

PERBAIKAN PADI (*Oryza sativa* L.) VARIETAS CIHERANG UNTUK SIFAT UMUR GENJAH DAN PRODUKSI TINGGI MENGGUNAKAN MARKA MOLEKULER*
[Improvement of Ciherang Rice (*Oryza sativa* L.) Variety for Early Maturity and High Production Trait Using Molecular Marker]

Joko Prasetyono[✉], Tasliah, Ahmad Dadang dan Fatimah

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian,
Jalan Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111; e-mail: jokoprasetyono@yahoo.com

ABSTRACT

The improvement of rice (*Oryza sativa* L.) Ciherang variety for early maturity and high production traits was carried out by Marker Assisted Backcrossing (MAB) method using Nipponbare as donor parent. The foreground selection of *Hd2* gene was laid on flanking markers of RM1362 and RM7601 in QTL region. The selection process of F₁ to BC₂F₂ plants were based on molecular markers and agronomic characters. The BC₂F₃ plants were challenged to bacterial leaf blight to know their resistance in this hybridization. The results indicated that the foreground and background selection were not sufficient as selection tools therefore they would be more accurate if associated with agronomic characters. Four selected lines derived from Ciherang x Nipponbare crossed (BC₂F₃ plant # 283, 307, 373, and 462) could be promising lines with early maturity and high production compared to Ciherang. Selected BC₂F₃ lines flowered earlier than original Ciherang up to 7-10 days, while the yield increasing was 3.55 to 9.2% higher based on weight of filled grains/plant, and from 3.58 to 19.39% higher based on the number of filled grain/plant. However, all of BC₂F₃ lines were not resistant to bacterial leaf blight attack.

Key words: Rice, *Oryza sativa* L., MAB, *Hd2*, early maturity, high production

ABSTRAK

Perbaikan tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang untuk sifat umur genjah dan produksi tinggi dapat dilakukan dengan metode *Marker Assisted Backcrossing* (MAB), menggunakan marka *foreground* dan *background*. Tetua donor yang digunakan adalah Nipponbare, dan proses seleksinya menggunakan marka RM1362 dan RM7601 (daerah QTL gen *Hd2*). Proses seleksi dilakukan pada tanaman F₁ sampai BC₂F₂, baik menggunakan marka molekuler ataupun karakter agronomis. Pada tanaman BC₂F₃ dilakukan seleksi lebih detail dan dilakukan pula pengujian ketahanan bakteri hawar daun. Hasil penelitian menunjukkan analisis *foreground* dan *background* tidak cukup sebagai alat seleksi, namun harus dikombinasikan dengan data karakter agronomis. Empat galur pilihan turunan Ciherang x Nipponbare (BC₂F₃ galur 283, 307, 373, 462) bisa dijadikan calon galur harapan yang berumur lebih genjah dengan produksi lebih tinggi dibandingkan Ciherang. Galur-galur BC₂F₃ terseleksi memiliki umur 7-10 hari lebih genjah dibanding Ciherang, sedangkan peningkatan hasil adalah 3,55-9,2% lebih banyak untuk bobot gabah isi/tanaman, dan 3,58-19,39 % lebih banyak untuk jumlah gabah isi/tanaman. Seluruh galur-galur BC₂F₃ tidak tahan terhadap serangan bakteri hawar daun.

Kata kunci: Padi, *Oryza sativa* L., MAB, *Hd2*, umur genjah, produksi tinggi

PENDAHULUAN

Umur padi (*Oryza sativa* L.) sawah yang banyak ditanam petani masih berumur rata-rata 4 bulan, misalnya varietas Ciherang, yang menurut deskripsi padi Badan Litbang Pertanian (2009) berumur 116-125 hari. Varietas Ciherang saat ini menjadi salah satu yang paling banyak ditanam oleh petani. Tanaman yang mirip dengan padi IR64 ini dilepas sejak tahun 2000 sudah banyak diminati, bahkan menggeser dominasi IR64. Pada tahun 2005 Ciherang telah mampu menempati urutan kedua setelah IR64. Pemendekan umur varietas Ciherang diharapkan bisa memberi kesempatan petani menanam lebih dari dua kali setahun.

Nipponbare merupakan salah satu padi kelompok *Oryza sativa* subspecies *japonica* yang

memiliki sifat sensitif terhadap panjang (waktu) penyinaran (Yano *et al.*, 2001). Tanaman yang berasal dari daerah subtropis ini memiliki umur berbunga sekitar 90 hari ketika ditanam di habitat aslinya dengan panjang penyinaran lebih dari 12 jam (Yamamoto *et al.*, 1998); sedangkan pada saat ditanam di daerah tropis dengan panjang penyinaran paling lama 12 jam padi Nipponbare memiliki umur berbunga sekitar 60 hari (Tasliah *et al.*, 2011).

Gen-gen penting yang mengatur waktu pembungaan telah dipetakan dengan baik oleh beberapa peneliti, misalnya Yamamoto *et al.* (1998) telah berhasil melakukan *fine mapping* beberapa gen *Hd* (*Hd1*, *Hd2*, dan *Hd3*) pada persilangan Kasalath dan Nipponbare. Sampai tahun 2008 telah berhasil dipetakan gen *Hd1* sampai *Hd14* (Fujino dan

*Diterima: 12 Januari 2013 – Disetujui - 13 Maret 2013

Sekiguchi, 2005; 2008; dan Nonoue *at al.*, 2008), dengan tetua Kasalath dan Nipponbare. Marka-marka yang telah teridentifikasi terpaut dengan sifat pembungaan tersebut bisa dimanfaatkan sebagai alat seleksi untuk mendapatkan galur-galur genjah hasil persilangan.

Penggunaan metode *Marker Assisted Backcrossing* dalam perakitan padi varietas baru ini dapat mengembalikan proporsi genom tanaman 98% seperti tetua pemulih dengan diperlukan hanya dua kali silang balik, sedangkan dengan cara konvensional diperlukan 4-5 kali silang balik. Individu yang memiliki kondisi genom homozigot mengikuti tetua pemulih terbanyak dipilih untuk tahap persilangan berikutnya (Ribaut dan Hoisington, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk memendekkan umur padi Ciherang dengan tetap memiliki produksi tinggi dengan menggunakan metode *Marker Assisted Backcrossing* (MAB).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada tahun 2009 s.d. 2011 di laboratorium Biologi Molekuler dan rumah kaca di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jln. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor.

Materi

Materi yang digunakan adalah galur-galur F_1 , BC_1F_1 , BC_2F_1 , BC_2F_2 dan BC_2F_3 hasil persilangan padi varietas Ciherang dengan padi varietas Nipponbare. Padi Ciherang digunakan sebagai tetua penerima (*recurrent parent*), sedangkan Nipponbare digunakan sebagai tetua donor untuk gen *Hd2* yang menyumbang umur genjah.

Marka molekuler yang digunakan terdiri dari dua jenis, yakni marka *foreground* dan marka *background*. Marka *foreground* yang digunakan adalah marka pada lokasi QTL untuk gen *Hd2* pada kromosom 7, yakni RM1362 (F: TGATCTAAACAGGCCCTTAG, R: CATCATCAAGACCACATC) dan RM7601 (F: GCCTCGCTGTCGCTAATATC, R: CAGCCTCTCCTTGTGTTGTG), dengan jarak

antar dua marka sekitar 0,5 cM (Fujino dan Sekiguchi, 2008). Marka *background* yang digunakan adalah marka mikrosatelit yang tersebar di seluruh kromosom.

Metode

Seleksi tanaman F_1 s.d. BC_2F_2

Pada tanaman F_1 dilakukan hanya seleksi *foreground* saja, sedangkan pada tanaman BC_1F_1 dilakukan seleksi menggunakan marka *foreground* yang dikombinasikan dengan marka *background*. Setelah dilakukan seleksi berdasarkan marka *foreground*, tanaman yang memiliki pita heterozigot ditanam di pot. Tanaman yang memiliki umur berbunga paling cepat dan jumlah anakan total lebih banyak dibanding tetua Ciherang dipilih untuk disilangbalikkan dengan Ciherang. Analisis *background* dilakukan pada tanaman terpilih tersebut. Satu tanaman yang memiliki jumlah lokus homozigot terbanyak yang dipilih.

Pada tanaman BC_2F_1 dilakukan seleksi *foreground* (individu yang memiliki pita heterozigot dipilih), setelah itu dilakukan seleksi berdasarkan karakter agronomis (umur berbunga 50%, jumlah anakan, dan komponen hasil). Enam tanaman terpilih digunakan dalam analisis *background*. Analisis *background* dilakukan untuk mengkonfirmasi kondisi genom tanaman hasil seleksi. Enam tanaman terpilih tersebut dipakai untuk pertanaman pada generasi berikutnya.

Benih-benih dari enam tanaman BC_2F_1 terpilih digunakan pada kegiatan ini. Pada tanaman BC_2F_2 ini seleksi tanaman dilakukan menggunakan marka *foreground* (individu yang memiliki pita homozigot dipilih), sedangkan analisis *background* tidak dilakukan, dikarenakan seluruh individu yang memiliki berumur genjah dengan produksi tinggi dipilih. Seleksi dilakukan berdasarkan pada umur berbunga dan komponen hasil saja.

Pada tanaman BC_2F_3 dilakukan pengamatan komponen hasil dan ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri. Tabulasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat di dalam Tabel 1.

Tabel 1. Tabulasi jumlah tanaman yang digunakan dalam penelitian

Tanaman	Jumlah tanaman	Jumlah yang lolos seleksi <i>foreground</i>	Jumlah tanaman untuk analisis <i>background</i>	Jumlah marka <i>background</i>	Jumlah tan yang dilanjutkan	Jumlah penanaman
F ₁	19+20	17+14	-	-	-	2x
BC ₁ F ₁	99+81	34+33	6	40	1	2x
BC ₂ F ₁	189	52	6	62	6	1x
BC ₂ F ₂	247	56	-	-	14	1x
BC ₂ F ₃	14	-	-	-	-	1x

Analisis Molekuler

Isolasi DNA yang dilakukan pada setiap generasi tanaman mengacu pada metode Dellaporta *et al.* (1983) yang telah dimodifikasi (potassium asetat diganti dengan chloroform isoamilalkohol). Daun segar dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 2 ml lalu dituang dengan nitrogen cair, kemudian dihaluskan dengan menggunakan sumpit. Serbuk daun ditambah larutan bufer ekstrak, dimurnikan dengan Kloroform-isoamilalkohol (Chisam), dan dipresipitasi menggunakan etanol absolut (96%).

Reaksi PCR dilakukan pada 20 ml volume yang mengandung 1x bufer PCR (10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% Gelatin), 100 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,5 mM primer (F dan R), DNA, dan 1 unit Taq DNA polimerase.

Program PCR yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 menit pada suhu 94°C, selanjutnya dilakukan 35 siklus yang terdiri dari: 45 detik pada suhu 94°C, 45 detik pada suhu 55°C, dan 60 detik pada suhu 72°C. Perpanjangan primer selama 7 menit pada suhu 72°C. Hasil PCR kemudian dipisahkan menggunakan gel poliakrilamid 8%. Pewarnaan DNA dilakukan dengan ethidium bromida. Pita-pita yang muncul didokumentasikan menggunakan alat *gel doc system* (Biorad).

Marka mikrosatelit yang digunakan di dalam seleksi dan konfirmasi *background* dapat dilihat di dalam Tabel 2. Perkiraan grafik genotipe dibuat menggunakan program GGT2 yang dideskripsikan oleh Berloo (2008).

Karakter agronomis dan ketahanan tanaman BC₂F₃

Empat belas nomor BC₂F₃ Ciherang x Nipponbare hasil seleksi dan tetua Ciherang dan Nipponbare (sebagai pembanding) digunakan untuk pengamatan karakter agronomis. Satu nomor tanaman ditanam di ember sebanyak 6 tanaman (dua tanaman/ember). Pengamatan yang dilakukan adalah umur berbunga, jumlah anakan, tinggi tanaman dan beberapa komponen hasil.

Untuk penelitian ketahanan terhadap isolat hawar daun bakteri selain 14 nomor BC₂F₃ dan tetuanya, digunakan pula varietas Code dan Kencana Bali sebagai tanaman kontrol. Isolat bakteri hawar daun yang digunakan adalah isolat No. 93-229 (Koleksi BB-Biogen). Pada umur 4 minggu tanaman diinokulasi menggunakan metode pengguntingan (*clipping method*), dan satu minggu kemudian dilakukan pengamatan pertama dan satu minggu berikutnya dilakukan pengamatan kedua. Pengamatan dilakukan dengan mengukur panjang daun total dan panjang daun yang terkena serangan BLB (*Bacterial Light Blight*), Intensitas serangan diukur dengan membandingkan panjang daun yang terkena serangan BLB dengan panjang daun total.

$$\text{Intensitas Penyakit (IP)} = \frac{\text{Panjang serangan (cm)}}{\text{Panjang daun (cm)}} \times 100\%$$

Kategori ketahanan tanaman adalah: Sangat tahan (ST)/0% terserang, Tahan (T)/1-5%, Agak tahan (AT)/6-12%, Sedang (S)/13-25%, Agak rentan (AR)/26-50%, Rentan (R)/51-75%, Sangat rentan (SR)/76-100% (IRRI, 1996).

Tabel 2. Marka-marka mikrosatelit yang digunakan untuk analisis *background*.

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

Krom=Kromosom cM= centiMorgan; a= digunakan pada tanaman BC₁F₁ b= digunakan pada tanaman BC₂F₁

HASIL

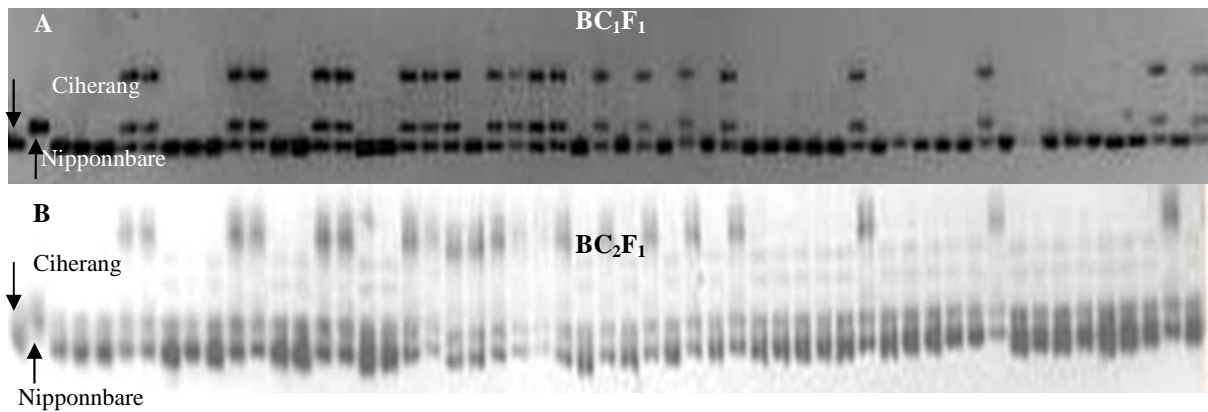
Seleksi tanaman F₁ s.d. BC₂F₂

Pada analisis molekuler menggunakan marka *foreground* (RM1362 dan RM7601) pada tanaman F₁ sampai BC₂F₁ yang dipilih adalah individu yang memiliki pita (alel) dari tetua Ciherang dan Nipponbare, sedangkan pada tanaman BC₂F₂ yang dipilih adalah individu yang memiliki pita (alel) hanya satu, yakni tetua Nipponbare saja. Contoh hasil analisis *foreground* pada tanaman BC₁F₁, dan

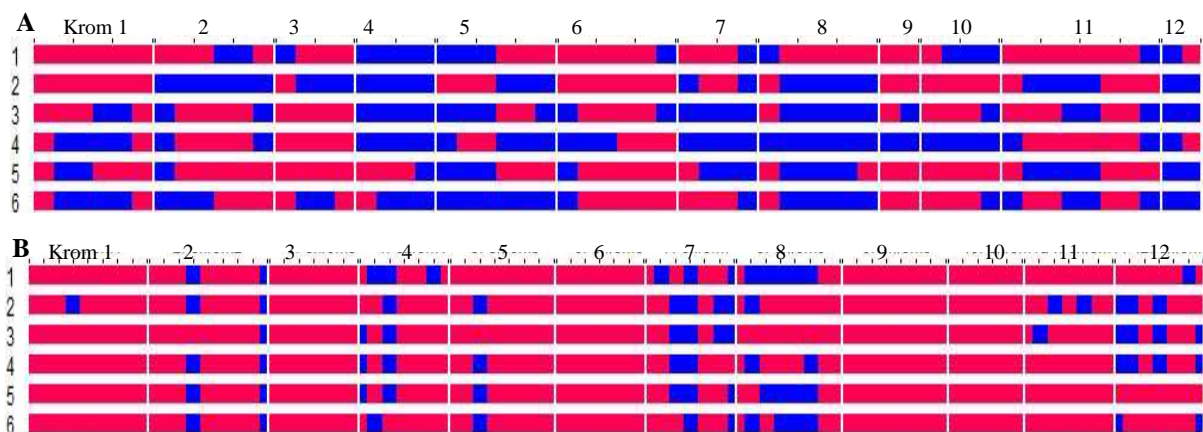
BC₂F₁, dapat dilihat dalam Gambar 1. Hasil analisis *background* tanaman BC₁F₁ dan BC₂F₁ dapat dilihat dalam Gambar 2, sedangkan jumlah lokus homozigotnya dapat dilihat di dalam Gambar 3.

Beberapa data agronomis digunakan untuk mendukung pemilihan individu yang akan dilanjutkan untuk pertanaman berikutnya. Data-data dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

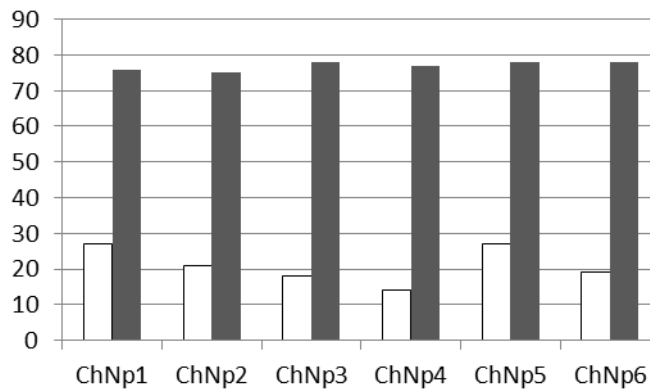
Karakter agronomis dan ketahanan tanaman BC₂F₃



Gambar 1. Hasil elektroforesis pada gel poliakrilamid 8% .
 A. Tanaman BC₁F₁ Ciherang x Nipponbare menggunakan primer RM7601.
 B. Tanaman BC₂F₁ Ciherang x Nipponbare menggunakan primer RM1362
 (individu yang memiliki dua alel dipilih untuk dipelihara dan diamati karakter agronomisnya sebelum disilangbalik atau disilangkan sendiri)



Gambar 2. Kondisi *background* genetik tanaman BC₁F₁ (A) dan BC₂F₁ (B) persilangan Ciherang x Nipponbare.
 ■ = Ciherang ■ = Nipponbare



Gambar 3. Histogram jumlah lokus homozigot pada tanaman BC₁F₁ (□) dan tanaman BC₂F₁ (■)

Tabel 3. Data agronomis tanaman BC₂F₁ terpilih.

Genotipe	Asal Tan BC ₁ F ₁	Umr berbng 50% (hari)*	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah anakan Total*	Bobot gabah isi/tan (gr)*
206**)	353	84	87	22	48,80
220	353	86	95,5	17	44,50
259	353	81	96	19	34,90
312	353	77	91	20	50,40
375	353	82	91	17	43,70
382	353	85	94	15	41,20
Rata-rata		82,50 ± 3,27	92,42 ± 3,41	18,33 ± 2,5	43,92 ± 5,57
Ciherang		88	84,83	13,67	25,07
Nipponbare		52	97	10	9,82

*)peubah utama untuk seleksi; **)pada pertanaman berikutnya galur-galur turunan nomor 206 tidak terpilih

Tabel 4. Data agronomis tanaman BC₂F₂ terpilih.

Genotipe	Asal tan BC ₂ F ₁	Umur berbunga 50% (hr)*	Tinggi tan (cm)	Jml anakan produktif*	Bobot gabah isi/ tan (gr)
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 283	220	84	99,00	11	21,60
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 307	259	79	94,50	9	17,70
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 355	312	70	84,50	4	2,50
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 367	312	70	84,00	2	1,70
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 369	312	70	83,50	4	2,80
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 373	312	74	87,00	8	12,50
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 383	312	74	99,00	9	24,40
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 391	312	72	95,00	11	16,50
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 400	312	72	92,00	8	17,70
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 405	375	72	97,00	12	27,40
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 456	382	70	91,00	6	9,00
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 462	382	74	92,00	8	15,20
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 492	382	77	99,50	12	27,50
BC ₂ F ₂ Cihrg x NB - 500	382	77	98,00	12	25,00
Rata-rata		73,93 ± 4,1	92,57 ± 5,85	8,29 ± 3,27	15,82 ± 9,09
Ciherang		80,33	94,92	8,33	17,88
Nipponbare		57	81,83	11,3	8,70

*)peubah utama untuk seleksi

Pada generasi BC₂F₃ tidak dilakukan analisis molekuler tetapi dilihat efek dari introgresi segmen daerah QTL gen *Hd2*. Profil tanaman BC₂F₃ hasil MAB tersebut dapat dilihat dalam Tabel 5 dan Gambar 4. Hasil inokulasi bakteri hawar daun pada tanaman BC₂F₃ dapat dilihat pada Gambar 5.

PEMBAHASAN

Seleksi tanaman F₁ s.d. BC₂F₂

Pembentukan padi berumur genjah namun dengan hasil tinggi sulit dilakukan, karena semakin pendek umurnya biasanya hasilnya akan semakin sedikit. Nipponbare, sebagai padi subspecies

japonica, umumnya akan berumur genjah ketika ditanam di daerah tropis, karena memiliki sifat *photoperiod sensitivity* (Yano *et al.*, 2001). Daerah yang mengatur pembungaan pada Nipponbare inilah yang dimasukkan ke dalam genom padi Ciherang, tanpa mengurangi potensi produksi padi Ciherang yang sudah tinggi. Sebenarnya terdapat 12 daerah QTL yang mengatur pembungaan pada Nipponbare yang telah dipetakan (*Hd1* s.d. *Hd14*) (Fujino dan Sekiguchi, 2008) dan semua primer telah dipakai untuk mengamplifikasi tetua Ciherang dan Nipponbare, namun QTL *Hd 2, 3, 7, dan 14* yang memberikan hasil polimorfik. Daerah QTL gen *Hd2*

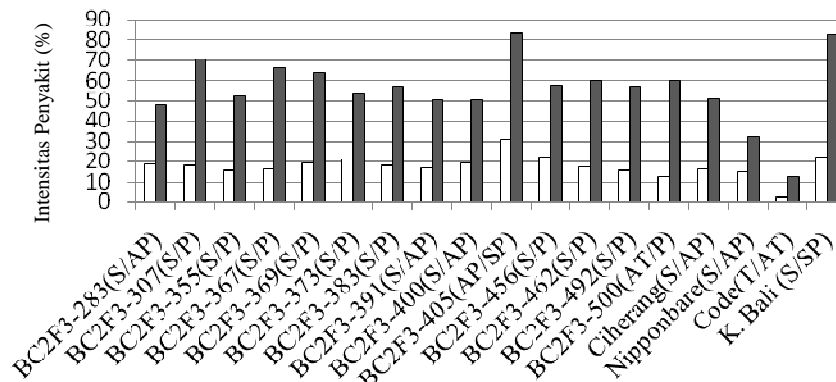
Tabel 5. Profil tanaman BC₂F₃ hasil MAB

Genotipe*)	Asal Tan BC ₂ F ₂	Umur Berbunga 50% (hr)	Umur panen (hari)	Jumlah Anakan Produktif	Tinggi tanaman (cm)	Bobot	Bobot Gabah	Jumlah gabah isi/tan
						100 btr isi (gr)	isi/tan (gr)	
BC₂F₃ Cihrg x Nip-283	283	77	111**	7,83	113,2	2,55	23,05	909,38
BC₂F₃ Cihrg x Nip-307	307	76**	111**	7,83	109,8	2,23	23,28	1048,16
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-355	355	75.5**	109**	6,17	102**	2,07**	12,5**	605,02**
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-367	367	75.83**	109**	7,33	105,5	2,27	18,35	810,11
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-369	369	72**	109**	10,33**	110,3	2,08**	18,33	882,86
BC₂F₃ Cihrg x Nip-373	373	72.33**	105**	9,33	108,5	2,27	21,85	961,55
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-383	383	72**	102**	8,33	110,8	2,22	17,67	798,83
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-391	391	70.67**	102**	10,83**	100,8**	2,02**	15,78**	786,42
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-400	400	71**	105**	8,67	104,5	2,3	18,67	810,41
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-405	405	75.5**	108**	8,17	107,8	2,38	16,62**	696,65
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-456	456	73.5**	108**	8,17	112,7	2,53	18,95	751,57
BC₂F₃ Cihrg x Nip-462	462	77.67	108**	10	110	2,32	23,02	1002,13
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-492	492	74.5**	104**	7,33	102,7**	2,5	15,48**	628,75**
BC ₂ F ₃ Cihrg x Nip-500	500	75**	108**	8,83	109,8	2,52	18,52	737,57
Rata-rata		74,18±2,26	107,07±2,97	8,51±1,28	107,74±3,99	2,38±0,18	18,72±3,18	816,4±132,5
Ciherang		78	115	7,83	111	2,42	21,1	877,96
Nipponbare		56**	102**	6,33	92,17**	2,22	6,65**	302,35**

*)terdiri dari 6 tanaman (2 tanaman/ember); **)berbeda nyata pada uji Dunnet 5% dibandingkan dengan Ciherang



Gambar 4. Profil tanaman BC₂F₃ pada 95 hari setelah sebar. Tanaman BC₂F₃ terlihat lebih cepat menguning.



Gambar 5. Histogram rata-rata intensitas serangan isolat BLB terhadap tanaman BC₂F₃ Ciherang × Nipponbare pada pengamatan pertama (□) dan kedua (■). ST: sangat tahan; T: tahan; AT: agak tahan; S: sedang; AR: agak rentan; R: rentan; SR: sangat rentan

dipilih di dalam penelitian ini dikarenakan jarak antar marka pengapit yang pendek (0,5 cM) di antara empat daerah QTL terpilih, dengan nilai LOD 7,5 (Yano *et al.*, 1996).

Seleksi pada tanaman BC₁F₁ menggunakan marka *foreground* (Gambar 1A) menghasilkan sebanyak 67 dari 180 tanaman BC₁F₁ (37,22%) memiliki pita heterozigot, kemudian diteruskan untuk dipelihara. Enam tanaman terpilih dengan umur berbunga lebih cepat dan jumlah anakan total sama atau lebih banyak disilangbalikkan dengan tetua Ciherang. Keenam tetua inilah yang kemudian dipilih untuk analisis *background* sambil menunggu benih BC₂F₁. Berdasarkan analisis *background* (Gambar 2A) terlihat seluruh kromosom masih mengandung segmen Nipponbare. Jumlah marka homozigot terbanyak dimiliki oleh individu nomor 1 dan 5 (Gambar 3).

Pada seleksi tanaman BC₂F₁ segmen DNA yang dipilih menggunakan marka *foreground* adalah yang memiliki dua pita/heterozigot (Gambar 1B). Sebanyak 52 tanaman (27,5%) (Tabel 1) dipelihara untuk dilihat umur berbunga dan jumlah anakan totalnya (Tabel 1). Dari tanaman yang ditanam terpilih sebanyak 6 individu yang memiliki umur berbunga lebih cepat, jumlah anakan lebih banyak, dan bobot gabah isi lebih banyak dibandingkan Ciherang (Tabel 3). Individu inilah yang kemudian diteruskan pada pertanaman BC₂F₂. Enam tanaman terpilih

memiliki potensi hasil jauh melampaui Ciherang, dengan umur berbunga lebih cepat dibandingkan Ciherang dan semua individu terpilih memiliki bobot gabah isi jauh lebih besar dibanding Ciherang, bahkan pada nomor 312 umur berbunganya 77 hari (11 hari lebih cepat) dengan bobot gabah isi 50,4 gram (25,33 gram lebih banyak).

Analisis *background* (Gambar 2B) sebagian kromosom diperkirakan sudah bersih dari segmen Nipponbare, yakni pada kromosom 3, 6, 9, dan 10, sedangkan pada kromosom 1 hanya individu nomor 2 (BC₂F₁ nomor 220) yang memiliki segmen Nipponbare. Hal ini menunjukkan segmen Ciherang sudah mulai mendominasi dari genom tanaman terpilih. Semakin banyak segmen Ciherang diharapkan sifat tanaman akan semakin mirip dengan Ciherang. Jumlah lokus homozigot juga sudah mencapai 75 rata-rata 6,25/kromosom). Analisis *background* pada generasi ini hanya untuk melihat komposisi genetik dari tanaman terpilih, tidak digunakan sebagai alat seleksi. Berbeda pada penelitian yang dilakukan oleh Septiningsih *et al.* (2009) dan Prasetyono *et al.* (2012), di mana marka *background* digunakan sebagai alat seleksi sampai terbentuknya individu yang homozigot. Penggunaan dua peubah (umur genjah dan produksi tinggi) sebagai tujuan seleksi memang membatasi kegiatan analisis *background*. Idealnya analisis *background* akan menyaring hanya satu individu terbaik tiap generasi

untuk digunakan pada kegiatan selanjutnya.

Seleksi pada tanaman BC_2F_2 menghasilkan tanaman dengan lokus QTL gen *Hd2* yang telah homozigot untuk Nipponbare, dimana 56 tanaman dari 247 tanaman (Tabel 1) memenuhi syarat untuk itu. Seluruh tanaman tersebut berasal dari enam individu BC_2F_1 yang terpilih. Pemilihan pita homozigot untuk segmen Nipponbare pada lokus gen *Hd2* ini penting dilakukan karena proses seleksi molekuler hanya sampai generasi BC_2 , maka pada generasi BC_2F_2 individu yang diteruskan adalah yang memiliki segmen Nipponbare untuk daerah target. Hal yang menarik pada tanaman BC_2F_1 dan BC_2F_2 adalah, pada peubah bobot gabah isi/tanaman. Seluruh tanaman BC_2F_1 terpilih semuanya memiliki bobot gabah isi/tanaman jauh lebih banyak dibandingkan Ciherang, sedangkan pada tanaman BC_2F_2 bobot gabah isi/tanaman sangat bervariasi bahkan 9 dari 14 nomor nilainya lebih kecil dibandingkan Ciherang. Hal ini menunjukkan adanya dugaan efek heterosis pada generasi BC_2F_1 sehingga menghasilkan jumlah gabah isi yang tinggi. Efek heterosis antara padi *indica* dan *japonica* ini telah lama diketahui (Jihai dan Zaongton, 1988; Vaithiyalingan dan Nadarajan, 2010), dan sudah dimanfaatkan di dalam program padi hibrida. Pada Tabel 4 terlihat turunan tanaman BC_2F_1 nomor 312 yang memiliki bobot gabah isi lebih kecil dibanding Ciherang, padahal pada tanaman BC_2F_1 bobot gabah isinya bisa dua kali lipat dibanding Ciherang. Turunan dari nomor 312 tersebut bahkan hanya memiliki bobot gabah isi 2,5; 1,7; dan 2,8 gram/tanaman, menunjukkan banyaknya kehampaan. Hal ini menunjukkan masih terjadi ketidakstabilan komposisi genom. Tanaman tersebut tetap dipilih karena memiliki umur berbunga sangat genjah (70 hari, 10 hari lebih cepat dibandingkan Ciherang).

Karakter agronomis dan ketahanan tanaman BC_2F_3

Tanaman BC_2F_3 merupakan tanaman yang sudah mulai memiliki kestabilan genom. Pada generasi ini biasanya sudah dapat dilakukan seleksi di lapangan. Pada penelitian ini pertanaman masih di

rumah kaca namun satu nomor ditanam 6 tanaman. Analisis molekuler tidak dilakukan lagi dengan asumsi segmen Nipponbare pada lokus *Hd2* sudah berada dalam kondisi homozigot dan tidak akan berubah lagi menjadi heterozigot. Profil tanaman BC_2F_3 dapat dilihat dalam Gambar 3. Tanaman BC_2F_3 tersebut terlihat memiliki umur lebih genjah dibanding tetua Ciherang, terlihat daun-daunnya sudah mulai menguning dibandingkan dengan tetuanya. Hal ini sesuai dengan pengukuran umur berbunga dan umur panen dari tanaman tersebut (Tabel 5). Seluruh tanaman memiliki umur berbunga dan umur panen lebih cepat dibandingkan Ciherang. Kisaran umur berbunga adalah 71-77 hari (Ciherang 78 hari), sedangkan umur panen berkisar 102-111 (Ciherang 115 hari). Berdasarkan data tersebut mengindikasikan segmen daerah QTL *Hd2* telah memberikan efek positif berupa pengurangan umur berbunga sampai 7 hari dan umur panen sampai 13 hari.

Dari 14 galur yang diuji empat galur BC_2F_3 terdapat empat galur (283, 307, 373, 462) yang bisa dijadikan calon galur-galur harapan karena selain memiliki umur yang lebih genjah dibandingkan tetua Ciherang, galur tersebut memiliki bobot gabah isi dan jumlah gabah isi lebih banyak dibandingkan Ciherang. Pengurangan umur panen berkisar 4-10 hari sedangkan peningkatan hasil berkisar 0,75-2,18 gram/tanaman lebih banyak untuk bobot gabah isi/tanaman, dan 31,42-170,2 butir lebih banyak untuk jumlah gabah isi/tanaman. Galur nomor 369 walaupun memiliki jumlah butir isi lebih banyak namun bobot gabah isinya lebih ringan dibanding Ciherang, hal ini menunjukkan bobot tiap butirnya jauh lebih ringan. Jumlah anakan produktif tidak bisa dijadikan ukuran dalam seleksi untuk produksi tinggi, karena walaupun galur nomor 369 dan 391 memiliki rata-rata jumlah anakan produktif 10,83 (38% lebih banyak), namun bobot gabah isi dan jumlah gabah isinya lebih kecil dibanding Ciherang. Empat galur pilihan ini, sebaiknya ditanam di lapangan untuk melihat kestabilan umur genjah dan produksi tingginya

Pengujian galur-galur hasil MAB ini menggunakan isolat hawar daun bakteri perlu dilakukan

untuk melihat tingkat ketahanan galur-galur tersebut terhadap penyakit bakteri hawar daun. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit utama pada padi sawah di Indonesia, dimana hampir semua provinsi di Indonesia telah terpapar penyakit ini (Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, 2011). Pada Gambar 5 terlihat Code masih memiliki ketahanan yang cukup untuk mempertahankan diri, sedangkan Ciherang beserta tanaman BC₂F₃nya termasuk agak peka dan peka. Nipponbare diduga tidak memiliki gen ketahanan terhadap bakteri hawar daun. Galur-galur BC₂F₃ ini dipastikan tidak akan tahan menghadapi serangan bakteri hawar daun di lapangan. Walaupun demikian, tanaman BC₂F₃ masih memiliki kemampuan memulihkan diri, terbukti dari empat belas galur yang diuji empat galur di antaranya masih memberikan hasil yang lebih tinggi dibanding Ciherang.

KESIMPULAN

Seleksi untuk sifat umur genjah dan produksi tinggi tidak cukup menggunakan marka molekuler (*foreground* dan *background*), tapi harus digabung dengan data karakter agronomis. Empat galur turunan Ciherang hasil MAB (BC₂F₃ nomor 283, 307, 373, 462) bisa dijadikan calon galur harapan yang berumur lebih genjah dengan produksi lebih tinggi dibandingkan Ciherang. Pengurangan umur berbunga tanpa mengurangi hasil padi Ciherang melalui jalur silang balik paling pendek 7-10 hari, sedangkan peningkatan hasil sebesar 3,55-9,2% untuk bobot gabah isi/tanaman, dan 3,58-19,39 % untuk jumlah gabah isi/tanaman.

SARAN

Penggabungan gen-gen *Hd 2, 3, 7, dan 14* ke dalam padi Ciherang bisa dilakukan untuk mendapatkan efek pemendekan umur yang lebih besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Proyek Sinta (2009) dan RIPP (2010, 2011) melalui kerjasama Kemendiknas, Kemenristek dan Kementan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Litbang Pertanian.** 2009. Pedoman Umum IP Padi 400. <http://www.litbangdeptan.go.id>, [13 Desember 2010].
- Berloo RV.** 2008. GGT 2.0: Versatile software for visualization and analysis of genetic data. *Journal of Heredity* **99(2)**, 232-236.
- Dellaporta SL, J Wood, and JB Hicks.** 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* **1(4)**, 19-21.
- Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan.** 2011. Prakiraan serangan BLB pada padi di Indonesia masa tanam 2011. <http://www.deptan.go.id>, [15 November 2011].
- Fujino K and H Sekiguchi.** 2005. Mapping of QTLs conferring extremely early heading in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **111**, 393-398.
- Fujino K and H Sekiguchi.** 2008. Mapping of quantitative trait loci controlling heading date among rice cultivars in the northernmost region for Japan. *Breeding Science* **58**, 367-373.
- IRRI.** 1996. *Standard Evaluation System for Rice*, 52. Philipinnes.
- Jihai Z and S Zaongtan.** 1988. Compatibility and heterosis between indica and japonica rice. *Journal of Rice Science* **2(1)**, 23-28.
- Nonoue Y, K Fujino, Y Hirayama, U Yamanouchi, SY Lin and M Yano.** 2008. Detection of quantitative trait loci controlling extremely early heading in rice. *Theoretical and Applied Genetics* **116**, 715-722.
- Prasetyono J, T Suhartini, IH 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. *Jurnal Agronomi Indonesia* **40(2)**, 83-90.
- Ribaut JM and M Hoisington.** 1998. Marker-assisted selection : new tools and strategies. *Trends in Plant Sci* **3**, 236-239.
- Septiningsih EM, AM Pamplona, DI Sanchez, CN Neeraja, GV Vergara, S Heuer, AM Ismail and DJ Mackill.** 2009. Development of submergence-tolerant rice cultivars: the *Sub1* locus and beyond. *Annals of Botany* **103**, 151-160.
- Tasliah, J Prasetyono, A Dadang, M Bustamam dan S Moeljopawiro.** 2011. Studi agronomis dan molekuler padi umur genjah dan sedang. *Berita Biologi* **10(5)**, 663-673.
- 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, SY 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. *Theoretical and Applied Genetics* **97**, 37-44.

Yano M, H Yoshiaki, Y Kuboki, SY Lin, Y Nagamura, N Kurata, T Sasaki and Y Minoba. 1996. QTL analysis as an aid to tagging genes that control heading time in rice. *Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium*, 650-656. Manila 16-20 Oct 1995. GS Khush,

G Hettel and T Rola (Eds.). International Rice Research Institute.

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.