

Evaluasi Molekuler dan Lapangan terhadap Galur-galur Padi Berumur Genjah dan Produktivitas Tinggi Turunan Ciherang

Joko Prasetyono, Ahmad Dadang, Ma'sumah, Tasliah, Fatimah, dan Tiur Sudiaty Silitonga

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian
Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Email: jokoprasetyono@yahoo.com

Naskah diterima 14 Maret 2014 dan disetujui diterbitkan 19 September 2014

ABSTRACT. Molecular and Morphological Field Evaluation of Early Maturing and High Productivity of Rice Lines Derivative of Ciherang. Improving Ciherang rice variety for earliness and higher productivity was obtained using Marker Assisted Backcrossing (MAB). Among 78 lines of BC_2F_4 generation of Ciherang x Nipponbare were obtained from greenhouse and molekuler analysis selection. Field evaluations were conducted at two locations, namely field station of Sukamandi (Indonesian Center for Rice Research, West Java), and field station of Maros (Indonesian Cereals Research Institute, South Sulawesi). Molecular analysis was performed using markers RM1362 and RM7601 which are flanking markers for the QTL region for Hd2 gene, located on chromosome 7. Flowering time and grain yield were evaluated among BC_2F_4 lines. Five lines flowered earlier and yielded higher than Ciherang were selected for background analysis using microsatellites covering the rice chromosomes. The earliest flowering line was BC_2F_4 CihNip-60 (at 74 days, 4 days earlier than that of Ciherang), and the highest yield (which flowered earlier than Ciherang) was BC_2F_4 CihNip-23, namely (2.20 t/ha higher than Ciherang). A total of 74 (95%) BC_2F_4 lines showed QTL region of Hd2 gene in homozygous condition. This showed that molecular selection from F1 generation of BC_2F_4 was able to identify homozygous gens and almost free of contaminant plant. Genetic backgrounds of the five BC_2F_2 selected lines were similar to that of Ciherang. Based on the agronomic and molecular marker, twenty five lines of BC_2F_4 flowered earlier than did Ciherang and yielded higher than did Ciherang. These lines should be further evaluated for their stability.

Keywords: Rice, Ciherang, MAB, early maturity, high productivity.

ABSTRAK. Perbaikan padi varietas Ciherang agar berumur genjah dengan produksi tinggi telah dilakukan menggunakan metode *Marker Assisted Backcrossing* (MAB), dimana Nipponbare yang mengandung lokus gen *Hd2* dijadikan sebagai tetua sumber gen umur genjah. Lokus ini mengatur waktu pembungaan Nipponbare, yang sensitif terhadap panjang penyinaran di daerah tropis. Ketika disisipkan ke dalam genom Ciherang, diharapkan akan merangsang pembungaan lebih cepat, namun potensi hasil tidak berubah. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah diperoleh sebanyak 78 galur BC_2F_4 turunan dari Ciherang x Nipponbare melalui metode MAB, namun masih skala laboratorium dan rumah kaca. Oleh karena itulah dilakukan penelitian ini yang bertujuan mengevaluasi baik secara molekuler ataupun di lapang tanaman BC_2F_4 agar diperoleh tanaman yang memiliki umur genjah dengan hasil minimal sama dengan Ciherang. Evaluasi lapang dilakukan di dua lokasi, yakni di KP Sukamandi (BB Padi, Jawa Barat), dan KP Maros (Balitsereal, Sulawesi Selatan) pada bulan

April s.d. Juli 2012.. Analisis molekuler dilakukan di Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika, Bogor (Juni s.d. Desember 2012), dengan menggunakan marka RM1362 dan RM7601 yang merupakan marka pengapit daerah QTL untuk gen *Hd2* yang terletak di kromosom tujuh. Pengamatan umur berbunga dan hasil gabah dijadikan dasar evaluasi pemilihan galur-galur BC_2F_4 . Lima dari galur tersebut yang berbunga lebih genjah dari Ciherang dan hasil lebih tinggi dipilih untuk dilakukan analisis *background* dengan menggunakan marka mikrosatelit yang tersebar di seluruh kromosom. Galur yang memiliki umur berbunga paling genjah adalah galur BC_2F_4 CihNip-60 yang berbunga pada 74 hari setelah sebar (hss), lebih genjah 4 hari dibandingkan dengan Ciherang, sedangkan galur yang memiliki hasil tertinggi dengan umur berbunga lebih genjah dari Ciherang adalah galur BC_2F_4 CihNip-23 (2,20 t/ha lebih banyak dibandingkan Ciherang). Sebanyak 74 galur BC_2F_4 (95%) mengandung segmen daerah QTL gen *Hd2* dalam kondisi homozygot, menunjukkan keberhasilan seleksi secara molekuler dari generasi F_1 sampai tanaman BC_2F_4 . *Background* genetik dari lima galur BC_2F_4 terpilih sebagian besar sudah kembali kepada tetua Ciherang. Terpilih dua puluh lima nomor BC_2F_4 turunan Ciherang memiliki umur berbunga lebih genjah, dan hasil gabah lebih banyak dibanding Ciherang. Galur-galur tersebut perlu diuji lebih lanjut pada beberapa lokasi.

Kata kunci: Padi, Ciherang, MAB, umur genjah, produktivitas tinggi.

Varietas padi berumur genjah diperlukan dalam program peningkatan produksi. Petani yang memiliki sawah dengan sistem pengairan yang baik umumnya dapat menanam padi dua kali setahun. Apabila tersedia varietas padi berumur genjah (kurang dari 100 hari), petani diharapkan dapat menanam padi tiga kali setahun, sehingga produksi dapat ditingkatkan. Padi gogo umumnya berumur genjah pada (80-90 hari), tetapi hasilnya tidak tinggi.

Varietas padi sawah yang telah dilepas umumnya berumur 115-120 hari (Suprihatno *et al.* 2009). Varietas Ciherang berumur 116-125 hari dan telah menyebar luas menggantikan IR64. Varietas Ciherang yang diperpendek umurnya diharapkan memberi peluang bagi petani untuk menanam padi lebih dari dua kali setahun. Varietas Nipponbare adalah padi tipe *japonica* yang berasal dari daerah subtropis (Jepang), dan memiliki sensitivitas tinggi terhadap panjang hari pada saat ditanam di

daerah tropis yang memiliki periode penyinaran matahari lebih pendek. Jika ditanam di daerah tropis, umur padi ini menjadi 90 hari.

Mekanisme pembungaan padi yang bersifat *short day plant* (tanaman hari pendek) merupakan hal yang sangat penting (Naeem *et al.* 2013), namun masih merupakan misteri dan melibatkan banyak gen (Jarillo *et al.* 2008, Yano *et al.* 2001). Pengetahuan tentang mekanisme pembungaan ini dapat digunakan untuk memodifikasi tanaman, sehingga tanaman berbunga lebih cepat.

Lokus yang berisi gen-gen yang berhubungan dengan pembungaan padi sebagian sudah dipetakan lebih dari 10 daerah QTL, dan marka-marka pengapit juga sudah diperoleh (Fujino and Sekiguchi 2005, 2008, Nonoue *et al.* 2008, Yamamoto *et al.* 1998). Marka-marka ini dapat dimanfaatkan oleh pemulia untuk menyeleksi galur-galur hasil persilangan. Sebagian besar pemetaan QTL tersebut dilakukan menggunakan persilangan antara padi tipe *indica* dan *japonica*, karena perbedaan umur berbunganya nyata. Umur berbunga padi *japonica* umumnya sangat genjah jika ditanam di daerah tropis yang memiliki panjang penyinaran sekitar 12 jam, walaupun di daerah subtropis memiliki umur dan hasil normal, padahal terpapar sinar matahari yang panjangnya lebih dari 12 jam. Fenomena tersebut dimanfaatkan untuk mendapatkan padi-padi *indica* yang berumur lebih genjah tanpa mengurangi potensi hasil. Pemetaan QTL yang telah dilakukan sangat membantu dalam program *Marker Assisted Backcrossing* (MAB).

Pemanfaatan marka molekuler sebagai alat seleksi telah berkembang di bidang pemuliaan tanaman. Salah satu cara penerapan seleksi marka molekuler pada individu hasil persilangan adalah melakukan silang balik yang dipadukan dengan pemanfaatan marka *foreground*, *recombinant*, dan *background* untuk menyeleksi individu pada setiap generasi (Semagn *et al.* 2006). Dengan teknik ini, untuk mengembalikan genom tanaman 98% seperti tetua pemulih membutuhkan dua kali silang balik, sedangkan dengan cara konvensional memerlukan 4-5 kali silang balik, bahkan sampai BC_6 (Ribaut and Hoisington 1998).

Persilangan padi varietas Ciherang dengan Nipponbare telah dilakukan di BB Biogen menggunakan metode MAB dan telah diperoleh galur-galur hasil seleksi. Pengujian di rumah kaca menunjukkan galur-galur tersebut memiliki umur berbunga lebih genjah dengan hasil yang sama dengan Ciherang (Prasetyono *et al.* 2011, 2013). Galur-galur ini perlu ditanam di lapangan untuk mengetahui stabilitas dan daya hasilnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi tanaman BC_2F_4 hasil persilangan Ciherang x Nipponbare yang hasilnya tinggi (minimal sama dengan Ciherang) dan berumur genjah.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada tahun 2012 di rumah kaca dan laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (Bogor, Jawa Barat), Kebun Percobaan Balai Besar Penelitian Padi (Sukamandi, Jawa Barat), dan Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Serealia (Maros, Sulawesi Selatan).

Materi yang diuji adalah 78 galur padi silang balik BC_2F_4 Ciherang x Nipponbare, tetua Ciherang, dan Nipponbare. Sebagai donor gen umur genjah adalah Nipponbare. Marka molekuler yang digunakan sebagai marka seleksi adalah dua marka yang menunjukkan daerah QTL untuk gen *Hd2* di kromosom 7, yakni RM1362 (F-TGATCTAAACAGGCCCTTAG dan R-CATCATCA-AGACCACACATC) dan RM 7601 (F-GCCTCGCTGTCGCTAATATC dan R-CAGCCTCTCCTTGTGTTGTG) (Fujino and Sekiguchi 2008).

Lima galur yang memiliki umur berbunga lebih genjah dan hasil gabah lebih tinggi dibanding Ciherang, serta memiliki pita homozigot untuk lokus gen *Hd2* dipilih untuk dianalisis *background* genetiknya. Marka mikrosatelit yang digunakan untuk analisis *background* dapat dilihat pada Tabel 1.

Seleksi Galur di Lapangan

Penanaman galur uji di lapang dilakukan pada bulan Maret 2012 dan panen pada Juli 2012 (Musim Tanam 1), masing-masing galur ditanam pada petak berukuran 1,5 m x 2 m dengan jarak tanam 25 cm x 25 cm. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan 78 galur sebagai perlakuan dengan tiga ulangan. Benih disemai terlebih dahulu dan setelah berumur dua minggu bibit dipindahtanamkan ke sawah, masing-masing rumpun berisi satu tanaman. Tanaman percobaan dipupuk 115 kg N + 38 kg P_2O_5 + 50 kg K_2O /ha dan dipelihara sesuai dengan teknis budi daya baku.

Masing-masing galur dipilih lima tanaman contoh untuk diamati beberapa peubah agronomis, meliputi tinggi tanaman, jumlah anakan produktif, umur berbunga, dan hasil pada luasan 1 m x 1 m (16 rumpun). Untuk data agronomi dilakukan analisis ragam menggunakan program SAS versi 9 untuk mengetahui keragaman galur yang diuji. Data dari dua lokasi percobaan digunakan sebagai kriteria seleksi galur yang diuji. Galur yang memiliki umur lebih genjah dan hasil gabah minimal sama dengan varietas Ciherang dipilih dan diberi tanda. Hasil gabah dari petak ubinan dikonversikan menjadi t/ha pada kadar air 14%.

Tabel 1. Marka-marka mikrosatelit yang digunakan untuk analisis *background* genetik tanaman padi.

No	Primer	Krom	cM	No	Primer	Krom	cM	No	Primer	Krom	cM
1	RM84	1	26,2	39	RM307	4	0	77	RM223	8	80,5
2	RM490	1	51	40	RM551	4	20	78	RM210	8	90,3
3	RM581	1	66,4	41	RM1155	4	58,9	79	RM256	8	101,5
4	RM493	1	79,7	42	RM564A	4	73,1	80	RM264	8	128,6
5	RM9	1	92,4	43	RM273	4	94,4	81	RM285	9	1,8
6	RM488	1	101,4	44	RM255	4	109,2	82	RM524	9	13,2
7	RM246	1	115,2	45	RM303	4	116,9	83	RM321	9	32,1
8	RM443	1	122,7	46	RM131	4	148,8	84	RM3700	9	55,3
9	RM486	1	153,5	47	RM159	5	2,3	85	RM242	9	73,3
10	RM472	1	171,6	48	RM548	5	28,6	86	RM3249	9	88,9
11	RM104	1	186,6	49	RM289	5	56,7	87	RM245	9	112,3
12	RM110	2	6,8	50	RM430	5	76,7	88	RM222	10	11,3
13	RM223A	2	16,3	51	RM440	5	92,7	89	RM216	10	17,6
14	RM555	2	34,7	52	RM161	5	96,9	90	RM1375	10	42,7
15	RM492	2	53	53	RM26	5	122,7	91	RM271	10	59,4
16	RM300	2	66	54	RM480	5	130,6	92	RM258	10	70,8
17	RM262	2	78,4	55	RM334	5	141,8	93	RM294A	10	87,1
18	RM475	2	92,5	56	RM508	6	0	94	RM147	10	99,8
19	RM263	2	127,5	57	RM588	6	7,4	95	RM590	10	117,2
20	RM450	2	150,8	58	RM314	6	33,6	96	RM181	11	0
21	RM425	2	168,1	59	RM235	6	37	97	RM332	11	27,9
22	RM208	2	186,4	60	RM276	6	40,3	98	RM167	11	37,5
23	RM138	2	196,8	61	RM3	6	75	99	RM202	11	54
24	RM523	3	11	62	RM454	6	99,3	100	RM287	11	68,6
25	RM489	3	29,2	63	RM528	6	121,6	101	RM229	11	77,8
26	RM517	3	42,9	64	RM340	6	133,5	102	RM21	11	85,7
27	RM36	3	58,55	65	RM436	7	0	103	RM254	11	110
28	RM251	3	79,1	66	RM125	7	24,8	104	RM224	11	120,1
29	RM282	3	100,6	67	RM2	7	36,1	105	RM20A	12	3,2
30	RM156	3	125,7	68	RM11	7	11	106	RM7619	12	19,32
31	RM504	3	158,8	69	RM1135	7	57,5	107	RM247	12	32,3
32	RM55	3	168,2	70	RM351	7	75	108	RM83	12	46,8
33	RM448	3	181,4	71	RM473C	7	86,2	109	RM28067	12	58,76
34	RM293	3	193,4	72	RM172	7	115,3	110	RM28102	12	63,64
35	RM143	3	207,3	73	RM506	8	0	111	RM519	12	79,84
36	RM514	3	216,4	74	RM38	8	26	112	RM235	12	102,6
37	RM442	3	224,2	75	RM25	8	52,2	113	RM17	12	109,1
38	RM85	3	231	76	RM331	8	69				

Krom = kromosom, cM = centi Morgan

Analisis Molekuler

Isolasi DNA dari semua galur yang diuji mengacu pada metode Dellaporta *et al.* (1983) yang dimodifikasi dengan mengganti potasium asetat dengan chloroform isoamilalkohol. Daun diambil dari tanaman berumur 4 minggu yang ditumbuhkan di rumah kaca BB Biogen. Daun dari tiga tanaman diambil dan dicampur untuk diisolasi DNAny. Reaksi PCR dilakukan pada volume 20 µl. Hasil PCR kemudian dipisahkan menggunakan gel poliakrilamid 8%. Pewarnaan DNA menggunakan ethidium bromida (EtBr) atau silver nitrat (AgNO₃).

Tanaman BC₂F₄ dianalisis secara molekuler di daerah QTL gen *Hd2* untuk melihat kondisi pita masing-masing tanaman, heterozigot atau homozigot untuk alel *Hd2*. Tanaman heterozigot tidak dipilih, dan sebaliknya.

Analisis data *background* genetik dilakukan menggunakan program GGT2 (Berloo 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Galur di Lapangan

Umur berbunga tanaman di dua lokasi (Sukamandi dan Maros) tidak berbeda nyata, baik dalam maupun antargenotipe (Tabel 2). Jumlah anakan dan tinggi tanaman nyata dipengaruhi oleh lokasi pengujian, tetapi pengaruh lokasi terhadap hasil gabah antargenotipe tidak nyata. Terdapat pengaruh nyata interaksi genotipe x lokasi. Data peubah yang diamati tertera pada Tabel 3.

Tabel 2. Kuadrat tengah analisis sidik ragam data percobaan lapang di Sukamandi dan Maros, 2012.

Sumber	db	Kuadrat tengah			
		Umur berbunga	Jumlah anakan	Tinggi tanaman	Hasil gabah
Lokasi	1	0,26	1360,97**	5968,6**	26,94
Genotipe	80	960,83	32,32**	176,79**	48368,69**
Lokasi*Genotipe	80	1018,99	25,11	58,85	40872,67*
Ulangan	2	3747,36*	348,9**	27,23	27011,65
Koefisien keragaman	39,03	21,61	7,55	31,98	

* = nyata pada taraf 5% **= nyata pada taraf 1%

Sebanyak 45 galur (57,7%) BC₂F₄ memiliki umur berbunga lebih genjah dibandingkan dengan Ciherang. Umur berbunga paling genjah ditunjukkan oleh galur BC₂F₄CihNip-60, yakni 74 HSS. Ciherang pada uji lapang ini memiliki umur berbunga 78 HSS, sedangkan umur berbunga galur-galur yang diuji berkisar antara 74-83 hari.

Di antara galur-galur yang diuji jumlah anakan tidak ada yang melebihi tetua Ciherang, kemungkinan disebabkan oleh pemendekan umur berbunga. Jumlah anakan berkisar antara 16-33 batang, sedangkan jumlah anakan Ciherang rata-rata 36 batang. Jumlah anakan berkurang seiring dengan pengurangan waktu berbunga. Walaupun ada beberapa galur yang umur berbunganya melebihi Ciherang, namun jumlah anakannya tetap tidak melebihi.

Tinggi tanaman galur uji sama dengan Ciherang. Peubah hasil gabah sebagai indikator penting keberhasilan penelitian ini. Beberapa galur hasil gabahnya lebih tinggi dibandingkan dengan Ciherang. Sebanyak 46 galur BC₂F₄ (59%) hasil gabahnya nyata lebih tinggi dibanding Ciherang. Galur BC₂F₄CihNip-23 memiliki hasil gabah 7,82 t/ha, lebih tinggi 139% dari Ciherang. Peningkatan hasil ini kemungkinan disebabkan oleh efek segregasi transgresif, bukan heterosis oleh perbedaan genom *indica* dan *japonica*, karena efek heterosis terjadi pada F₁ (Jihai and Zaongton 1988, Vaithiyalingan and Nadarajan 2010). Galur yang memiliki hasil gabah tertinggi tersebut memiliki umur berbunga 77 HSS (lebih genjah dari Ciherang).

Analisis Molekuler

Analisis molekuler menunjukkan semua galur mengandung segmen Nipponbare untuk daerah QTL gen *Hd2*, kecuali galur BC₂F₄CihNip-6 yang memiliki pita Ciherang, galur BC₂F₄CihNip-28 memiliki pita heterozigot, sedangkan galur BC₂F₄CihNip-29 dan BC₂F₄CihNip-84 tidak muncul (Tabel 3 dan Gambar 1). Sebanyak 74 galur (94,9%) dari galur-galur BC₂F₄ mengandung pita homozigot untuk lokus gen *Hd2*,

bertanggung jawab untuk mengespresikan sifat percepatan pembungaan. Pada generasi BC₂F₄, galur-galur yang diuji sudah memiliki genotipe dalam kondisi homozigot untuk lokus gen *Hd2*, sedangkan lokus di luar itu akan bersegregasi secara bebas. Namun berdasarkan seleksi *background* pada generasi BC₂F₁ dan BC₂F₁ (Prasetyono *et al.* 2013), lokus-lokus di luar lokus gen *Hd2* diharapkan telah kembali ke genom Ciherang dalam kondisi homozigot. Satu galur menunjukkan pita homozigot untuk Ciherang pada marka RM1362 dan RM7601. Oleh karena itu fungsi seleksi menggunakan marka molekuler dapat menjaga kemurnian benih akibat salah pengambilan sampel atau *drop seed*. Pada galur BC₂F₄CihNip-28, untuk mendapatkan pita yang homozigot masih memerlukan penanaman minimal dua generasi, dan galur tersebut perlu dibuang pada seleksi selanjutnya. Galur BC₂F₄CihNip-29 dan BC₂F₄CihNip-84 juga tidak memberikan pita, walaupun sudah diamplifikasi menggunakan dua primer. Kedua galur ini juga dapat dibuang dalam seleksi selanjutnya.

Berdasarkan data molekuler untuk lokus gen *Hd2*, data umur berbunga, dan hasil gabah, dari 78 galur terpilih 25 galur (32,1%). Galur-galur yang dapat digunakan untuk diuji lebih lanjut adalah BC₂F₄CihNip-23, BC₂F₄CihNip-24, BC₂F₄CihNip-25, BC₂F₄CihNip-26, BC₂F₄CihNip-27, BC₂F₄CihNip-39, BC₂F₄CihNip-41, BC₂F₄CihNip-42, BC₂F₄CihNip-43, BC₂F₄CihNip-44, BC₂F₄CihNip-45, BC₂F₄CihNip-48, BC₂F₄CihNip-50, BC₂F₄CihNip-51, BC₂F₄CihNip-54, BC₂F₄CihNip-55, BC₂F₄CihNip-58, BC₂F₄CihNip-60, BC₂F₄CihNip-61, BC₂F₄CihNip-62, BC₂F₄CihNip-63, BC₂F₄CihNip-68, BC₂F₄CihNip-69, BC₂F₄CihNip-70, dan BC₂F₄CihNip-72. Galur-galur tersebut memiliki pita yang homozigot, umur berbunga lebih genjah, dan hasil gabah lebih tinggi dibandingkan dengan Ciherang.

Untuk melihat konstitusi *background* genetik genom Ciherang dipilih lima tanaman yang umur berbunganya paling genjah dengan hasil gabah lebih tinggi dibanding Ciherang. Dari hasil pengamatan terpilih lima galur (BC₂F₄CihNip-44, BC₂F₄CihNip-48, BC₂F₄CihNip-60,

Tabel 3. Data rata-rata beberapa karakter agronomis di dua lokasi (Sukamandi dan Maros)*

No	Galur	Data molekuler	Umur berbunga (HSS)	Jumlah anakan	Tinggi tanaman (cm)	Hasil gabah (t/ha gkg)
1	BC ₂ F ₄ CihNip-23****	N	77	21	102	7,82**
2	BC ₂ F ₄ CihNip-24****	N	78	22	99	6,56**
3	BC ₂ F ₄ CihNip-25****	N	77	22	99	6,57**
4	BC ₂ F ₄ CihNip-26****	N	77	22	97	6,94**
5	BC ₂ F ₄ CihNip-27****	N	77	22	102	6,51**
6	BC ₂ F ₄ CihNip-28	H	76	24	99	7,08**
7	BC ₂ F ₄ CihNip-29	-	77	23	93	5,51
8	BC ₂ F ₄ CihNip-30	N	75	21	86	4,69
9	BC ₂ F ₄ CihNip-31	N	76	27	89	3,29
10	BC ₂ F ₄ CihNip-32	N	77	26	92	4,10
11	BC ₂ F ₄ CihNip-33	N	75	26	91	4,50
12	BC ₂ F ₄ CihNip-34	N	75	25	85	4,47
13	BC ₂ F ₄ CihNip-39****	N	77	26	98	6,10**
14	BC ₂ F ₄ CihNip-40	-	78	26	101	6,00**
15	BC ₂ F ₄ CihNip-41****	N	77	25	100	7,25**
16	BC ₂ F ₄ CihNip-42****	N	78	24	100	6,42**
17	BC ₂ F ₄ CihNip-43****	N	77	25	99	5,68**
18	BC ₂ F ₄ CihNip-44***	N	74	24	100	5,78**
19	BC ₂ F ₄ CihNip-45****	N	76	24	98	5,98**
20	BC ₂ F ₄ CihNip-46	N	76	25	100	5,27
21	BC ₂ F ₄ CihNip-47	N	77	24	98	4,42
22	BC ₂ F ₄ CihNip-48***	N	75	25	99	5,84**
23	BC ₂ F ₄ CihNip-50****	N	77	26	95	5,63**
24	BC ₂ F ₄ CihNip-51****	N	78	31	92	5,95**
25	BC ₂ F ₄ CihNip-52	N	78	28	89	4,77
26	BC ₂ F ₄ CihNip-54****	N	77	28	91	6,36**
27	BC ₂ F ₄ CihNip-55****	N	77	30	91	5,68**
28	BC ₂ F ₄ CihNip-56	N	75	31	91	4,52
29	BC ₂ F ₄ CihNip-57	N	77	29	87	4,66
30	BC ₂ F ₄ CihNip-58****	N	78	27	98	5,76**
31	BC ₂ F ₄ CihNip-59	N	76	26	96	5,57
32	BC ₂ F ₄ CihNip-60***	N	74	26	94	6,08**
33	BC ₂ F ₄ CihNip-61****	N	78	27	96	6,45**
34	BC ₂ F ₄ CihNip-62****	N	76	27	97	6,40**
35	BC ₂ F ₄ CihNip-63***	N	76	27	97	6,08**
36	BC ₂ F ₄ CihNip-64	N	76	26	96	5,51
37	BC ₂ F ₄ CihNip-67	N	78	29	96	5,31
38	BC ₂ F ₄ CihNip-68****	N	78	28	98	6,03**
39	BC ₂ F ₄ CihNip-69****	N	78	26	99	5,89**
40	BC ₂ F ₄ CihNip-70****	N	78	28	97	6,15**
41	BC ₂ F ₄ CihNip-72***	N	76	27	102	5,72**
42	BC ₂ F ₄ CihNip-73	N	77	26	103	5,47
43	BC ₂ F ₄ CihNip-74	N	77	24	100	5,43
44	BC ₂ F ₄ CihNip-85	N	78	28	102	5,51
45	BC ₂ F ₄ CihNip-97	N	75	31	104	5,55
Rata-rata BC ₂ F ₄			78	26	98	5,79
Nilai kisaran			74-83	16-33	85-107	3,29-7,82
Tetua Inpari 13			76	30	111	5,16
Tetua Ciherang			78	36	97	5,62

*= data yang ditampilkan hanya galur-galur BC₂F₄ yang berbunga lebih genjah dibandingkan Ciherang.

**= galur BC₂F₄ yang memiliki hasil gabah lebih tinggi dibandingkan Ciherang.

***= galur BC₂F₄ yang dipilih untuk analisis *background*.

****= galur-galur BC₂F₄ yang bisa dipilih untuk pengujian lebih lanjut (berbunga lebih genjah dan hasil gabah lebih tinggi), selain yang bertanda ***.

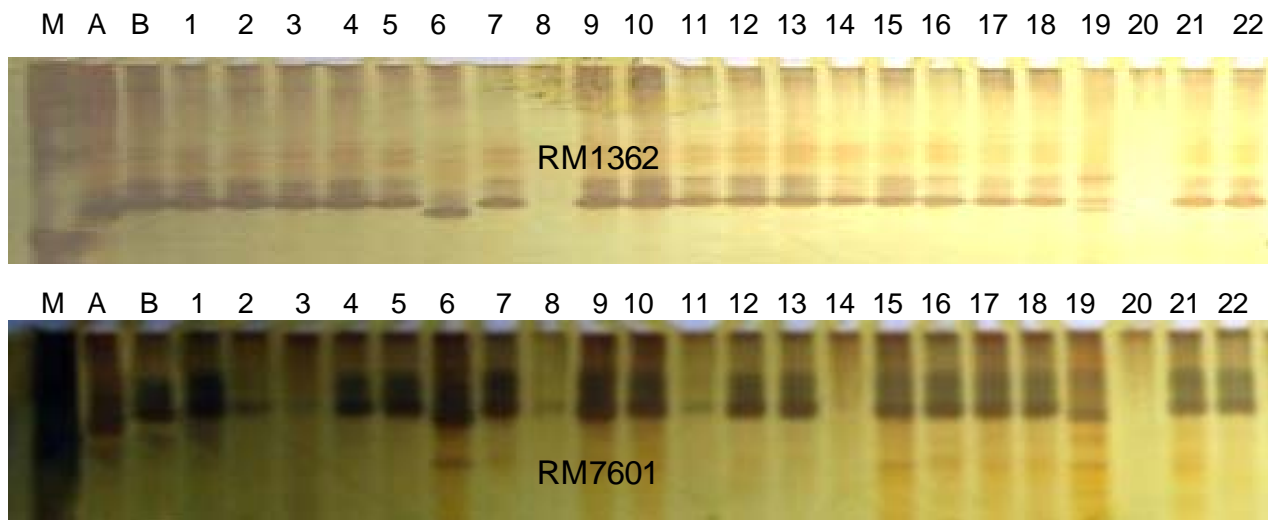
HSS = hari setelah sebar benih, N = alel Nipponbare, C = alel Ciherang, dan H = Heterozigot (alel C dan N).

BC₂F₄CihNip-63, dan BC₂F₄CihNip-72) untuk analisis *background* genetik (Tabel 3). Pada penelitian ini seharusnya seluruh galur yang memenuhi syarat (25 nomor) untuk ditanam selanjutnya digunakan sebagai material analisis *background* genetik menggunakan marka mikrosatelit yang tersebar di seluruh kromosom padi, namun karena keterbatasan dana hanya lima galur yang dipilih.

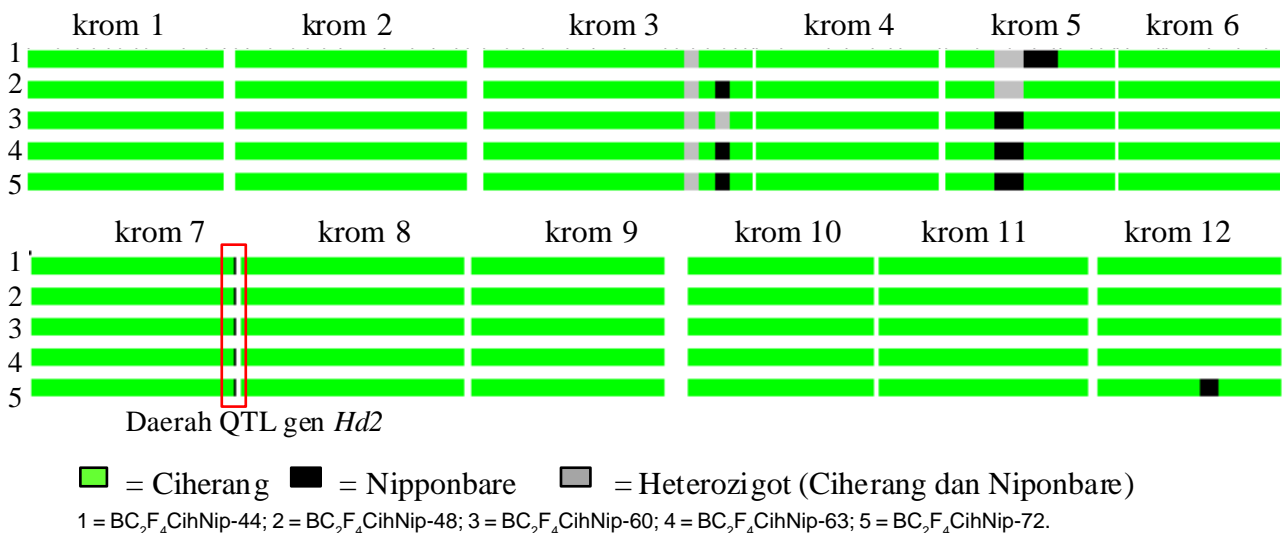
Hasil analisis molekuler menggunakan marka *background* genetik (Gambar 2) menunjukkan bahwa seluruh galur pada kromosom 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, dan 11 memberikan penampilan *background* genetik yang bersih, mirip dengan tetua Ciherang pada lokus-lokus

yang dideteksi dengan marka mikrosatelit. Pada kromosom 12 hanya galur nomor 5 (BC₂F₄-72) yang masih memiliki segmen Nipponbare. Pada kromosom 7, daerah QTL gen *Hd2* bisa dilihat dalam kondisi homozigot untuk segmen Nipponbare.

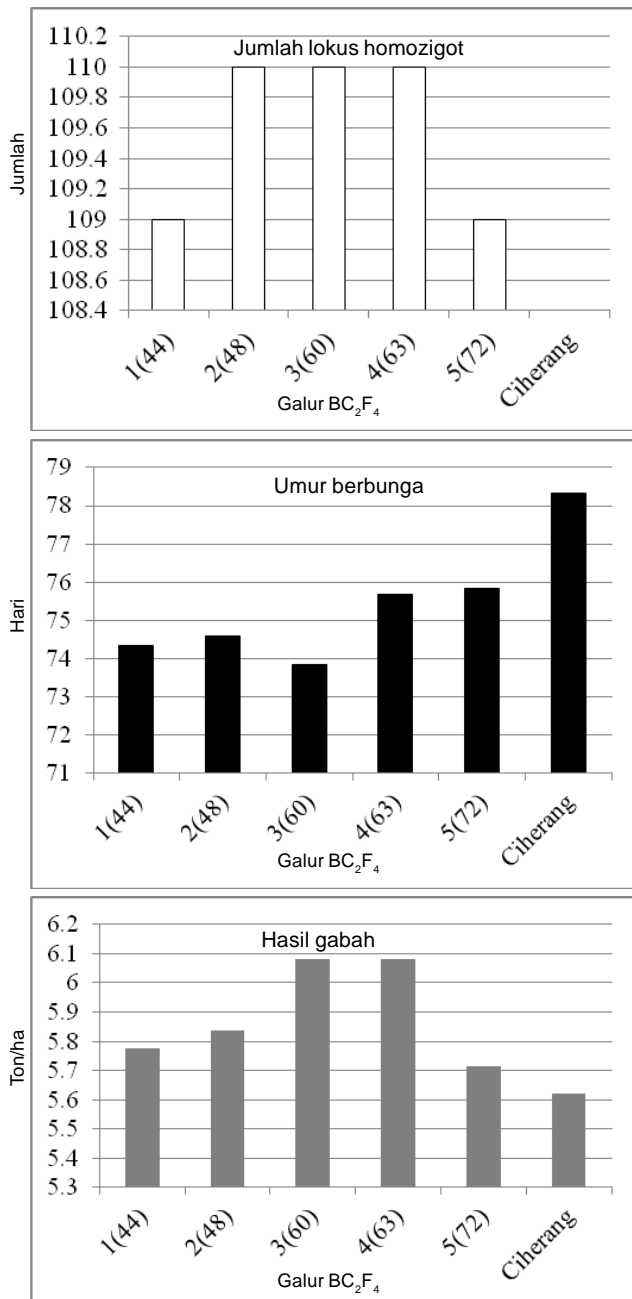
Pada kromosom 3 dan 5 juga masih ada beberapa galur yang mengandung segmen Nipponbare. Pada individu galur BC₂F₄CihNip-48, segmen Nipponbarenya hanya sepotong kecil, sedangkan pada kromosom 5 ada marka yang menunjukkan kondisi genom yang heterozigot. Penelitian analisis *background* genetik ini sebaiknya dilanjutkan pada individu lain yang terpilih untuk ditanam pada generasi selanjutnya, untuk



Gambar 1. Hasil analisis molekuler galur-galur BC₂F₄ Ciherang x Nipponbare menggunakan marka RM1362 dan RM7601. M = 100 bp DNA ladder, A = Ciherang, B = Nipponbare, 1-22 = BC₂F₄ seperti pada Tabel 3



Gambar 2. Kondisi genom lima terbaik berdasarkan data lapang individu BC₂F₄ Ciherang x Nipponbare menggunakan 113 marka mikrosatelit.



Gambar 3. Keragaan molekuler dan agronomis lima galur terbaik BC₂F₄ Ciharang/Nipponbare. (Angka di dalam kurung menunjukkan nomor galur BC₂F₄).

memberikan peluang dalam memilih individu yang memiliki *background* genetik lebih bersih (Gambar 2). Namun, analisis molekuler ini harus dikombinasikan dengan data agronomis di lapangan, karena individu yang memiliki *background* genetik paling bersih tidak selalu menunjukkan penampilan agronomis yang paling baik (Prasetyono *et al.* 2012).

Data molekuler yang disandingkan dengan data agronomis dari lima galur terpilih dapat dilihat pada Gambar 3, yang menunjukkan jumlah lokus yang homozigot hanya terpaut pada satu marka. Dari 113 marka yang digunakan, 110 marka di antaranya memberikan hasil homozigot Ciharang, sedangkan tiga marka lainnya memberikan hasil homozigot Nipponbare dan heterozigot. Konstitusi genotipe dari galur-galur BC₂F₄ sudah cukup bagus. Hal ini juga terlihat pada penampilan agronomis di lapangan, galur-galur BC₂F₄ sebagian besar memiliki penampilan yang sama dengan tetuanya (Ciharang). Lima galur terpilih tersebut juga menunjukkan umur berbunga yang lebih genjah dibanding Ciharang, dengan pemendekan umur 3-5 hari. Hasil gabah seluruh galur terpilih tersebut melebihi Ciharang. Hal ini menunjukkan meskipun terjadi penurunan umur berbunga tetapi galur-galur BC₂F₄ masih mampu memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan Ciharang. Pengujian di lapangan masih diperlukan untuk melihat konsistensi hasil dan umur.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Galur BC₂F₄ CihNip-60 memiliki umur berbunga paling genjah, dan galur BC₂F₄ CihNip-23 hasil gabah lebih tinggi.
2. Sebanyak 74 galur BC₂F₄ (94,9%) telah memiliki segmen daerah QTL gen *Hd2* dalam kondisi homozigot.
3. *Background* genetik dari lima nomor galur BC₂F₄ sebagian besar sudah kembali kepada tetua Ciharang.
4. Dua puluh lima galur BC₂F₄ yang memiliki umur berbunga lebih genjah dan hasil gabah lebih banyak dari Ciharang dapat diuji lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Program Peningkatan Kapasitas Peneliti dan Perekayasa Tahun Anggaran 2012 yang telah mendanai penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Sdr. Mahrup yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Berloo, R.V. 2008. GGT 2.0: Versatile software for vidualization and analysis of genetic data. *Journal of Heredity* 99(2):232-236.
- Dellaporta S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant. Mol. Biol. Rep* 1(4):19-21.

- Fujino, K. and H. Sekiguchi. 2005. Mapping of QTLs conferring extremely early heading in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 111:393-398.
- Fujino, K, and H. Sekiguchi. 2008. Mapping of quantitative trait loci controlling heading date among rice cultivars in the northernmost region fo Japan. *Breeding Science* 58:367-373.
- Jarillo, J.A., I. del Olmo, A. GÁmez-Zambrano, A. L&szcaro, L. LApes-Gonzales, E. Miguel, L. Narro-Diego, D. S&szcaro, and M. Pi&oscedil;ero. 2008. Review, photoperiodic control of flowering time. *Spanish Journal of Agroicultural Research* 6:221-244.
- Jihai, Z. and S. Zongtan. 1988. Compatibility and heterosis between *indica* and *japonica* rice. *Journal of Rice Science* 2(1):23-28.
- Naeem, M., M. Iqbal, M.A. Khan, W. Nazeer, M. Rizwan, and M. Ijaz. 2013. Importance of QTL Mapping for Heading Date in Rice. *World Applied Sciences Journal* 22 (7):1001-1006.
- Nonoue, Y., K. Fujino, Y. Hirayama, U. Yamanouchi, S.Y. Lin, and M. Yano. 2008. Detection of quantitative trait loci controlling extremely early heading in rice. *Theor. Appl. Genet.* 116:715-722.
- Prasetyono, J., S. Moeljopawiro, M. Bustamam, Tasliah, A. Dadang, dan Fatimah. 2011. Aplikasi marka molekuler terkait dengan umur genjah 90 hari dan produktivitas 7 t/ha pada padi. Laporan Akhir Program Riset Insentif 2011. 54p.
- Prasetyono, J., T. Suhartini, I.H. Soemantri, Tasliah, S. Moeljopawiro, H. Aswidinnoor, D. Sopandie, dan M. Bustamam. 2012. Evaluasi beberapa galur-*Pup1* tanaman padi (*Oryza sativa* L.) pada larutan hara dan lapangan. *J. Agron. Indonesia* 40(2):83-90.
- Prasetyono, J., Tasliah, A. Dadang, dan Fatimah. 2013. Perbaikan padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang untuk sifat umur genjah dan produksi tinggi menggunakan marka molekuler. *Berita Biologi* 12(1):61-71.
- Ribaut, J.M. and D. Hoisington. 1998. Marker-assisted selection : new tools and strategies. *Trends in Plant Science* 3:236-239.
- Semagn, K., A. Bjornstad, and M.N. Ndjiondjop. 2006. Progress and prospects of marker assisted backcrossing as a tool in crop breeding programs. *African J. Bio.* 5(25): 588-2603.
- Suprihatno, B., A.A. Daradjat, Satoto, Baehaki S.E., I.N. Widiarta, A. Setyono, S.D. Indrasari, O.S. Lesmana, dan H. Sembiring. 2009. Deskripsi varietas padi. Balai Besar Tanaman Padi. Badan Litbang Pertanian. Kementerian Pertanian. 105p.
- Vaithiyalingan, M. and N. Nadarajan. 2010. Heterosis for yield contributing characters in inter sub-specific crosses of rice. *Journal of Plant Breeding* 1(3):305-310.
- Yamamoto, T., Y. Kuboki, S.Y. Lin, T. Sasaki, and M. Yano. 1998. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2*, and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single mendelian factors. *Theor. Appl. Genet.* 97:37-44.
- Yano, M., S. Kojima, Y. Takahashi, H. Lin, and T. Sasaki. 2001. Genetic control of flowering time in rice, a short-day plant. *Plant Physiology* 127:1425-1429.
-