

PEMANFAATAN TEKNIK MARKAH MOLEKULER UNTUK PERBAIKAN VARIETAS PADI

Untung Susanto¹, Sutrisno², dan Hajrial Aswidinnoor³

¹Balai Besar Penelitian Tanaman Padi

²Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

³Institut Pertanian Bogor

1. PENDAHULUAN

Pemuliaan tanaman bersama dengan teknik produksi lainnya telah berperan dalam peningkatan produksi pangan dunia. Varietas IR64 yang dilepas pada tahun 1984 merupakan salah satu *mega variety* dan telah banyak dijadikan tetua dalam program pemuliaan; untuk perbaikan sifat ketahanan terhadap hama/penyakit, toleransi terhadap cekaman lingkungan abiotik, dan potensi hasil.

Pemuliaan tanaman menerapkan prinsip-prinsip genetika untuk perbaikan varietas tanaman dalam pengaplikasian disiplin ilmu agronomi, botani, genetika, sitogenetika, genetika molekuler, fisiologi, patologi, entomologi, biokimia, dan statistik. Seiring dengan perkembangan ilmu-ilmu pendukung tersebut, teknik pemuliaan tanaman pun berkembang dan memberikan harapan untuk keberhasilan dan efisiensi yang tinggi.

Salah satu momentum penting dalam penelitian tanaman padi adalah selesainya sekuensing genom tanaman padi, khususnya varietas Nipponbare subspecies Japonika (IRGSP, 2005) dan kultivar 93-11 subspecies Indica (Yu *et al.*, 2002). Data sekuen tersebut dapat diakses oleh publik dan tersedia di beberapa *website*, di antaranya <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, <http://www.gramene.org>, dan <http://www.ebi.ac.uk>. Kemajuan penelitian genomik tanaman padi tersebut memberikan terobosan dalam biologi molekuler, yang pada gilirannya memberikan terobosan pula dalam ilmu pemuliaan tanaman.

Selain sekuensing genom tanaman padi, tonggak penting dalam penelitian padi adalah ditemukannya markah molekuler berbasis DNA, seperti RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), SSR (*simple sequence repeated*), dan SNP (*single nucleotide polymorphism*). Di antara markah molekuler tersebut, SSR banyak dipakai karena sifatnya yang relatif praktis (PCR base), akurat, tingkat *polymorphic*nya tinggi, memungkinkan *multiplex* (pengamatan beberapa markah sekaligus), dan sebarannya merata di seluruh bagian genom padi.

McCouch *et al.* (2002) melaporkan bahwa 2240 SSR markah telah dibangun dan divalidasi pada tanaman padi. Markah-markah tersebut telah digunakan untuk menyusun peta genetik tanaman padi secara detail dan merata di seluruh kromosom.

Peta genetik dan fisik dari sekuensing genom memudahkan pencarian markah molekuler yang secara kuat terpaut dengan suatu sifat yang menjadi target dalam pemuliaan tanaman. Pemanfaatan markah molekuler tersebut dalam seleksi materi pemuliaan tanaman disebut *molecular assisted selection* (MAS). Teknik MAS memiliki kelebihan, antara lain sifatnya yang stabil dan tidak terpengaruh lingkungan. MAS dapat diujikan terhadap tanaman, bahkan pada saat tanaman masih muda, baik tanaman di rumah kaca maupun di lapangan tanpa terpengaruh oleh musim. Beberapa kelebihan tersebut menyebabkan seleksi berdasarkan markah molekuler berpotensi memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan dengan seleksi berdasarkan fenotipe tanaman yang terpengaruh oleh musim, iklim mikro, spesifik organ, dan fase pertumbuhan tanaman.

2. PELAKSANAAN MAS

2.1 Pertimbangan

Pemuliaan tanaman konvensional meliputi seleksi pada generasi bersegregasi mulai dari generasi F2 sampai F5 atau F6, yang secara keseluruhan memerlukan waktu sekitar 5–10 tahun (Allard, 1999). Menurut Witkombe dan Virk (2001), semakin banyak gen atau karakter yang akan digabungkan ke dalam suatu varietas, semakin besar populasi yang diperlukan. Biasanya, materi pemuliaan memerlukan ratusan, ribuan, bahkan hingga puluhan ribu individual tanaman.

MAS berpotensi sebagai terobosan metode pemuliaan yang dapat mengurangi waktu dan biaya pemuliaan tanaman. Meskipun demikian, aplikasi MAS memerlukan beberapa pertimbangan seperti diutarakan oleh Collard dan Mackill (2007) sebagai berikut:

- (1) Markah molekuler harus memiliki pautan yang kuat (*reliable*/dapat dipercaya) dengan karakter target seleksi sehingga tidak terjadi penyimpangan dalam seleksi.
- (2) Markah molekuler yang memerlukan kuantitas dan kualitas DNA yang tinggi sulit diaplikasikan untuk populasi pemuliaan yang memerlukan penanganan DNA secara massal.
- (3) Metode dapat diterapkan secara cepat dan massal.

- (4) Tingkat *polymorphism* yang tinggi memungkinkan markah molekuler untuk diaplikasikan pada populasi pemuliaan dengan latar belakang genetik yang berbeda.
- (5) Aplikasi MAS memerlukan biaya besar, terutama pada awal kegiatan, antara lain : untuk membangun laboratorium dan sarana pendukung lainnya, mencari markah yang terpaut dengan karakter yang ditargetkan, dan biaya operasional MAS itu sendiri. Oleh karena itu, biaya perlu menjadi pertimbangan dalam aplikasi MAS. MAS memberikan kompensasi yang baik untuk menyeleksi karakter-karakter yang memerlukan biaya tinggi dalam pengamatan fenotipe. MAS tidak dianjurkan untuk menyeleksi karakter tanaman yang relatif mudah diamati secara visual atau hanya memerlukan observasi yang sederhana.

Ruane dan Sonnino (2007) menyarankan untuk mempertimbangkan beberapa faktor dalam aplikasi MAS di negara berkembang, antara lain aplikasi bioteknologi lain untuk perbaikan genetik dan isu hak kekayaan intelektual. Biaya dan keuntungan pemakaian MAS semestinya tidak hanya dibandingkan dengan pemuliaan konvensional, tetapi juga dibandingkan dengan penggunaan teknologi baru lain yang potensial untuk memperbaiki genetik komoditas pertanian. Teknologi itu termasuk kultur jaringan, fusi protoplas, dan rekayasa genetik. Hak kekayaan intelektual mungkin juga berdampak pada pengembangan dan pemanfaatan MAS di negara berkembang karena penanda molekul dapat dipatenkan, seperti halnya teknik pemetaan dengan penanda molekul AFLP.

2.2 Proses Identifikasi Markah Molekuler

Identifikasi markah molekuler untuk MAS dapat diupayakan melalui pemetaan QTL, *gene tagging* (penanda gen), dan analisis syntenic. Pemetaan QTL adalah upaya untuk mengidentifikasi lokasi di dalam segmen DNA, apakah terdapat gen yang mengendalikan suatu karakter kuantitatif yang ditargetkan. Karakter-karakter penting dalam tanaman, seperti hasil dan komponen hasil, toleransi cekaman biotik dan abiotik serta karakter agronomi lainnya pada umumnya bersifat kuantitatif sehingga karakter kuantitatif menjadi penting dalam pemuliaan tanaman. Pemetaan QTL memberikan informasi lokasi segmen kromosom yang mengendalikan suatu karakter. Namun sering kali, dugaan lokasi tersebut masih terlalu panjang sehingga diperlukan *fine mapping* untuk mencari lokasinya secara lebih detail beserta dengan markah penandanya. *Fine mapping* dapat dilakukan, misalnya dengan menggunakan populasi *near isogenic lines* (NIL) atau *overlapping substitution lines* (Galur Substitusi Overlap). *Fine mapping* pada taraf yang detail dapat dilanjutkan dengan *DNA sequencing* untuk melakukan *map based cloning* (klonalisasi gen berdasarkan pemetaan) (Mohan *et al.*, 1997).

Gene tagging dapat pula ditentukan dengan teknik *bulk segregant analysis* (BSA). Dalam BSA, DNA di-pool dari individual yang memiliki kesamaan fenotipe. Sebagai contoh, untuk mencari markah molekuler yang terpaut dengan karakter ketahanan terhadap penyakit dalam suatu populasi bersegregasi, dibuat dua *bulk sample* DNA; salah satu *bulk* terdiri atas DNA tanaman-tanaman yang tahan dan *bulk* kedua dari tanaman-tanaman yang peka. Perbedaan (*polymorphism*) suatu markah antara kedua *bulk* diduga terpaut dengan karakter ketahanan penyakit tersebut. BSA semula digunakan untuk karakter kualitatif, tetapi sifatnya yang sederhana dan relatif murah telah mendorong penggunaannya pada karakter kuantitatif (Mackay and Caligari, 2000). Markah terseleksi dari kegiatan BSA dapat dilanjutkan dalam pemetaan QTL, *fine mapping*, dan *gene tagging*.

Adanya synteni dalam *phylogenetic* tanaman memberi peluang penggunaan markah suatu populasi pada populasi lain yang berbeda *phylo-genetik*nya. Hal tersebut bermanfaat pada tanaman yang masih belum banyak diteliti.

2.3 Aplikasi MAS Terhadap Beberapa Karakter Tanaman Padi

Integrasi teknik molekuler dalam kegiatan pemuliaan tanaman menjadi suatu kebutuhan seiring dengan semakin kompleks dan sulitnya ekspresipensis suatu karakter yang menjadi target pemuliaan tanaman. Aplikasi MAS terus meningkat dan diperkirakan akan semakin populer di masa-masa mendatang (Collard and Mackill, 2007).

Salah satu markah yang banyak dipakai dalam MAS adalah SSR. Hal itu disebabkan oleh sifat markah SSR yang relatif praktis, efisien, dan memungkinkan pembuatan beberapa markah sekaligus dalam satu kali reaksi (*multiplexing*). Selain itu, markah SSR juga cenderung bersifat *polymorphic*, markah *co-dominant* (mampu membedakan homosigot dengan heterosigot), multi-allelic serta akurat untuk digunakan pada Indika, Japonika, dan pada grup genom AA lainnya dari genus *Oryza* (McCouch *et al.*, 2002). Informasi mengenai markah SSR tersebut dapat diakses di <http://www.gramene.org>.

Tersedianya peta pautan genetik yang sangat padat (*high dense genetic linkage map*), terutama markah SSR, mempermudah pencarian markah yang terpaut dengan suatu karakter. Penemuan metode sederhana ekstraksi DNA tanaman padi seperti dilaporkan oleh Collard *et al.* (2007) memungkinkan dibuatnya ekstraksi DNA secara massal dengan biaya relatif murah dan peralatan sederhana. Evaluasi terhadap populasi materi pemuliaan tanaman menjadi semakin mudah. Hal tersebut memacu pemanfaatan MAS dalam pemuliaan tanaman padi. Mackill (2007), Collard dan Mackill (2007), dan Ismail *et al.* (2007) melaporkan perkembangan aplikasi MAS dalam pemuliaan tanaman padi. Beberapa contoh penerapan MAS dalam pemuliaan tanaman padi adalah sebagai berikut.

2.3.1 Seleksi Karakter Hasil Gabah dan Heterosis

Hasil merupakan karakter penting dalam pemuliaan tanaman. Namun, rumitnya pewarisan sifat menjadikannya kurang berpeluang dalam penerapan MAS. Gen *Sd1* yang mengendalikan sifat *semidwarf* merupakan mutan *allele GA20* gen *oxidase* (Sasaki *et al.*, 2002). Gen ini menjadi awal revolusi hijau dengan terciptanya varietas *semidwarf* yang memberikan peningkatan terhadap indeks panen. Moderat QTL *rg5* pada kromosom lima varietas Kasalath (Indika) mengendalikan presentasi gabah isi (Takai *et al.*, 2005).

Seperti halnya karakter hasil, heterosis tanaman memiliki kendali genetik yang rumit dan belum terlalu menjanjikan untuk penerapan MAS. Pada hibrida metode tiga galur diperlukan galur CMS (*cytoplasmic male sterile*; galur mandul jantan sitoplamik). Galur CMS memerlukan galur restorer yang membawa gen restorasi kesuburan. Gen restorasi kesuburan tersebut relatif sulit diteliti karena sifatnya baru dapat diketahui pada kesuburan keturunannya. Dalam hal ini, aplikasi MAS akan sangat membantu. Yao *et al.* (1997) melaporkan bahwa gen *Rf1* untuk merestorasi kesuburan CMS tipe Chinsurah Boro II telah berhasil diklon. Persilangan kerabat jauh, yang memungkinkan diperolehnya heterosis dan tetap tingginya jumlah gabah isi pada tanaman hibrida merupakan karakter penting pada tanaman hibrida. Wang *et al.* (2005) melaporkan bahwa beberapa QTL persilangan jauh kultivar Dular telah dipetakan.

2.3.2 Kualitas Hasil dan Kandungan Nutrisi Beras

Kualitas hasil berupa petampakan gabah/beras dan rasa nasi menjadi prioritas dalam pemuliaan tanaman. Hal ini terkait dengan penerimaan konsumen terhadap varietas yang akan dilepas. Kemajuan kondisi sosial dan ekonomi masyarakat berimplikasi terhadap peningkatan tuntutan kualitas hasil dan rasa nasi. Faktor dominan yang menentukan rasa nasi adalah kandungan amilosa. Wang *et al.* (2005) melaporkan bahwa kandungan amilosa dikendalikan oleh lokus *wx* di kromosom 6, yang memungkinkan untuk penerapan seleksi MAS.

Aroma merupakan karakter yang memiliki nilai ekonomi yang potensial. Bradbury *et al.* (2005) melaporkan bahwa markah yang dapat membedakan individu adalah homozygot aromatik, nonaromatik, dan heterozigot nonaromatik. Markah tersebut dibuat berdasarkan sekuan gen *betaine aldehyde dehydrogenase 2* (*BAD2*) di kromosom 8. Sekuan *BAD2* nonaromatik diperoleh dari aksesori nomor AP004463, sedangkan sekuan *BAD2* aromatik diperoleh dari penelitian pendahuluannya. Populasi yang digunakan merupakan hasil persilangan dari latar belakang genetik yang luas sehingga diharapkan reliabilitasnya terhadap genotipe yang berbeda akan tinggi. Markah tersebut diaplikasikan dengan

menggunakan teknik PCR dan dapat diuji pada agarose gel sehingga biaya yang diperlukan relatif murah dan mudah dilakukan. Markah tersebut dibuat berdasarkan sekuen pada gen target sehingga akurasinya tinggi, yang memungkinkan berhasilnya penggunaan MAS.

Padi dengan kandungan besi tinggi menjadi prioritas dalam program pemuliaan untuk mengatasi prevalensi kekurangan zat besi. Diketahui bahwa hampir separuh penduduk dunia mengalami kekurangan zat besi. Penduduk negara-negara berkembang memiliki risiko mengidap penyakit anemia yang lebih tinggi (Welch, 2003). Gregorio *et al.* (2000) dan Htut *et al.* (2001) melaporkan bahwa kandungan besi dalam gabah padi dikendalikan secara kuantitatif dan dipengaruhi oleh oksigen aditif, dominan, dan epistatik serta bervariasi antarpopulasi. Sison *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa *milling* atau *polishing* (proses menghilangkan lapisan *aleurone* agar beras tampak putih bersih) nyata mengurangi kandungan besi, yang sebagian besar terakumulasi di *aleurone*. Virk *et al.* (2006) melaporkan bahwa padi dengan kandungan besi tinggi pada *milled rice* dapat diupayakan dan telah diperoleh beberapa tetua donor potensial. Markah yang terpaut dengan kandungan besi pada beras pun tengah diupayakan. Mengingat pengamatan terhadap kandungan zat besi relatif mahal, diperlukan kehati-hatian yang tinggi dan hanya dapat diamati terhadap hasil panen. Penemuan markah molekuler untuk MAS akan sangat bermanfaat bagi kegiatan pemuliaan tanaman di bidang ini.

Padi dengan kandungan vitamin A tinggi tidak dapat dirakit secara konvensional karena tidak tersedia variasi genetik plasma nutfah padi pada karakter ini. Pendekatan bioteknologi telah digunakan dalam perakitan tanaman padi transgenik yang mengandung gen *phytoene synthase* (*psy*) dan *lycopene β -cyclase* (*β -lcy*), berasal dari tanaman daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) dan *phytoene desaturase* (*crt1*) dari bakteri *Erwinia uredovora*. Penelitian tersebut menghasilkan galur dengan kandungan beta carotene 1,6 μ g/g endosperm kering (Beyer *et al.*, 2002). Paine *et al.* (2005) melaporkan bahwa penggunaan gen *psy* dari jagung memberikan peningkatan 23 lipat dibandingkan dengan hasil konstruksi yang pertama di atas. Markah spesifik gen-gen di atas telah ada dan selanjutnya MAS dapat digunakan untuk memasukkan gen pengendali kandungan beta carotene di atas ke dalam varietas-varietas populer. Golden BR29 telah dirakit di IRRI dan Bangladesh (Datta *et al.*, 2007). IRRI bersama dengan Golden Rice Network merakit varietas padi dengan kandungan beta carotene tinggi ke dalam varietas-varietas populer di Asia (http://www.pdfdownload.org/pdf2html/pdf2html.php?url=http%3A%2F%2Fwww.knowledgebank.irri.org%2Ffactsheets%2FHealth_and_Nutrition%2Ffs_Golden_Rice.pdf&images=yes).

2.3.3 Toleransi Terhadap Cekaman Abiotik

Genangan. Ketahanan terhadap genangan merupakan karakter yang sangat penting pada tanaman padi. Setidaknya 15 juta ha lahan sawah tadah hujan di Asia Selatan dan Tenggara mengalami genangan sehingga pengembangan varietas toleran genangan diharapkan dapat mengatasi kendala tersebut. Toleransi terhadap genangan sedang diteliti sebagai strategi pengendalian gulma, terutama pada padi yang ditanam dengan cara sebar langsung di lahan tergenang. Xu dan Mackill (1996) melaporkan *Sub1* sebagai major QTL pengendali karakter toleran genangan. *Sub1* memberikan kontribusi sebesar 70% terhadap fenotipe toleran genangan. QTL *Sub1* berada di kromosom 9, berasal dari varietas FR13 yang toleran terhadap genangan selama dua minggu. Xu *et al.* (2006) melaporkan adanya tiga gen pengendali toleran genangan pada lokus *Sub1*, yaitu *Sub1A*, *Sub1B*, dan *Sub1C*. Allele *Sub1A-1* diketahui sebagai allele major yang berperan terhadap toleran genangan tersebut. Penelitian mendalam mengenai *Sub1* terus berlangsung dan aplikasi MAS terhadap QTL *Sub1* telah berhasil.

Xu *et al.* (2004) melaporkan bahwa markah SSR RM219 dan RM464A dapat digunakan sebagai penanda karakter toleransi terhadap genangan dan keduanya berada 3,4 dan 0,7 cM (centi Morgan) dari QTL *Sub1*. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa RM219 dapat digunakan sebagai markah seleksi untuk padi Indika, sedangkan RM464A untuk padi Japonika. Neeraja *et al.* (2007) melaporkan bahwa aplikasi MAS untuk memasukkan gen *Sub1* ke dalam varietas Swarna, salah satu mega varietas di India dan Bangladesh, telah berhasil. Populasi yang digunakan adalah *back cross* (silang balik), dan teknik yang digunakan biasa disebut dengan MAB (*molecular assisted back crossing*). RM219, RM464A, dan RM316 digunakan sebagai penanda dalam seleksi awal (*foreground*) untuk mengetahui keberadaan gen *Sub1*. Selanjutnya, markah SSR di kromosom 9 dan kromosom lain diaplikasikan untuk mengetahui konstitusi genetik tiap individu tanaman. Tanaman memiliki latar belakang genetik dari kultivar Swarna, namun membawa gen *Sub1* terseleksi untuk dilanjutkan dalam program silang balik berikutnya. Teknik tersebut berhasil melahirkan Swarna *Sub1*, yaitu varietas Swarna yang memiliki sifat Swarna aslinya, tetapi memiliki gen *Sub1* sehingga memiliki karakter toleran terhadap genangan selama dua minggu. Proses MAB berlangsung selama tiga generasi silang balik atau 2–3 tahun, sementara teknik konvensional memerlukan minimal lima generasi silang balik. QTL *Sub1* tersebut juga disisipkan sebagian ke dalam varietas-varietas populer lain, termasuk IR64. Galur IR64 *Sub1* telah diintroduksi ke Indonesia dan sedang dalam proses uji multilokasi (Sembiring, 2008; komunikasi pribadi).

Salinitas. Toleransi terhadap salinitas (kegaraman) merupakan karakter

yang kompleks dan terkait dengan beragamnya mekanisme toleransi yang ada. Markah molekuler yang terkait dengan toleransi keracunan kegaraman telah banyak ditelusuri dan telah ditemukan banyak markah penanda. Namun, markah-markah tersebut memiliki efek yang tidak terlalu besar. QTL dengan pengaruh relatif besar terhadap toleransi tanaman padi pada salinitas adalah QTL *Saltol* yang berada di kromosom 1. QTL tersebut menjelaskan 43% variasi rasio NA+/K+ di batang padi pada saat *seedling* (Bonilla *et al.*, 2002). QTL tersebut ditemukan dalam populasi RIL (*Recombinant Inbred Lines*), hasil persilangan Pokkali (toleran) dengan IR29 (peka). *Fine mapping* telah berhasil hingga resolusi 1,2 Mb (*Mega base pair*) dan MAS untuk mengintrogresikan QTL tersebut telah diaplikasikan pada beberapa varietas populer (Ismail *et al.*, 2007).

Defisiensi fosfor. *Pup1* yang merupakan QTL mayor di kromosom 12 mampu menjelaskan 80% variasi toleransi terhadap defisiensi fosfor pada populasi untuk *mapping* (Wissuwa, 2002). *Fine mapping* telah dilakukan hingga pada region 2 Mb, bahkan 150 kb (*kilo base pair*). Sekuensing kedua tetua, yaitu Kasalath (toleran) dan Nipponbare (peka) pada region *Pup1* menunjukkan bahwa ukuran lokus *Pup1* pada Nipponbare adalah sekitar 150 kb dan pada Kasalath sekitar 300 kb, dan terdapat banyak transposon, retrotransposon serta model gen yang belum jelas. Beberapa kandidat gen muncul dalam tahap penelitian tersebut (Ismail *et al.*, 2007).

2.3.4 Ketahanan Terhadap Cekaman Biotik

Bacterial blight (BB). *Bacterial blight* atau bakteri hawar daun bakteri merupakan penyakit yang telah banyak diteliti. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* yang terdiri atas berbagai macam ras patogen. Hingga saat ini telah teridentifikasi sekitar 30 gen pengendali ketahanan terhadap berbagai ras bakteri tersebut. Beberapa gen telah diklon dan aplikasi MAS pun telah banyak dilaporkan. Misalnya introgresi dan penumpukan (*pyramiding*) gen *Xa-21*, *xa-13*, dan *xa-5* ke dalam kultivar Samba Mahsuri, varietas populer di India (Sundaram *et al.*, 2008). Markah molekuler gen-gen ketahanan terhadap hawar daun bakteri tersebut disajikan pada Tabel 1.

Pyramiding gen-gen ketahanan terhadap hawar daun bakteri juga telah diintrogresikan ke dalam varietas berlatar belakang Indica, yaitu IR24. Isoline pembawa gen-gen ketahanan tersebut disajikan dalam Tabel 2. Di Indonesia telah dilepas dua varietas yang mengandung gen *xa* dengan menerapkan seleksi menggunakan markah molekuler, yaitu Conde yang memiliki gen *Xa-7* dan Angke memiliki gen *xa-5* (<http://www.litbang.deptan.go.id/varietas/one/13>). Kedua varietas tersebut berlatar belakang genetik IR64.

Penyakit blas. Penyakit blas yang disebabkan oleh *Magnopotea oryzae* merupakan penyakit utama tanaman padi gogo. Penyakit ini dilaporkan juga

Tabel 1. Markah molekuler gen ketahanan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Gen	Marka	Letak pada kromosom
Xa-1	XNpb235, XNpb120	4
Xa-2	Y03700	4
Xa-3	XNpb 181, XNpb186	11
Xa-4	XNpb186, RG53	1
Xa-5	RG556, RZ390, RG207	5
Xa-7	G1091	6
Xa-10	CD0365	11
Xa-13	OPA05900, RG 136	8
Xa-21	RG103	11

Sumber: Gowdia *et al.*, 2003

Tabel 2. Beberapa isoline pembawa gen ketahanan terhadap hawar daun bakteri

Isoline	Xa pyramiding
IRBB2	Xa2
IRBB3	Xa3
RBB4	Xa4
IRBB5	xa5
IRBB7	Xa7
IRBB8	xa8
IRBB10	Xa10
IRBB11	Xa11
IRBB13	xa13
IRBB14	Xa14
IRBB21	Xa21
IRBB51	Xa4+xa13
IRBB52	Xa4+Xa21
IRBB54	xa5+Xa21
IRBB55	xa13+Xa21
IRBB56	Xa4+xa5+xa13
IRBB57	Xa4+xa5+Xa21
IRBB59	xa5+xa13+Xa21
IRBB60	Xa4+xa5+xa13+Xa21
IRBB61	Xa4+xa5+Xa7
IRBB62	Xa4+Xa7+Xa21
IRBB63	xa5+Xa7+xa13
IRBB64	Xa4+xa5+Xa7+Xa21
IRBB65	Xa4+Xa7+xa13+Xa21
IRBB66	Xa4+xa5+Xa7+xa13+Xa21

Sumber: Vera Cruz, 2002

mampu merusak padi sawah. Pemuliaan untuk menghasilkan varietas tahan penyakit blas relatif sulit karena ketahanan varietas cepat terpatahkan. Sampai saat ini telah teridentifikasi sekitar 40 gen pengendali ketahanan terhadap penyakit blas, di antaranya disajikan dalam Tabel 3.

Wereng cokelat. Wereng cokelat (*Nilaparvata lugens* Stall) merupakan hama utama tanaman padi dan telah menjadi prioritas dalam program pemuliaan tanaman. Sampai saat ini telah teridentifikasi sekitar 20 gen pengendali ketahanan terhadap hama wereng cokelat, di antaranya ditampilkan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Markah molekuler gen ketahanan terhadap penyakit blas

Gen	Marka	Letak pada kromosom
Pi-1	RZ536, RG303, NpB181	11
Pi-2	RG64, XNpb294	6
Pi-4	RG869, XNpb289, RZ397	12
Pi-5	RG498, RG788	4
Pi-7	RG16, RG103A	11
Pi35	RM5647	8
Pi39	RM247, RM463	12

Sumber: dimodifikasi dari Gowdia *et al.*, 2003

Tabel 4. Markah molekuler gen ketahanan terhadap hama wereng coklat

Gen	Marka	Letak pada kromosom
BPH-2	RG463, RG901, CD0344	12
Bph(t)	RG457	12
Bph18(t)	RM463	12
Bph19(t)	RM6308, RM3134	3

Sumber: dimodifikasi dari Gowdia *et al.*, 2003

3. PROSPEK KE DEPAN

Pemetaan QTL secara rinci dan lengkap telah dibuat oleh lembaga penelitian nasional maupun internasional, meliputi gen lokus pengendali berbagai macam karakter dan dalam berbagai latar belakang genetik. Kelengkapan informasi sekuen tanaman padi, basis data markah molekuler, *software* yang mendukung, dan teknik bioinformatika yang sangat maju mempermudah penemuan gen, fungsi gen, dan markah molekuler yang terkait dengan suatu gen.

Dewasa ini telah ditemukan metode ekstraksi DNA yang relatif sederhana, murah, dan dapat diaplikasikan secara massal untuk populasi yang besar sehingga peluang aplikasi MAS dalam pemuliaan tanaman semakin besar. Sementara itu, pemuliaan tanaman padi dihadapan dengan karakter yang memerlukan pengamatan fenotipe yang lebih sulit. Varietas unggul yang ada saat ini relatif seragam sehingga sifat fenotipik semakin sulit diseleksi. Pengukuran kandungan nutrisi pada tanaman padi, misalnya, memerlukan biaya tinggi dan penanganan yang ekstra hati-hati. *Pyramiding* gen ketahanan terhadap suatu hama atau penyakit sulit diwujudkan karena reaksi yang sering kali sama antara gen-gen ketahanan tersebut terhadap ras penyakit atau biotipe hama. Daya gabung dan kemampuan restorasi CMS relatif lama karena hanya dapat diamati pada fenotipe keturunannya. Teknik MAS terhadap beberapa karakter pada tanaman padi telah berhasil diaplikasikan. Hal tersebut mengindikasikan aplikasi markah molekuler akan terus berkembang di masa depan. Keunggulan teknik MAS, selain akurasi seleksi gen yang tinggi, juga tidak memerlukan banyak tanaman.

Pemulia tanaman sewajarnya memiliki wawasan dan kemampuan dalam teknik molekuler agar dapat mengambil keuntungan dari teknik MAS tersebut.

Kerja sama diperlukan, baik di tingkat nasional maupun internasional, guna menyinergikan kemampuan dan potensi yang ada untuk menghadapi tantangan yang semakin besar dalam pemuliaan tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Allard, RW. 1999. *Principles of plant breeding*, 2nd ed. New York.
- Beyer, P., et al. 2002. "Golden Rice: Introducing the β -carotene Biosynthesis Pathway Into Rice Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency". Symposium Plant Breeding New Tool for Fighting Micronutrient Malnutrition. American Society for Nutrition Science.
- Bonilla, P., et al. 2002. "RLFP and SSLP Mapping of Salinity Tolerance Genes in Chromosome 1 of Rice (*Oryza Sativa* L.) Using Recombinant Inbred Lines". *Philipp. Agric. Sci.*, 85: 68–76.
- Bradbury, L.M.T., et al. 2005. "A Perfect Marka for Fragrance Genotyping in Rice". *Mol. Breed.*, 16: 279–283.
- Collard, B.C.Y., et al. 2007. "Evaluation of "Quick and Dirty" DNA Extraction Methods for Marka-Assisted Selection in Rice (*Oryza sativa* L.)". *Plant Breeding*, 126: 47–50.
- Collard, B.C.Y. and D.J. Mackill. 2007. "Marka-Assisted Selection: an Approach for Precision Plant Breeding in the Twenty-First Century". *Phil. Trans. R.Soc. B.*, 363: 557–572.
- Datta, SK., et al. 2007. "Golden Rice: Introgression, Breeding, and Field Evaluation". *Euphytica*, 154: 271–278.
- Gowda, M., et al. 2003. "Advance in Rice Breeding, Genetics, and Genomics". *Molecular Breeding*, 11: 337–352.
- Gregorio, G.B., et al. 2000. "Breeding for Trace Mineral Density in Rice". *Food and Nutrition Bulletin*, 21 (4): 382–386.
- Gregorio, G.B. 2001. "Genetic Grain Iron Density in Rice (*Oryza sativa* L) Generation Mean Analysis". In M. Taung (Ed.). *Proceeding of the Second Agricultural Research Confrence*. Pyinmana, January, 13–14, 2001. Myanmar: Yezin Agricultural University. Myanmar. p. 38–48.
- Ismail, A.M., et al. 2007. "Genetic and Genomic Approaches to Develop Rice Germplasm for Problem Soils". *Plant. Mol. Biol.*, 65: 547–570.
- Jones, N., et al. 1997. "Marka and Mapping: We are All Geneticists Now". *New Phytol.*, 137: 165–177.
- Liu, B.H. 1997. *Statistical Genomics Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. Florida: CRC Press.
- Mackay, I.J. and P.D.S. Caligari. 2000. "Efficiencies of F2 and Backcross Generations or Bulked Begregant Analysis Using Dominant Markas". *Crop Sci.*, 40: 626–630.

- McCouch, S.R., *et al.* 2002. "Development and Mapping of 2240 New SSR Markas for Rice (*Oryza sativa* L.)". *DNA Res.*, 9: 199–207.
- Mohan, M., *et al.* 1997. "Genome Mapping, Molecular Markas and Marka-Assisted Selection in Crop Plants". *Molecular Breeding*, 3: 87–103.
- Paine, J.A., *et al.* 2005. "Improving the Nutritional Value of Golden Rice Through Increased Pro-Vitamin A Content". *Natiotechnol*, 23: 482–487.
- RGSP. 2005. "The Map-Based Sekuan of the Rice Genome". *Nature*, 436: 793–800.
- Ruan, E.J. and A. Sonnino. 2007. "Marker-Assisted Selection as a Tool for Genetic Improvement of Crops, Livestock, Forestry and Fish in Developing Countries : an Overview of the Issues". E.P. Guimaraes *et al.* (Ed.), "Marker-Assisted Selection: Current Status and Future Perspectives In Crops, Livestock, Forestry and Fish". *FAO*. 471 p.
- Schlegel, R.H.J. 2003. *Dictionary of Plant Breeding*. New York : Food Products Press, the Haworth Reference Press.
- Sison, MEGQ, *et al.* 2006. "The Effect of Different Milling Times on Grain Iron Content and Grain Physical Parameters Associated with Milling of Eight Genotypes of Rice (*Oryza sativa* L.)". *Philippines Journal of Science*, 135 (1): 9–17.
- Susanto, U., dkk. 2003. "Perkembangan Pemuliaan Padi Sawah di Indonesia". *Jurnal Litbang Pertanian*, 22(3): 125–131.
- Takai T., *et al.* 2005. "Time-Related Mapping of Quantitative Trait Loci Controlling Grain-Filling in Rice (*Oryza sativa* L.)". *J Exp. Bot.*, 56: 2107–2118.
- Vera Cruz, C.M. 2002. "Breeding for Resistant to Disease". *Rice Breeding Course*. Philippines: IRRI.
- Virk, P.S., *et al.* 2006. "Genetic Enhancement for the Nutritional Quality of Rice". J.K. Ladha, *et al.* (Ed.), *Proceedings of the Second International Rice Congress*, 9–13 October 2006, New Delhi, India.
- Wang, G.W., *et al.* 2005. "Identification and Confirmation of Three Neutral Alleles Conferring Wide Compatibility in Inter-Subspecific Hybrids of Rice (*Oryza sativa* L.) Using Near-Isogenic Lines". *Theor. Appl. Genet.*, 111: 702–710.
- Welch, R.M. 2003. "Breeding for Micronutrient Density in Staple Food Crops". *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 134 S1–S237.
- Xu, K. and D.J. Mackill. 1996. "A Major Locus for Submergence Tolerance Mapped on Rice Chromosome 9". *Mol. Breed.*, 2, 219–224.
- Xu, K., *et al.* 2004. "A Microsatellite Marka and a Codominant PCR-Based Marka for Marka-Assisted Selection of Submergence Tolerance in Rice". *Crop Sci.* 44: 248–253.

- Xu K., et al. 2006. *Sub1 A is an Ethylene-Response-Factor-Like Gene that Confers Submergence Tolerance to Rice*.
- Yao F.Y., et al. 1997. "Mapping and Genetic Analysis of Two Fertility Restorer Loci in the Wild-Abortive Cytoplasmic Male Sterility System of Rice (*Oryza sativa* L.)". *Euphytica*, 98: 183–187.
- Yu, J., et al. 2002. "A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp *Indica*)". *Science*, 296: 79–92.