

Seleksi dan Konfirmasi Alel Gen-gen *Hd* pada Padi Berumur Genjah dan Produktivitas Tinggi Persilangan Code x Nipponbare

Ahmad Dadang*, Tasliah, dan Joko Prasetyono

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: a.dadang68@gmail.com

Diajukan: 1 Oktober 2012; Diterima: 25 Maret 2013

ABSTRACT

Selection and Confirmation Allele of *Hd* Genes on Rice with Early Maturity and High Productivity on Code x Nipponbare Crossed. Ahmad Dadang, Tasliah, and Joko Prasetyono. To support the IP 300 program rice varieties with both early maturity and high productivity are needed. The objective of the research was to improve those traits in Code variety using RIL (recombinant inbred line) methods. The research was conducted in the year 2009-2011 at the greenhouse and laboratory of Molecular Biology, Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development. Materials consisted of 600 individuals of F_2 derived from one of F_1 Code x Nipponbare crossed plants and they were planted up to F_4 with seed-to-seed, then confirmed by 8 microsatellite markers linked to loci of *Hd* genes. The molecular analysis showed that 84 of 600 F_2 plants produced. The F_4 plants have 50% of flowering time shorter than F_2 and F_3 plants. Two lines (CdNb_388 and CdNb_270) have higher productivity compared to Code by the number of productive tillers (20) and the number of tiller grains (2240 and 1740) and have closely 50% of 60 days flowering time of Nipponbare. Three lines of F_4 plants (CdNb_270, 364, and 388) were predicted to have allele of *Hd7* gene, and CdNb_472 was predicted to have allele of *Hd14* gene.

Keywords: Rice, early maturity, microsatellite, *Hd* gene.

ABSTRAK

Seleksi dan Konfirmasi Alel Gen-gen *Hd* pada Padi Berumur Genjah dan Produktivitas Tinggi Persilangan Code x Nipponbare. Ahmad Dadang, Tasliah, dan Joko Prasetyono. Dalam mendukung program IP 300 diperlukan varietas padi berumur genjah yang memiliki produktivitas tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk memperbaiki varietas Code agar memiliki sifat genjah seperti Nipponbare dan memiliki produksi tinggi seperti tetua Code menggunakan metode RIL (*Recombinant Inbred Line*). Penelitian ini dilakukan pada tahun 2009-2011 di rumah kaca dan Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bahan yang digunakan adalah 600 individu F_2 yang berasal dari satu tanaman F_1 Code x Nipponbare. Biji F_2 ditanam di dalam pot (2 tanaman/pot), sampai F_4 secara *seed-to-seed* dan dilaku-

kan konfirmasi menggunakan delapan marka mikrosatelit yang terpaut dengan lokus gen *Hd*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 600 galur F_2 yang ditanam terpilih 84 nomor diuji molekuler. Tanaman F_4 memiliki umur 50% berbunga lebih pendek daripada tanaman F_2 maupun F_3 . Diperoleh dua galur tanaman F_4 (CdNb_388 dan CdNb_270) yang memiliki produktivitas lebih tinggi daripada Code dengan jumlah anakan produktif 20 dan jumlah gabah isi 2.240 dan 1.740 butir/rumpun serta umur 50% berbunga mendekati Nipponbare (60 hari). Tiga galur F_4 (CdNb_270, 364, dan 388) diduga memiliki alel gen *Hd7* dan satu galur (CdNb_472) diduga memiliki alel gen *Hd14*.

Kata kunci: Padi, umur genjah, mikrosatelit, gen *Hd*.

PENDAHULUAN

Dalam memenuhi kecukupan beras nasional diperlukan usaha-usaha untuk meningkatkan produksi, salah satunya adalah dengan dicanangkannya pengembangan indeks pertanaman padi 300 (IP Padi 300) oleh pemerintah. IP Padi 300 artinya pada lokasi yang sama petani dapat memanen padi selama tiga kali dalam setahun, ini merupakan program yang menjanjikan untuk meningkatkan produksi padi nasional. Sebagai konsekuensi pengembangan IP Padi 300, bahkan IP 400 diperlukan empat pilar pendukung. Pertama, penanaman varietas umur genjah dengan umur 90 hari; kedua, dukungan pengendalian hama terpadu (PHT); ketiga, pengelolaan hara terpadu; keempat, manajemen tanam dan panen yang efisien (Bobihoe, 2010).

Dari keempat pilar pendukung tersebut pembentukan varietas atau galur padi umur genjah yang mempunyai produktivitas tinggi merupakan suatu tantangan dan juga peluang. Dengan pembuatan padi varietas unggul baru dapat meningkatkan produksi sampai 20% dan ini dapat mengganti varietas-varietas unggul biasa yang tingkat produktivitasnya sudah mencapai titik jenuh (*levelling off*). Sementara itu varietas padi yang berumur sangat genjah yang sudah ada produktivitasnya masih rendah, begitu pula sebaliknya varietas padi yang memiliki produktivitas tinggi umumnya memiliki umur sedang seperti Code.

Varietas Code selain berproduksi tinggi dengan potensi hasil 7,5 t/ha, memiliki jumlah anakan produktif 16-24 batang/rumpun, tekstur pulen, tahan terhadap hama wereng batang coklat biotipe 1 dan 2, agak tahan terhadap biotipe 3, juga tahan terhadap penyakit hawar daun bakteri strain III, IV, dan VIII namun memiliki umur 115-125 hari (Anonim, 2009), sehingga perlu dilakukan perbaikan dengan memasukkan alel gen-gen yang mengatur pembungaan yang terdapat dalam padi Nipponbare. Diharapkan gen-gen tersebut akan terekspresi lebih cepat ketika ditanam di daerah tropis, sehingga tanaman padi akan berbunga lebih cepat.

Saat ini lokus gen-gen yang mengatur umur genjah pada padi telah banyak dipetakan dan telah dipublikasikan sehingga dapat dipakai secara bebas, seperti dilakukan oleh Yano *et al.* (2000) yang memetakan 5 lokus gen *Hd* (*Hd1-Hd5*) pada populasi F_2 persilangan Kasalath dan Nipponbare dengan pemetaan QTL. Dengan cara yang sama Ebana *et al.* (2011) berhasil mendeteksi 8 lokus gen (*Hd1*, *Hd2*, *Hd3a*, *Hd5*, *Hd6*, *Hd7*, *Hd9*, dan *Hd16*) pada populasi F_2 persilangan Koshihikari dan kultivar padi Asia. Yamamoto *et al.* (1998) pada persilangan Kasalath dan Nipponbare juga telah berhasil melakukan *fine mapping* beberapa daerah QTL gen *Hd1*, *Hd2*, dan *Hd3*, bahkan Takahashi *et al.* (2001) telah berhasil mengidentifikasi gen *Hd6*, yang diduga terlibat dalam proses pembungaan (mengontrol waktu berbunga). Posisi gen-gen tersebut juga telah diketahui dengan baik dan dipetakan menggunakan marka mikrosatelit.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh galur padi genjah (umur 90-100 hari) dan produktivitas tinggi dengan cara melakukan seleksi setiap generasi tanaman berdasarkan data agronomis dan marka molekuler. Analisis marka molekuler dilakukan untuk mengkonfirmasi kondisi alel-alel terkait dengan gen *Hd* yang mengatur waktu pembungaan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di rumah kaca dan Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Peneliti-

an dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian pada tahun 2009-2011.

Bahan

Galur padi yang digunakan berasal dari F_1 , F_2 , F_3 , dan F_4 persilangan Code x Nipponbare. Varietas Code adalah varietas unggul nasional, berumur sedang (115-125 hari, anakan produktif 16-24 batang/rumpun, bobot biji 28 g/1.000 butir dan potensi hasil 7,5 ton/ha. Sedangkan varietas Nipponbare berumur genjah (80-90 hari). Marka-marka yang digunakan untuk konfirmasi adalah 8 marka QTL gen *Hd* yang sudah diketahui polimorfik antara Code dengan Nipponbare. Marka-marka tersebut dapat dilihat dalam Tabel 1.

Metode

Pengembangan Populasi dan Seleksi

Tanaman F_1 hasil persilangan Code x Nipponbare ditumbuhkan dalam ember sampai panen. Sebanyak 600 galur padi F_2 persilangan Code x Nipponbare tersebut ditanam dua tanaman/ember. Pada pertanaman F_2 , peubah yang diamati adalah umur 50% berbunga, jumlah anakan produktif dan tinggi tanaman. Galur-galur yang berumur genjah dan memiliki anakan minimal sama dengan Code dipilih untuk dianalisis DNA-nya. Benih-benih F_3 dari tanaman terpilih selanjutnya ditanam satu tanaman/ember. Seleksi dilakukan lagi pada tanaman F_3 berdasarkan umur 50% berbunga dan jumlah anakan produktif. Tanaman F_3 terpilih dianalisis secara molekuler. Benih-benih F_4 dari tanaman F_3 terpilih ditanam lagi satu tanaman/ember, kemudian dilakukan analisis molekuler.

Pada generasi F_3 dan F_4 selain umur berbunga, jumlah anakan produktif dan tinggi tanaman, tanaman yang terpilih juga diamati komponen hasilnya, seperti bobot bulir isi/tanaman, bobot 100 bulir isi, panjang malai, jumlah gabah isi/tanaman, dan jumlah gabah hampa/tanaman. Analisis statistik sederhana (rerata) digunakan untuk melihat keragaan populasi F_2 , F_3 , dan F_4 .

Tabel 1. Marka-marka QTL gen *Hd* yang digunakan dalam penelitian*.

No.	Nama marka	Kromosom	Posisi (cM)	Target QTL	Marka forward (F)	Marka reverse (R)	Tm	Ukuran (bp)
1.	RM5607	2	142,5	<i>Hd7</i>	GAGTAGGAGGAGCCGAGGAG	ACGTGGCCAACTGGCTATAC	55	210
2.	RM5404	2	144,7	<i>Hd7</i>	GGCCATCCATCTCCTGTATG	GACACACACAGGGTTGGTTG	61	220
3.	RM1369	6	7,4	<i>Hd3</i>	AACCTGAGAGTGCCAAATTGG	TCCCCTAGTAAAGCGGATTC	55	130
4.	RM3463	6	10,4	<i>Hd3</i>	CGGCTCCTCTGTTGTTGC	GATTTCGAAACCAACCAACAC	55	160
5.	RM1362	7	116,1	<i>Hd2</i>	TGATCTAAACAGGCCCTTAG	CATCATCAAGACCACACATC	55	225
6.	RM7601	7	116,6	<i>Hd2</i>	GCCTCGCTGTCGCTAATATC	CAGCCTCTCCTTGTGTTGTG	50	170
7.	RM5392	10	44,9	<i>Hd14</i>	GCCGTCTACCTCATGGTCCAC	CCATAACCGTGGTGTGTTGAG	55	160
8.	RM5756	10	48,8	<i>Hd14</i>	ACAGACTGACAGTGACCATGG	AAGAGGAGCTACCATGACGC	55	150

*Fujino dan Sekiguchi, 2008.

Analisis Molekuler

DNA diisolasi dari daun tanaman padi yang telah berumur 2-3 minggu (semua sampel diambil pada setiap generasi) secara *miniprep* dengan metode Dellaporta yang dimodifikasi (potasium asetat diganti dengan kloroform isoamilalkohol) (Dellaporta *et al.*, 1983). Reaksi PCR dilakukan dalam 10 μ l volume yang masing-masing mengandung 1x bufer PCR (10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% Gelatin), 10 μ M dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,5 μ M marka (F dan R), 10 ng DNA sampel, dan 1 unit Taq DNA polimerase.

Profil PCR yang digunakan adalah suhu 94°C untuk denaturasi permulaan selama 5 menit, kemudian diikuti 35 siklus yang terdiri dari suhu 94°C untuk denaturasi selama 45 detik, suhu 55°C untuk penempelan marka selama 45 detik, dan suhu 72°C untuk perpanjangan marka selama 90 detik. Perpanjangan marka terakhir selama 7 menit pada suhu 72°C.

Hasil PCR kemudian dipisahkan menggunakan gel poliakrilamid 8% (*non-denaturing gel*). Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel dalam larutan EtBr (etidium bromida) dengan konsentrasi 0,5 mg/l selama 10 menit kemudian dibilas dalam air selama 10 menit, dan didokumentasi di bawah sinar UV di dalam alat *Chemi-Doc transiluminator* (Bio-Rad). Pita-pita DNA diskor berdasarkan kemiripan dengan tetua A (Nipponbare), B (Code), dan H (heterozigot/pita keduanya).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman F₂

Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari 600 galur F₂ persilangan Code x Nipponbare yang dapat diamati sebanyak 598 (2 galur mati). Hasil pengamatan karakter agronomis menunjukkan bahwa umur 50% berbunga sebagian besar berada pada kisaran umur berbunga 61-80 hari (560 galur) dan hanya beberapa galur berumur kurang dari 60 hari dengan rerata 70 hari, 513 galur mempunyai anakan kurang dari 10 dan hanya beberapa galur yang memiliki jumlah anakan lebih dari 10 dengan rerata 7 seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

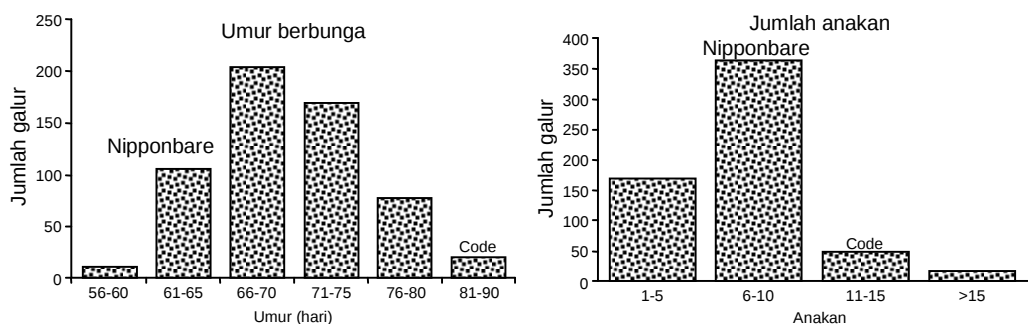
Galur-galur F₂ Code x Nipponbare memiliki sebaran umur 50% berbunga di antara kedua tetuanya seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Hal ini menunjukkan bahwa populasi F₂ masih bersegregasi dengan pola sebaran mengikuti distribusi normal dan ini disebabkan oleh tekanan yang terjadi akibat homozigositas pada padi tidak sebesar pada tanaman yang menyerbuk silang, sebab menurut Filho (1999) pengaruh tekanan *inbreeding* yang kuat merupakan hasil dari ekspresi heterosis yang besar.

Dari 2 karakter agronomis yang diamati tersebut dipilih 84 tanaman F₂ yang mempunyai umur berbunga <70 hari dengan anakan >10 batang/rumpun dan kemudian diuji secara molekuler dengan marka mikrosatelit. Hasil konfirmasi molekuler pada 84 galur tersebut dengan menggunakan 8 marka yang berbeda, ditunjukkan pada Tabel 3.

Hasil elektroforesis pada tanaman F₂ Code x Nipponbare dapat dilihat dalam Gambar 2.

Tabel 2. Keragaan Umur berbunga dan jumlah anakan tanaman F₂ Code x Nipponbare.

Peubah	Rerata Code	Rerata Nipponbare	Tanaman F ₂				
			Jumlah	Rerata	KK (%)	Minimal	Maksimal
Umur berbunga (hari)	90	65	598	70,61	8,06	56,00	92,00
Jumlah anakan produktif	12	8	598	7,50	45,33	1,00	36,00



Gambar 1. Sebaran umur berbunga dan jumlah anakan tanaman F₂.

Tanaman F₃

Pada pertanaman generasi F₃ dari 87 galur yang ditanam (84 galur terpilih + 3 galur yang memiliki jumlah anakan <10 tapi umur sama dengan Nipponbare) diperoleh sebanyak 55 galur yang bisa diamati (Tabel 4). Di antara galur tersebut, enam galur memiliki umur berbunga kurang dari 65 hari (Nipponbare), satu galur memiliki umur sama dengan Code (87 hari), dan 48 galur berada di antara keduanya. Sebanyak 21 galur memiliki 12 anakan/rumpun ($\leq$ Nipponbare), 28 galur memiliki >15 anakan/rumpun dan 6 galur memiliki jumlah anakan di antara keduanya.

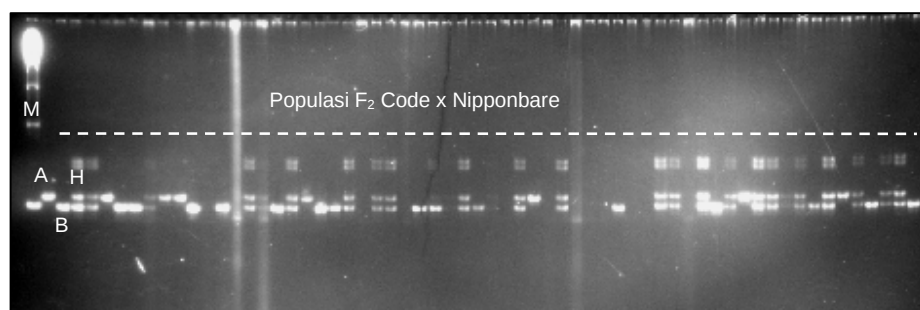
Sebanyak 23 galur F₃ terpilih selanjutnya digunakan untuk uji molekuler dan diseleksi lebih lanjut. Galur-galur tersebut memiliki umur berbunga ≤ 80 hari (lebih pendek daripada tetua Code) dan mempunyai total gabah isi lebih dari seribu ($\geq$ tetua Nipponbare) dengan umur panen kurang dari 105 hari atau lebih pendek daripada tetua Code (Tabel 5).

Hasil elektroforesis galur-galur tersebut menggunakan marka RM 7601 disajikan dalam Gambar 3. Pada Tabel 6 menunjukkan bahwa dari 23 galur yang diuji terdapat satu galur (CdNb_247) memiliki pola pita seperti Nipponbare pada semua marka. Galur ini diduga memiliki empat alel gen *Hd* (2, 3, 7, 14). Pada

penampilan fenotipik (Tabel 5) galur CdNb_247 memiliki umur yang lebih genjah, yaitu umur berbunga 74 hari (13 hari lebih genjah daripada Code), umur masak 100 hari (14 hari lebih genjah daripada Code), jumlah anakan 23 batang/rumpun (53% lebih banyak dibandingkan dengan Code), jumlah gabah isi 1756 butir/rumpun (menyamai Code), dan tinggi tanaman 80 cm (sama dengan Code). Sedangkan galur-galur lainnya bervariasi dan masih banyak yang mempunyai pola pita H.

Tanaman F₄

Hasil pengamatan tanaman F₄ dapat dilihat dalam Tabel 7. Galur-galur F₄ memiliki umur berbunga relatif lebih pendek, 4 galur di antaranya lebih cepat umur berbunganya dibanding Nipponbare, satu galur memiliki umur yang sama dengan Nipponbare (52 hari), satu galur memiliki umur yang sama dengan Code (71 hari), dan 17 galur berada di antaranya. Sebanyak 3 galur memiliki jumlah anakan produktif lebih sedikit daripada Nipponbare, 6 galur lebih banyak daripada Code, dan 14 galur berada di antaranya. Analisis molekuler dilakukan terhadap 11 galur, yaitu 4 galur (CdNb_364, 477, 538, dan 180) yang memiliki umur $\leq$ Nipponbare dan 6 galur (CdNb_270, 388, 472, 492, 532, dan 545) yang memiliki jumlah anakan pro-



Gambar 2. Hasil elektroforesis populasi F₂ Code x Nipponbare menggunakan marka RM 5607 pada gel poliakrilamid 8%. M = marker 100 bp. A = Nipponbare, B = Code, dan turunannya memiliki pola pita H (memiliki 2 pita), A (pita Nipponbare), dan B (pita Code).

Tabel 3. Tabulasi analisis 84 tanaman F₂ terpilih menggunakan 8 marka mikrosatelit.

Pola pita	Kode	RM 5404	RM 5607	RM 1369	RM 3463	RM 7601	RM 1362	RM 5756	RM 5392
Nipponbare	A	20	18	12	6	23	13	23	25
Heterozigot	H	33	42	38	42	45	47	29	46
Code	B	17	20	28	19	16	24	29	11
Tidak muncul		14	14	6	17	-	-	3	2

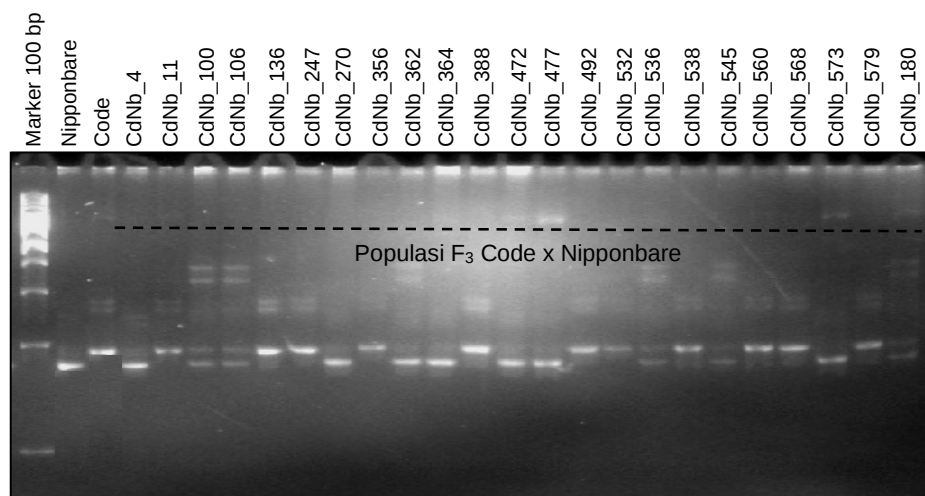
Tabel 4. Keragaan beberapa karakter agronomi galur F₃ Code x Nipponbare.

Peubah	Rerata Code	Rerata Nipponbare	Galur F ₃				
			Jumlah	Rerata	KK (%)	Minimal	Maksimal
Umur berbunga (hari)	87	65	55	73,11	9,11	62,00	87,00
Anakan produktif (batang/rumpun)	15	12	55	16,76	50,00	2,00	32,00

Tabel 5. Data agronomi galur F₃ Code x Nipponbare terpilih (23 galur).

No.	Galur	TT	UB	UM	JM	JGI
1.	CdNb_4	77	72	97	14	1153
2.	CdNb_11	112	79	103	19	1590
3.	CdNb_100	81	71	100	28	1297
4.	CdNb_106	82	76	102	24	3040
5.	CdNb_136	78	71	103	22	1892
6.	CdNb_247	80	74	100	23	1756
7.	CdNb_270	99	78	100	26	2158
8.	CdNb_356	99	71	95	11	1115
9.	CdNb_362	72	67	97	16	1888
10.	CdNb_364	103	70	95	16	1931
11.	CdNb_388	108	73	100	21	2765
12.	CdNb_472	77	80	103	28	1904
13.	CdNb_477	76	66	98	29	3074
14.	CdNb_492	80	68	95	28	1717
15.	CdNb_532	69	67	95	22	1665
16.	CdNb_536	105	80	103	22	1987
17.	CdNb_538	84	63	94	14	1433
18.	CdNb_545	76	80	100	24	3696
19.	CdNb_560	91	72	100	22	1291
20.	CdNb_568	107	80	103	29	2407
21.	CdNb_573	76	75	100	24	3616
22.	CdNb_579	69	74	102	22	1247
23.	CdNb_180	60	63	94	15	1085
Code		80	87	114	15	1800
Nipponbare		56	65	94	12	1196

TT = tinggi tanaman (cm), UB = umur 50% berbunga (hari), UM = umur masak (hari), JM = jumlah malai (satuan), JGI = jumlah gabah isi (butir).

**Gambar 3.** Hasil elektroforesis populasi F₃ terpilih menggunakan marka RM 7601 pada gel poliakrilamid 8%.

duktif $\geq$ Code dan galur CdNb_388 yang memiliki gabah isi paling banyak (Tabel 8) serta 1 galur (CdNb_100) memiliki umur 50% berbunga 50 hari (lebih cepat dibandingkan dengan Nipponbare) dengan jumlah anakan produktif 18 batang/rumpun atau sama dengan Code.

Hampir semua galur F₄ telah homozigot dan hanya galur CdNb_100 masih heterozigot pada tiga marka (RM 5404, RM 5607, dan RM 1369) dari 8 marka yang diuji. Tabel 9 menunjukkan bahwa dari 11 galur

yang diuji 10 di antaranya diduga memiliki alel gen *Hd* (2 marka QTL gen *Hd* menunjukkan pola pita mirip Nipponbare (A), yaitu tujuh galur (CdNb_270, CdNb_364, CdNb_388, CdNb_532, CdNb_538, CdNb_545, dan CdNb_180) diduga memiliki alel gen *Hd7*, tiga galur (CdNb_100, CdNb_472, dan CdNb_477) diduga memiliki alel gen *Hd2* dan satu galur (CdNb_532) diduga memiliki 2 alel gen *Hd* (*Hd7* dan *Hd14*) serta satu galur (CdNb_472) diduga memiliki 2 alel gen *Hd* (*Hd2* dan *Hd14*).

Tabel 6. Data skoring pada 23 galur F₃ Code x Nipponbare dengan 8 marka mikrosatelit.

No.	Galur	Umur 50% berbunga (hari)	Marka							
			RM 5404	RM 5607	RM 1369	RM 3463	RM 7601	RM 1362	RM 5756	RM 5392
			Hd7		Hd3		Hd2		Hd14	
1.	CdNb_4	72	B	B	B	B	A	A	H	B
2.	CdNb_11	79	B	B	B	B	H	H	H	H
3.	CdNb_100	71	H	H	H	A	A	A	A	A
4.	CdNb_106	76	H	H	H	H	H	H	B	B
5.	CdNb_136	71	A	A	B	H	A	H	B	H
6.	CdNb_247	74	A	A	A	A	A	A	A	A
7.	CdNb_270	78	A	A	B	B	B	B	B	B
8.	CdNb_356	71	H	H	B	B	A	H	B	B
9.	CdNb_362	67	H	B	H	A	A	A	-	H
10.	CdNb_364	70	A	A	B	B	B	A	H	B
11.	CdNb_388	73	A	A	B	H	B	B	H	A
12.	CdNb_472	80	B	B	A	A	A	A	A	A
13.	CdNb_477	66	B	B	B	A	A	A	B	B
14.	CdNb_492	68	H	H	B	A	H	B	B	B
15.	CdNb_532	67	H	A	H	A	H	B	A	A
16.	CdNb_536	80	H	H	A	B	H	-	B	B
17.	CdNb_538	63	H	H	B	B	A	A	H	A
18.	CdNb_545	80	A	A	H	A	B	B	B	H
19.	CdNb_560	72	H	H	H	A	A	A	A	A
20.	CdNb_568	80	B	H	B	B	B	B	B	B
21.	CdNb_573	75	A	A	B	H	H	H	B	B
22.	CdNb_579	74	A	H	B	A	H	H	A	A
23.	CdNb_180	63	H	H	B	B	B	B	B	B
Code		87								
Nipponbare		65								

A = pita Nipponbare, B = pita Code, H = pita keduanya (heterozigot).

Tabel 7. Keragaan beberapa karakter agronomi galur F₄.

Peubah	Rerata Code	Rerata Nipponbare	Galur F ₄				
			Jumlah	Rerata	KK (%)	Minimal	Maksimal
Tinggi tanaman (cm)	105	97	23	121,96	12,41	96,00	145,00
Umur berbunga (hari)	71	52	23	57,96	10,33	47,00	71,00
Anakan produktif (batang/rumpun)	18	10	23	15,09	32,47	6,00	24,00

Tabel 8. Data agronomi galur terpilih F₄ persilangan Code x Nipponbare.

No.	Galur	UB	TT	JAP	PM	JGIM	JGIT	JG	100 BT
1.	CdNb_100	50	102	18	26	65	1170	1728	2,10
2.	CdNb_270	60	131	20	22	87	1740	3140	2,46
3.	CdNb_364	50	135	16	21	87	1392	1744	2,25
4.	CdNb_388	60	137	20	29,9	112	2240	3360	2,02
5.	CdNb_472	57	115	19	26,8	60	1140	1938	2,06
6.	CdNb_477	47	113	13	23,7	45	585	1430	2,12
7.	CdNb_492	53	131	24	29	49	1176	2832	2,34
8.	CdNb_532	60	113	19	23,5	34	646	1007	2,56
9.	CdNb_538	47	130	11	17,8	61	671	858	2,58
10.	CdNb_545	71	96	24	25,8	75	1800	4584	2,02
11.	CdNb_180	52	99	17	27,5	42	714	2006	2,2
Nipponbare		52	97	10	18,8	42	420	490	2,34
Code		71	105	18	25	96	1728	2970	2,27

UB = umur 50% berbunga (hari), TT = tinggi tanaman (cm), JAP = jumlah anakan produktif, PM = panjang malai (cm), JGIM = jumlah gabah isi/malai, JGIT = jumlah gabah isi/tanaman, JG = jumlah gabah total (isi + hampa), 100 BT = bobot 100 butir (g).

Tabel 9. Skoring SSR populasi F_4 terpilih dengan 8 marka berbeda.

Galur	Umur berbunga (hari)	RM 5404	RM 5607	RM 1369	RM 3463	RM 7601	RM 1362	RM 5756	RM 5392
		<i>Hd7</i>		<i>Hd3</i>		<i>Hd2</i>		<i>Hd14</i>	
CdNb_100	50	H	H	H	A	A	A	B	A
CdNb_270	60	A	A	B	B	B	B	B	B
CdNb_364	50	A	A	B	B	B	B	B	B
CdNb_388	60	A	A	B	H	B	B	H	A
CdNb_472	57	B	B	A	H	A	A	A	A
CdNb_477	47	B	B	B	B	A	A	B	B
CdNb_492	53	B	B	B	B	A	H	B	B
CdNb_532	60	A	A	B	A	H	H	A	A
CdNb_538	47	A	A	B	B	A	H	B	B
CdNb_545	71	A	A	B	A	B	B	B	A
CdNb_180	52	A	A	B	B	B	A	B	A
Nipponbare	52	A							
Code	71	B							

A = pita Nipponbare, B = pita Code, H = pita keduanya (heterozigot).

Perbedaan musim penanaman antara galur-galur F_2 , F_3 , dan F_4 sangat berpengaruh terhadap umur berbunga dari masing-masing populasi tersebut. Populasi F_4 mempunyai umur berbunga lebih cepat dibandingkan dengan galur populasi F_2 dan F_3 , ini disebabkan waktu penanaman F_4 dilaksanakan pada bulan April/Mei-Juni. Pada bulan-bulan tersebut intensitas cahaya matahari lebih tinggi. Respon tanaman padi terhadap fotoperiodik sangat berbeda nyata terhadap waktu berbunga sesuai dengan percobaan yang dilakukan oleh Vergara *et al.* (1985), padi yang ditanam pada hari panjang (>14 jam) lebih cepat berbunga dibandingkan dengan yang ditanam pada hari pendek (<14 jam).

Pada uji molekuler dengan 8 marka polimorfik untuk daerah QTL 4 gen *Hd* yang berbeda dengan masing-masing 2 marka untuk setiap 1 gen *Hd*, hampir semua marka menunjukkan adanya perbedaan pola pita di antara keduanya, hal ini menunjukkan bahwa ekspresi gen-gen *Hd* ini tidak diekspresikan oleh gen tunggal tapi merupakan hasil kerja sama beberapa gen yang terletak di beberapa kromosom (Nonoue *et al.*, 2008; Sabouri dan Nahvi, 2009). Galur-galur CdNb_270, CdNb_364, CdNb_388 diduga memiliki alel gen *Hd7* dan galur CdNb_472 diduga memiliki alel gen *Hd14*. Galur CdNb_388, dan CdNb_270 juga memiliki produktivitas lebih tinggi, yaitu jumlah gabah isi masing-masing sebanyak 2.240 dan 1.740 butir/rumpun, lebih tinggi dari tetua Code (1.728 butir/rumpun) dan umur berbunga 60 hari mendekati Nipponbare (52 hari). Galur F_4 yang paling genjah ditemukan pada galur CdNb_538 (umur berbunga 47 hari), galur ini diduga memiliki alel gen *Hd7* (terletak di antara RM 5404 dan RM 5607), namun produktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan Code.

KESIMPULAN

1. Dari hasil seleksi galur F_2 - F_4 diperoleh dua galur F_4 (CdNb_388 dan CdNb_270) memiliki produktivitas lebih tinggi dengan jumlah gabah isi masing-masing 2.240 dan 1.740 bulir/rumpun, lebih tinggi dari tetua Code (1.728 bulir/rumpun) dengan umur berbunga 60 hari mendekati Nipponbare (52 hari).
2. Diperoleh tiga galur F_4 (CdNb_270, CdNb_364, dan CdNb_388) yang diduga memiliki alel gen *Hd7* dan 1 galur F_4 (CdNb_472) diduga memiliki alel gen *Hd14*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek Riset Insentif Peningkatan Kemampuan Peneliti dan Perekayasa tahun 2009 dan 2010. Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dra. Masdiar Bustamam, MSc dan Dr. Sugiono Moeljopawiro yang telah memberikan kontribusi besar di dalam kegiatan penelitian serta Mahrup yang telah membantu dalam pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. Deskripsi Varietas Padi. Balai Besar Penelitian Padi, Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian. 105 hlm.
- Bobihoe, J. 2010. Peningkatan produksi padi melalui pelaksanaan IP-300, <http://bengkulu.litbang.deptan.go.id>. [15 Januari 2012].
- Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 1(4):19-21.
- Ebana, K., T. Shibaya, J. Wu, K. Matsubara, H. Kanamori, H. Yamane, U. Yamanouchi, T. Mizubayashi, I. Kono, A. Shomura, S. Ito, T. Ando, K. Hori, T. Matsumoto, and M. Yano. 2011. Uncovering of major genetic factors

- generating naturally occurring variation in heading date among Asian rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 122:1199-1210.
- Filho, J.B.M. 1999. Inbreeding depression and heterosis. pp. 69-80. *In* Coors, J.G. and S. Pandey (eds.) *Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*. Proceedings of the International Symposium on the Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops, Mexico City, 17-22 August 1997. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Wisconsin.
- Fujino, K. and H. Sekiguchi. 2008. Mapping of quantitative trait loci controlling heading date among rice cultivars in the northernmost region of Japan. *Breed. Sci.* 58:367-373.
- Nonoue, Y., K. Fujino, Y. Hirayama, U. Yamanouchi, S.Y. Lin, and M. Yano. 2008. Detection of quantitative trait loci controlling extremely early heading in rice. *Theor. Appl. Genet.* 116:715-722.
- Sabouri, H. and M. Nahvi. 2009. Identification of major and minor genes associated with heading date in an *indica* x *indica* cross of rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. of Plant Prod.* 3:105-114.
- Takahashi, Y., A. Shomura, T. Sasaki, and M. Yano. 2001. *Hd6*, a rice quantitative locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the α subunit of protein kinase CK2. *Plant Physiology* 127(4):1425-1429.
- Vergara, S.B. and T.T. Chang. 1985. The Flowering Response of the Rice Plant to Photoperiod a Review of The Literature Fourth Edition. The International Rice Research Institute. pp. 1-8.
- Yamamoto, T., Y. Kuboki, S.Y. Lin, T. Sasaki, and M. Yano. 1998. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd1*, *Hd2*, and *Hd3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. *Theor. Appl. Genet.* 97:37-44.
- Yano, M. Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura, and T. Sasaki. 2000. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell* 12:2473-2483.
-