

KERAGAMAN GENETIK PLASMA NUTFAH PADI LOKAL ASAL KALIMANTAN BERDASARKAN MARKA SSR

(GENETIC DIVERSITY OF LOCAL RICE GERMLASM FROM KALIMANTAN BASED ON SSR MARKERS)

Rerenstradika Tizar Terryana, Tri Puji Priyatno, dan Puji Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik
Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A Bogor 16111
Email:re2n_terryana@ymail.com

ABSTRAK

Plasma nutfah padi lokal dengan keragaman genetik yang luas sangat diperlukan untuk perakitan varietas unggul baru dan pelestarian sumberdaya genetik padi lokal. Kalimantan merupakan salah satu wilayah asal plasma nutfah padi lokal dalam jumlah besar, yang berperan penting sebagai sumber genetik yang berpotensi untuk pengembangan tanaman padi di Indonesia. Pemahaman yang lebih baik mengenai keragaman genetik padi lokal Kalimantan sangat penting untuk keberhasilan program pemuliaan tanaman dan pengembangan padi varietas unggul baru. Marka SSR (Simple Sequence Repeat) telah lama digunakan dalam pendugaan keragaman genetik antar aksesori padi. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk menganalisis keragaman genetik 16 plasma nutfah padi lokal asal Kalimantan dan 4 varietas unggul menggunakan marka SSR. Sepuluh marka SSR digunakan untuk melihat pola pita amplifikasi DNA hasil PCR dan data yang terkumpul dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak NTSYS, PowerMarker serta analisis koordinat utama (PCoA). Hasil penelitian menunjukkan terdapat variasi alel yang cukup tinggi (3-10 alel) yang terobservasi diantara aksesori padi yang diuji, dengan rerata jumlah alel 6, dan rerata nilai polymorphism information content (PIC) sebesar 0.70 (0.36-0.86). Sebanyak 9 marka SSR memiliki nilai $PIC > 0.5$ yang mengindikasikan kemampuan marka tersebut dalam membedakan dan mendiskriminasi antar aksesori padi dalam studi keragaman genetik padi. Hasil analisis filogenetik dan analisis koordinat utama menunjukkan bahwa 20 aksesori padi tersebut mengelompok menjadi tiga kelompok utama pada tingkat kemiripan 70.5%. Berdasarkan analisis filogenetik, marka SSR yang digunakan mampu mendiskriminasi padi lokal Kalimantan dengan padi varietas unggul. Analisis keragaman genetik pada penelitian ini akan sangat bermanfaat sebagai langkah awal dalam kegiatan seleksi tetua persilangan guna membantu program pemuliaan

padi dan sangat berguna untuk pelestarian keragaman sumberdaya genetik padi lokal di Indonesia.

Kata kunci: Padi lokal, SSR, Kalimantan, Keragaman Genetik

ABSTRACT

Local rice germplasm with broad genetic diversity is needed to develop a new superior variety of rice and preservation. Kalimantan is one of origins of large number of indigenous rice accessions, which may serve as valuable plant for future crop improvement in Indonesia. A better understanding of genetic diversity of local rice germplasm from Kalimantan is very important for crops breeding program and new superior varieties improvement. Simple Sequence Repeat (SSR) markers have longly been used to estimate genetic diversity among rice accessions. This study aimed to analyze the genetic diversity of 16 local rice accessions from Kalimantan and 4 improved varieties by using SSR markers. Ten SSR markers were used to PCR amplification, and the collected data was analyzed using NTSYS, PowerMarker and principle coordinate analyses (PCoA). The result showed that high allele variation (3-10 alleles) was observed among rice accessions tested, with an average allele number of six, the average of Polymorphism Information Content (PIC) value was 0.70 (0.36-0.86). Nine of SSR markers showed PIC value >0,5 indicated their suitable differentiation and discrimination for rice diversity studies. The phylogenetic and principle coordinate analysis showed that twenty accessions of rice were divided into three groups with a cut-off of 70.5% similarity. Based on phylogenetic, SSR markers could discriminating between local accessions of rice from Kalimantan and improved varieties. Genetic diversity analysis in this study will be useful as an initial basis of selection for appropriate parents to assist breeding program of rice and is useful to preserve their genetic variability in Indonesia.

Keywords: Local rice accession, SSR, Kalimantan, Genetic diversity

PENDAHULUAN

Kalimantan merupakan salah satu pulau terluas di Indonesia dengan kekayaan alam hayati melimpah berupa spesies tanaman lokal yang hanya terdapat di pulau tersebut. Diantara spesies tanaman tersebut terdapat banyak tanaman padi yang bersifat lokal dengan sifat dan karakter unggul yang tidak terdapat pada tanaman padi di wilayah lainnya. Padi merupakan tanaman serealia penting yang digunakan sebagai makanan pokok sepertiga penduduk dunia termasuk Indonesia di dalamnya. Padi juga merupakan komoditas pangan strategis di Indonesia dan menjadi prioritas utama dalam pembangunan pertanian (Somantri, 2001).

Padi lokal dikenal memiliki keragaman genetik yang luas dan merupakan sumber gen yang mengendalikan sifat-sifat penting. Beberapa padi lokal khususnya di Kalimantan memiliki sifat unggul antara lain ketahanan terhadap kekeringan dan salinitas (Rusdiansyah dan Intara, 2015), kualitas rasa yang tinggi (Nurhasanah dan Sunaryo, 2015) serta gabah banyak dan rapat (Khairullah *et al.*, 2005). Penggunaan aksesori maupun varietas lokal sebagai tetua persilangan sangat dianjurkan untuk mendapatkan gen-gen sifat unggul dan untuk memperluas latar belakang genetik varietas unggul yang akan dihasilkan, karena tanaman lokal diduga mengandung gen yang telah mengalami evolusi adaptasi terhadap lingkungan di sekitarnya cukup lama (Sitaresmi *et al.*, 2013; Sumarno, 2014). Haryono (2014) menyatakan bahwa koleksi plasma nutfah tanaman lokal berperan sangat penting untuk mendukung keberhasilan pertanian di masa depan. Oleh karena itu, pemanfaatan padi lokal yang telah terkarakterisasi dan terevaluasi perlu lebih ditingkatkan dan diintegrasikan dengan program pemuliaan tanaman (Silitonga, 2004). Selain itu karakterisasi plasma nutfah padi lokal juga penting dalam konservasi dan preservasi padi lokal di Indonesia.

Informasi karakter morfologi plasma nutfah padi lokal perlu dilengkapi dengan informasi karakter genotipe. Informasi tersebut sangat penting mengingat padi lokal yang berasal dari daerah yang sama dapat berkerabat jauh atau dekat dan begitu pula sebaliknya. Karakter morfologi merupakan hasil interaksi genotipe dengan lingkungannya sehingga seringkali membutuhkan observasi yang intensif dan sulit untuk membedakan apakah suatu individu memiliki karakter yang bersifat genetik atau lebih banyak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh (Hartati *et al.*, 2009). Sementara itu karakterisasi berdasarkan marka molekuler memberikan hasil yang presisi karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh (Risliawati *et al.* 2015; Maulana *et al.* 2014). Karakterisasi berdasarkan marka molekuler menjadi informasi pelengkap keragaman materi genetik secara morfologi, serta merupakan pendekatan yang lebih efektif dan efisien untuk analisis keragaman genetik tanaman.

Marka fungsional *Simple Sequence Repeat* (SSR) atau mikrosatelit merupakan salah satu marka molekuler berbasis teknologi PCR yang banyak dikembangkan dan digunakan dalam kegiatan karakterisasi dan identifikasi keragaman genetik. SSR juga banyak dimanfaatkan untuk tujuan pengujian varietas pada tanaman padi (Mulsanti *et al.* 2013). SSR merupakan sekuens pendek berulang yang keberadaannya melimpah dan membentuk motif yang unik dalam genom organisme eukariotik, bersifat kodominan serta mudah dalam aplikasinya (Wang *et al.* 2014). Penggunaan marka SSR untuk identifikasi keragaman genetik plasma nutfah padi telah banyak dilakukan sebelumnya (Shakil *et al.* 2015; Somnath *et al.* 2016; Lin *et al.* 2012; Kanawapee *et al.* 2011). Pemanfaatan marka SSR dalam analisis keragaman genetik plasma nutfah padi lokal Indonesia juga telah banyak dilakukan dan hingga saat ini masih terus dilakukan (Sutoro *et*

al., 2015; Rohaeni *et al.*, 2016; Kristamtini *et al.*, 2014; Nugroho *et al.* 2017; Susilawati *et al.*, 2014; Rusdiansyah dan Intara, 2015).

Informasi keragaman genetik padi lokal Kalimantan berdasarkan marka SSR sangat diperlukan karena merupakan kekayaan genetik yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut untuk perakitan varietas unggul baru sekaligus kegiatan preservasi varietas lokal. Sampai saat ini estimasi keragaman genetik aksesori lokal padi asal Kalimantan masih terbatas, sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman genetik padi lokal asal Kalimantan serta mengetahui marka SSR yang informatif dalam mendiskriminasi padi lokal asal Kalimantan.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan September 2017 di Laboratorium Biologi Molekuler Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.

Materi Genetik

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian adalah 20 varietas padi yang terdiri dari 16 aksesori lokal asal Kalimantan dan 4 varietas unggul baru nasional (VUB) (Tabel 1). Seluruh varietas ditanam dalam ember dalam rumah kaca hingga umur 4 minggu untuk keperluan isolasi DNA genomiknya.

Tabel 1. Daftar materi genetik padi yang digunakan dalam penelitian ini

No	Aksesori / Varietas	Keterangan
1	Siam Saba	Lokal
2	Garagai	Lokal
3	Kumpang Amas	Lokal
4	Sentang	Lokal
5	Umbang Nilun	Lokal
6	Siam Mutiara	Lokal
7	Sahui	Lokal
8	Siam Gaul	Lokal
9	Pudak	Lokal
10	Beras Merah	Lokal
11	Beras Bangkal	Lokal

No	Akresi / Varietas	Keterangan
12	Semandang	Lokal
13	Nyai	Lokal
14	Tampul Serabang	Lokal
15	Siam Epang	Lokal
16	Behas Bahandang	Lokal
17	Inpari 24	Varietas Unggul
18	Inpari 7	Varietas Unggul
19	Inpari 33	Varietas Unggul
20	Inpari 3	Varietas Unggul

Ekstraksi DNA

Sebanyak 0.5 g potongan daun padi digerus dengan menggunakan nitrogen cair. Ekstraksi DNA menggunakan buffer CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) mengacu pada metode CTAB (Doyle, 1991). Uji kuantitatif larutan stok DNA dilakukan dengan menggunakan Nanodrop spektrofotometer (ThermoScientific™, USA), sedangkan uji kualitatif dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa dengan konsentrasi 1%. hasil elektroforesis kemudian divisualisasi di bawah sinar UV dalam *UV Transilluminator* (Biorad, USA).

Amplifikasi PCR

Amplifikasi DNA dengan metode PCR dilakukan dalam 10 µl volume total reaksi yang mengandung 20ng/ µl DNA *template* sebanyak 2 µl; 5 µl Kapa2G Fast ReadyMix (Kapa Biosystems, USA); primer *Forward* dan *Reverse* dengan konsentrasi 10 µM masing-masing sebanyak 0.5 µl dan 2 µl ddH₂O. Adapun 10 marka SSR yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 2. Reaksi PCR dilakukan dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Germany) dengan profil PCR sebagai berikut: 3 menit denaturasi awal pada suhu 95°C, 35 siklus denaturasi selama 15 detik pada suhu 95°C, 15 detik *annealing* (penempelan primer) pada suhu 55°C dan 30 detik *elongation* (perpanjangan basa) pada suhu 72°C selama 1 menit.

Hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan metode PCR dielektroforesis menggunakan gel poliakrilamida 6% pada tangki berisi buffer 1xTBE, dengan tegangan 90 volt selama 110 menit. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan menggunakan larutan ethidium bromida dan divisualisasi pada alat *UV Transilluminator* (Biorad, USA).

Analisis Data

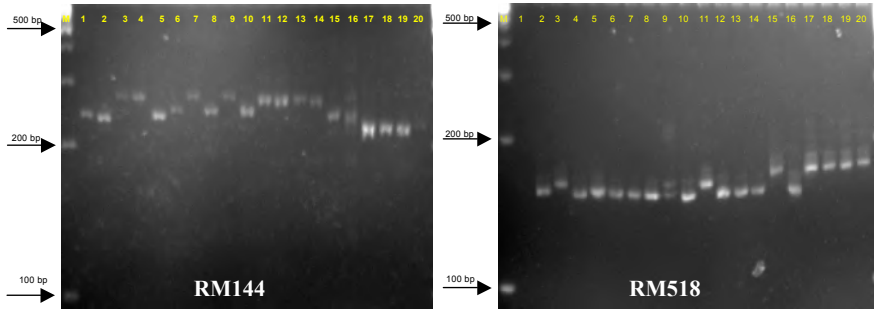
Analisis data dilakukan berdasarkan metode skoring terhadap pita DNA yang muncul. Untuk mempermudah penentuan posisi pita, skoring dilakukan dengan bantuan perangkat lunak *Gel Analyzer*. Setiap pita DNA yang terlihat dianggap sebagai satu alel, dan pita DNA dengan laju pergerakan yang sama diasumsikan sebagai lokus yang sama. pada laju yang sama, setiap pita yang tampak diberikan skor 1, sedangkan pita yang tidak tampak diberikan skor 0 sehingga hasil skoring berupa data biner. Data hasil skoring selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN)-UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.02 (Jamshidi and Jamshidi, 2011) untuk menganalisis tingkat kemiripan antar varietas. Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram, selanjutnya data hasil skoring juga dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *PowerMarker* 3.45 (Liu and Muse, 2005) untuk statistik nilai frekuensi alel utama, diversitas genetik, heterozigositas dan nilai PIC (*Polymorphic Information Content*) yang dihasilkan oleh marka SSR. Selain itu, data hasil skoring juga dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak XLSTAT untuk analisis koordinat utama (*Principal Coordinate Analysis*, PCoA). Analisis PCoA menggambarkan posisi relatif masing-masing individu. Data kodominan dihitung untuk mendapatkan nilai jarak genetik antar individu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis dilakukan pada 20 aksesi padi yang terdiri atas 16 aksesi lokal asal Kalimantan dan 4 varietas unggul dengan 10 marka SSR. Berdasarkan hasil analisis, seluruh marka SSR yang digunakan dalam penelitian mampu memperlihatkan polimorfisme pada seluruh padi yang diuji (Gambar 1). Sebanyak 62 alel terdeteksi dalam total 20 aksesi. Ringkasan analisis polimorfisme yang dihasilkan oleh marka SSR ditampilkan pada tabel 3. Rerata jumlah alel dari marka SSR hasil amplifikasi sebanyak 6.20 alel per marka dengan kisaran 3-10 alel per lokus. Rerata jumlah alel yang terdeteksi pada penelitian ini masih lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Sutoro *et al.* (2015) yang menggunakan 82 aksesi padi lokal dan telah berhasil mendeteksi 4.62 alel, Becerra *et al.* (2015) yang telah berhasil mendeteksi 3.54 alel dan Sohrabi *et al.* (2013) yang berhasil mendeteksi 4.90 alel, tetapi lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Nguyen *et al.* (2012) yang berhasil mendeteksi 6.40 alel.

Kisaran alel yang diperoleh dalam penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Kristamtini *et al.* (2014) yang menggunakan padi lokal asal Jawa Tengah dan memperoleh kisaran 4-9 alel per lokus, namun lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Kristianto *et al.* (2017) yang menggunakan 12 padi lokal Indonesia dan memperoleh 2-10 alel per lokus,

serta Pervaiz *et al.* (2010) yang menggunakan padi lokal asal Pakistan berhasil memperoleh 2-13 alel per lokus. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan jumlah materi genetik padi lokal serta jumlah dan kemampuan amplifikasi marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini dibandingkan dengan penelitian-penelitian tersebut.



Gambar 1. Contoh pola pita yang divisualisasikan pada gel poliakrilamida 6% dengan menggunakan marka RM144 dan RM158

Rerata frekuensi alel utama yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 37% dengan nilai terendah 15% pada marka RM474 serta nilai tertinggi 75% pada marka RM248. Sementara Shahid *et al.* (2013) memperoleh kisaran frekuensi alel utama yang lebih besar antara 42-97%. Seluruh marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini mampu mendiskriminasikan alel heterozigot dengan nilai heterozigositas berkisar antara 0.05 (RM518 dan RM259) hingga 0.90 (RM124). Nilai diversitas gen yang menunjukkan tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi (Somantri *et al.*, 2002), berkisar antara 0.40 (RM248) hingga 0.87 (RM474) dengan rerata 0.73. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini, nilai rerata diversitas gen hasil penelitian Becerra *et al.* (2015) lebih rendah dengan nilai rerata diversitas gen sebesar 0.50.

Tabel 3. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas dan tingkat polimorfisme (*Polymorphism information content*, PIC) yang dihasilkan 20 varietas padi pada penelitian ini

Marka SSR	Na ^a	Af ^b	Gd ^c	He ^d	PIC ^e
RM144	7	0.25	0.82	0.40	0.80
RM60	5	0.45	0.71	0.00	0.66
RM223	5	0.30	0.75	0.07	0.71
RM541	8	0.30	0.82	0.20	0.79

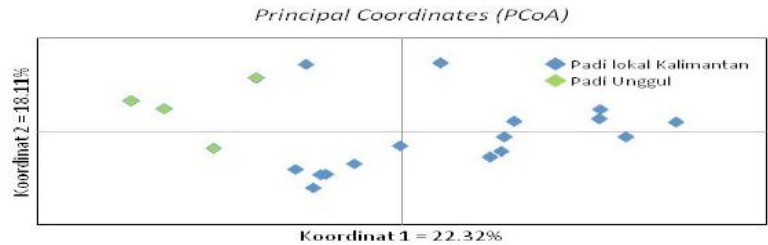
Marka SSR	Na ^a	Af ^b	Gd ^c	He ^d	PIC ^e
RM518	5	0.47	0.70	0.05	0.66
RM474	9	0.15	0.87	0.10	0.86
RM259	7	0.27	0.82	0.05	0.80
RM248	3	0.75	0.40	0.00	0.36
RM124	10	0.17	0.87	0.90	0.86
RM105	4	0.57	0.59	0.00	0.54
Jumlah	62				
Rerata	6	0.37	0.73	0.10	0.70

Keterangan : a: jumlah alel; b: frekuensi alel utama; c: diversitas gen;
d: heterozigositas; e: polimorfisme

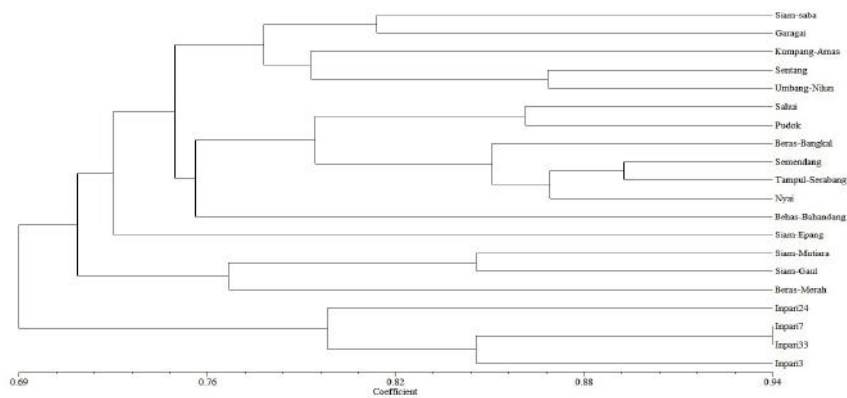
Nilai PIC didefinisikan sebagai suatu nilai yang mencerminkan tingkat polimorfisme marka yang digunakan. Nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) berkisar antara 0.36 (RM248) hingga 0.86 (RM474 dan RM124) dengan rerata sebesar 0.70. Kisaran nilai PIC pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Pachauri *et al.* (2013) dengan nilai PIC berkisar antara 0.10 hingga 0.66 tetapi lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Afiukwa *et al.* (2016) dengan nilai kisaran PIC berkisar antara 0.24 hingga 0.95. Menurut pengklasifikasian nilai PIC yang telah dilakukan oleh Botstein *et al.* (1980) dan Hildebrand *et al.* (1994), maka sembilan marka SSR yang digunakan (RM144, RM60, RM223, RM541, RM518, RM474, RM259, RM124 dan RM105) termasuk dalam kategori sangat informatif (PIC>0.5) yang bermanfaat untuk karakterisasi serta membedakan antar aksesori padi yang diuji serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai *Marker Assisted Selection* (MAS) varietas padi kedepannya.

Persebaran keragaman genetik padi lokal Kalimantan dan padi unggul ditampilkan pada diagram sebaran populasi yang merupakan hasil analisis koordinat utama. Analisis koordinat utama (PCoA) sangat berguna untuk menganalisis keragaman genetik antar tanaman serta mengetahui tingkat kemiripan individu berdasarkan kemiripan karakter melalui penyederhanaan dimensi (Shankar *et al.* 2009). Gambar 2 menunjukkan hasil analisis koordinat utama yang berasal dari jarak genetik berdasarkan marka SSR. Berdasarkan hasil analisis tersebut, padi lokal Kalimantan mengelompok terpisah dengan kelompok padi varietas unggul. Padi lokal Kalimantan mengelompok sesuai dengan karakter genetiknya dan tersebar pada tiga koordinat yang berbeda, sedangkan padi varietas unggul terkonsentrasi pada satu titik koordinat yang berdekatan yang menunjukkan rendahnya tingkat keragaman genetik. Hasil analisis koordinat utama tersebut menunjukkan bahwa keragaman genetik yang besar pada populasi padi lokal

Kalimantan penting sebagai informasi awal untuk dapat digunakan sebagai materi genetik pemuliaan tanaman karena keragaman yang besar merupakan kunci sukses dalam pemuliaan tanaman.



Gambar 2. Diagram sebaran populasi 16 padi lokal Kalimantan dan 4 varietas unggul berdasarkan kovarian matrik menggunakan sepuluh marka SSR.



Gambar 3. Dendrogram 16 padi lokal Kalimantan dan 4 varietas unggul berdasarkan marka SSR yang dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak NTSYS

Analisis filogenetik dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan kekerabatan antar varietas (Utami *et al.*, 2011). Analisis filogenetik terhadap seluruh varietas padi berdasarkan marka SSR dilakukan berdasarkan hasil observasi terhadap seluruh frekuensi alel yang muncul dan hasil dendrogram pada *Sequential Agglomerative Hierarchial and Nested* (SAHN)-UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*). Pada tingkat kesamaan 70.5% terbentuk tiga kluster utama, kluster pertama terdiri atas 12 padi lokal (Siam Saba, Garagai, Kumpang Amas, Sentang, Sahui, Umbang Nilun, Pudak, Beras Bangkal, Semendang, Tampul Serabang, Nyai, Behas Bahandang dan Siam Epang.), kluster kedua terdiri atas 3 padi lokal (Siam Mutiara, Siam Gaul dan Beras Merah) dan kluster ketiga terdiri atas 4 padi

varietas unggul (Inpari 24, Inpari 7, Inpari 33 dan Inpari 3) (Gambar 3). Marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini mampu membedakan antara padi lokal asal Kalimantan dengan padi varietas unggul baru.

Pada klaster pertama terdapat dua padi lokal Kalimantan dengan kekerabatan paling dekat yaitu antara Semendang dengan Tampul Serabang dan varietas Tampul Serabang dengan Nyai dengan nilai matriks kesamaan sebesar 88.9%, sementara padi lokal Siam Gaul memiliki nilai matriks kesamaan sebesar 84% dengan Siam Mutiara pada klaster kedua, dan pada klaster ketiga yang keseluruhannya adalah padi varietas unggul terdapat dua varietas padi unggul yang memiliki kekerabatan paling dekat yaitu Inpari 7 dengan Inpari 33 dengan nilai kesamaan genetik sebesar 93.7% (Tabel 4). Aksesori dengan jarak genetik yang dekat tersebut tidak potensial untuk dijadikan tetua persilangan karena memperbesar peluang terjadinya *inbreeding depression*. Diantara sesama padi lokal Kalimantan pada klaster pertama, terdapat dua padi lokal dengan jarak genetik terjauh yaitu antara Behas Bahandang dengan Kumpang Amas dengan nilai kesamaan genetik 67%. Pada klaster kedua, padi lokal Siam Mutiara dan Beras Merah memiliki nilai kesamaan genetik 75%, sedangkan di antara sesama varietas padi unggul pada klaster ketiga, jarak genetik terjauh diperlihatkan oleh varietas Inpari 24 dengan Inpari 3 dengan nilai kesamaan genetik sebesar 73%. Secara keseluruhan terdapat dua aksesori dengan tingkat kekerabatan paling jauh yaitu antara padi lokal Siam Saba dengan varietas unggul Inpari 3 dengan nilai kesamaan genetik sebesar 64.3%. Varietas dengan jarak genetik yang jauh tersebut potensial untuk dijadikan tetua persilangan sehingga memperkecil peluang terjadinya *inbreeding depression*.

Hasil karakterisasi padi varietas lokal asal Kalimantan dalam penelitian ini dapat menambah koleksi informasi terkait karakter genotipe padi lokal Indonesia berdasarkan profil marka SSR dalam rangka pemanfaatan plasma nutfah padi lokal untuk mendukung perakitan padi varietas unggul baru, serta konservasi dan preservasi padi lokal Indonesia. Marka SSR tersebut dapat digunakan selanjutnya untuk analisis keragaman genetik yang memungkinkan pula untuk mengidentifikasi lokus yang terkait karakter morfologi dan agronomi yang dimiliki oleh aksesori padi lokal. Tanaman lokal diduga mengandung gen yang telah mengalami evolusi adaptasi terhadap lingkungan di sekitarnya cukup lama (Sitaresmi *et al.*, 2013; Sumarno, 2014), sehingga sebagian besar padi lokal banyak ditanam oleh petani di Indonesia. Informasi keragaman genetik yang besar dalam populasi padi lokal merefleksikan pentingnya konservasi dan preservasi sumberdaya genetik padi lokal di Indonesia (Sutoro *et al.* 2015), sehingga penanganan konservasi dan preservasi padi lokal secara tepat harus terus menerus dilakukan agar tetap terjaga kelestariannya dan dapat menjadi varietas lokal andalan daerah setempat. Informasi keragaman genetik berdasarkan marka SSR diantara aksesori padi lokal asal Kalimantan dalam penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai informasi awal dalam kegiatan pemuliaan tanaman padi di Indonesia dan sebagai acuan dalam pengelolaan sumberdaya genetik padi lokal di Indonesia.

KESIMPULAN

Analisis keragaman genetik padi lokal Kalimantan dan padi varietas unggul berdasarkan 10 marka SSR menunjukkan tiga pengelompokan utama pada nilai kesamaan genetik sebesar 70.5%. Seluruh padi lokal Kalimantan mengelompok pada klaster pertama dan kedua, sedangkan padi varietas unggul mengelompok seluruhnya pada klaster ketiga. Marka SSR tersebut mampu mendiskriminasi antara padi lokal Kalimantan dengan padi varietas unggul dan dapat dimanfaatkan dalam kegiatan seleksi pemuliaan tanaman. Sebanyak 9 marka SSR yaitu, RM144, RM60, RM223, RM541, RM518, RM474, RM259, RM124 dan RM105 dengan nilai PIC>0.5 merupakan marka informatif yang penting sebagai *marker assisted selection* (MAS) padi kedepannya. Dari lain sisi, profil molekuler tersebut juga membantu kegiatan preservasi varietas lokal asal Kalimantan untuk menjaga dan melindungi keragaman genetiknya selain untuk pemuliaan sesuai karakter yang diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiukwa, CA., JO. Faluyi, CJ. Atkinson, BE. Ubi, DO. Igwe and RO. Akinwale. 2016. Screening of some rice varieties and landraces cultivated in Nigeria for drought tolerance based on phenotypic traits and their association with SSR polymorphisms. *Afr. J. Agric. Res.* 11(29):2599-2615.
- Aluko, GK. 2003. Genetic mapping of agronomic traits from the interspecific cross of *Oryza sativa* (L.) and *Oryza glaberrima* (Steud.). *Lousiana State University Doctoral Dissertations* 1007p.
- Becerra, V., M. Paredes, E. Guatierrez and C. Rojo. 2015. Genetic diversity, identification and certification of Chilean rice varieties using molecular markers. *Chilean Journal of Agricultural Research* 75(3):267-274.
- Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, YG. Cho and SR. McChouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 95:553-567.
- Doyle, J. 1991. DNA protocols for plants. Ithaca. USA. 283 hal.
- Fatimah, L. Herlina dan TS. Silitonga. 2016. Genetic diversity and trait association analysis of Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using SSR markers. *Biotropia* 23(2):105-115.
- Hartati, RRS., A. Setiawan, B. Heliyanto dan D. Pranowo. 2009. Keragaan morfologi dan hasil 60 individu jarak pagar terpilih di kebun percobaan Pakuwon Sukabumi. *Jurnal Litri* 15(4):152-61.
- Haryono. 2014. Fungsi strategis sumber daya genetik dalam pembangunan pertanian. *Dalam: Sumber daya genetik pertanian Indonesia, Tanaman pangan perkebunan hortikultura. IAARD Press.* Halaman: 5-20.

- Jamshidi, SS. and SS. Jamshidi. 2011. NTSYSpc2.02e implementation in molecular biodata analysis (clustering, screening and individual selection). *In* : International Conference on Environmental and Computer Science 19:165-69.
- Kanawapee, H., J. Sanitchon, P. Srihaban and P. Theerakulpisut. 2011. Genetic diversity analysis of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) differing in salinity tolerance based on RAPD and SSR markers. *E. Journal of Biotechnology* doi:10.2225/vol14-issue6-fulltext-4.
- Khairullah, I., R. Wardah, A. Jumberi dan S. Sulaiman. 2005. Mekanisme toleransi keracunan besi pada varietas lokal padi (*Oryza sativa* L.) pasang surut di Kalimantan Selatan. *Agroscientiae* 12(1):58-68.
- Kristamtini, Taryono, P. Basunanda dan RH. Murti. 2014. Keragaman genetik kultivar padi beras hitam lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. *AgroBiogen* 10(2):69-76.
- Kristianto, N., Salamet dan P. Lestari. 2017. keragaman genetik 24 varietas padi sawah dan padi gogo Indonesia berdasarkan marka SSR. *Scripta Biologica* 4 (1):5-10.
- Lin, HY., YP. Wu, AL. Hour, SW. Ho, FJ. Wei, YIC. Hsing and YR. Lin. 2012. Genetic diversity of rice germplasm used in Taiwan breeding programs. *Botanical Studies* 53:363-376.
- Liu, K., and SV. Muse. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21(9):2128-29.
- Nguyen, TTT., NMT. Nguyen, LL. Hoang, N. Furuya and K. Tsuchiya. 2012. Genetic diversity in Vietnamese upland rice germplasm revealed by SSR markers. *J. Fac. Agr. Kyushu University* 57(2):383-391.
- Nurhasanah dan W. Sunaryo. 2015. Keragaman genetik padi lokal Kalimantan Timur. *In* Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. Halaman : 1553-1558.
- Maulana, Z., T. Kuswinanti, NR. Sennang and SA. Syaiful. 2014. Genetic diversity of locally rice germplasm from Tana Toraja and Enrekang based on RAPD markers. *International Journal of Scientific and Technology* 3(4):198-202.
- Mulsanti, IW., M. Surahman, S. Wahyuni, DW. Utami. 2013. Identifikasi galur tetua padi hibrida dengan marka SSR spesifik dan pemanfaatannya dalam uji kemurnian benih. *J. AgroBiogen* 32(1):1-2.
- Nugroho, K., Slamet dan P. Lestari. 2017. Keragaman genetik 24 varietas padi sawah dan padi gogo (*Oryza sativa* L.) Indonesia berdasarkan marka SSR. *Scripta Biologica* 4(1):5-10.

- Pachauri, V., N. Taneja, P. Vikram, NK. Singh and S. Singh. 2013. Molecular and morphological characterization of Indian farmers rice varieties (*Oryza sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science* 7(7):923-932.
- Pathak, K., S. Rathi, AR. Baruah, B. Kumar and RN. Sarma. 2015. Marker-trait associations for improving cooking quality in glutinous rice. *Indian Journal of Biotechnology* 14:320-327.
- Pervaiz, ZH., MA. Rabbani, I. Khaliq, SR. Pearce and SA. Malik. 2010. Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. *Electronic Journal of Biotechnology* 13(3):1-12.
- Risliawati, A., EI. Riyanti, P. Lestari, DW. Utami and TS. Silitonga. 2015. Development of SSR marker set to identify fourty two Indonesian soybean varieties. *Agrobiogen* 11(2):49-58.
- Rohaeni, WR., U. Susanto, N. Yunani, N. Usyati dan Satoto. 2016. Kekerabatan beberapa aksesori padi lokal tahan hama penyakit berdasarkan analisis polimorfisme marka SSR. *AgroBiogen* 12(2):81-90.
- Rusdiansyah dan YI. Intara. 2015. Identifikasi kultivar lokal padi sawah (*Oryza sativa*) Kalimantan Timur berdasarkan karakter agronomi dan morfologi. *Agrovigor* 8(2):8-15.
- Shahid, MS., SA. Naveed and M. Arif. 2013. Genetic diversity in basmati and non-basmati rice varieties based on microsatellite markers. *Pak. J. Bot.* 45(S1):423-431.
- Shakil, SK., A. Sultana, MM. Hasan, MM. Hossain, MS. Ali and SH. Prodhan. 2015. SSR marker based genetic diversity analysis of modern rice varieties and coastal landraces in Bangladesh. *Indian J. of Biotechnology* 14:33-41.
- Shankar, R., BG. Bagle and TA. More. 2009. Diversity analysis of bitter gourd (*Lens culinaris* Medik): their molecular diversity and possible origin. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54:1023-1031.
- Silitonga, TS. 2004. Pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah padi di Indonesia. *Bul. Plasma Nutfah* 10(2):26-34.
- Sohrabi, M., MY. Rafii, MM. Hanafi and MdA. Latif. 2013. Genetic divergence of Malaysian upland rices revealed by microsatellite markers. *POJ* 6(3):175-182
- Somantri, IH. 2001. Wild rice (*Oryza* spp.): their existence and research in Indonesia. *Buletin Agrobio* 5(1):14-20.
- Somantri, I. Hanarida, TS. Silitonga, SG. Budiarti, SA. Rais, L. Hakim dan N. Dewi. 2002. Karakterisasi molekuler plasma nutfah tanaman pangan. *Dalam* : Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi. Halaman: 66-74.

- Somnath, R., BC. Marndi, B. Mawkhlieng, A. Banerjee, RM. Yadav, AK. Misra and KC. Bansal. 2016. Genetic diversity and structure in hill rice (*Oryza sativa* L.) landraces from the North-Eastern Himalayas of India. *BMC Genetics* 17:107.
- Sitairesmi, T., RH. Wening, AT. Rakhmi, N. Yunani dan U. Susanto. 2013. Pemanfaatan plasma nutfah padi varietas lokal dalam perakitan varietas unggul. *IPTEK Tanaman Pangan* 8(1):22-30.
- Sumarno, 2014. Pemanfaatan sumber daya genetik dalam pembentukan varietas unggul modern. *Dalam: Sumber daya genetik pertanian Indonesia, Tanaman pangan perkebunan hortikultura. IAARD Press*. Halaman: 21-58.
- Susanto, U., Satoto, NA. Rohmah, and MJ. Mejaya. 2014. Similarity of 26 new released rice varieties and rice parental hybrids based on 36 SSR markers. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 33(2): 71-76.
- Susilawati. 2014. Perubahan iklim dan serangan penyakit utama pada padi varietas unggul di lahan pasang surut. *Dalam : M. Yasin, A. Noor, R. Galib, Suryana, E.S. Rohaeni, dan A. Hasbianto, editor, Prosiding Seminar Nasional, Inovasi Teknologi Pertanian Spesifik Lokasi*. Banjarbaru, 6-7 Agustus 2014. BPTP Kalimantan Selatan. Halaman. 187-194.
- Sutoro, P. Lestari, Reflinur and H. Kurniawan. 2015. Keragaman genetik padi gogo lokal dari pulau Jawa berdasarkan marka SSR. *Indones. J. Agric. Sci.* 16(1):1-10.
- Thomson, MJ., TH. Tai, AM. McClung, XH. Lai, ME. Hinga, KB. Lobos, Y. Xu, CP. Martinez, and SR. McCouch. 2003. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor Appl Genet* 107:479-493.
- Utami, DW., Sutoro, N. Hidayatun, A. Risliawati dan I. Hanarida. 2011. Keragaman genetik 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR terpaut gen pengatur waktu pembungaan (HD genes). *AgroBiogen* 7(2):76-84.
- Wang, S., Y. Liu, M. Liying, H. Liu, Y. Tang, L. Wu, Z. Wang, Y. Li, R. Wu and X. Pang. 2014. Isolation and characterization of microsatellite markers and analysis of genetic diversity in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *PLoS ONE* 9(6).doi:10-1371/journal.pone.0099842.
- Yoon, DB., HK. Kang, HJ. Kim, HG. Ju, SG Kwon, JP. Suh, OY. Jeong and SN. Ahn. 2006. Mapping quantitative trait loci for yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza grandiglumis* and the *O. sativa japonica* cultivar Hwaseongbyeon. *Theor Appl Genet.* 112:1052-1062.

- Yoshida, S., M. Ikegami, J. Kuze, K. Sawada, Z. Hashimoto, T. Ishii, C. Nakamura and O. Kamijima. 2002. QTL analysis for plant and grain characters of Sake-brewing rice using a doubled haploid population. *Breeding Sci.* 52:309-317.
- Zhang, P., L. Xiangdong, T. Hanhua, L. Yonggen and L. Jinquan. 2014. Association mapping for important agronomic traits in core collection of rice (*Oryza sativa* L.) with SSR markers. *Plos one* 9(10):1-16.

Tabel 2. Marka SSR yang digunakan pada penelitian ini

Marka SSR	Sekuen Marka SSR		Pola SSR	Kromosom	Karakter Terkait	Sumber
	Forward (5'---3')	Reverse (3'---5')				
RM144	tgccctggcgcaaatfgatcc	gctagaggagatcagatggtagtgcctg	(ATT)11	11	Ukuran gabah, Jumlah malai	Yoshida <i>et al.</i> 2002, Yoon <i>et al.</i> 2006
RM60	agtcacctgttccacttcg	atggctactgcctgtactac	(AATT)5AATCT(AATT)	3	Jumlah malai produktif, Panjang akar	Chen <i>et al.</i> 1997, Afukwa <i>et al.</i> 2016
RM223	gagtgagcttggcgctgaac	gaaggcaagtcttggcactg	(CT)25	8	Ukuran gabah, Bobot gabah	Zhang <i>et al.</i> 2014
RM541	tataaccgacctcagtgccc	ccttactcccatgccatgag	(TC)16	6	Kadar amilosa	Chen <i>et al.</i> 1997, Pathak <i>et al.</i> 2015
RM518	cttctcactcactcaccatgg	atccatctggagcaagcaac	(TC)15	4	Panjang pelepah	Yoon <i>et al.</i> 2006
RM474	aagatgtaacgggtggcattc	tatgagctgtgtgagcaatgg	(AT)13	10	Pecah kulit gabah	Thomson <i>et al.</i> 2003
RM259	tggagtttgagaggagg	ctgtttgcattgtgcctatgt	(CT)17	1	Ukuran gabah	Yoshida <i>et al.</i> 2002
RM248	tccttgtgaatacttggtccc	gtagcctagcatgtgtgcctg	(CT)25	7	Perkembangan akar	Susanto <i>et al.</i> 2014
RM124	atcgtctgctgtggcgctgctg	catggataccgagctcccc	(TC)10	4	Ukuran gabah, Tinggi Tanaman, Jumlah malai	Aluko 2003
RM105	gtcgtcgacccatcggagccac	tggctcagggctgggcatcgggic	(CCT)6	9	Ukuran lidah daun	Fatimah <i>et al.</i> 2016

Tabel 4. Matriks kesamaan genetik 16 akses padi lokal dan 4 varietas unggul padi pada penelitian ini

Varietas	Siam Saba	Kumpang Garagai	Kumpang Amas	Sentang	Umbang Nilun	Siam Mutiara	Sahui	Siam Gaul	Pudak	Beras Merah	Beras Bangkok	Semendang	Nyai	Tampul Serabang	Siam E pang	Behas Bahandang	Inpari 24	Inpari 7	Inpari 33	Inpari 3
Siam Saba	1																			
Garagai	0.81	1																		
KumpangAmas	0.71	0.81	1																	
Sentang	0.76	0.80	0.83	1																
UmbangNilun	0.78	0.78	0.75	0.86	1															
SiamMutiara	0.75	0.71	0.68	0.73	0.71	1														
Sahui	0.78	0.78	0.78	0.86	0.81	0.75	1													
Siam Gaul	0.71	0.68	0.68	0.69	0.68	0.84	0.71	1												
Pudak	0.67	0.70	0.76	0.78	0.70	0.76	0.86	0.76	1											
Beras Merah	0.65	0.68	0.65	0.69	0.75	0.75	0.71	0.78	0.76	1										
Beras Bangkok	0.68	0.71	0.75	0.73	0.71	0.71	0.75	0.68	0.79	0.71	1									
Semendang	0.71	0.75	0.75	0.80	0.75	0.75	0.84	0.75	0.83	0.71	0.87	1								
Nyai	0.71	0.71	0.71	0.76	0.75	0.75	0.78	0.71	0.76	0.68	0.84	0.84	1							
TampulSerabang	0.73	0.73	0.76	0.81	0.79	0.73	0.79	0.70	0.78	0.70	0.83	0.89	0.89	1						
Siam E pang	0.71	0.68	0.71	0.73	0.75	0.71	0.71	0.75	0.70	0.68	0.71	0.75	0.75	0.76	1					
BehasBahandang	0.76	0.76	0.67	0.71	0.73	0.79	0.70	0.70	0.71	0.68	0.73	0.76	0.79	0.81	0.73	1				
Inpari 24	0.67	0.67	0.67	0.68	0.67	0.76	0.67	0.70	0.65	0.73	0.76	0.70	0.73	0.71	0.73	0.75	1			
Inpari 7	0.71	0.68	0.65	0.69	0.71	0.68	0.71	0.65	0.67	0.68	0.75	0.71	0.75	0.73	0.68	0.67	0.83	1		
Inpari 33	0.68	0.68	0.65	0.66	0.65	0.71	0.65	0.65	0.67	0.65	0.71	0.68	0.71	0.70	0.65	0.70	0.83	0.94	1	
Inpari 3	0.64	0.68	0.68	0.73	0.78	0.65	0.71	0.68	0.67	0.68	0.71	0.71	0.71	0.76	0.75	0.67	0.73	0.87	0.81	1