

**KARAKTERISASI MOLEKULER MATERI GENETIK PADI LOKAL
(*ORYZA SATIVA* L.) ASAL NTB DAN YOGYAKARTA MENGGUNAKAN
PENANDA MIKROSATELIT**

***MOLECULAR CHARACTERIZATION OF LOCAL RICE (*ORYZA SATIVA*
L.) GERMPLASMS ORIGINATED FROM NTB AND YOGYAKARTA BY
USING MICROSATELLITE MARKERS***

Kristianto Nugroho, Mastur, dan Puji Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Pertanian Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111,
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820;
Email: nugrohoxkristianto@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to do a molecular characterisation of local rice germplasms from NTB (West Nusa Tenggara) and Yogyakarta by using microsatellite profile. The research was conducted in ICABIOGRAD Molecular Biology Laboratory from August to September 2017. There were 18 rice varieties that were amplified by using 10 microsatellite markers based on references. The amplicon band were scored as binary data and were analyzed using NTSYS and PowerMarker. The results showed that as many as 52 alleles were detected in this study. The average number of alleles was 5.2 with a range of 2-9 alleles per locus. The main allele frequency ranged from 22% (RM144) to 67% (RM259) with an average of 42%. The value of PIC ranged from 0.33 (RM105) to 0.85 (RM248) with an average of 0.65. The genetic relationship showed that 18 local varieties separate into two clusters in the similarity coefficient of 0.62. Most of local varieties were grouped in the second cluster including all new improved varieties, in contrast to the first cluster which consisted of few varieties. Importantly, all local varieties from NTB and Yogyakarta were distinctive in the generated two clusters. The local rice from Yogyakarta was closer to the new improved varieties than those from NTB. The information of genetic relationship and diversity is important to support the preservation according to their geographical origin and to determine potential crossing parents to accelerate rice breeding program in Indonesia.

Keywords: local rice, molecular characterisation, microsatellite

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan karakterisasi molekuler materi genetik padi lokal asal NTB dan Yogyakarta menggunakan penanda mikrosatelit. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus hingga September 2017 di Laboratorium Biologi Molekuler BB Biogen. Sebanyak 18 varietas padi diamplifikasi menggunakan sepuluh pasang marka mikrosatelit yang berasal dari beberapa referensi. Pita ampikon selanjutnya diskor sebagai data biner dan dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSYS dan PowerMarker. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 52 alel berhasil dideteksi pada 18 varietas padi pada penelitian ini. Rata-rata jumlah alel yang dihasilkan sebesar 5,2 dengan rentang 2-9 alel per lokus. Frekuensi alel utama yang diperoleh pada penelitian ini berkisar dari 22% (RM144) hingga 67% (RM259) dengan rata-rata sebesar 42%. Nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) berkisar dari 0,33 (RM105) hingga 0,85 (RM248) dengan rata-rata sebesar 0,65. Analisis kekerabatan menunjukkan bahwa 18 varietas padi pada penelitian ini memisah menjadi dua klaster utama pada koefisien kesamaan genetik 0,62. Sebagian besar varietas padi lokal mengelompok pada klaster kedua bersama varietas unggul baru, sementara varietas lokal asal NTB dan Yogyakarta masing-masing berada pada klaster yang terpisah. Selain itu varietas lokal asal Yogyakarta memiliki jarak genetik yang lebih dekat dengan varietas unggul baru dibanding varietas asal NTB. Informasi mengenai hubungan kekerabatan yang diperoleh pada penelitian ini sangatlah penting dalam mendukung pelestarian plasma nutfah padi lokal serta dapat dimanfaatkan dalam menentukan varietas potensial yang dapat dikembangkan ke depannya dalam mendukung program percepatan pemuliaan tanaman padi di Indonesia.

Kata kunci: padi lokal, karakterisasi molekuler, mikrosatelit

PENDAHULUAN

Varietas padi lokal merupakan jenis padi yang telah dibudidayakan sejak lama oleh masyarakat di suatu daerah secara turun temurun dan telah beradaptasi dengan suatu agroekosistem tertentu (Sitaresmi *et al.*, 2013). Varietas padi lokal selain dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan pokok yang dipengaruhi kultur setempat juga dapat dijadikan sebagai sumber keragaman genetik dalam merakit varietas unggul baru (Anhar, 2013). Menurut Supriyanti *et al.* (2015) saat ini keragaman genetik varietas padi lokal semakin menurun akibat kehadiran varietas-varietas unggul baru. Karena itulah keragaman genetik varietas padi lokal harus terus dijaga dan tetap dapat dimanfaatkan dalam pengembangan varietas baru.

Selama ini varietas padi lokal belum maksimal dimanfaatkan sebagai tetua persilangan karena para pemulia lebih menyukai penggunaan varietas unggul

sebagai tetua, padahal varietas padi lokal dapat menjadi sumber gen ketahanan terhadap hama penyakit serta cekaman abiotik (Sitaresmi *et al.*, 2008). Penjagaan keragaman genetik padi lokal perlu dilakukan agar plasma nutfah padi lokal tidak tergerus oleh kehadiran varietas-varietas unggul baru (Silitonga, 2004). Upaya yang dapat dilakukan dalam menjaga keragaman genetik padi lokal yaitu melalui pengumpulan materi genetik padi lokal dan karakterisasi dari materi genetik tersebut (Supriyanti *et al.*, 2015).

Karakterisasi merupakan kegiatan pencarian ciri khusus yang dapat digunakan untuk membedakan antar individu dalam satu spesies tanaman (Rembang dan Sondakh, 2015). Menurut Varshney *et al.* (2005), karakterisasi materi genetik pada populasi alami maupun di antara galur-galur elit hasil pemuliaan sangatlah penting dalam mendukung pemuliaan berdaya hasil tinggi sehingga produksi pangan meningkat. Karakterisasi materi genetik juga bermanfaat untuk mencegah terjadinya duplikasi pada koleksi yang dimiliki (Damayanti dan Roostika, 2010). Menurut Susanto *et al.* (2015), data karakteristik suatu varietas secara lengkap sangat berguna untuk memastikan keaslian suatu varietas yang benihnya diperjualbelikan, sehingga dapat melindungi hak atas kekayaan intelektual suatu varietas. Menurut Izzah (2014) karakterisasi materi genetik tanaman dapat dilakukan berdasarkan sifat morfologi, biokimia, maupun molekuler

Sebelumnya penelitian mengenai karakterisasi morfologi padi lokal asal NTB dan Yogyakarta telah dilakukan oleh Sumarjan (2001) dan Supriyanti *et al.* (2015), namun menurut Agisimanto dan Supriyanto (2007) data karakterisasi morfologi perlu dilengkapi data karakterisasi molekuler karena tingkat keakuratan lebih tinggi dan tidak dipengaruhi faktor lingkungan. Selain itu kelebihan lain karakterisasi molekuler yaitu mampu membedakan aksesori-aksesori dengan nama yang berbeda namun secara genetik sama (Septiningsih *et al.*, 2004). Penanda molekuler berbasis PCR menjadi “tool” yang ampuh dalam karakterisasi molekuler di berbagai spesies tanaman termasuk padi.

Saat ini mikrosatelit telah berkembang menjadi salah satu penanda molekuler yang banyak diaplikasikan dalam karakterisasi tanaman. Mikrosatelit merupakan sikuen DNA pendek berulang secara tandem dengan panjang kurang dari 6 pasang basa (Bhatia *et al.*, 2017). Kelebihan dari penanda ini adalah jumlahnya yang melimpah pada genom tanaman, bersifat kodominan, tingginya tingkat polimorfisme, serta aplikasinya yang mudah melalui teknik PCR (Kalia *et al.*, 2011). Karena kelebihanannya, penanda ini banyak diaplikasikan pada kegiatan pemetaan genetik, analisis keragaman genetik, pemuliaan berbantu marka, serta studi evolusi pada tanaman (Varshney *et al.*, 2005).

Penelitian mengenai pemanfaatan penanda mikrosatelit dalam kegiatan karakterisasi padi lokal telah banyak dilakukan. Di BB Biogen kegiatan karakterisasi molekuler padi lokal dengan memanfaatkan penanda mikrosatelit telah lama dilakukan (Thomson *et al.*, 2007; Sutoro *et al.*, 2015; Fatimah *et al.*,

2016; Nugroho *et al.*, 2017) dan hingga kini masih terus diupayakan. Saat ini koleksi varietas lokal padi di Indonesia perlu dikarakterisasi profil molekulernya untuk keperluan mengidentifikasi keragaman genetiknya sekaligus mendukung percepatan pemuliaan padi sesuai karakter agronomi penting yang diinginkan. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan karakterisasi molekuler pada materi genetik varietas padi lokal asal NTB dan Yogyakarta menggunakan penanda mikrosatelit sehingga dapat diperoleh informasi mengenai hubungan kekerabatan dan keragaman genetiknya.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus hingga September 2017 di Laboratorium Biologi Molekuler, BB Biogen, Bogor

Materi Genetik

Sebanyak 18 varietas padi digunakan dalam penelitian ini. Materi genetik padi tersebut terdiri atas empat varietas padi lokal asal Nusa Tenggara Barat (NTB), sepuluh varietas padi lokal asal Yogyakarta, dan empat varietas unggul baru (VUB) (Tabel 1).

Ekstraksi DNA

DNA diekstraksi menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sebanyak tiga butir benih padi yang telah dikupas kulitnya digerus pada mortar steril menggunakan 1 ml buffer ekstraksi (100 mM Tris-HCl pH 8,0, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8,0, 2% (w/v) CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*), 2% (w/v) PVP (*Polyvinylpyrrolidone*), dan 0,38% (w/v) natrium disulfid). Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 65°C selama 15 menit sambil dibolak-balik setiap 5 menit. Sampel diekstrak dua kali menggunakan larutan kloroform : isoamil alkohol (24 :1) lalu dipresipitasi menggunakan 3 M natrium asetat dan isopropanol. Pelet DNA yang terbentuk lalu dicuci dengan larutan 70% etanol dan dikeringkan menggunakan alat *SpeedVac Concentrator* (Thermo Scientific, USA) untuk menghilangkan sisa-sisa etanol. Pelet yang telah kering dilarutkan dalam 100 µl larutan TE (10 mM Tris pH 8,0 dan 1 mM EDTA) yang ditambah RNase A (10 mg/ml) diikuti inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam.

Amplifikasi DNA

Terdapat sepuluh pasang penanda mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini yang berasal dari beberapa referensi (Tabel 2). Setiap sampel

diamplifikasi pada total reaksi 10 µl mengandung 20 ng DNA *template* sebanyak 2 µl; Kapa2G Fast ReadyMix (Kapa Biosystems, USA) sebanyak 5 µl; primer *Forward* dan *Reverse* dengan konsentrasi 10 µM masing-masing sebanyak 0,5 µl, dan ddH₂O steril. Reaksi PCR dilakukan dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Germany) dengan profil PCR yang telah digunakan sebagai berikut: denaturasi awal dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti oleh sebanyak 35 siklus proses denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* (tahap penempelan primer) pada suhu 55°C selama 1 menit, dan *elongation* (tahap perpanjangan basa) pada suhu 72°C selama 1 menit. Reaksi PCR diakhiri dengan siklus *final extension* (tahap akhir perpanjangan basa) pada suhu 60°C selama 15 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan gel poliakrilamid 8% pada tangki berisi buffer 1x TBE (*Tris Borate EDTA*), dengan tegangan 90 volt selama 115 menit. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan ethidium bromida lalu divisualisasi pada alat *UV Transilluminator* (Biorad, USA).

Analisis Data

Setiap pita amplikon yang terlihat pada gel diasumsikan sebagai satu alel. Pita-pita amplikon yang memiliki laju pergerakan yang sama dianggap sebagai lokus yang sama. Pita yang terlihat diberi skor 1, pita yang tidak terlihat diberi skor 0, sedangkan sampel yang tidak menghasilkan amplikon diberi skor 9 dan dianggap sebagai data yang hilang. Hasil dari skoring berupa data biner. Untuk mempermudah penentuan posisi pita, digunakan perangkat lunak *Gel Analyzer* (Lazar, 2010). Data hasil skor kemudian dianalisis menggunakan program *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN)-UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1. (Rohlf, 2000). Hasil analisis ditampilkan dalam bentuk fenogram dan matriks kesamaan genetik antarvarietas. Keragaman genetik antarkelompok berdasarkan wilayah asal juga diestimasi berdasarkan jarak genetik Nei menggunakan perangkat lunak GENALEX 6.5 (Peakall and Smouse, 2012). Selain itu analisis statistik juga dilakukan menggunakan perangkat lunak PowerMarker 3.25 (Liu and Muse, 2005) untuk mengetahui nilai frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan PIC (*Polymorphic Information Content*) dari penanda mikrosatelit yang digunakan.

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

No.	Nama Varietas	Asal Daerah	Keterangan
1.	Padi Nanas	NTB	Varietas Lokal
2.	Padi Jarak	NTB	Varietas Lokal
3.	Padi Putek	NTB	Varietas Lokal
4.	Reket Bideng	NTB	Varietas Lokal

No.	Nama Varietas	Asal Daerah	Keterangan
5.	Sembada Merah	Yogyakarta	Varietas Lokal
6.	Sembada Hitam	Yogyakarta	Varietas Lokal
7.	Mentik Susu	Yogyakarta	Varietas Lokal
8.	Lestari	Yogyakarta	Varietas Lokal
9.	Menur	Yogyakarta	Varietas Lokal
10.	Ho-ing Batang Biru	Yogyakarta	Varietas Lokal
11.	Pandan Wangi	Yogyakarta	Varietas Lokal
12.	Merapi	Yogyakarta	Varietas Lokal
13.	Kenanga	Yogyakarta	Varietas Lokal
14.	Rening	Yogyakarta	Varietas Lokal
15.	Inpari 22		VUB
16.	Inpari 30		VUB
17.	Inpari 31		VUB
18.	Inpari 32		VUB

Tabel 2. Daftar sepuluh penanda mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini

No.	Nama Primer	Sikuen Primer (5' - 3')	Posisi Kromosom	Motif Pengulangan	Referensi
1.	RM 60	F: AGTCCCATGTTCCACTTCCG R: ATGGCTACTGCCTGTACTAC	3	(AATT)5AATCT (AAT)	Chen <i>et al.</i> (1997)
2.	RM 105	F: GTCGTCGACCCATCGAGCCAC R: TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	9	(CCT)6	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
3.	RM 124	F: ATCGTCTGCGTTGCGGCTGCTG R: CATGGATCACCGAGCTCCCCC	4	(TC)10	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
4.	RM 144	F: TGCCCTGGCGCAAATTTGATCC R: GCTAGAGGAGATCAGATGGTA GTGCATG	11	(ATT)11	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
5.	RM 223	F: GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC R: GAAGGCAAGTCTTGGCACTG	8	(CT)25	Chen <i>et al.</i> (1997)
6.	RM 248	F: TCCTTGTAATCTGGTCCC R: GTAGCCTAGCATGGTGCATG	7	(CT)25	Chen <i>et al.</i> (1997)
7.	RM 259	F: TGGAGTTTGAGAGGAGGG R: CTTGTTGCATGGTGCCATGT	1	(CT)17	Chen <i>et al.</i> (1997)

No.	Nama Primer	Sikuen Primer (5'- 3')	Posisi Kromosom	Motif Pengulangan	Referensi
8.	RM 474	F: AAGATGTACGGGTGGCATTC R: AAGATGTACGGGTGGCATTC	10	(AT)13	Temnykh <i>et al.</i> (2001)
9.	RM 518	F: CTCTTCACTCACTCACCATGG R: ATCCATCTGGAGCAAGCAAC	4	(TC)15	Temnykh <i>et al.</i> (2001)
10.	RM 541	F: TATAACCGACCTCAGTGCCC R: CCTTACTCCCATGCCATGAG	6	(TC)16	Temnykh <i>et al.</i> (2001)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Polimorfisme Penanda Mikrosatelit

Seluruh penanda mikrosatelit yang digunakan pada penelitian ini mampu menghasilkan pita amplikon polimorfik yang dapat diskor dan dianalisis lebih lanjut seperti ditampilkan pada Gambar 1. Sebanyak 52 alel berhasil dideteksi pada penelitian ini dengan menggunakan sepuluh penanda mikrosatelit. Rata-rata jumlah alel yang dihasilkan sebanyak 5,2 dengan rentang 2-9 alel per lokus. Jumlah alel yang diperoleh pada penelitian ini lebih banyak dibanding hasil penelitian Kristantini *et al.* (2014) yang memperoleh 26 alel pada penelitian mengenai keragaman sebelas varietas beras hitam menggunakan empat penanda mikrosatelit, namun jumlah alel pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan penelitian Nugroho *et al.* (2017) yang berhasil memperoleh 86 alel menggunakan 15 penanda mikrosatelit pada 24 varietas padi. Menurut Sugiantari *et al.* (2015) perbedaan jumlah alel yang dihasilkan disebabkan oleh perbedaan jumlah sampel dan penanda yang digunakan. Selain itu menurut Solin *et al.* (2013) tingkat keragaman genetik sampel juga turut mempengaruhi perbedaan jumlah alel yang diperoleh. Semakin banyak jumlah alel yang diperoleh menunjukkan semakin tingginya keragaman genetik dari sampel yang digunakan (Tasma, 2016).

Frekuensi alel utama yang diperoleh pada penelitian ini berkisar dari 22% (RM144) hingga 67% (RM259). Frekuensi alel utama menunjukkan tingkat keseringan suatu alel untuk ditemukan pada sampel yang digunakan (Nur *et al.*, 2017). Menurut Pabendon *et al.* (2007) dalam Nur *et al.* (2017), nilai frekuensi alel <95% menunjukkan bahwa penanda yang digunakan bersifat polimorfik. Rata-rata frekuensi alel utama pada penelitian ini sebesar 42% yang menunjukkan bahwa penanda ini bersifat polimorfik pada varietas padi yang diobservasi.

Nilai diversitas gen atau heterozigositas yang diharapkan (H_e), yang menggambarkan besarnya keragaman dalam suatu populasi (Juansa *et al.*, 2013) berkisar dari 0,51 (RM259) hingga 0,87 (RM248) dengan rata-rata 0,69. Nilai heterozigositas yang diharapkan pada penelitian ini lebih besar dibandingkan nilai heterozigositas yang diamati, mirip dengan hasil penelitian Sugiantari *et al.*

(2015). Nilai heterozigositas yang diamati (H_o) pada penelitian ini berkisar dari 0,66 hingga 1 dan nilai tersebut hanya terdeteksi pada tiga lokus saja yaitu lokus RM474, RM518, dan RM541, sementara ketujuh lokus lainnya menunjukkan nilai heterozigositas 0. Menurut Mulliadi dan Arifin (2010), nilai heterozigositas yang diamati bernilai 0 menunjukkan bahwa sampel-sampel yang digunakan memiliki hubungan genetik yang sangat dekat sedangkan heterozigositas bernilai 1 menunjukkan sampel yang digunakan memiliki hubungan genetik yang jauh.

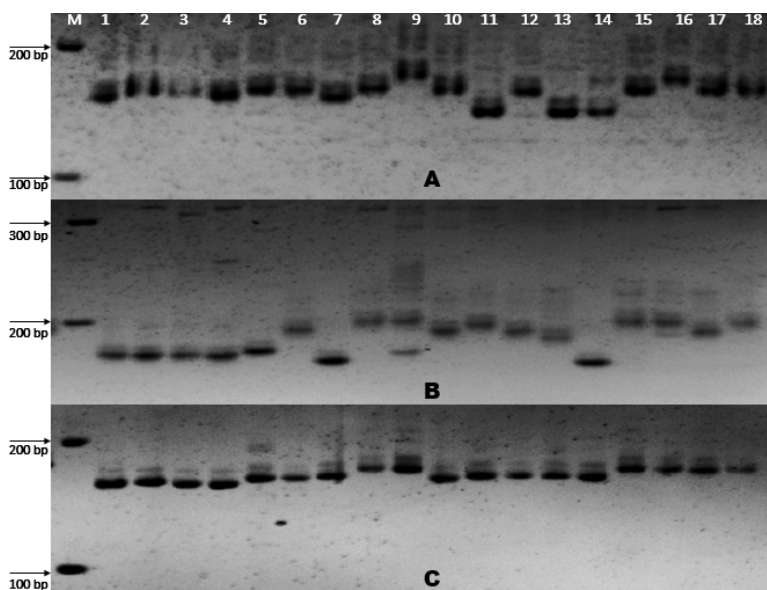
Rendahnya heterozigositas di antara varietas padi yang digunakan pada penelitian ini diduga karena tanaman padi bersifat menyerbuk sendiri dan persentase menyerbuk silangnya kurang dari 5% (Syukur *et al.*, 2012) sehingga peluang terjadinya homozigositas lebih tinggi. Selain itu praktik budidaya di kalangan petani yang cenderung menggunakan satu varietas unggul saja secara terus menerus turut mempengaruhi rendahnya keragaman genetik pada tanaman padi (Sumarno, 2006). Menurut Hartati *et al.* (2009) rendahnya nilai heterozigositas menjadi pertanda terjadinya *inbreeding*. Bila fenomena *inbreeding* dibiarkan terus menerus terjadi akan mempebesar peluang munculnya individu homozigot yang akan menyebabkan suatu populasi semakin rentan terhadap perubahan lingkungan serta serangan hama dan penyakit (Wigati *et al.*, 2003).

Nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) yang menunjukkan tingkat polimorfisme dari penanda yang digunakan, berkisar dari 0,33 (RM105) hingga 0,85 (RM248) dengan rata-rata sebesar 0,65. Menurut Hildebrand *et al* (1992), penanda dengan nilai $PIC > 0,7$ merupakan penanda yang sangat informatif. Pada penelitian ini terdapat empat penanda dengan nilai $PIC > 0,7$ yaitu RM60, RM144, RM248, dan RM518. Keempat penanda tersebut ke depannya dapat bermanfaat untuk kegiatan karakterisasi molekuler varietas-varietas padi lokal di Indonesia (Tabel 3).

Tabel 3. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme (*Polymorphism Information Content*, PIC) yang dihasilkan dari 18 varietas padi pada penelitian ini

Primer	Jumlah alel	Rentang Ukuran Alel (bp)	Frekuensi alel utama	Diversitas Gen (H_e)	Heterozigositas (H_o)	PIC
RM60	2	158-166	0,28	0,83	0	0,81
RM105	5	118-141	0,71	0,42	0	0,33
RM124	5	234-269	0,50	0,69	0	0,65
RM144	8	230-267	0,22	0,83	0	0,81
RM223	5	136-169	0,44	0,64	0	0,57
RM248	4	185-202	0,24	0,87	0	0,85
RM259	4	145-167	0,67	0,51	0	0,47

Primer	Jumlah alel	Rentang Ukuran Alel (bp)	Frekuensi alel utama	Diversitas Gen (He)	Heterozigositas (Ho)	PIC
RM474	9	226-379	0,36	0,70	0,06	0,64
RM518	3	153-169	0,36	0,75	1	0,71
RM541	7	151-192	0,44	0,70	0,06	0,65
Jumlah	52					
Rata-rata	5,2		0,42	0,69	0,11	0,65



Gambar 1. Hasil elektroforesis pada gel poliakrilamid 8% menggunakan penanda (A). RM223, (B). RM248, dan (C). RM518. Keterangan: M: DNA ladder 100bp, 1: Padi Jarak, 2: Padi Nanas, 3: Reket Bideng, 4: Padi Putek, 5: Menur, 6: Ho-ing Batang Biru, 7: Sembada Hitam, 8: Lestari, 9: Sembada Merah, 10: Kenanga, 11: Merapi, 12: Rening, 13: Pandan Wangi, 14: Mentik Susu, 15: Inpari 31, 16: Inpari 32, 17: Inpari 22, 18: Inpari 30.

Keragaman Genetik Antarvarietas

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa kedelapan belas varietas padi pada penelitian ini mengelompok menjadi dua kluster utama pada koefisien kesamaan 0,62 (Gambar 2). Kluster pertama terdiri atas empat varietas padi yang seluruhnya berasal dari NTB sedangkan kluster kedua berisi varietas padi asal Yogyakarta beserta varietas unggul baru (VUB). Selanjutnya kluster pertama terbagi kembali

menjadi dua subklaster yaitu subklaster IA dan subklaster IB. Pada subklaster IA terdapat varietas padi jarak dan padi nanas yang memiliki kesamaan genetik tinggi sebesar 92% sedangkan varietas Reket Bideng dan Padi Putek mengelompok pada subklaster IB dengan nilai kesamaan genetik sebesar 86% (Tabel 6).

Klaster kedua juga terbagi menjadi dua subklaster yaitu subklaster IIA dan IIB. Sebanyak 12 varietas mengelompok pada subklaster IIA sedangkan subklaster IIB hanya terdiri atas dua varietas yaitu Sembada Merah dan Inpari 32. Pada subklaster IIA terdapat dua varietas dengan kesamaan genetik yang tinggi yaitu varietas Ho-ing Batang Biru dan varietas Kenanga dengan nilai kesamaan genetik sebesar 92% (Tabel 6). Pada subklaster IIA, varietas Lestari merupakan varietas lokal dengan jarak genetik terdekat dengan VUB (Inpari 22, 30, dan 31). Menurut matriks kesamaan genetik, varietas Lestari memiliki kesamaan genetik paling tinggi dengan varietas Inpari 31 yaitu sebesar 85%. Inpari 31 merupakan varietas unggul yang dilepas BB Padi tahun 2013 dengan potensi hasil 8,42 ton/ha yang memiliki ketahanan terhadap wereng batang coklat biotipe 1, 2, dan 3; hawar daun bakteri patotipe III; serta tahan terhadap blas Ras 033 (Wahab *et al.*, 2017). Tingginya kesamaan genetik dengan varietas Inpari 31 mengimplikasikan bahwa varietas Lestari perlu dikarakterisasi sifat morfo-agronominya yang mungkin potensial untuk dikembangkan ke depannya sebagai VUB atau sumber tetua persilangan.

Selain Lestari, varietas lokal Sembada Merah pada subklaster IIB juga memiliki kedekatan secara genetik dengan varietas unggul Inpari 32 (Gambar 2). Kedua varietas tersebut memiliki kesamaan genetik sebesar 81% (Tabel 6). Sembada merah merupakan varietas lokal asal Sleman Yogyakarta yang berasnya mengandung pigmen antosianin yang selain berfungsi sebagai antioksidan juga menjadi sumber vitamin B (BPTP Yogyakarta, 2017). Peluang pengembangan beras merah di Indonesia semakin terbuka lebar seiring perkembangan pola pikir masyarakat untuk hidup sehat (Manikmas, 2010). Sama halnya seperti varietas Lestari, varietas lokal Sembada Merah juga perlu diteliti lebih jauh potensinya untuk dikembangkan sebagai VUB atau sumber tetua persilangan.

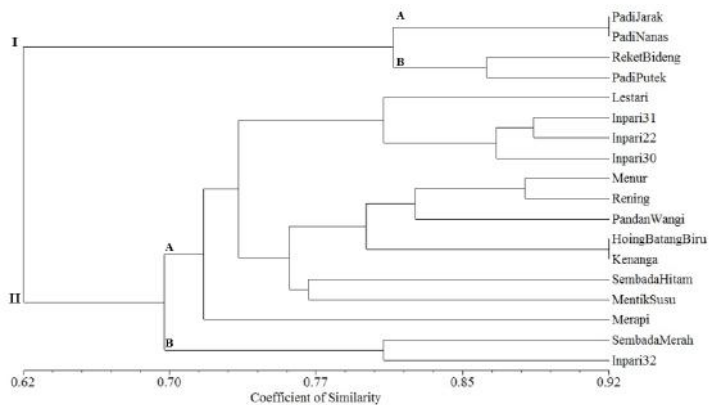
Varietas-varietas padi dengan nilai kesamaan genetik tinggi >90% pada penelitian ini seperti pada varietas Padi Jarak dan Padi Nanas asal NTB serta antara varietas Ho-ing Batang Biru dengan varietas Kenanga asal Yogyakarta tidak potensial untuk dijadikan tetua persilangan karena memperbesar peluang terjadinya *inbreeding depression*. Menurut Satoto *et al.* (2008) *inbreeding depression* merupakan penurunan keragaman karakter tanaman akibat persilangan dua individu tanaman berkerabat dekat sehingga memunculkan gen-gen resesif yang tidak diinginkan. Oleh karena itu menurut Rohaeni *et al.* (2016), pada pemilihan tetua persilangan perlu dipertimbangkan jarak genetik antar kedua tetua.

Persilangan antara kedua tetua dengan jarak genetik jauh menurut Satoto *et al.* (2008) akan memperlihatkan gejala heterosis yaitu progeni yang dihasilkan

memiliki karakter yang lebih unggul dari kedua tetuanya. Adanya gejala heterosis inilah yang memberikan peluang diperolehnya galur-galur padi baru dengan sifat unggul sesuai yang diharapkan (Rohaeni *et al.*, 2016). Pada penelitian ini terdapat beberapa varietas padi lokal dengan jarak genetik cukup jauh yang potensial untuk dijadikan tetua persilangan (Tabel 4). Varietas-varietas padi tersebut memiliki nilai kesamaan genetik <60% dan ke depannya dapat dimanfaatkan sebagai tetua persilangan dalam rangka menghasilkan varietas baru. Namun di sisi lain dalam rangka menjaga kelestarian plasma nutfah padi lokal Indonesia, varietas-varietas lokal padi asal NTB dan Yogyakarta yang jelas memiliki profil spesifik sesuai dengan hasil analisis filogenetik, sudah seharusnya tetap dipreservasi dan dikonservasi. Konservasi secara *in situ* maupun secara *ex situ* seperti penyimpanan dalam bank gen sangat diperlukan agar plasma nutfah tersebut tetap terjaga kelestariannya walaupun dimanfaatkan dalam program pemuliaan padi di Indonesia.

Tabel 4. Daftar beberapa varietas padi lokal yang potensial dijadikan tetua persilangan

Nama Varietas	Nilai Kesamaan Genetik
Padi Jarak-Kenanga	58%
Padi Jarak-Pandan Wangi	58%
Padi Jarak-Mentik Susu	58%
Padi Jarak-Inpari 31	58%
Padi Jarak-Inpari 22	58%
Padi Nanas-Pandan Wangi	58%
Padi Nanas-Mentik Susu	58%
Reket Bideng-Inpari 32	56%
Padi Putek-Merapi	58%
Padi Putek-Inpari 31	58%
Padi Putek-Inpari 32	56%
Padi Putek-Inpari 22	58%



Gambar 2. Fenogram 18 varietas padi berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit menggunakan program UPGMA-SAHN dengan perangkat lunak NTSYS

Keragaman Genetik Antarkelompok

Pada penelitian ini, kedelapan belas varietas padi yang digunakan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok padi asal NTB, Yogyakarta, serta satu kelompok berisi varietas unggul baru. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok padi asal Yogyakarta memiliki jarak genetik lebih dekat dengan kelompok padi VUB dengan nilai sebesar 0,996 (Tabel 5). Hal ini sesuai dengan hasil sebelumnya pada fenogram (Gambar 2) di mana varietas padi lokal asal Yogyakarta mengelompok bersama varietas unggul baru pada klaster yang sama. Ada kemungkinan VUB yang digunakan pada penelitian ini memiliki hubungan genetik dengan varietas lokal dari Yogyakarta dalam perakitannya dan perlu ditelusuri pedigreenya.

Sementara itu kelompok padi asal NTB memiliki jarak genetik sebesar 2,680 dengan kelompok asal Yogyakarta dan sebesar 4,368 dengan kelompok VUB (Tabel 5). Hal ini diduga karena adanya faktor geografi dan agro-ekologi yang berbeda antara wilayah NTB dan Yogyakarta. *Barrier* laut dan pulau yang memisahkan wilayah Yogyakarta dengan NTB juga turut mempengaruhi keanekaragaman genetik padi asal kedua wilayah tersebut (Sutoro *et al.*, 2015). Selama ini padi varietas lokal asal NTB belum banyak dikembangkan sebagai tetua persilangan. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa varietas lokal asal NTB potensial untuk dijadikan tetua persilangan dengan varietas asal Yogyakarta maupun varietas unggul baru dalam rangka perbaikan karakter genetik serta peningkatan daya saing varietas lokal tersebut.

Tabel 5. Nilai jarak genetik antarkelompok padi asal NTB, Yogyakarta, dan VUB berdasarkan jarak genetik Nei

Kelompok	NTB	Yogyakarta	VUB
NTB	0,000		
Yogyakarta	2,680	0,000	
VUB	4,368	0,996	0,000

Tabel 6. Matriks kesamaan genetik antara 18 varietas padi pada penelitian ini berdasarkan program UPGMA-SAHN

Sampel	Padi Jarak	Padi Nanas	Padi Reket	Padi Bideng	Putek	Menur	Ho-ing Batang Biru	Sembada Hitam	Lestari Merah	Sembada Merah	Kenanga	Merapi	Rening	Pandan Wangi	Susu	Mentik	Inpari 31	Inpari 32	Inpari 22	Inpari 30
Padi Jarak	1,00																			
Padi Nanas	0,92	1,00																		
Reket Bideng	0,77	0,81	1,00																	
Padi Putek	0,81	0,86	0,86	1,00																
Menur	0,62	0,65	0,65	0,67	1,00															
Ho-ing Batang Biru	0,65	0,69	0,62	0,63	0,77	1,00														
Sembada Hitam	0,69	0,65	0,73	0,63	0,81	0,73	1,00													
Lestari	0,62	0,65	0,64	0,58	0,77	0,69	0,73	1,00												
Sembada Merah	0,64	0,64	0,64	0,61	0,71	0,75	0,67	0,71	1,00											
Kenanga	0,58	0,62	0,65	0,63	0,81	0,92	0,77	0,73	0,71	1,00										
Merapi	0,62	0,62	0,65	0,58	0,69	0,65	0,73	0,73	0,67	0,69	1,00									
Rening	0,60	0,64	0,64	0,66	0,88	0,80	0,72	0,76	0,62	0,84	0,72	1,00								

Sampel	Padi Jarak	Padi Nanas	Padi Bideng	Padi Putek	Menur Batang Biru	Ho-ing Hitam	Sembada Lestari Merah	Sembada Kenanga	Merapi Rening	Pandan Wangi	Mentik Susu	Inpari 31	Inpari 32	Inpari 22	Inpari 30
Pandan Wangi	0,58	0,58	0,62	0,63	0,81	0,77	0,73	0,77	0,64	0,81	0,73	0,84	1,00		
Mentik Susu	0,58	0,58	0,62	0,63	0,77	0,73	0,77	0,69	0,64	0,77	0,77	0,76	0,81	1,00	
Inpari31	0,58	0,62	0,65	0,58	0,73	0,73	0,73	0,85	0,71	0,77	0,73	0,80	0,69	0,69	1,00
Inpari32	0,60	0,60	0,56	0,56	0,71	0,75	0,64	0,79	0,81	0,71	0,64	0,70	0,75	0,71	1,00
Inpari22	0,58	0,62	0,65	0,58	0,73	0,77	0,73	0,81	0,67	0,81	0,73	0,80	0,77	0,69	0,89 0,71 1,00
Inpari30	0,62	0,65	0,69	0,63	0,73	0,69	0,69	0,77	0,71	0,73	0,69	0,76	0,65	0,69	0,89 0,67 0,85 1,00

KESIMPULAN

Kegiatan karakterisasi molekuler varietas padi lokal asal NTB dan Yogyakarta menggunakan sepuluh penanda mikrosatelit menunjukkan pengelompokkan menjadi dua klaster utama pada koefisien kemiripan genetik 0,62. Varietas padi lokal asal NTB memiliki potensi untuk dijadikan tetua persilangan dengan padi lokal asal Yogyakarta dan padi VUB karena jarak genetiknya yang cukup jauh berdasarkan profil mikrosatelit. Sebanyak empat penanda dari total sepuluh penanda yang digunakan dalam penelitian ini bersifat sangat informatif dan dapat dimanfaatkan untuk kegiatan karakterisasi molekuler varietas-varietas padi lokal di Indonesia ke depannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada BPTP NTB dan BPTP Yogyakarta yang telah menyediakan materi genetik untuk kegiatan penelitian ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Rani Nur Fitriani, S.Si yang telah membantu dalam kegiatan ekstraksi DNA pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D. dan A. Supriyanto. 2007. Keragaman genetik pamelos Indonesia berdasarkan primer *Random Amplified Polymorphic DNA*. *J. Hort.* 17(1): 1-7.
- Anhar, A. 2013. Explorasi dan mutu beras genotip padi merah di Kabupaten Pasaman Barat Sumatera Barat. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, Halaman. 97-101.
- Bhatia, P., R. Jain, S. Jain, M. Singh, and V. Chowdury. 2017. Genetic variation in drought linked morpho-physiological characters and microsatellite DNA loci in rice (*Oryza sativa* L.). *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics* 3(1): 25-40.
- BPTP Yogyakarta. 24 September 2017. Sembada Merah dan Sembada Hitam sumber daya genetik lokal Kabupaten Sleman. http://yogya.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php?option=com_content&view=article&id=1213:sembada-merah-dan-sembada-hitam-sumber-daya-genetik-lokal-kabupaten-sleman&catid=4:info-aktual&Itemid=174.
- Chen, X, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, and S.R. McCouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and applied genetics* 95: 553-567.
- Damayanti, F dan I. Roostika. 2010. Koleksi plasma nutfah pisang secara *ex vitro* dan *in vitro* serta kajian sitologi dan analisa keragaman antar karakter berdasarkan penanda fenotipe. *Jurnal Ilmiah Faktor Exacta* 3(2): 145-157.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Fatimah, L. Herlina, and T.S. Silitonga. 2016. Genetic diversity and trait association analysis of Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using SSR markers. *Biotropia* 23 (2): 105 – 115.
- Hartati, Sumadi, dan T. Hartatik. 2009. Identifikasi karakteristik genetik sapi peranakan ongole di peternakan rakyat. *Buletin Peternakan* 33(2): 64-73.
- Hildebrand E., D.C. Torney, and R.P. Wagner. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science* 20: 100-102.
- Izzah, N.K. 2014. Peran marka molekuler dalam perbaikan genetik tanaman kakao. Bunga Rampai: Inovasi Teknologi Bioindustri Kakao, hal.47-56.
- Juansa, A., A. Purwantoro, dan P. Basunanda. 2013. Keanekaragaman padi (*Oryza sativa* L.) berdasar karakteristik botani morfologi dan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Vegetalika* 1(2): 1-11.
- Kalia, R.K., M.K. Rai, S. Kalia, R. Singh, and A. K. Dhawan. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica* 177: 309–334.

- Kristamtini, Taryono, P. Basunanda, dan R.H. Murti. 2014. Keragaman genetik kultivar padi beras hitam lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. *J. AgroBiogen* 10(2): 69-76
- Lazar, I. 20 September 2017. GelAnalyzer 2010 User's manual. http://www.gelalyzer.com/downloads/users_manual_2010.pdf.
- Liu, K., and S.V. Muse. 2005. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics Research Center, North Carolina State University, Raleigh.
- Manikmas, M.O.A. 2010. Respon produsen dan konsumen terhadap varietas unggul padi beras merah dalam menciptakan peluang pasar. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 29(2): 89-97.
- Mulliadi, D. dan J. Arifin. 2010. Pendugaan keseimbangan populasi dan heterozigositas menggunakan pola protein albumin darah pada domba ekor tipis (*Javanese Thin Tailed*) di daerah Indramayu. *Jurnal Ilmu Ternak* 10 (2): 65-72
- 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.
- Nur, A., K. Syahrudin, dan M.B. Pabendon. 2017. Keragaman genetik populasi gandum hasil persilangan konvergen. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 1(2): 143-152.
- Peakall, R.O.D. and P.E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Rembang, J.H.W. dan J.O.M Sondakh. 2015. Karakterisasi pisang lokal mas jarum dan goroho di kebun koleksi sumber daya genetik tanaman Sulawesi utara. Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian. Halaman. 228-235.
- Rohaeni, W.R., U. Susanto, N. Yunani, N. Usyati, dan Satoto. 2016. Kekerabatan Beberapa Aksesori Padi Lokal Tahan Hama Penyakit Berdasarkan Analisis Polimorfisme Marka SSR. *J. AgroBiogen* 12(2):81–90.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis sistem. Version: 2.1. Exeter Software, New York.
- Satoto, B. Sutaryo, dan B. Suprihatno. 2008. Prospek pengembangan varietas padi hibrida. *Dalam* A.A. Daradjat, A. Setyono, A.K. Makarim, dan A. Hasanuddin (Eds.) Padi: Inovasi Teknologi Produksi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Halaman. 29-66

- Septiningsih, E.M., T.J. Santoso, D.W. Utami, dan N.Hidayatun. 2004. Analisis Sidik Jari DNA Varietas Tanaman Pangan. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen Tahun 2004. Halaman.140-151.
- Silitonga, T.S. 2004. Pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah padi di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah* 10(2) : 56-71.
- Sitairesmi, T., R.H. Wening, A.T. Rakhmi, N. Yunani, dan U. Susanto. 2013. Pemanfaatan Plasma Nutfah Padi Varietas Lokal dalam Perakitan Varietas Unggul. *Iptek Tanaman Pangan* 8 (1): 22-30.
- Solin, N.W.N.M, Sobir, dan N.T. Mathius. 2013. Keragaman Genetik Populasi Tetua Saudara Kandung (Sibs) Kelapa Sawit Dura Deli Berdasarkan Penanda DNA Mikrosatelit. *Buletin Palma* 14 (2): 100 – 108
- Sugiantari, N.L.P.R., I.K. Junitha, dan E. Kriswiyanti. 2015. Analisa keragaman genetik kelapa *Rangda (Cocos nucifera L.)* di Bali berdasarkan penanda DNA mikrosatelit. *Jurnal Simbiosis* 3(1): 334- 337.
- Sumarjan. 2001. Klasifikasi padi lokal (*Oryza sativa L.*) di Lombok berdasarkan sifat dan ciri morfologi-anatomi. Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 80 hal.
- Sumarno. 2006. Sistem Produksi padi berkelanjutan dengan penerapan revolusi hijau lestari. *Iptek Tanaman Pangan* 1(1): 1-18.
- Supriyanti, A., Supriyanta, dan Kristamtini. Karakterisasi dua puluh padi (*Oryza sativa. L.*) lokal di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Vegetalika* Vol. 4(3): 29-41.
- Susanto, U., N.A. Rohmah, dan M.J. Mejaya. 2015. Distinguishing rice genotypes using morphological, agronomical, and molecular markers. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 34 (2): 79-88.
- Sutoro, P. Lestari, Reflinur, dan H. Kurniawan. 2015. Genetic diversity of upland rice landraces from Java Island as revealed by SSR markers. *Indones. J. Agric. Sci.* 16 (1): 1-10.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yunianti. 2012. Teknik Pemuliaan Tanaman. Penebar Swadaya. 348 hal.
- Tasma, I.M. 2016. Skrining marka SSR untuk analisis diversitas genetik aksesori kelapa sawit. *Buletin Palma* 15(1): 1-13.
- Temnykh, S., W.D. Park, N.M. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii, and S.R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa L.*). *Theoretical and applied genetics* 100: 697-712.
- Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, and S.R. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa L.*): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome research* 11: 1441-1452.

- Thomson, M.J., E.M. Septiningsih, F. Suwardjo, T.J. Santoso, T.S. Silitonga, and S.R. McCouch. 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 114: 559–568.
- Varshney, R.K., A. Graner, and M.E. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology* 23(1): 48-55.
- Wahab, M.I., Satoto, R. Rachmat, A. Guswara, dan Suharna. 2017. Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Wigati, E., Sutarno, dan Haryanti. 2003. Variasi genetik ikan anggoli (*Pristipomoides multidens*) berdasarkan pola pita allozim. *Biodiversitas* 4(2): 73-79.