

# **Pra-pemuliaan Aneka Kacang dalam Mendukung Proses Pemuliaan untuk Perakitan Varietas Unggul Baru**

## **(Pre-breeding of Legumes to Support Breeding Process for Developing Newly Improved Variety)**

**Asadi\*, Puji Lestari, dan Nurwita Dewi**

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; \*E-mail: asadiboes@yahoo.com

Diajukan: 17 Februari 2016; Direvisi: 21 Maret 2016; Diterima: 27 Mei 2016

### **ABSTRACT**

Legumes are considered as food crops with a strategic position in the aspects of economic, food, and nutrition in the world, including Indonesia. However, biotic and abiotic stresses conditions demand the development of newly improved varieties by utilizing plant genetic resources (PGR) through breeding. This review described how to optimally use legume germplasm collection and their breeding to improve varieties. In addition, how pre-breeding could bridge between the PGR and the breeding including genomics approach was explained. To further optimize the utilization of the germplasm, a core collection should be established by characterization and evaluation of the resistance/tolerance to desired important traits. To cope with the climate change challenges, pre-breeding should emphasize on the improvement of characters related to resistance to abiotic and biotic stresses. Various accessions in the gene bank have been identified to possess resistance/tolerance to abiotic (drought, submerge dan salinity) and biotic stresses. The PGR with well identified important characters will be more accessible and utilized easily as genes sources/donors for improving varieties, enriching the existing important characters in the released varieties. Significant progress have been made on legumes genomics, not only in soybean but also in the mungbean, red bean, pigeon pea, groundnut, chickpea, common bean and others. Genome-based markers and SNP genotyping platform with high throughput expectedly support breeding program of legume. Therefore, pre-breeding is a promising alternative to link the legume PGR and the breeding program.

**Keywords:** Legumes, newly improved variety, pre-breeding, genomics.

### **ABSTRAK**

Aneka kacang merupakan komoditas tanaman pangan yang menempati posisi strategis ditinjau dari aspek ekonomi, pangan, dan gizi di dunia, termasuk Indonesia. Namun, kondisi cekaman biotik dan abiotik menuntut perakitan varietas unggul dengan memanfaatkan secara optimal plasma nutfah atau sumber daya genetik (SDG) aneka kacang melalui pemuliaan. Dalam ulasan ini disampaikan tentang bagaimana memanfaatkan koleksi SDG aneka kacang secara optimal dan pemuliaannya dalam rangka perbaikan varietas. Pra-pemuliaan berperan dalam menjembatani koleksi SDG sebagai sumber gen dengan aktivitas pemuliaan termasuk aspek genomiknya. Untuk lebih mengoptimalkan pemanfaatan SDG, perlu dibuat koleksi inti (*core collection*), yaitu dengan cara mengarakterisasi dan mengevaluasi ketahanan/toleransinya terhadap sifat-sifat penting. Untuk menghadapi tantangan perubahan iklim, pra-pemuliaan dititikberatkan untuk mencari sumber gen yang tahan/toleran terhadap cekaman abiotik dan biotik. Berbagai aksesori aneka kacang yang dikoleksi dalam bank gen telah dilaporkan toleran terhadap cekaman abiotik (kekeringan, kerendaman, keracunan aluminium, dan salinitas tinggi) dan tahan terhadap cekaman biotik. SDG dengan karakter penting yang sudah teridentifikasi akan lebih mudah diakses dan diberdayakan sebagai sumber gen dalam perakitan varietas baru, sehingga akan memperkaya karakter penting pada varietas unggul yang dilepas. Kemajuan genomika pada aneka kacang berkembang pesat tidak hanya di kedelai namun juga di kacang hijau, kacang merah, kacang gude, kacang tanah, *chickpea*/kacang arab (*Cicer arietinum*), kacang buncis, dan lainnya. Marka berbasis genom dan *platform genotyping* SNP dengan *high throughput* menjadikan teknologi ini menjadi harapan dalam membantu program pemuliaan aneka kacang. Hasil kegiatan pra-pemuliaan aneka kacang di Indonesia menunjukkan kemajuan berarti yang bermanfaat mendukung program pemuliaannya. Karena itu, pra-pemuliaan merupakan kegiatan penting untuk menyambungkan pengelolaan SDG aneka kacang dengan program pemuliaannya.

**Kata kunci:** Aneka kacang, varietas unggul baru, pra-pemuliaan, genomika.

## PENDAHULUAN

Aneka kacang (*legume*) merupakan komoditas pangan yang penting setelah padi dan jagung, dan menduduki tempat yang strategis dari aspek ekonomi dan pangan di banyak negara. Biji aneka kacang memiliki nilai gizi yang unik, selain menjadi sumber utama protein, sakarida, dan beberapa mikro nutrisi termasuk mineral dan vitamin, juga kaya serat dan rendah lemak. Oleh sebab itu, biji aneka kacang berperan dalam mengurangi kekurangan protein dan gizi buruk pada masyarakat miskin di negara-negara berkembang, serta memberikan kontribusi yang besar terhadap kecukupan pangan dan keamanan gizi. Aneka kacang memiliki pengaruh fisiologis yang menguntungkan dalam makanan sehari-hari karena berperan mencegah berbagai penyakit seperti diabetes melitus, penyakit jantung koroner, dan kanker. Tanaman aneka kacang juga berperan menyuburkan tanah karena dapat mengikat N melalui simbiosis dengan bakteri bintil akar (*rhizobium*) (Mafudmo *et al.*, 2001; Yamauchi dan Minamikawa, 1996).

Di Indonesia, varietas aneka kacang banyak dibudidayakan oleh masyarakat di Jawa dan luar Pulau Jawa. Di Nusa Tenggara Timur (NTT), jenis kacang-kacangan yang sebagian besar ditanam adalah kacang-kacangan lokal potensial yang memiliki kandungan nutrisi hampir sama dengan kedelai, namun potensinya belum dikembangkan secara optimal. Aneka kacang sebagian besar ditanam di lahan marginal sehingga masalah utama yang sering ditemukan dalam budi daya aneka kacang seperti kedelai, kacang hijau, kacang gude, dan kacang tunggak adalah cekaman biotik dan abiotik yang dapat menurunkan produktivitasnya (Dita *et al.*, 2006). Cekaman biotik yang utama adalah lalat bibit, hama pemakan daun, hama pengisap, penggerek polong, karat daun, dan berbagai penyakit yang disebabkan oleh virus, sedangkan cekaman abiotik antara lain kekeringan, rendaman, keracunan aluminium pada lahan masam, dan salinitas tinggi (Miller *et al.*, 2010; Koger *et al.*, 2013; Winfield *et al.*, 2010;).

Pemuliaan aneka kacang tidak hanya dituntut merakit varietas dengan produksi tinggi, tetapi juga sekaligus diharapkan mampu menghasilkan varietas yang memiliki kualitas yang sesuai dengan permintaan konsumen, serta toleran terhadap cekaman biotik maupun abiotik. Untuk mencapai tujuan tersebut diperlukan keragaman sumber daya genetik (SDG) sebagai sumber gen yang perlu dioptimalkan pemanfaatannya untuk membantu program pemuliaan.

Keragaman SDG aneka kacang merupakan sumber berharga dalam mempertahankan produksi pangan dan menghadapi masalah pangan ke depan-

nya (FAO, 2007). Keragaman SDG aneka kacang yang dikoleksi di dalam bank gen terdiri atas varietas lokal, varietas unggul, dan kerabat liarnya. Saat ini cukup banyak varietas lokal aneka kacang yang dikoleksi dan dikonservasi secara *ex situ* di bank gen nasional di Indonesia. Sumber-sumber gen dalam bank gen tersebut sebagian sudah digali dan dimanfaatkan sebagai bahan dasar untuk perakitan varietas sebagai bahan induk persilangan dan mutasi, serta dilepas sebagai varietas lokal setelah dievaluasi dan dimurnikan. Dengan demikian SDG aneka kacang baik di Indonesia maupun di negara penghasil komoditas tersebut memiliki keragaman genetik yang perlu dioptimalkan pemanfaatannya untuk membantu program pemuliaan.

Keberhasilan kegiatan perakitan varietas tergantung pada ketersediaan keragaman genetik yang dimiliki. Akan tetapi, tidak semua SDG dapat langsung dimanfaatkan sebagai sumber gen untuk proses pemuliaan, sehingga diperlukan kegiatan tahap awal untuk mendukung proses pemuliaan (*pra-pemuliaan* atau *pre-breeding*) untuk mengoptimalkan pemanfaatan SDG yang dipersiapkan untuk perakitan varietas unggul baru. *Pra-pemuliaan* meliputi identifikasi dan evaluasi karakter yang diinginkan, hibridisasi, studi genetik pewarisan sifat, pencarian marka molekuler terkait karakter yang diinginkan, dan sekuensing genom atau gen yang diinginkan (Sharma *et al.*, 2013). Keragaman SDG di bank gen dapat dimanfaatkan untuk keperluan *pra-pemuliaan* dalam merakit varietas baru atau memperbaiki secara genetik suatu varietas agar lebih produktif (Kumar dan Shukla, 2014; Sharma *et al.*, 2013). Dalam upaya pengembangan varietas baru tahan/toleran terhadap hama dan penyakit maupun adaptif terhadap lingkungan informasi keragaman genetik sangat diperlukan dalam kegiatan *pra-pemuliaan* (Gorjanc *et al.*, 2016).

Mengingat keberhasilan pemanfaatan SDG secara optimal dalam kegiatan pemuliaan ditentukan oleh proses tahap awal pemuliaan (*pra-pemuliaan/pre-breeding*), oleh sebab itu dalam ulasan ini disampaikan tentang pendayagunaan koleksi SDG aneka kacang secara optimal, peran *pra-pemuliaan* dalam menjembatani pemanfaatan koleksi SDG untuk perbaikan/perakitan varietas aneka kacang, dan kegiatan *pra-pemuliaan* yang dilakukan di Indonesia.

## KOLEKSI SDG DAN PEMANFAATANNYA DALAM PERBAIKAN VARIETAS

Aneka kacang yang termasuk famili Fabaceae ini terbukti penting karena koleksi SDG *ex situ* lebih dari satu juta aksesori di seluruh dunia, sehingga pemanfaatannya harus dioptimalkan (Smykal *et al.*,

2015). Saat ini koleksi SDG aneka kacang di bank gen internasional terhitung banyak. Koleksi terbanyak dijumpai di bank gen *International Crops Research Institute for Semi-Arid Tropics* (ICRISAT) India, kemudian diikuti oleh *National Bureau for Plant Genetic Resources* (NBPGR) India, *International Center for Agricultural Research in the Dry Areas* (ICARDA) Syria, *United State Department of Agriculture* (USDA) Amerika, dan *Directorate of Groundnut Research* (DGR) India. Di Indonesia, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) merupakan lembaga riset di bawah Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang salah satu mandatnya adalah mengonservasi plasma nutfah tanaman. Saat ini bank gen BB Biogen memiliki 2.585 akses SDG aneka kacang yang terdiri atas kedelai, kacang tanah, kacang hijau, dan aneka kacang potensial (Tabel 1). Jumlah koleksi SDG aneka kacang di Indonesia jika dibanding dengan koleksi SDG di bank gen internasional di luar negeri jauh lebih sedikit. Sebagai contoh, jumlah SDG kacang tanah di bank gen BB Biogen 650 akses sementara di India (NBPGR) mencapai 15.445 akses. Oleh karena itu, hal ini menjadi tantangan bagi kurator bank gen di Indonesia dalam menerapkan strategi koleksi sampel sekaligus memaksimalkan informasinya terkait karakter target.

Meskipun jumlah koleksi aneka kacang yang disimpan di dalam bank gen di level internasional cukup banyak, namun hanya sebagian kecil (<1%) yang digunakan sebagai sumber gen dalam perbaikan varietas (Kumar *et al.*, 2004; Mikel *et al.*, 2010). India merupakan negara yang paling banyak program pra-pemuliaan aneka kacangnya dan telah melepas 230 kultivar yang terdiri atas *chickpea*, kacang gude, kacang lentil, *black gram*, dan kacang hijau, melalui hibridisasi dan seleksi. ICRISAT sebagai lembaga penelitian internasional memiliki koleksi aneka kacang yang paling banyak. Dalam program pemuliaannya, ICRISAT hanya menggunakan 91 akses *chickpea* (0,4%

dari 20.267 akses), 54 akses kacang gude (0,4% dari 13.771 akses), dan 171 akses kacang tanah (1,1% dari 15.445 akses). Sebagai tanggung jawab global, bank gen ICRISAT telah mendistribusikan lebih dari 303.000 akses aneka kacang, yang meliputi 131.924 *chickpea*, 71.826 kacang gude, dan 99.325 akses kacang tanah kepada para peneliti di 136 negara, termasuk Indonesia. Untuk mendukung pemanfaatan koleksi aneka kacang dan proses transfer ke negara penerima, adopsi sistem database internasional seperti *Germplasm Resource Information Network* (GRIN-Global) perlu dilakukan. Sistem database GRIN-Global tersebut melibatkan institusi internasional dan bank gen nasional yang memudahkan cara permintaan secara *online* dalam pemilihan akses termasuk karakternya yang beragam (Smykal *et al.*, 2015).

Bank gen sebagai tempat penyimpanan SDG akan sangat berarti apabila koleksi yang disimpan dan dipelihara diberdayakan (Sharma *et al.*, 2013). Akses SDG dengan informasi keragaman genetiknya juga penting, baik terkait diversitas konservasi maupun pemanfaatannya (Ramirez-Vilegas *et al.*, 2010). Karena itu, pemanfaatan SDG dalam bank gen perlu dioptimalkan melalui pembuatan koleksi inti (*core collection*). Koleksi inti ini dibuat dengan cara mengidentifikasi dan mengelompokkan SDG berdasarkan karakter morfologis, agronomis, biokimia, kandungan gizi, ketahanan/toleransi terhadap cekaman biotik dan abiotik, maupun pendekatan marka molekuler (Upadhyaya *et al.*, 2001; 2003). Tersedianya koleksi inti dari berbagai sifat yang diperlukan untuk pemuliaan, akan mempermudah pengelolaan dan aksesibilitas oleh pengguna seperti pemulia untuk memperoleh sumber gen terkait sifat yang diinginkan.

Pengembangan sejumlah SDG lokal aneka kacang dapat dilakukan tanpa harus melalui proses seleksi panjang dalam program pemuliaan. Tahap evaluasi SDG dalam proses pra-pemuliaan mampu

**Tabel 1.** Koleksi SDG aneka kacang di bank gen internasional dan nasional.

| Bank Gen               | Jumlah akses | Komoditas                                                                          | Pustaka     |
|------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| ICRISAT (India)        | 20.267       | <i>Chickpea</i>                                                                    | FAO, 2010   |
|                        | 13.771       | Kacang gude                                                                        |             |
|                        | 15.445       | Kacang tanah                                                                       |             |
| NBPGR (India)          | 16.881       | <i>Cicer</i>                                                                       | FAO, 2010   |
|                        | 12.900       | Kacang gude                                                                        |             |
|                        | 14.593       | <i>Arachis</i>                                                                     |             |
| ICARDA (Aleppo, Syria) | 13.818       | <i>Cicer</i>                                                                       | FAO, 2010   |
| USDA, USA              | 9.964        | <i>Arachis</i>                                                                     | FAO, 2010   |
| DGR (Junagadh, India)  | 8.934        | <i>Arachis</i>                                                                     | FAO, 2010   |
| BB Biogen              | 867          | Kedelai                                                                            | Asadi, 2011 |
| Balitbangtan           | 650          | Kacang tanah                                                                       |             |
| Indonesia              | 900          | Kacang hijau                                                                       |             |
|                        | 164          | Aneka kacang potensial (kacang tunggak, kacang gude, komak, koro, dan kacang Bogor |             |

mengidentifikasi varietas lokal unggul dengan daya hasil tinggi dan dapat dilanjutkan dengan pemutihan/pelepasan varietas unggul baru nasional ataupun spesifik untuk daerah asalnya (Tabel 2). Beberapa negara di Benua Asia (seperti India, Turki, Nepal, Afganistan), Afrika (Kenya), dan Amerika (Peru, USA) telah melakukan pemutihan varietas lokal *chickpea*, kacang gude dan kacang tanah (Sharma *et al.*, 2013). Di Indonesia, hingga tahun 2012 terdapat 13 varietas aneka kacang (10 kedelai dan 3 kacang hijau) yang dilepas secara langsung setelah melalui proses pemurnian dan uji daya hasil terhadap koleksi SDG (Asadi, 2011). Selain produktivitas tinggi, ketahanan terhadap cekaman abiotik dan penyakit serta karakter yang diinginkan di pasaran merupakan pertimbangan utama dalam pelepasan varietas (Yigezu *et al.*, 2015). Dengan demikian, varietas lokal aneka kacang, baik yang dikonservasi atau telah dilepas, berkontribusi terhadap pemanfaatan dan pengelolaan SDG ini secara berkelanjutan.

#### PRA-PEMULIAAN SEBAGAI LANGKAH AWAL UNTUK PERAKITAN VARIETAS UNGGUL BARU ANEKA KACANG

Konsep pra-pemuliaan adalah pendayagunaan SDG yang ada dalam bank gen untuk perbaikan ataupun perakitan varietas unggul baru melalui (1) identifikasi dan evaluasi karakter yang diinginkan, (2) hibridisasi, (3) studi genetika pewarisan sifat, (4) pencarian marka molekuler terkait karakter yang diinginkan, dan (5) sekuensing genom atau gen target (Sharma *et al.*, 2013) (Gambar 1). Pra-pemuliaan aneka kacang memerlukan *gene pool* dalam bank gen yang terdiri atas materi genetika yang beragam, seperti varietas/kultivar lama dan baru, *landrace*, *inbred line*, serta kerabat liarnya (Hausman *et al.*, 2004). Pra-pemuliaan aneka kacang tersebut umumnya di-

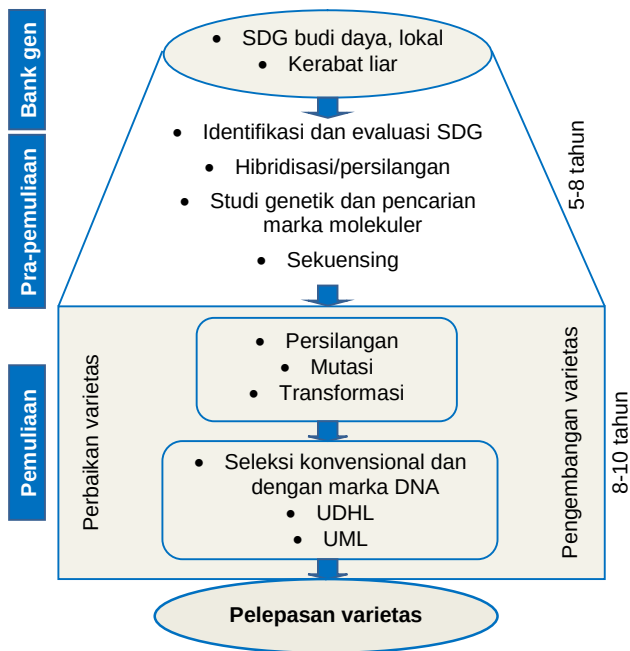
aplikasikan untuk memperluas variasi genetika, mengidentifikasi karakter dalam SDG, dan memindahkan gen dari SDG eksotik/novel/kerabat liar ke populasi pemuliaan/kerabat jauh (Kumar dan Shukla, 2014).

Kegiatan pra-pemuliaan aneka kacang (Sharma *et al.*, 2013) diawali dari pengelolaan SDG di bank gen, kemudian dilanjutkan dengan identifikasi/evaluasi. Sumber daya genetika yang teridentifikasi sesuai dengan sifat yang diinginkan oleh pemulia secara langsung dapat dimanfaatkan, atau disilangkan dengan varietas intermediet (Kumar dan Shukla, 2014; Nass dan Paterniani, 2000; Smith, 1993). Oleh karena adanya faktor inkompatibilitas antar tetua persilangan khususnya varietas lokal atau kerabat liar sebagai sumber gen dengan varietas budi daya yang akan diperbaiki sifatnya, maka diperlukan varietas intermediet (Kumar dan Shukla, 2014). Di samping itu, informasi model pewarisan sifat suatu karakter akan membantu pemulia dalam menentukan proses seleksi. Sebagai contoh, sifat ketahanan tiga genotipe kedelai terhadap *soybean stunt virus* (SSV) ternyata dikendalikan oleh gen yang berbeda. Ketahanan genotipe B3570 bersifat dominan dan dikendalikan oleh gen tunggal (monogenik), dan ketahanan pada Mlg2521 juga bersifat dominan tetapi dikendalikan oleh dua gen yang terletak pada lokus yang berbeda dan berinteraksi duplikat resesif epistasi. Sedangkan ketahanan Taichung bersifat resesif, dikontrol oleh dua gen pada lokus berlainan dan berinteraksi duplikat resesif epistasi (Asadi *et al.*, 2003).

Mengingat persilangan antara kerabat liar dengan varietas budi daya tidak mudah, proses pra-pemuliaan yang menjembatani SDG dengan perbaikan varietas memerlukan waktu 5–8 tahun. Selanjutnya, varietas donor dengan sifat yang diinginkan tersebut digunakan sebagai tetua untuk disilangkan dengan varietas budi daya yang akan diperbaiki sifat-

**Tabel 2.** Koleksi aksesori lokal aneka kacang yang dilepas secara langsung sebagai varietas budi daya.

| Komoditas       | Jumlah aksesori | Tahun dilepas | Negara asal | Pustaka                     |
|-----------------|-----------------|---------------|-------------|-----------------------------|
| <i>Chickpea</i> | 10              | 1978–2006     | India       | Sharma <i>et al.</i> (2013) |
|                 | 1               | -             | Italia      |                             |
|                 | 1               | 1987          | Afganistan  |                             |
|                 | 4               | 1982–1988     | Turki       |                             |
|                 | 6               | 1984–1987     | USSR        |                             |
| Kacang gude     | 9               | 1989–2005     | India       | Sharma <i>et al.</i> (2013) |
|                 | 2               | 1988, 2005    | Kenya       |                             |
|                 | 1               | 1992          | Nepal       |                             |
|                 | 1               | 1991          | Granada     |                             |
| Kacang tanah    | 10              | 1984–2011     | India       | Sharma <i>et al.</i> (2013) |
|                 | 1               | 1994          | Argentina   |                             |
|                 | 4               | 1987–2003     | Peru        |                             |
|                 | 2               | 1989          | USA         |                             |
| Kedelai         | 10              | 1943–2008     | Indonesia   | Asadi (2011)                |
| Kacang hijau    | 3               | 1943–2008     | Indonesia   | Asadi (2011)                |



**Gambar 1.** Pra-pemuliaan yang menjembatani antara SDG dan perbaikan varietas tanaman (Sharma *et al.*, 2013).

nya. Proses perbaikan varietas yang diawali dari penyiapan materi seleksi (*working collection*), memakan waktu 8–10 tahun (Sharma *et al.*, 2013). Pada tahap pemuliaan ini dapat melibatkan beberapa pendekatan seperti mutasi, transformasi, dan persilangan. Selanjutnya seleksi galur-galur dengan karakter unggul dapat dilakukan secara konvensional maupun bantuan marka molekuler. Galur harapan diuji di lapang pada tahap uji daya hasil (UDH) dan uji multilokasi (UML) sebelum dilepas menjadi varietas unggul baru.

### Identifikasi dan Seleksi SDG

Keragaman SDG aneka kacang yang rendah dan pengaruh iklim global menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap hama dan penyakit (Kumar dan Shukla, 2014). Identifikasi karakter baru dalam pengembangan varietas unggul perlu dititikberatkan pada karakter yang stabil yakni beradaptasi luas di berbagai lingkungan (Pratap *et al.*, 2014). Selain itu, pembuatan koleksi inti yang mewakili 10% dari total koleksi akan memudahkan dalam pengelolaan dan pemanfaatan SDG sesuai karakter yang dievaluasi.

Sejumlah materi genetik merupakan sumber potensial untuk umur genjah, ukuran biji, hasil dan komponen hasil, nutrisi, dan ketahanan terhadap cekaman abiotik dan biotik pada *chickpea*, kacang gude, dan kacang tanah (Sharma *et al.*, 2013). Bank gen seperti ICRISAT memiliki aksesori aneka kacang sumber pengembangan varietas tahan cekaman

biotik/abiotik, seperti kacang tanah toleran kekeringan (Upadhyaya *et al.*, 2005), kacang gude toleran salinitas dan kerendaman (Krishnamurthy *et al.*, 2011; Srivastava *et al.*, 2006; Sultana *et al.*, 2013) serta *chickpea* dengan kemampuan tinggi memfiksasi nitrogen (Sharma *et al.*, 2013). Bank gen BB Biogen melengkapi koleksi internasional dengan sejumlah aksesori kedelai toleran kekeringan, tahan hama pengisap polong, tahan virus SSV, toleran naungan (Asadi, 2009; Asadi *et al.*, 1997, 2003, 2012), dan toleran aluminium (Tasma *et al.*, 2008), (Tabel 3). Beberapa aksesori lokal kacang hijau dari Nusa Tenggara diidentifikasi dalam kelompok yang mungkin telah beradaptasi pada lingkungan kering (Lestari *et al.*, 2014a).

Selain aneka kacang budi daya, spesies liar dari *Cicer*, *Arachis*, *Cajanus* adalah sumber gen penting khususnya terkait adaptasi di lingkungan ekstrim. Evaluasi terhadap spesies *Cajanus* berhasil mengidentifikasi sumber ketahanan terhadap berbagai patogen/penyakit yang disebabkan oleh jamur, virus, nemotoda, dan abiotik (salinitas, kekeringan, fotoperiode). Kerabat liar *Arachis* diketahui mempunyai ketahanan/toleransi tinggi terhadap berbagai cekaman lingkungan (Sharma *et al.*, 2013). Identifikasi dan seleksi SDG secara fenotipik harus didukung dengan karakter molekuler. Aneka kacang umumnya memerlukan paling tidak 7 atau 9 generasi persilangan untuk merakit kultivar, sehingga proses seleksi maupun karakterisasi/evaluasi perlu dipercepat dengan aplikasi marka molekuler sesuai dengan karakter target (Shimelis dan Laing, 2012).

### Hibridisasi

Persilangan secara luas untuk memanfaatkan varietas lokal dan kerabat liar dengan karakter kualitatif dan kuantitatif yang spesifik memberikan solusi dalam meningkatkan variabilitas genetik aneka kacang. Sumber donor dari kerabat liar dengan latar belakang genetik yang memungkinkan bisa disilangkan dengan varietas intermediet memberi peluang yang cukup besar dalam perbaikan varietas budi daya (Gorjanc *et al.*, 2016). Persilangan intra dan interspesifik antar kerabat liar dengan spesies budi daya dapat memindahkan karakter yang diinginkan sekaligus mempelajari struktur genom maupun poligeninya. Karena keberhasilan persilangan aneka kacang budi daya dengan kerabat liarnya relatif rendah, maka perlu dukungan teknik lain seperti *embryo rescue* (penyelamatan embrio) yang diikuti oleh silang balik.

Pemanfaatan sumber gen oleh pemulia yang diperoleh dari pra-pemuliaan melalui persilangan, mempunyai prospek untuk menghasilkan varietas

**Tabel 3.** SDG aneka kacang yang toleran terhadap cekaman biotik dan abiotik.

| Cekaman                           | SDG toleran/tahan                                                                                                                                                               | Pustaka                                                            |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Rendaman pada kacang gude         | 13 aksesi (ICPH 2431, ICPH 2740, ICPH 2671, ICPH 4187, MAL 9, LRG 30, Maruti, ICPL 20128, ICPL 332, ICPL 20237, ICPL 20238, Asha dan MAL 15)                                    | Krishnamurthy <i>et al.</i> , 2011<br>Sultana <i>et al.</i> , 2013 |
| Salinitas pada kacang gude        | 16 aksesi (ICP 8860, ICP 7803, ICP 7260, ICP 6815, ICP 10654, ICP 3046, ICP 2746, ICP 7426, ICP 10559, ICP 7057, ICP 6049, ICP 6859, ICP 7, ICP 14722, ICP 11477, dan ICP 6128) | Srivastava <i>et al.</i> , 2006                                    |
| Kekeringan pada kacang tanah      | 18 aksesi (ICG#14523, 6766, 7243, dan 6654)                                                                                                                                     | Upadhyaya, 2005                                                    |
| Aluminium pada kedelai            | 15 aksesi (B4408, B4378, B4375, B4372, B3866, B4374, B4409, B4410, B4411, B4412, 4403, B3462, B4376, B3851, B4377)                                                              | Tasma <i>et al.</i> , 2008                                         |
| Kekeringan pada kedelai           | 12 aksesi (Lokal Jatim, Kretek Balap, Lokal Madiun, Lokal Jember, Tidar, Lokal Pasuruan (3666), Lokal Bandung, Otok, Mlg2995, Mlg3025, Sindoro, Tanggamus)                      | Asadi <i>et al.</i> , 2012                                         |
| Hama pengisap polong pada kedelai | 11 aksesi (B3570, B3576, B467, Bima Kuning, Mlg3015, B1350, B4230, TGM13–1–1–1B, Mlg3015, Genjah Slawi, Tanggamus)                                                              | Asadi, 2009                                                        |
| Virus SSV pada kedelai            | 4 aksesi (B3570, Mlg2521, Taichung, Lompobatang)                                                                                                                                | Asadi <i>et al.</i> , 2003                                         |
| Naungan pada kedelai              | Pangrango                                                                                                                                                                       | Asadi <i>et al.</i> , 1997                                         |

unggul dengan karakter yang lebih baik. Galur yang tahan/toleran terhadap karakter target dipertahankan potensi hasilnya agar tetap tinggi pada kondisi cekaman. Gen yang ditransfer dari kerabat liar ke varietas budi daya merupakan *single gene* ataupun *polygene* memerlukan pendekatan berbeda. Inkorporasi segmen kromosom tunggal yang membawa gen ketahanan terhadap penyakit banyak di bawa oleh gen tunggal sehingga memudahkan dalam melakukan pemuliaan ketahanan terhadap penyakit (Haussman *et al.*, 2004). Namun, pada kelompok *landrace* dan kerabat liar yang bersifat poligen, seleksi genomik diperlukan untuk meningkatkan frekuensi alel yang diinginkan pada tahap hibridisasi (Gorjanc *et al.*, 2016).

Beberapa kemajuan hasil hibridisasi aneka kacang di negara-negara yang memproduksi komoditas ini menunjukkan dukungan nyata dalam program pemuliaan aneka kacang. Ahmad *et al.* (1995) melaporkan persilangan interspesifik telah berhasil dilakukan dengan bantuan hormon. Gen ketahanan terhadap antraknosa telah ditransfer ke aksesi kacang lentil budi daya *L. ervoides* dengan bantuan *embryo rescue* (Fiala *et al.*, 2009). Persilangan interspesifik galur elit dan kultivar kacang tanah berhasil meningkatkan ketahanannya terhadap hama dan penyakit (Sharma *et al.*, 2013) dan memperkaya gen terkait cekaman suhu dingin pada kacang buncis melalui persilangan dengan memanfaatkan kerabat liarnya (*Phaseolus angustissimus*) (Vijayan *et al.*, 2011). Ratusan kultivar *chickpea*, kacang gude, kacang lentil, *black gram*, dan kacang hijau telah dilepas melalui hibridisasi silang balik (Sharma *et al.*, 2013).

### Marka Molekuler, Pemetaan Genetik, dan Teknologi Sekuensing

Pencarian dan pengembangan marka molekuler dapat dilakukan pada tingkat lokus dan/atau berbasis genom. Marka molekuler khususnya *simple sequence repeats* (SSR) dan *single nucleotide polymorphism* (SNP) lebih disarankan untuk aplikasi genetik dan pra-pemuliaan (Kumar dan Sukhla, 2014; Sharma *et al.*, 2004, 2013). Marka SNP dianggap lebih mudah diaplikasikan dengan *high-throughput genotyping*, dan menunjukkan kemajuan pesat dalam koleksi markanya pada aneka kacang. Dibanding dengan aneka kacang lainnya, kemajuan sumber marka potensial kedelai lebih pesat. Sebanyak 164 marka SNP telah divalidasi dari 39.022 SNP putatif (Wu *et al.*, 2010), dan 1514 SNP ditemukan pada 564 kandidat gen ketahanan terhadap MYMIV (Yadav *et al.*, 2015). Puluhan ribu SNP telah diidentifikasi di *chickpea*, kacang gude, dan kacang tanah (Sharma *et al.*, 2013). Informasi SNP dengan sekuen pengapitnya dengan anotasi gennya tersebut merupakan sumber berharga untuk pengembangan marka molekuler terkait karakter yang diinginkan. Sebagai contoh, marka molekuler telah dikembangkan untuk identifikasi alel dari kacang buncis budi daya dan kerabat liarnya yang diakumulasi dalam kultivar unggul (Singh, 2001), dan untuk skrining gen tunggal yang memudahkan introgresi gen baru ke tetua aneka kacang yang sukar beradaptasi (Podlich *et al.*, 2004).

Pemetaan QTL merupakan titik awal seleksi galur pada pra-pemuliaan. Pada kedelai dan kacang tanah dengan keterbatasan pertukaran daerah genom antara kerabat liar dan budi daya (Sharma *et al.*, 2013), sekuensing gen terpilih pada koleksi SDG pra-

pemuliaan akan memudahkan identifikasi sumber donor. Populasi pemetaan silang balik aneka kacang terkait karakter tertentu telah dikembangkan di ICRISAT khususnya pada kacang gude (*C. acutifolius*) dan kerabat liarnya (*C. cajanifolius*), yang dilanjutkan dengan evaluasi fenotipik dan seleksi. Pada kacang tanah, populasi persilangan antara jenis budi daya (ICGV91114) dan ISATGR (kerabat liar *Arachis duranensis* dan *A. ipaensis*) ditujukan untuk karakter polong dan biji. Pemetaan QTL menggunakan marka molekuler pada populasi tersebut berhasil melacak galur pembawa segmen genom tetua penerima secara maksimum yang menyebar pada introgresi genom sintetikanya (Sharma *et al.*, 2013).

Teknologi sekuensing, baik pada level genom maupun gen menjadi bagian tak terpisahkan dalam penggalian fungsi gen maupun marka molekuler terkait karakter fenotipik. Perkembangan sekuensing genom *high throughput* berimplikasi pada kemudahan identifikasi variasi struktural, SNP, indel (insersi/delesi), dan SSR. Pada aneka kacang, sekuensing genom total telah membantu pengembangan marka molekuler berbasis genom, konstruksi peta genetik densitas tinggi, dan identifikasi marka terpaut karakter dan lainnya (Sharma *et al.*, 2013). Sekuensing genom kedelai lebih maju dan banyak diaplikasikan dibanding dengan jenis aneka kacang lainnya. Pada tahun 2010, sekuen genom rujukan (William 82) telah dipublikasi (Schmutz *et al.*, 2010) seiring dengan pengembangan marka molekulernya. Sekuen genom kedelai liar (*Glycine soja*, IT182932) yang dihasilkan (Kim *et al.*, 2010) dan analisis *de novo* dari tujuh aksesori kedelai memfasilitasi penemuan gen terkait dengan berbagai karakter termasuk cekaman abiotik/biotik dan sumber informasi *lineage* yang penting untuk identifikasi gen (Li *et al.*, 2014; Zheng dan Zhixi, 2015). Variasi genom dari 17 kedelai liar dan 14 aksesori budi daya berhasil mengidentifikasi jutaan SNP dan 186.177 variasi indel (Lam *et al.*, 2010) dan berbasis kedelai liar, lokal, dan kedelai elit (Li *et al.*, 2013). Perkembangan terbaru draf genom rujukan kacang gude (Varshney *et al.*, 2012), *chickpea* (Varshney *et al.*, 2013a), kacang tanah (ICRISAT, 2014), kacang hijau (Kang *et al.*, 2014) dan kacang merah (Kang *et al.*, 2015) juga telah tersedia. Sumber genomika skala besar seperti marka molekuler dan transkrip pada *chickpea*, kacang gude, dan kacang tanah telah diperoleh (Varshney *et al.*, 2013b).

Genomika membantu efisiensi penelusuran alel target pada populasi persilangan melalui QTL. Berdasarkan sekuen genom, *platform genotyping* dan pemetaan dapat memanfaatkan SNP chip custom yang didesain sesuai keinginan ataupun SNP chip

komersial. Uji Golden Gate 1536 SNP dan 3456 SNP telah dirancang untuk pemetaan keterpautan/QTL di kedelai (Hyten *et al.*, 2010) kemudian diperkaya dengan *platform* SoySNP50K untuk kedelai (Song *et al.*, 2013). Sebanyak 768 SNPs untuk *chickpea* dan 1536-SNPs untuk kacang tanah (Sharma *et al.*, 2013) dan Golden Gate 384 SNP custom pada *Pisum sativum* (Deulvot *et al.*, 2010) telah didesain untuk *genotyping* dan pemetaan. KASPar untuk *chickpea*, kacang gude, dan kacang tanah dengan densitas SNP rendah, yaitu masing-masing 2005, 1616, dan 90 SNP juga telah dikembangkan (Sharma *et al.*, 2013). Teknik *genotyping* dengan *high throughput* ini semakin memudahkan prosedur *genotyping* dan pemetaan untuk keperluan pra-pemuliaan dan membuka wawasan baru genomika aneka kacang.

#### KEGIATAN PRA-PEMULIAAN ANEKA KACANG DI INDONESIA

Di Indonesia, jenis aneka kacang yang umum dibudidayakan adalah kedelai, kacang tanah, kacang hijau, kacang polong, kacang merah, kacang tunggak, kacang bogor, dan jenis aneka kacang potensial lainnya. Di antara aneka kacang, kedelai paling maju perkembangan pemuliaan dan teknologinya yang diikuti dengan kacang hijau dan kacang tanah. Aneka kacang potensial lainnya sampai saat ini masih terbatas pada koleksi, konservasi dan beberapa aktivitas karakterisasi/evaluasi fenotipik yang belum mengarah pada pengembangan varietas melalui program pemuliaan.

Permasalahan aneka kacang di Indonesia terutama adalah belum adanya varietas unggul dengan produktivitas tinggi dan/atau diikuti karakter ketahanan/toleransi terhadap cekaman biotik/abiotik lainnya. Saat ini produksi secara umum aneka kacang di Indonesia jauh lebih rendah dibanding dengan hasil negara lain. Produksi rata-rata nasional tahun 2015 kacang tanah 1,33 t/ha dan kacang hijau sekitar 1,183 t/ha. Khususnya kedelai yang termasuk komoditas strategis hanya sekitar 1,57 t/ha (BPS, 2016), sementara kedelai di Brasil mencapai 2,87 t/ha. Keragaman genetik yang rendah juga menjadi salah satu kendala dalam penentuan tetua persilangan. Karena itulah pemanfaatan SDG aneka kacang di Indonesia harus dioptimalkan dengan pendekatan konvensional seiring dengan genomika/biologi molekuler.

Kegiatan pra-pemuliaan yang mendukung program pemuliaan aneka kacang di Indonesia sebenarnya sudah diterapkan. Beberapa laporan tentang identifikasi dan seleksi SDG, pengembangan marka molekuler, pemetaan, dan sekuensing genom

aneka kacang di Indonesia menunjukkan kemajuan. Identifikasi SDG aneka kacang Indonesia telah banyak dilakukan, seperti pada 110 aksesi plasma nutfah kedelai koleksi Bank Gen BB Biogen berdasarkan morfologi dan hasil (Zulchi dan Sutoro, 2016), dan kacang hijau lokal, introduksi, dan mutan koleksi Balai Penelitian Aneka Kacang dan Ubi-Ubian (Trihapsari *et al.*, 2015), dan kacang tanah (Yuniaty dan Amurwanto, 2014) sebagai sumber gen donor pemuliaan. Berdasarkan hasil evaluasi SDG aneka kacang telah diperoleh aksesi-aksesi dengan karakter yang diinginkan, seperti 12 aksesi kedelai toleran terhadap kekeringan (Asadi *et al.*, 2012), 11 tahan hama pengisap polong (Asadi, 2009.), 4 aksesi tahan virus SSV (Asadi *et al.*, 2003), dan 1 aksesi toleran naungan (Asadi *et al.*, 1997). Aksesi MLGG0751 dan MLGG0753 terseleksi sebagai sumber gen umur genjah (Mejaya *et al.*, 2010).

Pengembangan dan pemanfaatan marka molekuler khusus aneka kacang di Indonesia telah dirintis oleh berbagai kelompok peneliti. Marka SSR kacang hijau berbasis kedelai asal Korea telah berhasil membedakan varietas lokal kacang hijau asal Indonesia yang berasal dari daerah kering (Nusa Tenggara) (Lestari *et al.*, 2014a). Marka molekuler telah dimanfaatkan untuk mengidentifikasi keragaman genetik plasma nutfah kedelai Indonesia (Chaerani *et al.*, 2011; Santoso *et al.*, 2006) dan terkait ketahanan terhadap keracunan aluminium (Tasma *et al.*, 2009). Namun, pemetaan genetik/QTL aneka kacang sebagai bagian dari pra-pemuliaan masih terbatas implementasinya di Indonesia. Penggunaan marka SSR telah berhasil digunakan untuk membentuk populasi lebih cepat dan efisien dari persilangan antara genotipe kedelai tahan dan peka keracunan aluminium. Dua populasi hasil persilangan (B3462 × B3293 dan B3462 × B3442) menunjukkan transgresif luas untuk karakter produksi seperti jumlah polong dan bobot 100 biji. Selain itu, aplikasi SNP chip juga melengkapi pemetaan genetik populasi kedelai tersebut (Tasma *et al.*, 2015). Metode pembentukan populasi ini tentunya sangat bermanfaat bagi pemulia tanaman khususnya pemulia kedelai untuk meningkatkan efisiensi program pemuliaan ketahanan terhadap keracunan Al (Tasma *et al.*, 2008).

Sebagai salah satu aktivitas pra-pemuliaan, teknologi NGS telah dimanfaatkan pada kedelai namun belum pada aneka kacang lainnya di Indonesia. Resekuensing genom lima genotipe kedelai Indonesia telah dilakukan dan berhasil mengidentifikasi variasi nukleotida dalam genom. Sejumlah SNP di daerah koding maupun unik tiap genotipe menjadi sumber marka fungsional di kedelai (Satyawan *et al.*, 2014).

Varietas Anjasmoro, Wilis, dan Tanggamus juga telah disekuen genomnya dan menghasilkan sekitar 9500-an SNP terkait gen (Lestari *et al.*, 2014b) dan telah tersedia di database genom Balitbangtan (<http://genom.libang.pertanian.go.id>). Pencapaian informasi genom kedelai Indonesia tersebut sangat berarti dalam membantu program pemuliaan di Indonesia.

## PROSPEK PRA-PEMULIAAN KE DEPAN DI INDONESIA

Sebagian besar SDG yang di konservasi di dalam Bank Gen di Indonesia seperti BB Biogen (Indonesia) berasal dari varietas lokal dan introduksi. Hanya sebagian kecil kerabat liar, seperti *Glycine soja*. Sementara itu, erosi genetik yang disebabkan oleh alih fungsi lahan, dan kemampuan adaptasi yang sempit menjadi faktor pembatas terhadap peningkatan jumlah dan variasi SDG di Indonesia. Oleh karena itu, perlu pengkayaan untuk meningkatkan keragaman koleksi dengan cara melakukan eksplorasi SDG lokal dan kerabat liar, serta introduksi dari luar negeri. Dengan semakin lengkapnya SDG aneka kacang, skrining yang lebih efektif pada SDG aneka kacang bermanfaat untuk mendapatkan gen-gen “novel” sesuai karakter yang diinginkan.

Strategi kegiatan pra-pemuliaan di Indonesia hendaknya mengacu kepada masalah yang sedang dan akan dihadapi. Dengan demikian kegiatan yang dilakukan akan menyediakan dan memperkaya dan meningkatkan mutu dari sumber gen penting sebagai bahan dasar pemuliaan. Pada Tabel 4 disajikan strategi pra-pemuliaan ke depan di Indonesia komoditas aneka kacang utama (kedelai).

Perkembangan bioteknologi (genomik dan biologi molekuler) menjadi *tool* yang siap dan terjangkau kedepannya dalam membantu keberhasilan kegiatan pra-pemuliaan. Informasi *pedigree*, dan database yang diintegrasikan dengan marka molekuler akan mempermudah estimasi performa kultivar dan metode pemuliaan. Pemetaan genomik dan sinteni gen dari spesies aneka kacang yang mengodekan toleran/ketahanan terhadap cekaman abiotik/biotik dapat digunakan untuk perbaikan genetiknya. Genetika molekuler juga bermanfaat untuk memahami SDG melebihi data genetiknya (Ulukan, 2011). Jadi strategi pemuliaan dan bioinformatik diperlukan untuk analisis genom dan genetik untuk karakter kompleks sehingga menjadi lebih efektif. Identifikasi gen dari SDG di Indonesia dapat sebagai sumber *gene pool* untuk mentransfer karakter yang diinginkan. Informasi genom genotipe kedelai Indonesia dan marka molekulernya termasuk aneka kacang lainnya



**Tabel 4.** Strategi pra-pemuliaan kedelai ke depan berdasarkan sifat atau karakter utama dan masalahnya.

| Komoditas | Karakter                                                  | Masalah                           | Status pra-pemuliaan                                                                                                                | Pra-pemuliaan ke depan                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kedelai   | Tahan hama pengisap polong                                | Sumber gen tahan masih terbatas   | Identifikasi dan evaluasi ketahanan terhadap hama pengisap polong                                                                   | Mencari dan menggunakan marka molekuler yang terkait sifat tahan pengisap polong                                                                                                                                                                                                                                                             |
|           | Tahan hama penggerek polong                               | Sumber gen tahan belum tersedia   | Evaluasi ketahanan terhadap hama penggerek polong<br>Persilangan ( <i>back cross</i> ) untuk mendapatkan varietas intermediet tahan | Terus menggali sumber gen tahan melalui evaluasi koleksi SDG yang tersedia<br>Pemanfaatan kerabat liar sebagai tetua tahan dalam persilangan (silang balik) diikuti dengan penyelamatan embrio secara <i>in vitro</i> (kultur jaringan), dan penggunaan marka molekuler untuk seleksi F <sub>1</sub> pada setiap silang balik yang dilakukan |
|           | Toleran terhadap kekeringan                               | Sumber gen toleran masih terbatas | Identifikasi dan evaluasi                                                                                                           | Pemanfaatan marka molekuler yang terkait sifat toleran kekeringan                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|           | Toleran terhadap keracunan AI (kejenuhan AI $\geq 30\%$ ) | Sumber gen toleran masih terbatas | Identifikasi dan evaluasi                                                                                                           | Pemanfaatan marka molekuler yang terkait sifat toleran keracunan AI.                                                                                                                                                                                                                                                                         |

dapat diakselerasi oleh para pengguna (peneliti/pemulia) untuk perbaikan genetik varietas.

### KESIMPULAN

Keragaman SDG yang dikoleksi di bank gen merupakan sumber gen dalam perakitan varietas unggul sesuai dengan karakter yang diinginkan, seperti produktivitas tinggi dan tahan/toleran terhadap cekaman biotik dan abiotik. Namun, sampai saat ini koleksi SDG aneka kacang yang disimpan di dalam bank gen internasional dan nasional masih sedikit (<1%) baru termamfaatkan sebagai bahan dasar dalam perakitan varietas unggul. Tidak semua SDG dapat langsung dimanfaatkan sebagai sumber gen untuk proses pemuliaan, sehingga untuk mengoptimalkan pemanfaatan SDG diperlukan kegiatan tahap awal (pra-pemuliaan) atau *pre-breeding* untuk mendukung proses pemuliaan.

Pra-pemuliaan meliputi semua kegiatan yang dilakukan dengan memanfaatkan SDG yang ada di dalam bank gen, yaitu identifikasi dan evaluasi karakter yang diinginkan, hibridisasi, pencarian marka molekuler terkait karakter yang diinginkan, pemetaan dan sekuensing genom atau gen target. Untuk menghadapi tantangan perubahan iklim, pra-pemuliaan dititikberatkan untuk perbaikan ketahanan terhadap cekaman abiotik dan biotik. Beberapa aksesori aneka kacang yang dikoleksi dalam bank gen telah dilaporkan toleran terhadap cekaman abiotik (kekeringan, kerendaman, dan salinitas) dan tahan terhadap cekaman biotik.

Kemajuan genomik di aneka kacang berkembang pesat tidak hanya di kedelai namun juga di kacang hijau, kacang merah, kacang gude, kacang tanah, *chickpea*, kacang buncis, dan lainnya. Marka berbasis genom dan *platform genotyping* SNP dengan *high throughput* menjadikan teknologi ini menjadi

harapan dalam membantu program pemuliaan aneka kacang. Pra-pemuliaan merupakan kegiatan penting sebagai jembatan untuk menyambungkan pengelolaan SDG aneka kacang dengan program pemuliaannya. Aktivitas pra-pemuliaan telah diaplikasikan pada aneka kacang Indonesia. Kemajuan paling pesat pada kedelai diikuti kacang hijau dan kacang tanah. Identifikasi dan seleksi SDG, pemetaan genetik dan sekuensing genom menunjukkan kemajuan kegiatan pra-pemuliaan di Indonesia. Dengan demikian, kemajuan dalam aspek pengelolaan dan pemanfaatan SDG yang didukung oleh aplikasi marka molekuler dan informasi genom sangat esensial untuk mencapai keberhasilan program perbaikan genetik varietas aneka kacang.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M., A.G. Fautrier, D.L. McNeil, D.J. Burritt, and G.D. Hill. 1995. At overcome post-fertilization barrier in interspecific crosses of the genus *Lens*. *Plant Breed.* 114:558–560.
- Asadi. 2009. Identifikasi ketahanan sumber daya genetik kedelai terhadap hama pengisap polong. *Bul. Plasma Nutraf* 15(1):27–31.
- Asadi. 2011. Peran sumberdaya genetik pertanian bagi pemuliaan mutasi. Dalam: Mugiono, D. Sopandi, S. Hudiyo, N. Kuswandi, Z. Irawati, P. Sidauruk, H. Winarno, Sobrizal, dan R. Chosdu, editor, *Prosiding Simposium dan Pameran Teknologi Aplikasi Isotop dan Radiasi*. Batan, Jakarta. hlm. 242–257.
- Asadi, B., D.M. Arsyad, H. Zahara, dan Darmijati. 1997. Pemuliaan kedelai untuk toleran naungan. *Bul. Agrobio* 1:15–20.
- Asadi, Soemartono, M. Woerjono, dan H. Jumanto. 2003. Kendali genetik ketahanan kedelai terhadap virus kerdil (*Soybean Stunt Virus*). *Zuriat* 14(2):1–11.
- Asadi, Sutoro, I., Hanarida, S.G. Gajatri, T. Suhartini, T.S. Silitonga, N. Zuraida, Minantyorini, A. Suhendar, D. Koswanudin, N. Dewi, L. Herlina, A. Risliawati, T.Z.

- Prasetyo, S. Diantina, M. Sabda, dan H. Afza, 2012. Penelitian dan pengembangan konservasi, karakterisasi, dan dokumentasi 4610 plasma nutfah tanaman pertanian. Laporan Hasil Penelitian TA. 2012. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor.
- Badan Pusat Statistika. 2016. Produksi kedelai menurut provinsi (ton). 1993–2015. <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/871>. (diakses 26 Oktober 2015).
- Chaerani, N. Hidayatun, dan D.W. Utami. 2011. Keragaman genetik 50 aksesori plasma nutfah kedelai berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit. *J. AgroBiogen* 7(2):96–105.
- Deulvot, C., H. Charrel, A. Marty, F. Jacquin, C. Donnadiou, A. Lejeune-Henaut, J. Burstin, and G. Aubert. 2010. Highly-multiplexed SNP genotyping for genetic mapping and germplasm diversity studies in pea. *BMC Genomics* 11:468.
- Dita, M.A., N. Rispail, E. Prats, D. Rubiales, and K.B. Singh. 2006. Biotechnology approaches to overcome biotic and abiotic stresses in legumes. *Euphytica* 147:1–24.
- Food and Agriculture Organization. 2007. Adaptation to climate change in agriculture, forestry and fisheries: Prespective framework and priorities. Interdepartemental Working Group on Climate Change, Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organization. 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture (CGFRA). FAO. Rome, Italy.
- Fiala, J.V., A. Tullu, S. Banniza, G. Seguin-Swartz, and A. Vandenberg. 2009. Interspecies transfer of resistance to anthracnose in lentil (*Lens culinaris* Medic). *Crop Sci.* 49(3):825–830.
- Gorjanc, P., J. Jenko, S.J. Hearne, and J.M. Hickey. 2016. Initiating maize pre-breeding program using genomic selection to harness polygenic variation from landrace populations. *BMC Genomics* 17(30):1–15.
- Hausman, B.I.G., H.K. Parzies, T. Prester, Z. Susiz, and T. Miedaner. 2004. Plant genetic in crop improvement. *Plant Genet. Resour.* 2(1):3–21.
- Hyten, D.L., I.K. Choi, Q. Song, J.E. Specht, T.E. Carter, Jr. R.C. Shoemaker, E.Y. Hwang, L.K. Matukumalli, and P.B. Cregan. 2010. High density integrated genetic linkage map of soybean and the development of a 1536 universal soy linkage panel for quantitative trait locus mapping. *Crop Sci.* 50:960–968.
- ICRISAT. 2014. The first peanut genomes sequenced. The International Peanut Genome Initiative. <http://www.icrisat.org/newsroom/news-releases/icrisat-pr-2014-media13.htm>. (accessed 31 January 2016).
- Kang, Y.J., S. Kim, M.Y. Kim, P. Lestari, K.H. Kim, B.K. Ha, T.H. Jun, W.J. Hwang, T. Lee, J. Lee, S. Shim, M.Y. Yoon, Y.E. Jang, K.S. Khan, P. Taeprayoon, N. Yoon, P. Somta, P. Tanya, Y.S. Kim, J.G. Gwag, J.K. Moon, Y.H. Lee, B.K. Park, A. Bombarely, J. Doyle, S. Jackson, R. Schafleitner, P. Srinives, R. Varshney, and S.H. Lee. 2014. Genome sequence of mungbean and insights into evolution within *Vigna* species. *Nat. Commun.* 5:5443.
- Kang, Y.J., D. Satyawati, S. Shim, T. Lee, J. Lee, W.J. Hwang, S.K. Kim, P. Lestari, K. Laosatit, K.H. Kim, T. J. Ha, A. Chitkineni, M.Y. Kim, J.M. Ko, J.G. Gwag, J.K. Moon, Y.H. Lee, B.S. Park, R.K. Varshney, and S.H. Lee. 2015. Draft genome sequence of adzuki bean, *Vigna angularis*. *Sci. Rep.* 5:8069. doi:10.1038/srep08069.
- Kim, M.Y., S. Lee, K. Van, T.H. Kim, S.C. Jeong, I.Y. Choi, D.S. Kim, Y.S. Lee, D. Park, J. Ma, W.Y. Kim, B.C. Kim, S. Park, K.A. Lee, D.H. Kim, K.H. Kim, J.H. Shin, Y.E. Jang, K.D. Kim, W.X. Liu, T. Chaisan, Y.J. Kang, Y.H. Lee, K.H. Kim, J.K. Moon, J. Schmutz, S.A. Jackson, J. Bhak, and S.H. Lee. 2010. Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107:22032–22037.
- Koger, C.H., R.M. Zablotowicz, M.A. Weaver, M.R. Tucker-Patterson, J.L. Krutz, T.W. Walker, and J.E. Street. 2013. Effect of winter flooding on weeds, soybean yield, straw degradation, and soil chemical and biochemical characteristics. *AJPS* (4):10–18.
- Kumar, S., S. Gupta, S. Chandra, and B.B. Singh. 2004. "How wide is genetic base of pulse crops?" in Pulses in new perspective. In: M. Ali, B.B. Singh, S. Kumar and V. Dhar, editors, Proceedings of the National Symposium on Crop Diversification and Natural Resources Management. Indian Society of Pulses Research and Development, Indian Institute of Pulses Research. Kanpur, India. p. 211–221.
- Kumar, V. and Y.M. Shukla. 2014. Pre-breeding: Its application in crop improvement. *RFNU* 16:2250–3668.
- Krishnamurthy, L., H.D. Upadhyaya, K.B. Saxena, and V. Vadez. 2011. Variation for temporary water logging response within the mini core pigeon pea germplasm. *J. Agric. Sci.* 10:1–8.
- Lam, H.M., X. Xu, X. Liu, W. Chen, G. Yang, F.L. Wong, M.W. Li, W. He, N. Qin, B. Wang, J. Li, M. Jian, J. Wang, G. Shao, J. Wang, S.S. Sun, and G. Zhang. 2010. Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. *Nat. Genet.* 42:1053–1059.
- Lestari, P., S.K. Kim, Reflinur, Y.J. Kang, N. Dewi, and S.H. Lee. 2014a. Genetic diversity of mungbean (*Vigna radiata* L.) germplasm in Indonesia. *Plant Genet. Resour.* 12:S91–S94.
- Lestari, P., Y.J. Kang, K. Mulya, I.M. Tasma, and S.H. Lee. 2014b. Genome-wide SNP identification in Indonesian soybean using Illumina HiSeq. In: M. Sabran, P. Lestari, K. Kusumanegara, and J. Prasetyono, editors, Pre-breeding and gene discovery for food and renewable energy security. Indonesian Agency for Agricultural Research and Development. Jakarta. p. 151.

- Li, Y.H., G. Zhou, J. Ma, W. Jiang, L.G. Jin, Z. Zhang, Y. Guo, J. Zhang, Y. Sui, L. Zheng, S.S. Zhang, Q. Zuo, X.H. Shi, Y.F. Li, W.K. Zhang, Y. Hu, G. Kong, H.L. Hong, B. Tan, J. Song, Z.X. Liu, Y. Wang, H. Ruan, C.K. Yeung, J. Liu, H. Wang, L.J. Zhang, R.X. Guan, K.J. Wang, W.B. Li, S.Y. Chen, R.Z. Chang, Z. Jiang, S.A. Jackson, R. Li, and L.J. Qiu. 2014. *De novo* assembly of soybean wild relatives for pan-genome analysis of diversity and agronomic traits. *Nat. Biotechnol.* 32:1045–1052.
- Li, Y.H., S.C. Zhao, J.X. Ma, D. Li, L. Yan, J. Li, X.T. Qi, X.S. Guo, L. Zhang, W.M. He, R.Z. Chang, Q.S. Liang, Y. Guo, C. Ye, X.B. Wang, Y. Tao, R.X. Guan, J.Y. Wang, Y.L. Liu, L.G. Jin, X.Q. Zhang, Z.X. Liu, L.J. Zhang, J. Chen, K.J. Wang, R. Nielsen, R.Q. Li, P.Y. Chen, W.B. Li, J.C. Reif, M. Purugganan, J. Wang, M.C. Zhang, J. Wang, and L.J. Qiu. 2013. Molecular footprints of domestication and improvement in soybean revealed by whole genome re-sequencing. *BMC Genomics* 14:579–590.
- Mafudmo, P., B.M. Campbell, S. Mpeperek, and P. Mafongoya. 2001. Legumes in soil fertility management: The case of pigeon pea in smallholder farming system of Zimbabwe. *Afr. Crop Sci. J* 9(4):629–644.
- Mejaya, I.M.J., A. Krisnawati, dan H. Kuswantoro. 2010. Identifikasi plasma nutfah kedelai berumur genjah dan berdaya hasil tinggi. *Bul. Plasma Nutfah* 16(2):113–117.
- Mikel, M.A., B.W. Diers, R.L. Nelson, and H.H. Smith. 2010. Genetic diversity and agronomic improvement of North America soybean germplasm. *Crop Sci.* 50:1219–1229.
- Miller, G., N. Suzuki, S. Ciftci-Yilmaz, and R. Mittler. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 33:453–467.
- Nass, L.L. and E. Paterniani. 2000. Pre-breeding: A link between genetic resources and maize. *Agricola* 57(3):581–587.
- Podlich, D.W., C.R. Winkler, and M. Cooper. 2004. Mapping as you go: An effective approach for marker-assisted selection of complex traits. *Crop Sci.* 44:1560–1571.
- Pratap, L.A., J. Kumar, and S. Kumar. 2014. Evaluation of wild species of lentil for agro-morphological traits. *Legume Res.* 37(1):11–18.
- Ramirez-Villegas, J., C. Khoury, A. Jarvis, D.G. Debouck, and L. Guarino. 2010. A gap analysis methodology for collecting crop gene pools: A case study with *Phaseolus* beans. *PLoS One* 5: e13497.
- Santoso, T.J., D.W. Utami, dan E.M. Septiningsih. 2006. Analisis sidik jari DNA plasma nutfah kedelai menggunakan markah SSR. 2006. *J. AgroBiogen* 2(1):1–7.
- Satyawan, D., H. Rijzaani, and I.M. Tasma. 2014. Characterization of genomic variation in Indonesian soybean (*Glycine max*) varieties using next-generation sequencing. *Plant Genet. Resour.* 12:S109–S113.
- Schmutz, J., S.B. Cannon, J. Schlueter, J. Ma, T. Mitros, W. Nelson, D.L. Hyten, Q. Song, J.J. Thelen, J. Cheng, D. Xu, U. Hellsten, G.D. May, Y. Yu, T. Sakurai, T. Umezawa, M.K. Bhattacharyya, D. Sandhu, B. Valliyodan, E. Lindquist, M. Peto, D. Grant, S. Shu, D. Goodstein, K. Barry, M. Futrell-Griggs, B. Abernathy, J. Du, Z. Tian, L. Zhu, N. Gill, T. Joshi, M. Libault, A. Sethuraman, X.C. Zhang, K. Shinozaki, H.T. Nguyen, R.A. Wing, P. Cregan, J. Specht, J. Grimwood, D. Rokhsar, G. Stacey, R.C. Shoemaker, and S.A. Jackson. 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463:178–183.
- Sharma, M., S. Pande, M. Pathak, J.N. Rao, P.A. Kumar, and D.M. Reddy. 2004. Prevalence of phytophthora blight of pigeon pea in the Deccan Plateau. *J. Plant Pathol.* 22:309–313.
- Sharma, S., H.D. Upahyaya, R.K. Varshney, and C.L.L. Gowda. 2013. Pre-breeding for diversification of primary gene pool and genetic enhancement of grain legumes. *Frontiers in Plant Science*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747629/> (accessed 17 January 2016).
- Shimelis, H. and M. Laing. 2012. Timelines in conventional crops improvement: Pre-breeding and breeding procedures. *Aust. J. Crop Sci.* 6(11):1542–1549.
- Singh, S.P. 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars. *Crop Sci.* 41:1659–1675. doi:10.2135/cropsci2001.1659.
- Smith, G.A. 1993. The theory of pre-breeding. *J. Sugar Beet Res.* 30(4):189–196.
- Song, Q., D. L. Hyten, G. Jia, C.V. Quigley, E.W. Fickus, R.L. Nelson, and P.B. Cregan. 2013. Development and evaluation of SoySNP50K, a high density genotyping array for soybean. *PLoS One* 8(1):e54985.
- Srivastava, N., V.Vadez, HD Upadhyaya, and K.B. Saxena. 2006. Screening for intra and inter specific variability for salinity tolerance in pigeon pea (*Cajanus cajan*) and its related wild species. *J. SAT Agric. Res.* 2(1):1–12.
- Sultana, R., M.I. Vales, K.B. Saxena, A. Rathore, S. Rao, S.K. Rao, M.G. Mula, and R.V. Kumar. 2013. Waterlogging tolerance in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.): Genotypic variability and identification of tolerant genotypes. *J. Agric. Sci.* 151:659–671.
- Smýkal, P., C.J. Coyne, M.J. Ambrose, N. Maxted, H. Schaefer, M.W. Blair, J. Berger, S.L. Greene, M.N. Nelson, N. Besharat, T. Vymyslický, C. Toker, R.K. Saxena, M. Roorkiwal, M.K. Pandey, J. Hu, Y.H. Li, L.X. Wang, Y. Guo, L.J. Qiu, R.J. Redden, and R.K. Varshney. 2015. Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding, *Critical Reviews. Plant Sci.* 34(1–3):43–104. doi:10.1080/07352689-2014.897904.
- Tasma, I.M., A. Warsun, and Asadi. 2008. Development and characterization of F<sub>2</sub> population for molecular mapping of Aluminum-toxicity tolerant QTL in Soybean. *J. AgroBiogen* 4(1):1–8.

- Tasma, I.M. dan A. Warsun. 2009. Genetic diversity analysis on aluminum toxicity tolerant and sensitive soybean genotypes assessed with microsatellite markers. *J. AgroBiogen* 5(1):1–6.
- Tasma, I.M., P. Lestari, H. Rijzaani, I. Rosdianti, D. Satyawan, K. Nugroho, R.T. Terryana, Asadi, Sutrisno, F. Cahya, dan M. Adie. 2015. Pembentukan SNP chip dan pemetaan genetik toleran keracunan Al dan komponen hasil pada kedelai. Seminar Tahunan Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Bogor, 24–27 November 2015.
- Trihapsari, R., Trustinah, dan R. Iswanto. 2015. Keragaman plasma nutfah kacang hijau dan potensinya untuk program pemuliaan kacang hijau. Dalam: A.D. Setyawan, Sugiyarto, A. Pitoyo, U.E. Hermawan, dan A. Widiastuti, editor, *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversity Indonesia* 1(4):918–922.
- Ulukan, H. 2011. Plant genetic resources and breeding: current scenario and future prospects. *Int. J. Agric. Biol.* 13:445–454.
- Upadhyaya, H.D., P.J. Bramel, and S. Singh. 2001. Development of a chickpea core collection using geographic distribution and quantitative traits. *Crop Sci.* 41:206–210.
- Upadhyaya, H.D., R. Ortiz, P.J. Bramel, and S. Singh. 2003. Development of a groundnut core collection using taxonomical, geographical and morphological descriptors. *Genet. Resources Crop Evol.* 50:139–148.
- Upadhyaya, H.D., B.P. M. Swamy, P.V.K. Goudar, B.Y. Kullaiswamy, and S. Singh. 2005. Identification of diverse groundnut germplasm through multi environment evaluation of a core collection for Asia. *Field Crops Res.* 93:293–299.
- Varshney, R.K., W. Chen, Y. Li, A.K. Bharti, R.K. Saxena, J.A. Schlueter, M.T.A. Donoghue, S. Azam, G. Fan, A.M. Whaley, A.D. Farmer, J. Sheridan, A. Iwata, R. Tuteja, R.V. Penmetsa, W. Wu, H.D. Upadhyaya, S.P. Yang, T. Shah, K.B. Saxena, T. Michael, W.R. McCombie, B. Yang, G. Zhang, H. Yang, J. Wang, C. Spillane, D.R. Cook, G.D. May, X. Xu, and S.A. Jackson. 2012. Draft genome sequence of pigeon pea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers. *Nature Biotechnol.* 30(1):83–89.
- Varshney, R.K., C. Song, R.K. Saxena, S. Azam, S. Yu, A.G. Sharpe, S. Cannon, J. Baek, B.D. Rosen, B. Tar'an, T. Millan, X. Zhang, L.D. Ramsay, A. Iwata, Y. Wang, W. Nelson, A.D. Farmer, P.M. Gaur, C. Soderlund, R.V. Penmetsa, C. Xu, A.K. Bharti, W. He, P. Winter, S. Zhao, J.K. Hane, N. Carrasquilla-Garcia, J.A. Condie, H.D. Upadhyaya, M.C. Luo, M. Thudi, C.L.L. Gowda, N.P. Singh, J. Lichtenzveig, K.K. Gali, J. Rubio, N. Nadarajan, J. Dolezel, K.C. Bansal, X. Xu, D. Edwards, G. Zhang, G. Kahl, J. Gil, K.B. Singh, S.K. Datta, S.A. Jackson, J. Wang, and D.R. Cook. 2013a. Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement. *Nature Biotechnol.* 31:240–246.
- Varshney, R.K., S.M. Mohan, P.M. Gaur, N.V.P.R. Gangarao, M.K. Pandey, A. Bohra, S.L. Sawargaonkar, A. Chitkineni, P.K. Kimurto, P. Janila, K.B. Saxena, A. Fikre, M. Sharma, A. Rathore, A. Pratap, S. Tripathi, S. Datta, S.K. Chaturvedi, N. Mallikarjuna, G. Anuradha, A. Babbar, A.K. Choudhary, M.B. Mhase, Ch. Bharadwaj, D.M. Mannur, P.N. Harer, and B. Guo. 2013b. Achievements and prospects of genomics-assisted breeding in three legume crops of the semi arid tropics. *Biotechnol. Adv.* 31:1120–1134.
- Vijayan, P., I.A.P. Parkin, S.R. Karcz, K. McGowan, K. Vijayan, A. Vandenberg, and K.E. Bett. 2011. Capturing cold-stress-related sequences diversity from a wild relative of common bean (*Phaseolus angustissimus*). *Genome* 54:620–628.
- Winfield, M.O., C. Lu, I.D. Wilson, J.A. Coghill, and K.J. Edwards. 2010. Plant responses to cold: Transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnol. J.* 8:749–771.
- Wu, X., C. Ren, T. Joshi, T. Vuong, D. Xu, and H.T. Nguyen. 2010. SNP discovery by high-throughput sequencing in soybean. *BMC Genomics* 11:469.
- Yadav, C.B., P. Bhareti, M. Muthamilarasan, M. Mukherjee, Y. Khan, P. Rathi, and M. Prasad. 2015. Genome-wide SNP identification and characterization in two soybean cultivars with contrasting mungbean yellow mosaic India virus disease resistance traits. *PLoS One.* 10:e0123897.
- Yamauchi, D. and T. Minamikawa. 1996. Improvement of the nutritional quality of legume seed storage protein by molecular breeding. *J. Plant Res.* 111:1–6.
- Yigezu, Y.A., C. Yirga, and A. Aw-Hassan. 2015. Varietal output and adoption in barley, chickpea, faba bean, field pea and lentil in Ethiopia, Eritrea and Sudan. In: Walker, T.S. and J. Alwang, editors, *Crop improvement, adoption, and impact of improved varieties in food crops in Sub-Saharan Africa*. CABI Publish. Wallingford, UK. p. 224–227.
- Yuniaty, A. dan A. Amurwanto. 2014. Studi keragaman genetik dan upaya identifikasi gen unggul kacang tanah (*Arachis hypogaea*, L.): 1. Studi Keragaman Genetik Kacang Tanah Berdasarkan Marka RAPD. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Biologi Unsoed, Purwakarta.
- Zheng, W. and T. Zhixi. 2015. Genomics progress will facilitate molecular breeding in soybean. *Sci. China Life Sci.* 58:813–815.
- Zulchi, T. dan Sutoro. 2016. Keragaman genetik plasma nutfah kedelai berdasarkan karakter morfologi dan hasil. Dalam: A. Rahardjanto, N. Mahmudat, Y. Pantiwati, L. Waluyo, E. Susityarini, A. Rofieq, P. Wahyono, dan I. Hindun, editor, *Prosiding Seminar Nasional II tahun 2016*. Malang, 26 Maret 2016. hlm. 461–469.