsleman	0,643	0,353	0,679	0,500	0,357	0,468	0,390	0,545	0,000							
Kapas	0,584	0,650	0,549	0,755	0,722	0,699	0,629	0,618	0,600	0,000						
Kebo	0,568	0,486	0,487	0,523	0,449	0,328	0,308	0,484	0,500	0,691	0,000					
Marahmay	0,700	0,464	0,686	0,529	0,429	0,378	0,417	0,625	0,320	0,663	0,438	0,000				
Pare Lottong	0,375	0,664	0,362	0,691	0,654	0,552	0,638	0,206	0,464	0,753	0,599	0,620	0,000			
Pare Pulu	0,363	0,816	0,378	0,636	0,591	0,549	0,663	0,292	0,583	0,663	0,592	0,715	0,139	0,000		
Siawak	0,611	0,292	0,643	0,382	0,358	0,365	0,441	0,654	0,375	0,549	0,472	0,592	0,649	0,557	0,000	
Takong	0,599	0,382	0,561	0,371	0,353	0,448	0,409	0,550	0,435	0,676	0,348	0,449	0,676	0,682	0,375	0,000

OTU = observed taxonomy units/unit taksonomi teramat.

Tabel 5. Rekomendasi tetua persilangan berdasarkan koefisien jarak genetik > 0,7.

Tetua persilangan	Koefisien jarak genetik	Tujuan perbaikan karakter
Ampek Panjang/Pare Pulu	0,816	Tahan tungro dan HDB
Jadul*/Ampek Panjang	0,708	Beras hitam*, tahan WBC dan HDB
Beronaja/Ase Balucung	0,731	Tahan tungro dan HDB
Beronaja/Kapas	0,722	Tahan tungro dan blas daun
Kapas/Bandang Si Gadis	0,755	Tahan blas ras 073,133, dan 173
Kapas/Padi Lottong	0,753	Tahan tungro dan blas daun
Marahmay*/Ase Balucung	0,700	Tahan blas dan HDB, toleran sulfat masam*
Marahmay*/Pare Pulu	0,715	Tahan tungro dan blas, toleran sulfat masam*

*Informasi tambahan sifat unggul (Yunani *et al.*, 2014).

(2009) bahwa pemilihan tetua pada jagung adalah yang memiliki jarak genetik >0,7. Oleh sebab itu, berdasarkan analisis kekerabatan penelitian ini, direkomendasikan beberapa pemilihan tetua persilangan berdasarkan jarak genetik (Tabel 5). Rekomendasi tetua persilangan ditujukan untuk perbaikan sifat ketahanan terhadap HPT utama pada padi. Terdapat persilangan yang ditujukan untuk pembentukan varietas fungsional beras hitam tahan WBC dan HDB. Aksesori Marahmay yang memiliki sifat unggul tambahan, yaitu toleran sulfat masam dapat disilangkan dengan Ase Balucung dan Pare Pulu untuk pembentukan varietas adaptif lahan-lahan rawa dan tahan tungro, blas, dan HDB.

Pemilihan tetua persilangan yang memiliki jarak genetik yang jauh memungkinkan munculnya *transgressive segregation* pada progeni/keturunan yang dihasilkan. *Transgressive segregation* adalah pola segregasi dengan keturunan yang dihasilkan memiliki sifat unggul melebihi dua tetuanya (Sanchez *et al.*, 2014). Progeni persilangan generasi awal (F_2 – F_4) yang memiliki pola transgresif disebut segregan transgresif. Rekomendasi tetua persilangan pada Tabel 5 diharapkan dapat dijadikan referensi untuk memperoleh segregan transgresif sehingga peluang diperolehnya keturunan yang memiliki sifat unggul tahan terhadap HPT melebihi tetuanya akan semakin besar. Peluang terbesar diperolehnya segregan transgresif adalah keturunan Ampek Panjang \times Pare Pulu karena jarak genetik yang paling jauh dibanding dengan pasangan lainnya. Beberapa varietas hasil perakitan yang mendasarkan pemilihan tetua persilangannya berdasarkan pemilihan tetua persilangan yang jauh memiliki sifat unggul, seperti potensi hasil yang tinggi, sifat tahan terhadap penyakit, dan sifat lainnya yang lebih baik dibanding dengan tetuanya. Seperti contohnya yang disampaikan Sanchez *et al.* (2014) bahwa MTL 98 dari Vietnam memiliki sifat unggul sangat tahan terhadap WBC melebihi tetuanya yang merupakan keturunan dari dua tetua berjarak genetik sangat jauh, yaitu *Oryza sativa* \times *O. officinalis* (spesies liar) dan Matatag 9 dari Filipina (sifat unggul sangat tahan tungro) hasil persilangan *O. sativa* \times *O. rufipogon*

(spesies liar). Dari hasil penelitian Utami *et al.* (2006) diperoleh tanaman F_2 hasil persilangan IR64 \times *O. rufipogon* yang superior tahan blas ras 001. Nugraha dan Suwarno (2007) memperoleh beberapa segregan transgresif pada keturunan Basmati \times IR36 pada karakter pemanjangan nasi.

KESIMPULAN

Kekerabatan beberapa aksesori padi lokal tahan HPT berdasarkan analisis polimorfisme marka SSR menghasilkan tiga klaster yang terpisah jelas. Klaster 1 terdiri atas aksesori-aksesori golongan subspecies *indica* tahan blas dan HDB, yaitu Gadis Langsung, Kebo, Bandang Si Gadis, Ciherang, Jawa Wangi Sleman, Marahmay, Takong, Ampek Panjang, Beronaja, dan Siawak. Klaster 2 terdiri atas aksesori-aksesori golongan subspecies *javanica* dan *japonica* tahan WBC, tungro, blas, dan HDB, yaitu Ase Balucung, Ase Bukne, Pare Lottong, Pare Pulu, dan Jadul. Klaster 3 terdiri atas aksesori golongan subspecies *japonica* tahan blas, yaitu Kapas. Kekerabatan paling jauh dimiliki antara Pare Pulu dan Ampek Panjang dengan koefisien jarak genetik 0,816 (persentase perbedaan 81,6%) dan paling dekat adalah antara Pare Pulu dan Pare Lottong dengan jarak genetik 0,139 (persentase perbedaan 13,9%). Data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi dalam penentuan tetua yang akan digunakan dalam program pemuliaan tanaman perbaikan varietas padi lokal Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah membiayai penelitian ini melalui anggaran DIPA TA 2014.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, J.A., G.A. Churcil, J.E. Autricue, S.D. Tanskley, and M.E. Sorles. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage map. *Genome* 36:181–186.

- Baehaki, S.E. dan I.M.J. Mejaya. 2014. Wereng cokelat sebagai hama global bernilai ekonomi tinggi dan strategi pengendaliannya. *IPTEK Tanaman Pangan* 9(1):1–12.
- Borba, T.C. de O., C. dos A. Mendes, É.P. Guimarães, T.O. Brunes, J.R. Fonseca, R.V. Brondani, and C. Brondani. 2009. Genetic variability of Brazilian rice landraces determined by SSR markers. *Pesq. Agropec. Bras.* 44(7):706–712.
- Chaerani, D.W. Utami, N. Hidayatun, B. Abdullah, dan B. Suprihatno. 2014. Asosiasi antara marka SSR dengan ketahanan terhadap wereng batang cokelat pada varietas dan calon galur harapan padi. *Entomologi Indonesia* 11(1):43–52.
- Chen, M.H., C. Bergman, S. Pinsona, and R. Fjellstroma. 2008. *Waxy* gene haplotypes: Associations with apparent amylose content and the effect by the environment in an international rice germplasm collection. *J. Cereal Sci.* 47:536–545.
- Daradjat, A.A., S. Silitonga, dan Nafisah. 2009. Ketersediaan plasma nutfah untuk perbaikan varietas padi. Dalam: AA. Daradjat, A. Setyono, A.K. Makarim, dan A. Hasanudin, editor, *Inovasi Teknologi Padi Mengantisipasi Perubahan Iklim Global Mendukung Ketahanan Pangan*, Buku 1. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Padi 2008. hlm. 1–27.
- Dechkrong P., T. Yoshikawa, and J.I. Itoh. 2015. Morphological and molecular dissection of leaf development in wild-type and various morphogenetic mutants in rice. *Am. J. Plant Sci.* 6:1215–1232.
- Garris, A.J., T.H. Tai, J.R. Coburn, S. Kresovich, and S.R. McCouch. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631–1638.
- Gramene. 2006. *Oryza* taxonomy. http://www.gramene.org/species/oryza/rice_taxonomy.html (accessed July 21, 2016).
- Guo, L., M. Lilian, J. Hua, Z. Dali, H. Jiang, W. Liwen, and G. Zhenyu. 2009. Genetic analysis and fine mapping of two genes for grain shape and weight in rice. *J. Integr. Plant Biol.* 5(1):45–51.
- Hairmansis, A., Supartopo, Yullianida, Sunaryo, Warsono, Sukirman, dan Suwarno. 2015. Pemanfaatan plasma nutfah padi (*Oryza sativa*) untuk perbaikan sifat padi gogo. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon.* 1(1):14–18.
- Kabir, M.H., M.M. Islam, S.N. Begum, and A.C. Manidas. 2008. Application of SSR technique for the identification of markers linked to salinity tolerance in rice. *Progress. Agric.* 19(2):57–65.
- Kadir, T.S., Y. Suryadi, Sudir, dan M. Machfud. 2009. Penyakit bakteri padi dan cara pengendaliannya. Dalam: AA. Daradjat, A. Setyono, A.K. Makarim, dan A. Hasanudin, editor, *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Padi 2009*. hlm. 499–530.
- Kristantini, Taryono, P. Basunanda, dan R.H. Murti. 2014. Keragaman genetik kultivar padi beras hitam lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. *J. AgroBiogen* 10(2):69–76.
- Lestari, P., T.H. Ham, H.H. Lee, M.O. Woo, W. Jiang, S.H. Chu, S.W. Kwon, K. Ma, J.H. Lee, Y.C. Cho, and H.J. Koh. 2009. PCR marker-based evaluation of the eating quality of *japonica* rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 57(7):2754–2762.
- Lestari, P. dan H.J. Koh. 2013. Evaluasi kandungan protein dan sifat pasta beras *japonica* dengan marka. *Berita Biologi* 12(2):141–152.
- Liu, K. and S.V. Muse. 2005. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21(9):2128–2129.
- Liu, Q., J. Qin, T. Li, E. Liu, D. Fan, W.M. Edzesi, J. Liu, J. Jiang, X. Liu, L. Xiao, L. Liu, and D. Hong. 2015. Fine mapping and candidate gene analysis of *qst13*, a stigma length-conditioning locus in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS ONE* 10(6):e0127938. doi:10.1371/journal.pone.0127938.
- Melchinger, A.E. and R.K. Gumber. 1998. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. In: K.R. Lamkey and J.E. Staub, editors, *Concepts and breeding on heterosis in crop plants*. Proceedings of the Plant Breeding Symposium. Indianapolis, Indiana, 3 November 1996. Crop Science Society of America and American Society of Horticultural Science. Special Publication Number 25, Madison, Wisconsin, USA. p. 29–44.
- Miyata, M., T. Yamamoto, T. Komori, and N. Nitta. 2007. Marker-assisted selection and evaluation of the QTL for stigma exertion under *japonica* rice genetic background. *Theor. Appl. Genet.* 114:539–548.
- Moeljopawiro, S. 2010. Marka mikrosatelit sebagai alternatif uji BUSS dalam perlindungan varietas tanaman padi. *Bul. Plasma Nutfah* 16(1):1–6.
- Mulsanti, I.W., M. Surahman, S. Wahyuni, dan D.W. Utami. 2013. Identifikasi galur tetua padi hibrida dengan marka SSR spesifik dan pemanfaatannya dalam uji kemurnian benih. *JPPTP* 32(1):1–8.
- Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8(19):4321–4325.
- Nafisah, A.A. Daradjat, dan H. Sembiring. 2006. Keragaman genetik padi dan upaya pemanfaatannya dalam mendukung ketahanan pangan nasional. Dalam: K. Diwyanto, editor, *Prosiding Lokakarya Nasional Pengelolaan dan Perlindungan Sumber Daya Genetik di Indonesia: Manfaat Ekonomi untuk Mewujudkan Ketahanan Nasional*. Bogor, 20 Desember 2006. hlm. 63–73.
- Nasution, A. dan N. Usyati. 2015. Observasi ketahanan varietas padi lokal terhadap penyakit blas (*Pyricularia grisea*) di rumah kaca. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon.* 1(1):19–22.
- Nugraha, Y. dan Suwarno. 2007. Pewarisan sifat pemanjangan nasi dari varietas padi lokal. *J. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 26(1):1–7.
- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, H. Aswidinnoor, dan J. Koswara. 2009. Korelasi antara jarak genetik inbrida dengan penampilan fenotipik hibrida jagung. *JPPTP* 28(2):69–76.
- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, J. Koswara, dan H. Aswidinnoor. 2010. Korelasi jarak genetik berbasis marka mikrosatelit inbrida jagung dengan bobot biji F₁. *JPPTP* 29(1):11–17.
- Patel, S., R. Ravikiran, S. Chakraborty, S. Macwana, N. Sasidharan, R. Trivedi, and B. Aher. 2014. Genetic diversity analysis of colored and white rice genotypes

- using microsatellite (SSR) and insertion-deletion (INDEL) markers. *Emir. J. Food Agric.* 26:497–507.
- Pertiwi, W., N. Carsono, dan S. Amien. 2014. Seleksi berbasis marka SSR untuk karakter ketahanan terhadap wereng coklat dan pengamatan fenotipik untuk daya hasil tinggi pada padi F_2 . *Agric. Sci. J.* 1(4):275–285.
- Prasetyono, J., H. Aswidinnoor, S. Moeljopawiro, D. Sopandie, dan M. Bustamam. 2008. Identifikasi marka polimorfik untuk pemuliaan padi toleran defisiensi fosfor. *J. AgroBiogen* 4(2):51–58.
- Prasetyono, J., A. Dadang, Ma'sumah, Tasliah, Fatimah, dan T.S. Silitonga. 2014. Evaluasi molekuler dan lapangan terhadap galur-galur padi berumur genjah dan produktivitas tinggi turunan Ciherang. *JPPTP* 34(1):13–20.
- Rusdiansyah dan Y.I. Intara. 2015. Identifikasi kultivar lokal padi sawah (*Oryza sativa*) Kalimantan Timur berdasarkan karakter agronomi dan morfologi. *Agrovigor* 8(2):8–15.
- Sajak, A., A. Masniawati, Juhriah, dan E. Tambaru. 2013. Karakterisasi morfologi malai plasma nutfah padi lokal asal Kabupaten Tana Toraja Utara, Sulawesi Selatan. <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/4119/ARTIKEL%20PUBLIKASI%20%20%28Astuti%20Sajak%20%29.pdf?sequence=1>. (diakses 20 Juli 2016).
- Sanchez, P.L., R.A. Wing, and D.S. Brar. 2014. The wild relative of rice: Genomes and genomics. In: Q. Zhang and R.A. Wing, editors, *Genetics and genomics of rice, Plant genetics and genomics: Crops and models* 5. Springer Science and Business Media, New York, USA. p. 9–25. doi:10.1007/978-1-4614-7903-1_2.
- Santoso, T.J., D.W. Utami, dan E.M. Septiningsih. 2006. Analisis sidik jari DNA plasma nutfah kedelai menggunakan markah SSR. *J. AgroBiogen* 2(1):1–7.
- Selvi, G.S.A., S. Hittalmani, and G. Uday. 2015. Root QTL pyramiding through marker-assisted selection for enhanced grain yield under low moisture stress in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Rice Res.* 4(1):1–5.
- Silitonga, T.S. 2004. Pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah padi di Indonesia. *Bul. Plasma Nutfah* 10(2):26–34.
- Sitairesmi, T., R.H. Wening, A.T. Rakhmi, N. Yunani, dan U. Susanto. 2013. Pemanfaatan plasma nutfah padi varietas lokal dalam perakitan varietas unggul. *IPTEK Tanaman Pangan* 8(1):22–30.
- Sudir, Y., A. Yogi, dan Syahri. 2013. Komposisi dan sebaran patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* di sentra produksi padi di Sumatera Selatan. *JPPTP* 32(2):98–108.
- Sumarno dan N. Zuraida. 2008. Pengelolaan plasma nutfah tanaman terintegrasi dengan program pemuliaan. *Bul. Plasma Nutfah* 14(2):57–67.
- Sun, L., C. Su, C. Wang, H. Zai, and J. Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. *Breed. Sci.* 55:391–396.
- Susanto, U., N. Anisatun, dan M.J. Mejaya. 2015. Distinguishing rice genotypes using morphological, agronomical, and molecular markers. *JPPTP* 34(2):79–88.
- Susanto, U., Satoto, N.A. Rohmah, and M.J. Mejaya. 2014. Similarity of 26 new released rice varieties and rice parental hybrids based on 36 SSR markers. *JPPTP* 33(2):71–76.
- Susilawati. 2014. Perubahan iklim dan serangan penyakit utama pada padi varietas unggul di lahan pasang surut. Dalam: M. Yasin, A. Noor, R. Galib, Suryana, E.S. Rohaeni, dan A. Hasbianto, editor, *Prosiding Seminar Nasional, Inovasi Teknologi Pertanian Spesifik Lokasi*. Banjarbaru, 6–7 Agustus 2014. BPTP Kalimantan Selatan. hlm. 187–194.
- Suzuki, M., T. Kimura, K. Yamagishi, H. Shinmoto, and K. Yamaki. 2004. Comparison of mineral contents in 8 cultivars of pigmented brown rice. *J. Jpn. Soc. Food Sci.* 51(8):424–427.
- Takezaki, N. and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144:389–399.
- Tasliah, Ma'sumah, K.R. Trijatmiko, dan J. Prasetyono. 2015. Analisis molekuler dan keragaan agronomis galur-galur padi BC_1F_1 persilangan Code \times *qTSN4* dan Code \times *qDTH8*. *J. AgroBiogen* 11(1):17–24.
- Thomson, M.J., M. de Ocampo, J. Egdane, M.A. Rahman, A.G. Sajise, D.L. Adorada, E.T. Raiz, E. Blumwald, Z.I. Seraj, R.K. Singh, G.B. Gregorio, and A.M. Ismail. 2010. Characterizing the *Salto1* quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice* 3:148–160.
- Thomson, M.J., E.M. Septiningsih, F. Suwardjo, T.J. Santoso, T.S. Silitonga, and S.R. McCouch. 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite members. *Theor. Appl. Genet.* 114:559–568.
- Utami, D.W., H. Aswidinnoor, S. Moeljopawiro, I. Hanarida, dan Reflinur. 2006. Pewarisan ketahanan penyakit blas (*Pyricularia grisea* Sacc.) pada persilangan padi IR64 dengan *Oryza rufipogon* Griff. *Hayati* 13(3):107–112.
- Utami, D.W., Kristamtini, dan Prajitno. 2009. Karakterisasi plasma nutfah padi beras merah lokal asal provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta berdasarkan karakter morfo-agronomi dan marka SSRs. *Zuriat* 20(1):10–18.
- Utami, D.W., Sutoro, N. Hidayatun, A. Risliawati, dan I. Hanarida. 2011. Keragaman genetik 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR terpaut gen pengatur waktu pembungaan (*HD genes*). *J. AgroBiogen* 7(2):76–84.
- Weir, B.S. 1996. *Genetic data analysis II: Methods for discrete population genetic data*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA, USA.
- Yang, H., X. Ren, Q. Weng, L. Zhu, and G. He. 2002. Molecular mapping and genetic analysis of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene. *Hereditas* 136:39–43.
- Yunani, N., R.H. Wening, E. Pramudika, dan E. Maryati. 2014. Katalog plasma nutfah padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Zhonghua, Z., D. Yajun, T. Jun, H. Songnian, Y. Jun, and X. Qingzhong. 2007. A genome wide microsatellite polymorphism database for the *indica* and *japonica* rice. *DNA Res.* 14:37–45.