

Keragaman Genetik Populasi Gandum Hasil Persilangan Konvergen

Genetic Diversity of Wheat Population Derived from Convergent Breeding

Amin Nur*, Karlina Syahrudin, dan Marcia B. Pabendon

Balai Penelitian Tanaman Serealia

Jl. Dr. Ratulangi No. 274 Maros, Sulawesi Selatan, Indonesia

*E-mail: iceriamin76@gmail.com

Naskah diterima 26 Agustus 2016, direvisi 10 Juli 2017, disetujui diterbitkan 17 Juli 2017

ABSTRACT

Wheat (Triticum aestivum L.) is a subtropical crop, therefore Indonesia has a very limited genetic variation. Convergent wheat breeding involving multi parents is an effort to expand the genetic diversity in wheat and to obtain genotypes that have desirable specific character. The aim of this research was to determine the genetic diversity of wheat population derived from convergent breeding using the tool of Simple Sequence Repeats (SSRs). Fifty seven wheat genotypes derived from such crosses were tested using 39 SSR markers to determine their diversity. Results based on UPGMA grouping on similarity matrix showed genetic similarity coefficients ranging from 0.30 to 0.95. The similarity coefficient at 0.3 separated the 57 genotypes into two groups: the first group consisted of segregants Oasis and Guri1 and Guri2 and the second group consisted of Dewata, Alibey, Rabe/M088, Selayar, HP 1744 and Tepoca/Rabe. The number of alleles formed from all wheat genotypes detected using 39 primers were 137 alleles with a range of base pairs from 85.6-553 bps. PIC value and the average number of alleles were 0.35 and 3.51, respectively. The genetic variability in the wheat germplasm population obtained from convergent breeding increased, and 22 recombinant genotypes with high values of genetic distance (<0.75) containing many genetic recombinations were obtained.

Keywords: *Wheat, genetic diversity, convergent breeding, Simple Sequence Repeat.*

ABSTRAK

Gandum merupakan tanaman asli subtropik, sehingga sumber daya genetiknya di Indonesia sangat terbatas. Persilangan konvergen merupakan salah satu upaya untuk memperluas keragaman genetik tanaman gandum untuk mendapatkan genotipe yang memiliki karakter spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik segrekan gandum hasil persilangan konvergen, berdasarkan marka *Simple Sequence Repeats* (SSRs). Sebanyak 57 genotipe gandum diuji keragaman genetiknya menggunakan 39 marka SSR untuk mengetahui keragamannya. Hasil penelitian menunjukkan pengelompokan berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan dengan koefisien kemiripan genetik berkisar 0.30-0.95. Pada koefisien kemiripan 0.3 memisahkan 57 genotipe dalam dua kelompok, yaitu kelompok 1 yang terdiri atas segrekan, tetua Oasis, Guri1, Guri2 dan kelompok dua yang terdiri atas Dewata, Alibey, Rabe/M088, Selayar, HP 1744 dan Tepoca/Rabe. Alel yang terbentuk pada seluruh genotipe pada 39 primer adalah 137 alel dengan

kisaran pasang basa yang terbentuk 85,6-553 bp. Nilai PIC dan jumlah alel rata-rata 0,35 dan 3,51. Terjadi peningkatan variabilitas genetik pada populasi genotipe uji dan diperoleh 22 kandidat pasangan genotipe yang memiliki nilai jarak genetik tinggi ($e^0.75$) yang memiliki peluang pembentukan rekombinan yang lebih besar.

Kata kunci: Gandum, keragaman genetik, persilangan konvergen, marka Simple Sequence Repeat.

PENDAHULUAN

Upaya penyediaan varietas gandum yang adaptif di Indonesia adalah melalui perakitan varietas. Tanaman gandum berasal dari wilayah subtropik, sehingga perakitan varietas yang dapat dikembangkan di Indonesia yang beriklim tropis terkendala oleh tidak adanya sumber daya genetik lokal dan terbatasnya sumber daya genetik introduksi (Andriani *et al.* 2015). Kendala lain yang dihadapi dalam budi daya gandum di Indonesia adalah wilayah adaptasi pada elevasi tinggi berkompetisi dengan produk hortikultura yang memiliki nilai ekonomi lebih tinggi.

Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik gandum melalui pemuliaan tanaman adalah memanfaatkan varietas atau genotipe yang telah beradaptasi pada lingkungan spesifik, sehingga peluang untuk mendapatkan varietas gandum yang lebih adaptif di dataran menengah lebih besar. Indonesia telah melepas beberapa varietas gandum yang adaptif pada elevasi menengah-tinggi seperti Selayar, Nias, dan Dewata dengan produktivitas masing-masing 1,9 t, 1,6 t, dan 1,3 t/ha (Nur 2014).

Keragaman genetik bermanfaat dalam pemuliaan tanaman untuk memperoleh genotipe adaptif pada lingkungan spesifik. Besarnya keragaman sifat-sifat yang diinginkan pada tanaman menunjukkan adanya peluang untuk memperoleh genotipe dengan karakter yang diinginkan (Briggs and Knowles 1977, Griffiths *et al.*

2012). Hibridisasi dua atau lebih tetua yang memiliki perbedaan genetik menghasilkan keragaman keturunan yang nilainya bergantung kepada jauh-dekatnya jarak genetik di antara tetua persilangan (Melchinger 1999). Hal ini menjadi masalah ketika sumber daya genetik yang dimiliki terbatas. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, teknik pemuliaan *multiple crossing* (persilangan ganda) dapat menjadi alternatif untuk meningkatkan keragaman genetik.

Persilangan ganda bertujuan untuk memperluas keragaman genetik sejumlah karakter penting dari tanaman. Persilangan ganda menghasilkan tanaman dengan karakter yang diinginkan dari tetuanya (Melchinger 2008). *Convergent breeding* (persilangan konvergen) adalah persilangan ganda tanaman yang bertujuan untuk memfiksasi karakter-karakter yang diinginkan dari tetua-tetua elit yang memiliki karakter penting (Acquaah 2007). Persilangan ganda telah banyak dilakukan pada tanaman menyerbuk sendiri dan telah menghasilkan sejumlah varietas unggul padi (Siddiq *et al.* 2012).

Gandum merupakan tanaman menyerbuk sendiri yang memiliki enam set kromosom (Allohexaploid ($2n = 6x = 42$)) dengan tiga genom (A, B dan D). Besarnya genom gandum dan sifat menyerbuk sendiri membatasi peluang terbentuknya keragaman genetik dari populasi alami. Oleh karena itu, persilangan konvergen menjadi alternatif untuk meningkatkan keragaman genetik gandum. Keragaman genetik yang tinggi pada tanaman menjadi dasar untuk seleksi sifat-sifat yang diinginkan (Rahim 2010).

Marka molekuler merupakan teknik yang dapat digunakan mendeteksi keragaman tanaman. Marka molekuler tidak dipengaruhi lingkungan, sehingga lebih menghemat penggunaan lahan, waktu, biaya, dan lebih polimorfis dibandingkan dengan marka lainnya (Winter and Kahl 1995, Henry 1997, Jahufer *et al.* 2003, Collard *et al.* 2005). Marka SSR memiliki nilai Polymorphic Information Content (PIC) lebih tinggi dibandingkan dengan jenis marka molekuler lainnya karena bersifat multialelik (Gupta *et al.* 2008). Marka SSR lebih baik digunakan pada tanaman dengan ukuran genom besar karena sebagian besar genom pada organisme eukariotik terdiri atas sekuens repetitif, sehingga dapat lebih banyak keragaman yang terdeteksi. Marka SSR adalah kelas marka kodominan, spesifik lokus, dan cocok untuk mendeteksi tingkat polimorfis antara varietas gandum yang berkerabat dekat (Kumar *et al.* 2013). Marka SSR telah banyak digunakan untuk menganalisis keragaman genetik dan tersebar di seluruh genom gandum dan mampu mengelompokkan tanaman dengan baik (Ablett *et al.* 2006, Salem *et al.* 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk (1) mengetahui keragaman genetik yang terbentuk oleh segregasi gandum hasil persilangan konvergen berdasarkan marka SSR dan (2) mendapatkan marka-marka yang informatif untuk mendeteksi keragaman genetik gandum dan kandidat tetua untuk menghasilkan rekombinasi yang memiliki peluang menghasilkan keragaman genetik yang lebih tinggi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Rumah Kaca, Balai Penelitian Tanaman Serealia (Balitsereal), Maros, Sulawesi Selatan, pada bulan Agustus sampai Desember 2015. Materi yang digunakan adalah 48 genotipe gandum hasil persilangan konvergen enam tetua (CB-F4) (Nur *et al.* 2015), enam tetua (Oasis, Dewata, Rabe, Selayar, Alibey dan HP1744), dan tiga galur (Guri1, Guri2 dan M088//Rabe) sebagai pembanding, sehingga terdapat 57 genotipe gandum (Tabel 1). Marka yang digunakan adalah 39 primer marka SSR yang terdiri atas 23 primer *Beltsville Agricultural Research Center* (Xbarc), 13 primer *Gatersleben wheat*

Tabel 1. Genotipe gandum hasil persilangan konvergen enam tetua generasi keempat, tetua, dan varietas yang telah dilepas.

No	Genotipe	Keterangan	No	Genotipe	Keterangan
1.	4B-1.6	Konvergen	31.	9B-2	Konvergen
2.	4C-2.1	Konvergen	32.	9C-1.1	Konvergen
3.	4G-1.5	Konvergen	33.	9D-3	Konvergen
4.	7A-2	Konvergen	34.	3A-10	Konvergen
5.	7A-3	Konvergen	35.	4A-2.2	Konvergen
6.	7A-5	Konvergen	36.	5B-1.2	Konvergen
7.	7A-8	Konvergen	37.	5B-3.2	Konvergen
8.	7B-5.1	Konvergen	38.	5B-6	Konvergen
9.	7E-2.1	Konvergen	39.	5B-11	Konvergen
10.	7E-8	Konvergen	40.	5E-1.1	Konvergen
11.	8A-6	Konvergen	41.	5E-3.1	Konvergen
12.	8B-5	Konvergen	42.	5E-5.1	Konvergen
13.	8B-8	Konvergen	43.	6B-1.1	Konvergen
14.	9A-4.1	Konvergen	44.	7A-1.1	Konvergen
15.	9A-2.1	Konvergen	45.	8D-3.1	Konvergen
16.	9D-1.1	Konvergen	46.	8D-4.1	Konvergen
17.	4A-3	Konvergen	47.	9E-1	Konvergen
18.	5B-1	Konvergen	48.	9E-3	Konvergen
19.	5E-2	Konvergen	49.	OASIS	Tetua
20.	5G-3	Konvergen	50.	GURI1	Pembanding
21.	5G-6	Konvergen	51.	GURI2	Pembanding
22.	6A-1	Konvergen	52.	TEPOCA/RABE	Pembanding
23.	6C-1	Konvergen	53.	HP1744	Tetua
24.	6C-2	Konvergen	54.	RABE//M088	Tetua
25.	6C-5	Konvergen	55.	SELAYAR	Tetua
26.	7A-2	Konvergen	56.	DEWATA	Tetua
27.	7A-4	Konvergen	57.	ALIBEY	Tetua
28.	7A-7	Konvergen			
29.	7A-11	Konvergen			
30.	9B-1	Konvergen			

Tabel 2. Primer SSR, kromosom asal, dan sekuen basa untuk mengevaluasi keragaman genetik populasi segrekan gandum. Laboratorium dan Rumah Kaca, Balitsereal, 2015.

No	Nama marka	Nomor kromosom	Primer forward	Primer reverse
1	Xgwm356	2A	CCAATCAGCCTGCAACAAC	AGCGTTCTTGGAATTAGAGA
2	Xwmc407	2A	CATATTTCCAAATCCCCAACTC	GGTAATTCTAGGCTGACATATGCTC
3	Xbarc215	3A	AGCCATAGTCTTGATCTTCGTTTCGT	CACTGACCTGGTAGCTTGCTCTTT
4	Xbarc190	4A	GCGATCGTTCTTCTCCCTCCTACTC	CCGTATGCAAATCTGACAAAGTTA
5	Xwmc420	4A	TTACTTTTCTGCTGAAAAACCCT	ATCGTCAACAAAATCTGAAGTG
6	Xgwm293	5A	TCGCCATCACTCGTTCAAG	TACTGGTTCACATTGGTGCG
7	Xbarc113	6A	GCGCACAACAACGGACACTTAACAATT	GGGACTCATTAGCTTCTACTCGCCATTA
8	Xgwm617	6A	GATCTTGGCGCTGAGAGAGA	CTCCGATGGATTACTCGCAC
9	Xbarc49	7A	GTCCACCAAATTAACAGCTCCTA	AGGCGCAGTGCTCGAAGAATATTAT
10	Xbarc121	7A	ACTGATCAGCAATGTCAACTGAA	CCGGTGTCTTTCCTAACGCTATG
11	Xbarc157	7A	GCGATGTGCTAGAATGATGAATTGTTAT	CCGGCGCTACTACTATTCTGCTGTGT
12	Xwmc603	7A	CGCCTCTCTCGTAAGCCTCAAC	ACAAACGGTGACAATGCAAGGA
13	Xgwm11	1B	GTGAATTGTGCTTGTATGCTTCC	GGATAGTCAGACAATTCTTGTG
14	Xgwm18	1B	TGGCGCATGATTGCATTATCTTC	GGTTGCTGAAGAACCCTATTAGG
15	Xbarc116	1B	GCGGTGCCATAGATGGAACACGA	GGCCAGCGCTCTCCATGAA
16	Xbarc101	2B	GCTCCTCTCACGATCAGCAAAG	GCGAGTCGATCACACTATGAGCCAATG
17	Xbarc1154	2B	TCACCTTTAAACCCGTCAGCATCA	GGCAGACACAAACAATACAAGAGA
18	Xbarc234	3B	ATGCAACTCCGTGCGCACTCCATAC	CGGCAGTAGGCGGATCCGCGCTGA
19	Xwmc527	3B	GCTACAGAAAACCGAGCCTAT	ACCCAAGTGGTGGCAGAA
20	Xbarc1142	4B	GCGTTTTCTCCATGATTTCTCTC	GCGAAAATATTGAACCTCCCTCTGT
21	Xbarc04	5B	GCGTGTGTGCTGCGTTCTA	CACCACACATGCCACCTTCTTT
22	Xbarc136	6B	GCGAGCTCACTGCACACTTACCC	GCAACGCACCTTGATAATC
23	Xbarc185	6B	GCGTATCTCTATCCCCACCCGCTCT	CCGGAGATGGAGATTGACGAG
24	Xgdm113	6B	ACCCATCTGATATTTTGGGG	AAAATGCCCTTCCCAACC
25	Xgwm123	6B	TACCAAATCGAAACACATCAGG	CATATCAAGGTCTCCTTCCCC
26	Xgwm133	6B	ATCTAAACAAGACGGCGGTG	ATCTGTGACAACCGGTGAGA
27	Xgwm63	7B	TCGACCTGATCGCCCCA	CGCCCTGGGTGATGAATAGT
28	Xbarc255	7B	GGGTGCGCTAGCCTTCTTTATGTT	GTGGCGGCTTGGGGTGGCTGAGTA
29	Xgwm577	7B	ATGGCATAATTGGTGAAATTG	TGTTTCAAGCCCACTTCTATT
30	Xbarc112	1D	GCGAACAACCTCAACGAAAACAATTCTAAC	GCGTTAAGTAGTGTTCGGGGGATTGTT GTG
31	Xbarc103	2D	GCGAATGTTGAGTGGCTCTCATTGA	GCTCGGTACCCAGTTCATCGAATGTA
32	Xgwm261	2D	CTCGCGCTACTAGCCATTG	CTCCCTGTACGCCTAAGGC
33	Xbarc226	3D	GCGTTCAATGCTATGGCGTTTATTAT	GTGCCTGGTAGCCTGCCCGGATA
34	Xbarc314	3D	AGGAGCTCCTCTGTGCCAC	TTCGGGACTCTTCCCTG
35	Xbarc1117	5D	CTGCTACGATGCCTTGTGGGCTACT	CCGGCACTAACAGAAAGCAGAAAAGAA
36	Xgwm190	5D	GTGCTTGCTGAGCTATGAGTC	GTGCCACGTGGTACCTTTG
37	Xbarc1087	6D	TGCCAAGTAGTAGAGTCGCACAAACC	GGCTTCTACTACGCTGAGACACACG
38	Xgwm325	6D	TTTTTACGCGTCAACGACG	TTTCTTCTGCTGTTCTCTTCCC
39	Xbarc235	7D	GCGCAAGTCTGTCAAAGCCTAA	GCGCTCACCCTCCTACACTTCTTA

Sumber: Roder *et al.* (1998).

microsatellites (Xgwm), tiga primer *Wheat microsatellite Consortium* (Xwmc), dan satu primer *Gatersleben D-Genome microsatellite* (Xgdm) (Tabel 2).

Seluruh genotipe gandum ditanam pada polybag (15 x 20 cm) yang berisi campuran pupuk kompos dan tanah (1:1) sebanyak 2 kg. Pada setiap polybag ditanam 20 benih gandum. Tanaman dipelihara di rumah kaca dan disiram setiap pagi atau sore.

Sampel daun muda diambil dari setiap populasi genotipe pada saat tanaman berumur 10-15 hari. Sampel daun dipotong-potong kecil, kemudian ditimbang 0,4 g/sampel dan diekstraksi DNA-nya. Protokol ekstraksi, elektroforesis, dan visualisasi gel DNA mengikuti prosedur George *et al.* (2004). Hasil ekstraksi DNA kemudian diuji kualitas dan kuantitas, hasilnya

ditunjukkan oleh foto di atas *UV transiluminator* (MUV21-254/365-220, Major Science) untuk uji kualitas dan pembacaan konsentrasi DNA oleh alat *Nano photometer* untuk uji kuantitas. Hasil uji keduanya digunakan sebagai dasar untuk pengenceran DNA. Ukuran kuantitas DNA yang digunakan untuk analisis PCR adalah 10 ng/sampel.

Polymerase Chain Reaction (PCR) menggunakan 39 primer *Simple sequence repeat* (SSR) (Tabel 2). Hasil amplifikasi kemudian dipisahkan menggunakan mesin *electrophoresis* (Model MGV, CBG Scientific Co.) dan gel *polyacrylamide* 8% nondenaturasi dalam TBE buffer 1X. Marka DNA ϕ X174/*Hinf*I digunakan sebagai standar ukuran pita hasil amplifikasi, kemudian divisualisasi dalam larutan silver nitrat 1 g/L dan larutan NaOH 20 g/L

yang ditambahkan formaldehid 1000 $\mu\text{L/L}$. Hasilnya divisualisasi di atas meja kaca putih, dan marka diberi mistar kecil untuk mempermudah pembacaan ukuran pita.

Hasil visualisasi gel elektroforesis dibuat skor berdasarkan kemunculan pita menggunakan sistem data biner. Jika muncul pita, ditulis satu (1) dan jika tidak muncul pita ditulis nol (0). Pita-pita yang tidak representatif dan sukar diskor dianggap sebagai data hilang dan diberi angka 9 dan pola pita seragam dianggap sebagai pita tunggal. Alel-alel diberi label berdasarkan posisi relatif dari pita-pita DNA terhadap fragmen $\phi\text{X174} / \text{HinfI}$. Primer-primer tersebut harus memiliki tingkat missing data < 15%. Nilai polimorfisme (*Polymorphisme Information Content* PIC) setiap primer dihitung berdasarkan rumus yang dikembangkan oleh Anderson *et al.* (1993):

$$\text{PIC} = 1 - \sum_{i=1}^n (P_i)^2$$

P_i adalah frekuensi alel ke- i .

Jarak genetik (*genetic distance*) diukur menggunakan rumus Nei dan Li (1979).

$$\text{GS} = N_{ij} / (N_i + N_j)$$

N_{ij} = jumlah pita yang umum pada seluruh genotipe i dan j , dan

$N_i + N_j$ = jumlah total pita yang diamati pada genotipe i dan j .

Informasi PIC, heterosigositas, frekuensi alel, variasi genotipe, dan keragaman gen diperoleh menggunakan software *Power Marker* (Liu and Muse 2005). Data hasil skoring kemudian dianalisis dengan software NTSYS-pc versi 2.1 (Rohlf 2002) untuk mendapatkan informasi jarak genetik menggunakan analisis SIMQUAL (Nei and Li 1979). Dendrogram *Unweighted Pair Group Method* (UPGMA) dibuat dengan analisis *Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis* (SAHN) (Sneath and Sokal 1973) untuk mengetahui nilai koefisien kepercayaan pengelompokan secara keseluruhan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Polimorfisme Marka SSR dan Keragaman Alel

Hasil penelitian menunjukkan jumlah alel yang terbentuk dari seluruh genotipe pada 39 primer adalah 137 alel dengan kisaran pasang basa 85,6-553 bp. Jumlah alel/lokus yang diperoleh bervariasi dari dua alel (primer Xgwm293, Xwmc527, Xbarc226, Xbarc1087, Xbarc1142, Xwmc420, Xgwm617) hingga enam alel (primer Xgwm261 dan Xgwm133). Jumlah alel/lokus rata-rata

3,51. Tingkat polimorfisme primer (PIC) berkisar antara 0,11 (Xbarc215) sampai 0,70 (Xwmc407), dengan rata-rata 0,35 untuk semua primer (Tabel 3).

Nilai informasi polimorfik berbanding lurus dengan jumlah alel dalam setiap lokus, semakin tinggi jumlah alel, semakin tinggi nilai informasi polimorfik. Nilai PIC primer yang hampir mendekati nol (0) menunjukkan variasi alel pada populasi yang diuji sangat kecil seperti yang ditunjukkan oleh primer Xbarc215. Nilai PIC primer di atas 0,5 menunjukkan variasi alel dalam primer pada populasi yang diuji tinggi, seperti yang ditunjukkan oleh primer Xwmc407 dan Xbarc49 (Tabel 3).

Tingginya nilai PIC kedua primer Xwmc407 dan Xbarc49 berkaitan dengan adanya alel-alel asing atau alel yang jarang dimiliki oleh seluruh genotipe pada populasi yang diuji. Primer dengan nilai PIC tinggi akan menghasilkan karakter pembeda antargenotipe tanaman yang diteliti (Malik *et al.* 2013).

Frekuensi alel pada penelitian ini berkisar antara 0,32-0,94 dengan rata-rata 0,69. Alel-alel utama yang muncul pada seluruh genotipe menunjukkan alel tersebut umum ditemukan pada seluruh genotipe. Alel utama ini ditunjukkan oleh nilai frekuensi alel tertinggi pada primer Xbarc215 (0,94) dan frekuensi terendah pada primer Xwmc407 (0,32). Frekuensi alel dengan nilai < 0,95 mengindikasikan marka yang digunakan bersifat polimorfik terhadap populasi (Pabendon *et al.* 2007). Hasil penelitian ini menunjukkan nilai rata-rata frekuensi alel yang rendah yang mengindikasikan alel-alel dalam populasi penelitian ini bersifat polimorfik.

Analisis marka SSR menunjukkan tingkat keragaman gen dengan nilai rata-rata 0,41 dengan keragaman tertinggi terdapat pada primer Xwmc407 (0,75) dan keragaman terendah pada primer Xbarc215 dan Xgwm261 (0,12). Keragaman gen pada setiap marka menunjukkan marka Xgwm407 dengan nilai PIC yang tinggi dapat dijadikan sebagai marka penciri untuk memprediksi variabilitas pada populasi tanaman.

Jumlah alel/lokus terbesar terdapat pada genom B (56 alel dengan 15 primer), diikuti oleh genom D (41 alel dengan 12 primer) dan genom A (40 alel dengan 12 primer). Rata-rata alel/lokus untuk setiap genom adalah genom A 3,33, genom B 3,73, dan genom D 3,41. Genom B memiliki alel lebih besar dari rata-rata alel seluruh genom yang menunjukkan lebih beragamnya bentuk alel pada genom B. Hal ini menandakan bahwa genom B menyumbang keragaman alel yang besar dalam populasi.

Keragaman genetik memiliki arti penting dalam pengembangan spesies. Adanya keragaman memberikan peluang bagi kegiatan pemuliaan selanjutnya seperti seleksi, hibridisasi, dan introgesi gen.

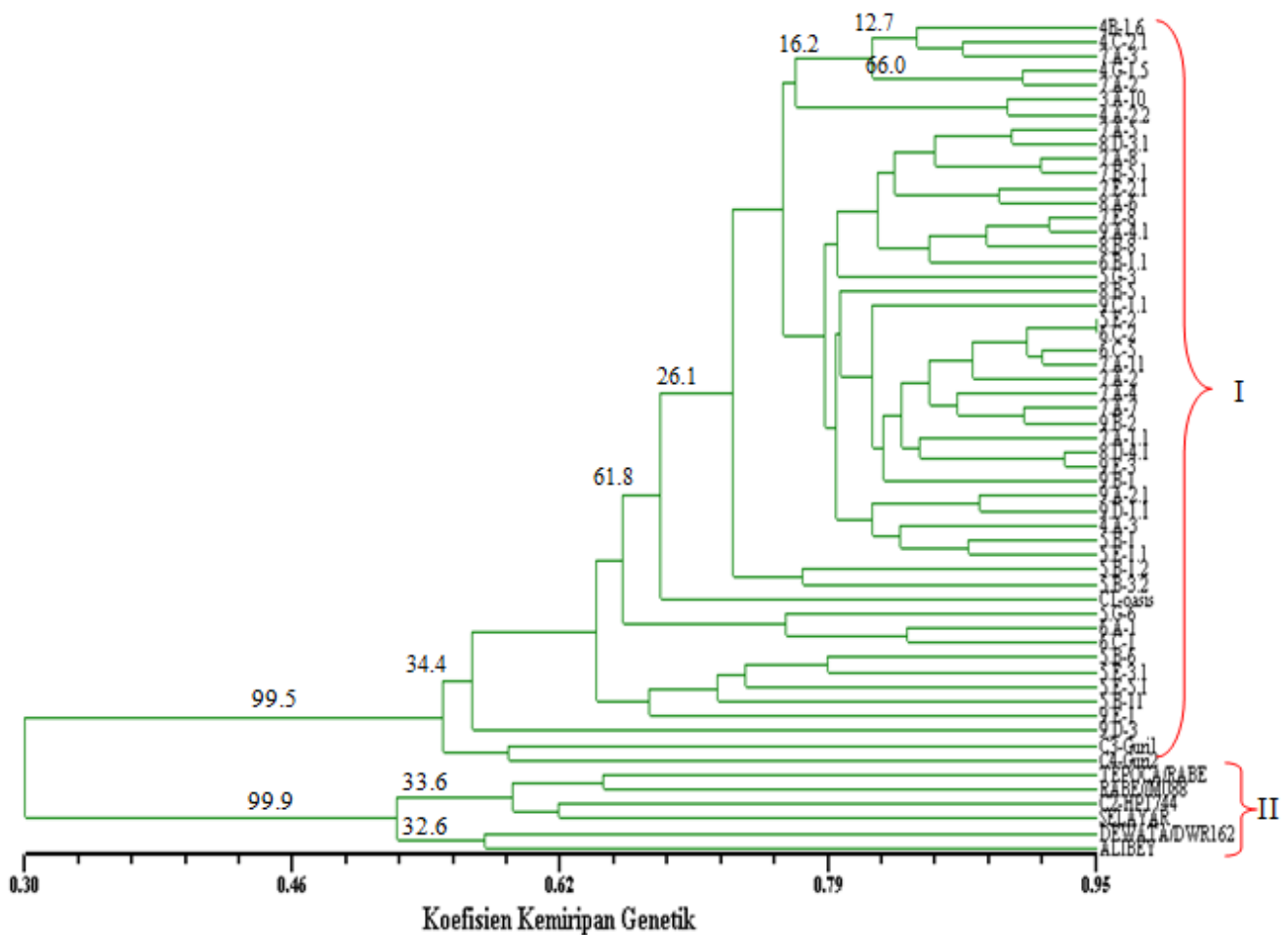
Tabel 3. Hasil karakterisasi marka SSR pada beberapa genotipe gandum.

No	Marker	Ukuran alel	Nomor komosom	Frekuensi Alel	Variasi genotipe	Jumlah alel	Keragaman gen	Het	PIC
1	Xgwm356	175,5-427	2A	0,86	5	5	0,26	0,15	0,25
2	Xwmc407	129-280	2A	0,32	4	5	0,75	0,88	0,70
3	Xbarc215	130-200	3A	0,94	4	3	0,12	0,11	0,11
4	Xbarc190	183,67-427	4A	0,87	4	4	0,24	0,12	0,22
5	Xwmc420	122,4-126,8	4A	0,81	3	2	0,30	0,30	0,26
6	Xgwm293	196,5-243,56	5A	0,53	2	2	0,50	0,95	0,37
7	Xbarc113	113,5-143,66	6A	0,62	5	4	0,54	0,52	0,48
8	Xgwm617	249-280	6A	0,84	2	2	0,27	0,00	0,23
9	Xbarc49	210,89-284,43	7A	0,47	4	3	0,61	0,02	0,53
10	Xbarc121	163,25-193,87	7A	0,61	3	3	0,52	0,00	0,44
11	Xbarc157	427-553	7A	0,81	5	4	0,32	0,20	0,30
12	Xwmc603	85,63-110	7A	0,57	4	3	0,52	0,81	0,42
Total genom A				8,25	45	40	4,95	4,06	4,31
Rata-rata genom A				0,69	3,75	3,33	0,41	0,34	0,36
13	Xgwm11	200-262,78	1B	0,73	4	4	0,42	0,16	0,37
14	Xgwm18	192,99-280	1B	0,49	5	4	0,53	0,82	0,41
15	Xbarc116	114,4-200	1B	0,54	5	4	0,55	0,88	0,46
16	Xbarc101	104,4-151	2B	0,89	7	5	0,21	0,12	0,20
17	Xbarc1154	178,99-229,4	2B	0,78	4	3	0,37	0,10	0,33
18	Xbarc234	88,54-191,09	3B	0,50	6	5	0,55	0,40	0,46
19	Xwmc527	374,27-427	3B	0,70	3	2	0,42	0,06	0,33
20	Xbarc1142	185,99-229,4	4B	0,87	3	2	0,23	0,02	0,20
21	Xbarc04	169,37-243,57	5B	0,51	6	4	0,56	0,83	0,47
22	Xbarc136	249-340	6B	0,84	3	3	0,28	0,14	0,26
23	Xbarc185	126,8-146,6	6B	0,83	3	3	0,29	0,00	0,26
24	Xgdm113	140-175,5	6B	0,77	3	3	0,38	0,25	0,35
25	Xgwm123	125,33-145,5	6B	0,54	6	3	0,55	0,74	0,45
26	Xgwm133	85,6-123,5	6B	0,87	6	6	0,25	0,12	0,24
27	Xbarc225	243,55-300,67	7B	0,52	4	4	0,53	0,64	0,42
28	Xgwm63	229,4-311	7B	0,87	6	4	0,24	0,05	0,22
29	Xgwm577	134,5-175,5	7B	0,87	6	4	0,24	0,07	0,23
Total genom B				12,12	80	63	6,60	5,94	5,66
Rata-rata genom B				0,71	4,71	3,71	0,39	0,35	0,33
30	Xbarc112	181,15-295,5	1D	0,54	6	4	0,55	0,79	0,45
31	Xbarc103	193,87-209,8	2D	0,49	5	3	0,53	0,73	0,43
32	Xgwm261	167,33-284,42	2D	0,94	5	6	0,12	0,05	0,12
33	Xbarc226	272,25-295,5	3D	0,59	3	2	0,48	0,61	0,37
34	Xbarc314	164,99-219,6	3D	0,67	3	3	0,50	0,00	0,45
35	Xbarc111,7	190,2-349,66	5D	0,77	5	4	0,38	0,39	0,35
36	Xgwm190	200-239,2	5D	0,62	5	3	0,51	0,53	0,43
37	Xbarc1087	240,83-282,81	6D	0,76	3	2	0,36	0,32	0,30
38	Xgwm325	133,4-151	6D	0,75	3	3	0,39	0,00	0,35
39	Xbarc235	189,11-340	7D	0,56	5	4	0,56	0,63	0,48
Total genom D				6,69	43	34	4,38	4,05	3,73
Rata-rata genom D				0,67	4,3	3,4	0,44	0,41	0,37
Total seluruh genom				27,06	168	137	15,93	14,05	13,7
Rata-rata seluruh genom				0,69	4,31	3,51	0,41	0,36	0,35

Keragaman genetik pada tanaman di tingkat molekuler ditunjukkan oleh nilai PIC, heterozigositas, dan alel yang terbentuk dari primer yang digunakan. Rata-rata nilai PIC dan jumlah alel rata-rata seluruh primer pada penelitian ini masing-masing 0,35 dan 3,51 alel. Menurut Botstein *et al.* (1980), nilai PIC 0,35 tergolong informatif sedang, artinya primer yang digunakan cukup informatif menunjukkan keragaman dalam populasi. Setiap marka dalam penelitian ini menghasilkan jumlah alel yang sedikit, sebagian besar rata-rata 2 alel/lokus. Nilai PIC dan alel bergantung kepada jumlah dan jenis lokus/primer SSR, populasi, dan kedekatan genetik dari genotipe (Zhang *et al.* 2010). Oleh karena itu, penggunaan marka SSR yang bersifat multialelik berperan penting dalam mendeteksi keragaman genetik dan diperlukan lebih banyak agar dapat mengetahui keragaman alel dan karakter pada populasi yang diuji.

Keragaman Genetik dan Hubungan Filogenetik

Hasil analisis kelompok berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan genetik mengelompokkan 57 genotipe gandum pada koefisien kemiripan genetik dengan kisaran 0,30-0,95 (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan keragaman genetik pada seluruh genotipe yang diuji menyebar dari rendah hingga tinggi (variabilitas tinggi). Hasil pengelompokan pohon filogenetik dapat dibagi kedalam dua kelompok, yaitu kelompok I yang terdiri atas genotipe segrekan, Oasis, Guri1, dan Guri2 serta kelompok 2 yang terdiri atas genotipe Tepoca/Rabe, HP1744, Selayar, Dewata, dan Alibey pada koefisien kemiripan genetik 0,3. Keragaman genetik pada suatu populasi tanaman mengindikasikan keberagaman karakter/sifat yang dimiliki tanaman dalam satu populasi. Nilai koefisien kemiripan rendah menunjukkan dalam populasi tersebut terdapat individu-individu dengan perbedaan sifat yang besar.



Gambar 1. Koefisien kemiripan genetik 57 genotipe gandum.

Tabel 4. Peluang rekombinasi berdasarkan jarak genetik yang memiliki potensi menghasilkan rekombinan yang lebih variatif.

No	Peluang rekombinasi			Jarak genetik	No	Peluang rekombinasi			Jarak genetik
1	4A-3	X	HP-1744	0,76	12	6C-1	X	HP-1744	0,75
2	4A-3	X	Rabe//MO88	0,76	13	6C-1	X	Rabe//MO88	0,84
3	4A-3	X	Selayar	0,77	14	6C-1	X	Selayar	0,78
4	4A-3	X	Dewata	0,75	15	6C-1	X	Dewata	0,77
5	6A-1	X	Rabe//MO88	0,75	16	5E-1.1	X	HP-1744	0,75
6	7A-7	X	Dewata	0,76	17	5E-1.1	X	Rabe//MO88	0,75
7	5B-3.2	X	Selayar	0,78	18	5E-1.1	X	Dewata	0,76
8	5B-3.2	X	Dewata	0,78	19	5E-3.1	X	Dewata	0,79
9	5B-6	X	Dewata	0,80	20	5E-5.1	X	Dewata	0,75
10	5B-6	X	Alibey	0,75	21	5G-6	X	Rabe//MO88	0,76
11	5B-11	X	Dewata	0,79	22	Guri2	X	HP-1744	0,78

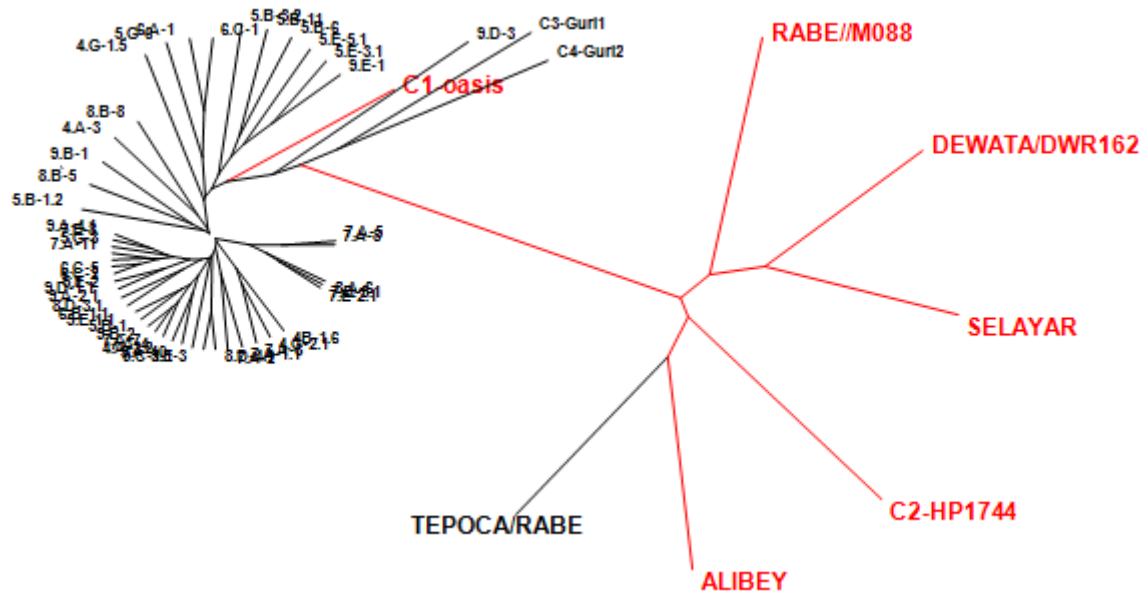
Tingkat kepercayaan pengelompokan dapat dilihat dari nilai *consensus tree*. Nilai *consensus tree* menunjukkan kepadatan data hasil terhadap kesalahan sampling dan konsistensi pengelompokan (Holland 2006). Dari dendogram terlihat tingkat kepercayaan kelompok 1 adalah 99,5 dan kelompok 2 adalah 99,9. Pada kelompok 1, Oasis yang menjadi tetua persilangan dominan memiliki tingkat kepercayaan pengelompokan terhadap segregan 61,8. Angka tersebut menunjukkan besarnya konsistensi pengelompokan dan peluang perubahan pengelompokan jika ada penambahan data baru yang hanya 38,2%.

Nilai koefisien kemiripan genetik yang rendah pada pengelompokan 57 genotipe gandum menunjukkan peluang heterotik dalam menghasilkan persilangan dengan tingkat keragaman tinggi. Seluruh genotipe kelompok 1 memiliki nilai jarak genetik yang jauh terhadap genotipe kelompok 2 dengan nilai rata-rata lebih dari 0,6. Kelompok genotipe yang memiliki nilai jarak genetik $e^{0,75}$ disajikan pada Tabel 4. Terdapat dua kombinasi persilangan pada kelompok genotipe yang memiliki nilai jarak genetik lebih tinggi ($>0,8$). Jarak genetik tertinggi 0,84 yaitu antara genotipe Rabe//MO88 dengan segregan 6C-1, dan genotipe Dewata dengan segregan 5B-6 dengan nilai 0,80. Kedua kandidat rekombinasi persilangan ini diharapkan dapat menghasilkan rekombinan-rekombinan yang lebih variatif dalam rangka meningkatkan keragaman genetik.

Hasil penelitian juga menunjukkan kecenderungan tetua Oasis yang merupakan tetua persilangan segregan serta genotipe Guri1 dan Guri2 berada dalam pengelompokan yang sama (Kelompok 1). Informasi pedigree (konstitusi genetik) ketiga genotipe gandum adalah Oasis (OASIS/SKAUZ//4*BCN), Guri1 (KAUZ*2//SAP/MON/3/KAUZ), dan Guri2 (CAZO/KAUZ//KAUZ). Ketiganya merupakan genotipe introduksi dari CIMMYT, 'KAUZ' dan 'SKAUZ' merupakan kultivar gandum toleran suhu tinggi (Ali *et al.* 2010, Rajaram 1998).

Persilangan diperlukan untuk mendapatkan rekombinasi gen-gen yang lebih variatif. Oleh karena itu, informasi jarak genetik sangat dibutuhkan oleh pemulia tanaman untuk mendapatkan peluang rekombinasi terbaik dari pasangan rekombinan yang dibuat. Persilangan dengan tetua yang memiliki jarak genetik maksimum dapat digunakan dalam program pemuliaan untuk mencapai rekombinasi yang tinggi (Rahim *et al.* 2010). Pada penelitian ini diperoleh 22 kandidat pasangan yang nilai jarak genetiknya lebih dari 0,74 yang diharapkan dapat menghasilkan rekombinan-rekombinan yang lebih variatif.

Struktur populasi yang disajikan pada Gambar 2 menunjukkan segregan cenderung membentuk satu kelompok populasi sendiri yang terpisah dari tetuanya. Segregan yang dihasilkan dapat memfiksasi karakter-karakter dari tetua persilangan dan meningkatkan keragaman genetiknya. Variasi antara genotipe merupakan penyumbang terbesar terhadap keragaman genetik (Huang *et al.* 2007). Witcombe *et al.* (2013) juga menyatakan efisiensi program pemuliaan meningkat dengan membuat persilangan dengan kombinasi enam persilangan tetua terpilih yang jelas karakter produksinya akan meningkatkan peluang mendapatkan keturunan yang memiliki daya hasil tinggi dengan karakter yang diinginkan. Pada penelitian ini digunakan tetua-tetua persilangan dengan karakter penciri yang mendukung daya hasil tinggi (Yamin 2014, Natawijaya 2012, Nur 2015). Gambar 2 juga menunjukkan segregan hasil persilangan membentuk populasi tersendiri yang cenderung memiliki kesamaan karakter dengan tetuanya Oasis, yang merupakan tetua dominan, digunakan sebagai tetua betina dalam pembentukan F1 gandum persilangan konvergen (Nur 2015). Dari pengelompokan tersebut hanya genotipe 9D-3 yang memiliki kecenderungan karakter yang mengelompok dengan karakter genotipe gandum introduksi.



Gambar 3. Dendogram struktur populasi 57 genotipe gandum.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan variabilitas genetik plasma nutfah gandum yang berasal dari persilangan konvergen, dibandingkan dengan hasil penelitian Adriani *et al.* (2014) yang menggunakan genotipe gandum introduksi. Hasil penelitian Adriani *et al.* (2014) juga menunjukkan koefisien kemiripan antara 0,66–0,97, yang menunjukkan keragaman yang lebih sempit dibandingkan dengan hasil penelitian ini yang berkisar 0,30–0,90. Jarak genetik tertinggi yang diperoleh pada penelitian tersebut adalah 0,62, sedangkan pada penelitian ini 0,84, sehingga terjadi peningkatan keragaman sebesar 22%. Variabilitas genetik menunjukkan besarnya keragaman yang terdapat pada populasi yang diuji. Nilai ini semakin meningkat seiring semakin banyaknya keragaman dalam populasi (Syahrudin 2012). Semakin banyak alel-alel polimorfis dan semakin kompleks persilangan maka semakin beragam populasi yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Keragaman genetik 57 populasi genotipe gandum hasil persilangan, tetua, dan pembandingan yang diuji tergolong tinggi dengan kisaran 0.30-0.95. Tingkat keragaman ini memisahkan populasi yang diuji ke dalam dua kelompok pada koefisien kemiripan 0.30. Keragaman genetik gandum meningkat pada populasi hasil persilangan konvergen enam tetua dengan meningkatnya nilai jarak genetik di antara segrekan dan tetua. Terdapat 20 peluang

rekombinasi yang memungkinkan menghasilkan rekombinan-rekombinan yang lebih beragam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Litbang Kementerian Pertanian atas bantuan dana penelitian melalui DIPA Penelitian, asisten Laboratorium Sdr. Haryati, Editha Dwi Jayanti, dan Fristy Damanik serta Bapak Sigit Budi Santoso, Sdr. Aviv Adriani dan Sri Sunarti atas kontribusi dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ablett, G., H. Hilland, and R. Henry. 2006. Sequence polymorphism discovery in wheat microsatellite flanking regions using pyrophosphate sequencing. *Molecular Breeding* 17:281-289.
- Ali, M.B., M.H.I Amir, B. Dirk, H.R. Zoran, and F. Jianming. 2010. Wild tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) response to heat stress, *J. Crop Improvement* 4:228-243.
- Andriani, A., Reflinur, and M.B. Pabendon. 2015. Genetic diversity analysis of wheat germplasm collection of Indonesian Cereals Research Institute using SSR Markers. Sabrao 13th Congress and International Conference, 14-16 September 2015, Bogor.
- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnickand, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Amer. J. Human Genetic* 32:314.
- Briggs, F.N. and P.F. Knowles. 1997. Introduction to plant breeding, Reinhold Publishing Corporation, California.

- Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, and E.C.K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169–196.
- Griffiths, J.F.A., S.R. Wessler, S.B. Carroll, and J. Doebley. 2012. Introduction to genetics analysis. Freeman and Company. New York. 832pp.
- Gupta, P.K., R.R. Mir, A. Mohan., and J. Kumar. 2008. Wheat genomics: present status and future prospects. *Inter. J. Plant Genomics*. p.2–36.
- Henry, R. 1997. Molecular markers in plant improvement. *In: Practical Applications of Plant Molecular Biology*. Chapman and Hall, London. p.99–132.
- Huang, X.Q., W. Markus, W. Martin, Ganai, S. Orford, Robert, M.D. Koebner, and S. Ro der Marion. 2007. Did modern plant breeding lead to genetic erosion in European winter. *Crop Sci.* (47):343–349.
- Holland, B. 2006. The bootstrap, consensus-tree and super-trees. *Phylogenetic Workshop*, 16-18 August 2006, South Korea.
- Jahufer, M., M. Cooper, J. Ayres, and R. Bray. 2002. Identification of research to improve the efficiency of breeding strategies for white clover in Australia: A review. *Aust. J. Agric. Res.* (53):39–257.
- Kumar, S., P. Kumari, U. Kumar, M. Grover, A.K Singh, R. Singh, and R.S. Sengar. 2013. Molecular approaches for designing heat tolerant wheat. Review Article *J. Plant Biochem. Biotechnol.* Springer. Berlin.
- Liu, K. and S.V. Muse. 2005. Power marker: an integrated analysis environment for genetik marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128–2129.
- Malik, R., R. Tiwari, A. Arora, P. Kumar, and S. Sheoran. 2013. Genotypic characterization of elite Indian wheat genotypes using molecular markers and their pedigree analysis. *Aust. J. Crop Sci.* 7:561.
- Melchinger, A.E., H.F. Utz, and C.C. Schön. 2008. Genetic expectations of quantitative trait loci main and interaction effects obtained with the triple test cross design and their relevance for the analysis of heterosis. *Genetics* 177:1827–1837.
- Melchinger, A.E. 1999. Genetik diversity and heterosis. *In* Coors JG, Pandey S (eds). *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. Madison. WI:CSSA. p.99–118.
- Natawijaya, A. 2012. Analisis genetik dan seleksi generasi awal segregan gandum (*Triticum aestivum* L.) berdaya hasil tinggi. [Thesis]. Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.
- Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetik variation interms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 76:5269–5273.
- Nur, A. 2014. Perakitan varietas gandum tropis adaptif pada ketinggian d"400 m dpl potensi hasil e" 1,5 t/ha dan pada ketinggian e"400 m dpl potensi hasil e" 4 t/ha. Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros.
- Nur, A., K. Syahrudin, dan M.J. Mejaya. 2015. Perbaikan genetik gandum tropis toleran suhu tinggi dan permasalahan pengembangannya pada daerah dataran rendah. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 34(1):19-30..
- Pabendon, M.B., M.J. Mejaya, J. Koswara, dan Aswidinnoor H. 2007. Analisis keragaman genetik inbrida jagung berdasarkan marka SSR dan korelasinya dengan data fenotipik F1 hasil silang uji. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 26:6977.
- Rahim, M.A., A.A. Mia, F. Mahmud, N. Zeba, and K. Arifin. 2010. Genetic variability, character association and genetic divergence in Mungbean (*Vigna radiate* L, Wilczek). *Plant Omic* 3:1-6.
- Rajaram, S. 1997. Approach for breeding yield stagnation-CIMMYT's Perspective, *Proc. Internat. Group Meeting on Wheat Research Needs Beyond 2000 AD*. Directorate of Wheat Research, Karnal. India, 12-14 August 1997.
- Rohlf, F. 2002. NTSYS-pc: Numerical taxonomy system version 2.1 Exeter Publishing. Setauket, NewYork, USA.
- Röder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy, and M.W. Ganai. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149:2007–2023.
- Salem, K.F.M., A.M. El-Zanaty, and R.M. Esmail. 2008. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetik diversity using morphological characters and microsatallite markers. *World J. Agric. Sci.* 4(5):538-544.
- Siddiq, E.A., L.R. Vemireddy, and J. Nagaraju. 2012. Basmati Rices: Genetics, breeding and trade. A Review. *Agric. Res.* 1(1):25–36.
- Sneath, P.H.A and R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco. 573pp.
- Syahrudin, K. 2012. Analisis kergaman genetik durian (*Durio zibethinus* L) menggunakan marka morfologi dan marka molekuler Inter simple sekuens repeat (ISSR). [Thesis] Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.
- Winter, P. and G. Kahl. 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 11:438–448.
- Witcombe, J.R., S. Gyawali, M. Subedi, D.S. Virk, and K.D. Joshi. 2013. Plant breeding can be made more efficient by having fewer, better crosses. *BMC Plant Biology*. p.13-22.
- Yamin, M. 2014. Pendugaan komponen ragam karakter agronomi gandum (*Triticum aestivum* L.) dan identifikasi marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) terpaut suhu tinggi menggunakan *Bulk Segregant analysis* (BSA). [Thesis]. Sekolah pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Zhang, D., G. Bai, C. Zhu, J. Yu, and B.F. Carver. 2010. Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in US elite winter wheat. *Plant Genome* 3:117-127.

