

# Analisis Molekuler dan Keragaan Agronomis Galur-galur Padi BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8* (Molecular Analysis and Agronomic Performance of BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Crosses Code x *qTSN4* and Code x *qDTH8*)

Tasliah\*, Ma'sumah, Kurniawan R. Trijatmiko, dan Joko Prasetyono

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; \*E-mail: tasliah1@yahoo.co.id

Diajukan: 8 Desember 2014; Direvisi: 23 Desember 2014; Diterima: 24 Februari 2015

## ABSTRACT

Breeding based on molecular marker has become a routine activity in the current rice research. The development of an early maturity of rice variety with high yield is needed to increase national rice production. This study aimed to determine the pattern of alleles for loci controlling total spikelet number and number of days to heading, as well as agronomic performances of the BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4* and Code x *qDTH8* populations. The study was conducted at the Indonesian Center for Biotechnology and Genetic Resources Research and Development from January to August 2014. The plant materials used were Code (a national variety with bacterial blight resistance gene [*Xa7*]), IR64-Nils-*qTSN4*[YP9] (*qTSN4* that contains a locus controlling the number of spikelet), IR64-Nils-*qDTH8*[YP1] (*qDTH8* that contains a locus controlling the number of days to heading), BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4*, and BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qDTH8*. A total of 250 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> plants of each crosses were selected using molecular markers of RM20582 for *Xa7* gene, RM17483 and RM6909 for QTL position of *qTSN4*, RM5556 and RM6838 for QTL position of *qDTH8*. Based on molecular analysis, there were 63 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* lines and 65 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* lines showing heterozygote alleles for *qTSN4* or *qDTH8* loci and were homozygote for *Xa7* locus (HHA pattern). Five plants from each locus target were backcrossed to the recurrent parent, Code, to obtain BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> seeds. The remaining BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> plants were self-pollinated to obtain BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> seeds. Observations on some agronomic characters demonstrated that the BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> plants showed higher yield potential than Code and the flowering time of the BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> progenis were also earlier than Code. These results indicated that the yield potential of Code could be improved by introgression of *qTSN4* and *qDTH8* loci into the Code genome.

**Keywords:** Molecular analysis, agronomic performance, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4*, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qDTH8*.

## ABSTRAK

Pemuliaan berbasis marka molekuler sudah menjadi hal rutin dalam penelitian padi saat ini. Perakitan padi yang berumur genjah dan memiliki hasil tinggi sangat diperlukan untuk meningkatkan produksi padi nasional. Penelitian ini bertujuan mengetahui pola alel lokus QTL untuk sifat jumlah bunga/spikelet dan umur berbunga serta melihat keragaan agronomis pada galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8*. Penelitian dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian pada bulan Januari sampai dengan Agustus 2014. Materi yang digunakan adalah tetua Code (memiliki gen ketahanan bakteri hawar daun [*Xa7*]), IR64-NILs-*qTSN4*[YP9] (*qTSN4*, memiliki lokus yang mengatur jumlah spikelet lebih banyak), IR64-NILs-*qDTH8*[YP1] (*qDTH8*, memiliki lokus yang mengatur umur berbunga lebih genjah), BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4*, dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qDTH8*. Sebanyak 250 tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> tiap-tiap persilangan diseleksi secara molekuler menggunakan marka RM20582 untuk posisi QTL gen *Xa7*, marka RM17483 dan RM6909 untuk posisi QTL *qTSN4*, marka RM5556 dan RM6838 untuk posisi QTL *qDTH8*. Berdasarkan analisis molekuler, telah diperoleh 63 individu BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan 65 individu BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* yang memiliki alel heterozigot untuk lokus *qTSN4* atau *qDTH8* dan alel homozigot untuk lokus gen *Xa7* (pola HHA). Lima tanaman per populasi masing-masing disilangbalikkan dengan Code untuk memperoleh benih BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>. Berdasarkan pengamatan beberapa karakter agronomis, terlihat beberapa tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> memiliki potensi hasil lebih tinggi melebihi Code dengan umur berbunga jauh lebih cepat dibanding dengan Code. Hal ini mengindikasikan potensi hasil Code dapat ditingkatkan dengan introgresi lokus *qTSN4* dan *qDTH8*.

**Kata kunci:** Analisis molekuler, keragaan agronomis, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4*, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qDTH8*.

## PENDAHULUAN

Ketersediaan beras secara global diperkirakan tidak mampu mengimbangi pertumbuhan penduduk dunia apabila tidak ada terobosan yang berarti (Mohanty, 2013). Hingga tahun 2035, peningkatan produksi padi sebesar 26% diperlukan untuk memenuhi kebutuhan pangan penduduk yang jumlahnya semakin meningkat (Seck *et al.*, 2012). Penggunaan varietas padi unggul baru merupakan salah satu upaya peningkatan produksi padi.

Salah satu varietas padi nasional yang telah diadopsi petani adalah Code. Code merupakan kelompok padi sawah varietas unggul tahan hama dan penyakit hasil persilangan IR64 dan IRBB7. Padi Code berumur 115–125 hari memiliki potensi hasil hingga 7,5 t/ha. Varietas ini mengandung gen *Xa7* yang terbukti tahan terhadap penyakit hawar daun bakteri (HDB) hingga saat ini (Tasliyah *et al.*, 2013). Potensi hasil ini masih dapat diperbaiki dengan bantuan marka molekuler menggunakan metode *marker-assisted backcrossing* (MAB).

*International Rice Research Institute* (IRRI) telah menghasilkan beberapa galur dengan latar belakang padi jenis *indica* untuk sifat jumlah bulir isi lebih banyak dan umur berbunga lebih awal (Fujita *et al.*, 2009; 2012). Galur tersebut terbukti dapat menaikkan potensi hasil IR64 sebesar 10%. Introgresi galur tersebut ke dalam genom Code diharapkan dapat menaikkan potensi hasil Code minimal 10%. Salah satu NIL yang cukup menonjol adalah IR64-NIL-*qTSN4* yang memiliki introgresi QTL jumlah total bulir (isi dan hampa) per malai pada kromosom 4. Pada pengujian di IRRI, jumlah bulir isi per malai pada IR64 sebesar  $114,3 \pm 11,5$ , sementara pada NIL-*qTSN4*  $179,5 \pm 16,4$ , sedangkan jumlah bulir isi total per malai pada IR64 sebesar  $141,2 \pm 17,8$ , sementara pada NIL-*qTSN4*  $197,6 \pm 19,6$  (Fujita *et al.*, 2012). Hasil gabah kering giling 4 t/ha pada IR64 dan 5 t/ha pada galur tersebut (naik 20%) didapatkan pada pengujian menggunakan dosis pupuk urea 195 kg/ha.

Dengan penggunaan metode MAB ini, untuk mengembalikan genom tanaman 98% seperti tetua pemulih (*recurrent parent*) dibutuhkan 2 kali silang balik, sedangkan dengan cara tradisional diperlukan 4–5 kali silang balik. Apabila diinginkan satu segmen gen saja tanpa ada gangguan dari gen pengikut lain (tidak ada *linkage drag*), dengan cara tradisional diperlukan sampai 100 kali silang balik yang membutuhkan waktu 50 tahun, sedangkan bila menggunakan marka molekuler cukup dilakukan 2 kali silang balik (Ribaut dan Hoisington, 1998).

Sejak tahun 2013, telah dilakukan kegiatan untuk meningkatkan produksi padi varietas Code dengan

memasukkan lokus yang mengatur jumlah bunga/spikelet dan umur genjah ke dalam genom Code melalui metode MAB. Penelitian ini bertujuan mengetahui pola alel lokus QTL untuk sifat jumlah spikelet dan umur berbunga serta melihat keragaan agronomis pada galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> persilangan Code x *qTSN4* dan Code x *qDTH8*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di rumah kaca dan Laboratorium Biologi Molekuler Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor. Penelitian berlangsung dari bulan Januari sampai dengan Agustus 2014.

### Materi Genetik

Materi genetik yang digunakan adalah padi varietas Code, IR64-NILs-*qTSN4*[YP9] (*qTSN4*), IR64-NILs-*qDTH8*[YP1] (*qDTH8*), 250 galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qTSN4*, dan 250 galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Code x *qDTH8*.

### Isolasi DNA Genomik

Daun diambil dari tetua dan 250 galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> tiap-tiap persilangan yang berumur sekitar 2 minggu di dalam bak perkecambahan. DNA diisolasi dari daun secara miniprep dengan mengacu pada metode Dellaporta (*Dellaporta et al.*, 1983) yang telah dimodifikasi.

### Marka SSR Berpautan dengan Lokus Target

Marka molekuler yang digunakan adalah marka pengapit untuk mendeteksi lokus QTL yang mengatur sifat jumlah bulir isi (*qTSN4*), umur berbunga (*qDTH8*), dan lokus yang mengatur ketahanan terhadap penyakit HDB (*Xa7*). Sekuen primer marka pengapit lokus target tersebut disajikan dalam Tabel 1.

### Analisis PCR Marka SSR Berpautan dengan Lokus Target

Proses PCR menggunakan volume sebanyak 20  $\mu$ l yang berisi bufer 1 $\times$ , dNTPs 100  $\mu$ M, primer 0,5  $\mu$ M (F dan R), 50–100 ng DNA, dan 1 unit Taq DNA polimerase. Program PCR yang diaplikasikan adalah suhu 94°C selama 5 menit untuk denaturasi permulaan, selanjutnya 35 siklus yang terdiri atas: suhu 94°C selama 60 detik untuk denaturasi, suhu 55°C selama 60 detik untuk penempelan primer, dan suhu 72°C selama 2 menit untuk perpanjangan primer. Perpanjangan primer terakhir dilakukan pada suhu 72°C selama 7 menit. Produk PCR kemudian dipisahkan menggunakan gel poliakrilamida 8% selama 2 jam pada 80 V. Pewarnaan DNA dilakukan dengan merendam di dalam larutan EtBr dan didokumentasi menggunakan ChemiDoc™.

### Observasi Keragaan Agronomis Tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>

Tanaman yang memiliki pita heterozigot untuk lokus *qTSN4* (RM17483 dan RM6909) dan lokus *qDTH8* (RM5556 dan RM6838) serta pita homozigot untuk lokus gen *Xa7* (RM20582), dipindahkan ke dalam ember percobaan berisi 10 kg tanah (dua tanaman per ember). Setiap ember tanaman dipupuk dengan 380 mg urea, 560 mg SP36, dan 380 mg KCl. Pemeliharaan tanaman dilakukan sesuai prosedur standar. Pengamatan dilakukan terhadap karakter agronomis, seperti tinggi tanaman, jumlah anakan produktif, dan umur berbunga, juga komponen hasil, seperti panjang malai, jumlah malai, jumlah bulir isi per tanaman, jumlah bulir hampa per malai, dan bobot bulir isi per tanaman.

### Analisis Data

Analisis statistik sederhana untuk karakter agronomis dilakukan untuk mendapatkan gambaran

seberapa besar kemiripan galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> terpilih (pola HHA) dengan tetua Code, mengingat latar belakang (*background*) genetik tetua donor dan Code sama-sama IR64.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Molekuler Tanaman Pembawa Lokus Target

Hasil analisis molekuler 250 tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> tiap-tiap persilangan dapat dilihat dalam Tabel 2 dan Gambar 1. Pola genotipe tiap individu menggambarkan pola segregasi genom individu masing-masing. Pada tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> umumnya dijumpai dua tipe alel, yakni alel homozigot (A) dari tetua pemulih (Code) dan alel heterozigot dari tetua pemulih dan tetua donor (H) (Collard *et al.*, 2005). Namun, pada penelitian ini selain dua alel tersebut, dijumpai pula alel homozigot untuk tetua donor (B). Alel homozigot B ini

**Tabel 1.** Marka molekuler yang digunakan dalam kegiatan seleksi lokus target.

Marka	Kromosom	Lokus	Sekuen	Referensi
RM17483	4	<i>qTSN4</i>	F-TAGCTTCGGTTCTTGATCGTTGG R-AAACAGATTGCTCACCACCTTGG	Fujita <i>et al.</i> (2012)
RM6909	4	<i>qTSN4</i>	F-AAGTACTCTCCCGTTTCAAA R-CCTCCCATAAAAATCTTGTC	Fujita <i>et al.</i> (2012)
RM5556	8	<i>qDTH8</i>	F-ATCTCCCTCCCTCCTCAC R-TCCACACCTTCACAGTTGAC	Fujita <i>et al.</i> (2010)
RM6838	8	<i>qDTH8</i>	F-ATTAATACCGCTACCACGCG R-TCCTCCTCCACCTCAATCAC	Ishimaru, komunikasi pribadi, 2012
RM20582	6	<i>Xa7</i>	F-AGAGCGTCGCTTCCACATCC R-GGCCAATACGACGATACATTACCG	Chen <i>et al.</i> (2008)

**Tabel 2.** Pola alel individu BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8*.

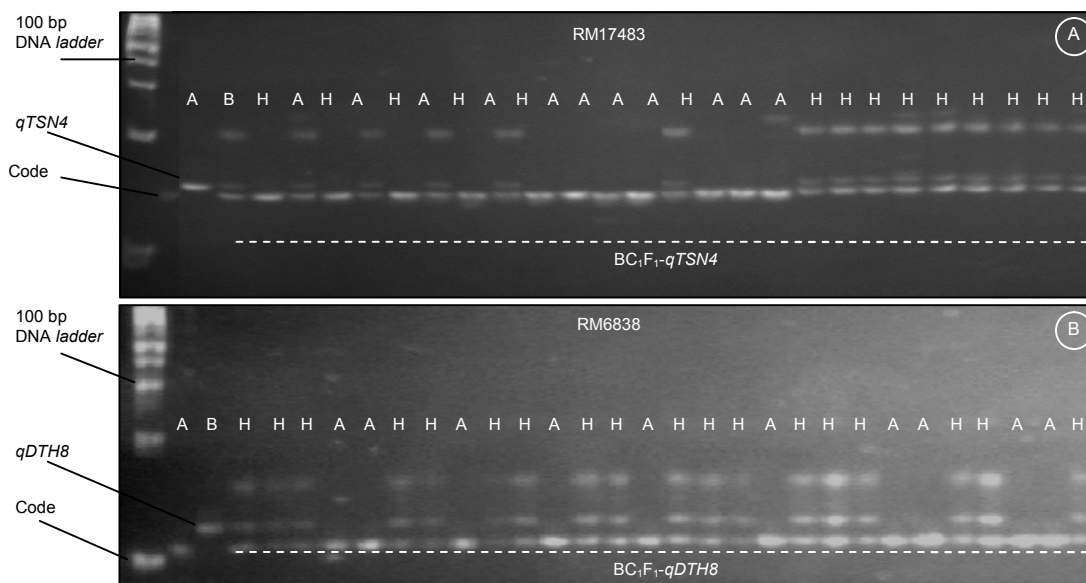
RM17483/RM6838 ( <i>qTSN4/qDTH8</i> )	RM6909/RM5556 ( <i>qTSN4/qDTH8</i> )	RM20582 ( <i>Xa7</i> )	Jumlah tanaman*	
			BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>
H	H	A	63 (25,82)**	65 (26,32)***
H	H	H	53 (21,2)	45 (18)
A	H	A	68 (27,2)	8 (3,2)
H	A	A	2 (0,8)	9 (3,6)
A	A	H	3 (1,2)	60 (24)
A	A	A	0 (0)	41 (16,4)
H	A	H	0 (0)	7 (2,8)
A	H	H	49 (19,6)	9 (3,6)
A	H	B	2 (0,8)	0 (0)
B	H	A	1 (0,4)	1 (0,4)
A	B	H	1 (0,4)	0 (0)
H	B	A	1 (0,4)	0 (0)
B	B	A	(0,4)	0 (0)
B	A	A	0 (0)	1 (0,4)
B	A	H	0 (0)	1 (0,4)
Total galur yang dapat diamati			244 (97,6)	247 (98,8)
Tanaman mati			6 (2,4)	3 (1,2)

A = alel Code, B = alel *qTSN4* atau *qDTH8*, H = alel heterozigot.

\*Angka di dalam kurung menunjukkan persentase.

\*\*Lima tanaman disilangbalikkan dengan Code, 5 tanaman mati, 53 tanaman digunakan untuk melihat keragaan agronomisnya.

\*\*\*Lima tanaman disilangbalikkan dengan Code, 1 tanaman mati, 59 tanaman digunakan untuk melihat keragaan agronomisnya.



**Gambar 1.** Contoh hasil amplifikasi tanaman  $BC_1F_1$  Code x IR64-NILs-*qTSN4* dan  $BC_1F_1$  Code x IR64-NILs-*qDTH8* yang dipisahkan menggunakan gel poliakrilamid 8%. Pola pita yang didapatkan: A = alel Code, B = alel *qTSN4* atau *qDTH8*, H = heterozigot (alel Code dan *qTSN4* atau alel Code dan *qDTH8*).

mestinya tidak muncul pada individu tanaman hasil silang balik (*backcross*). Hal ini terjadi kemungkinan karena pada saat dilakukan kastrasi, bunga telah mengalami polinasi dari serbuk sari bunga yang sama (*self-pollinated*). Hal ini memang kerap terjadi pada tanaman menyerbuk sendiri, seperti padi, yang bunga jantan dan bunga betinanya terdapat dalam satu bunga. Struktur morfologis putik yang memanjang sebelum bunga mekar juga disinyalir memberi peluang yang lebih besar pada tanaman tersebut untuk menyerbuk sendiri (Matsui dan Kagata, 2003). Tanaman yang memiliki alel homozigot *qTSN4* atau *qDTH8* ini tidak dapat digunakan pada kegiatan selanjutnya. Pola alel yang seperti ini hanya dijumpai pada sebagian kecil tanaman, yaitu sebanyak sembilan tanaman dari total 500 tanaman yang diamati (1,8%).

Daerah QTL *qTSN4* yang terletak pada kromosom 4 diapit oleh beberapa marka SSR. Sebenarnya terdapat banyak marka di sekitar daerah tersebut, namun hasil analisis survei tetua menggunakan marka-marka pengapit terpilih dua marka SSR (RM17483 dan RM6909) yang dapat digunakan sebagai alat seleksi untuk mendapatkan tanaman yang membawa lokus *qTSN4*. Marka ini terletak pada ujung bawah kromosom 4 dengan jarak kedua marka 0,97 Mbp (Fujita *et al.*, 2012). Jarak antara dua marka tersebut setara dengan 3,88 cM. Jarak genetik tersebut sebetulnya sudah sempit, namun peristiwa pindah silang (*crossing over*) pada daerah di antara dua marka tersebut masih mungkin terjadi. Hal ini terbukti dari hasil penelitian ini, yaitu pola alel yang dihasilkan oleh dua marka tersebut ada yang berbeda (Tabel 2).

Pada studi lanjutan daerah QTL *qTSN4*, telah dapat diidentifikasi gen *SPIKE* (*spikelet number*) dan selanjutnya juga telah dilakukan studi ekspresi gen *SPIKE* pada padi *indica* IR64 (Fujita *et al.*, 2013). Dari studi ekspresi tersebut, diketahui gen *SPIKE* dapat meningkatkan jumlah spikelet melalui efek pleiotropik. Dapat diketahui juga bahwa lokasi gen tersebut berada dekat dengan marka RM17483, namun masih jauh dengan marka RM6909. Oleh karena itu, diperlukan survei tetua lagi menggunakan marka-marka di antara ujung gen *SPIKE* dan marka RM6909. Beberapa marka *insertion-deletion* (indel) telah dibuat di antara marka tersebut dan dapat dimanfaatkan sebagai marka baru untuk mendapatkan marka yang jarak antara keduanya tidak terlalu jauh dengan lokus *qTSN4*.

Lokus *qDTH8* yang terletak pada lengan atas kromosom 8 diapit oleh beberapa marka. Jarak antara marka RM6838 dan RM5556 sekitar 1,261 Mbp (atau setara dengan sekitar 5,044 cM) (Wei *et al.*, 2010; www.gramene.org [23 November 2014]). Eksplorasi marka untuk mendapatkan marka yang berdekatan masih diperlukan mengingat jarak antar dua marka yang telah diidentifikasi masih tergolong panjang (1,261 Mbp) sehingga kemungkinan terjadinya pindah silang (*crossing over*) antar kedua marka masih tinggi.

Informasi lokus gen *Xa7* diperoleh berdasarkan Chen *et al.* (2008), yaitu gen *Xa7* telah dipetakan secara lebih dekat pada tetua IRBB7. Gen *Xa7* diidentifikasi berada di kromosom 6 dengan interval 0,21 cM di antara marka STMS (GDSSR02) dan SSR (RM20593). Marka RM20593 sendiri berada di sekitar

daerah 28.959.319–28.959.634 bp (www.shigen.nig.ac.jp/rice/ [16 Maret 2015]). Apabila jarak antara dua marka tersebut 0,21 cM (1 cM setara 250.000 bp), gen *Xa7* diperkirakan berada di antara daerah 28.906.319 bp dan 28.959.319 bp atau 28.906.819 bp dan 28.959.634 bp. Pada eksplorasi selanjutnya, marka-marka SSR yang dapat digunakan sebagai alat seleksi adalah RM20580, RM20590, RM20595, dan RM20591 (Chen *et al.*, 2012). Marka yang digunakan pada penelitian ini adalah RM20582 yang terletak di antara 28.791.455 bp dan 28.791.554 bp. Marka ini terletak berdekatan dengan marka RM20580. Hal ini dilakukan karena marka-marka yang merujuk pada gen *Xa7* yang didesain oleh Chen *et al.* (2008; 2012) tersebut tidak dapat membedakan padi IR64 dengan Code (mengandung *Xa7*) (tidak dipublikasikan). Genom IR64 sebagian besar identik dengan genom *qTSN4* dan *qDTH8* karena kedua NIL tersebut dirakit menggunakan IR64 sebagai tetua pemulih. Marka-marka lokus gen *Xa7* yang telah didesain digunakan untuk pemetaan menggunakan tetua IR24 dengan IRBB7.

Pada penelitian ini, untuk mempertahankan segmen lokus gen *Xa7* hanya digunakan satu marka saja (RM20582) karena persilangan yang digunakan adalah silang balik ke tetua Code yang mengandung gen *Xa7*. Marka ini digunakan hanya untuk melihat apakah tetua pemulih (Code) yang digunakan benar-benar Code. Pada proses silang balik tersebut, sebagian besar genom BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> diisi oleh genom Code. Pada penelitian ini, tanaman yang dipilih adalah tanaman yang mengandung alel heterozigot untuk lokus *qTSN4* atau *qDTH8*, sedangkan pada lokus gen *Xa7* dipilih yang homozigot untuk Code (Tabel 2).

### Keragaan Karakter Agronomi

Sebanyak 53 progeni BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan 59 progeni BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* yang memiliki pita heterozigot untuk lokus *qTSN4* atau *qDTH8* dan homozigot lokus *Xa7* dipilih untuk diamati karakter agronomisnya. Tanaman-tanaman tersebut selanjutnya dibiarkan menyerbuk sendiri agar menghasilkan benih-benih BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub>.

Tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> yang diamati adalah tanaman yang memiliki pola genotipe HHA. Hasil pengamatan beberapa karakter agronomis disajikan pada Tabel 3. Progeni BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> yang diamati menunjukkan variasi yang besar pada seluruh peubah yang diamati, kecuali karakter umur berbunga. Untuk umur berbunga, progeni turunan Code x *qTSN4* atau Code x *qDTH8* memiliki umur berbunga yang lebih cepat dibanding dengan tetua pemulih (Code) (Gambar 2). Lokus *qTSN4* sebenarnya mengandung gen *SPIKE* yang identik dengan gen *Narrow leaf 1 (NAL1)* yang bersifat memengaruhi peningkatan jumlah spikelet melalui

pembesaran ukuran daun, sistem perakaran, dan jumlah jaringan pembuluh (*vascular bundle*) yang berhubungan dengan translokasi hara (Fujita *et al.*, 2013). Hal ini berkaitan dengan proses asimilasi yang akhirnya diekspresikan dengan peningkatan jumlah bulir per malai. Kultivar yang dipakai untuk merakit tetua NIL-*qTSN4* adalah Moroberekan, Shen Nung 89-366 (*indica*), dan Daringan (*tropical japonica*, kultivar dari Indonesia) (Fujita *et al.*, 2009). Pada penelitian ini, *qTSN4* digunakan sebagai tetua donor yang disilangbalikkan dengan Code. Belum ada laporan mengapa *qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* juga memiliki umur berbunga lebih pendek dibanding dengan tetua Code.

Pada *qDTH8*, terletak gen-gen yang mengatur pembungaan. Kultivar yang digunakan dalam pembentukan *qDTH8*, yaitu Shen Nung 89-366 (*indica*) dan Ketan Lumbu (*tropical japonica*, asal Indonesia) (Ishimaru T., komunikasi pribadi, 2012). Baik lokus *qTSN4* maupun *qDTH8*, sejak awal pembentukannya diarahkan untuk perbaikan padi di daerah tropik. Khusus lokus *qDTH8*, berdasarkan analisis sekuen dan pola ekspresi gen oleh Wei *et al.* (2010), ternyata tidak hanya mengatur umur berbunga, tetapi juga mengatur tinggi tanaman dan meningkatkan potensi hasil. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, yaitu tinggi tanaman *qDTH8* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* lebih pendek dibanding dengan *qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* (Tabel 3). Di pihak lain, Code menunjukkan keragaman tinggi tanaman yang tinggi. Efek pemendekan umur yang disertai dengan pemendekan tinggi tanaman telah dilaporkan sebelumnya, terutama karena berkurangnya masa pertumbuhan vegetatif (Prasetyono *et al.*, 2013; Tasliyah *et al.*, 2011).

Beberapa progeni tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> menunjukkan potensi hasil yang lebih baik dibanding dengan Code pada karakter jumlah anakan total dan anakan produktif per tanaman (Tabel 3). Produktivitas meningkat dengan peningkatan salah satu karakter komponen hasil yang berkorelasi positif terhadap hasil. Waktu berbunga tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> lebih cepat dibanding dengan tetua berulang Code, bahkan umur berbunga paling dalam tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> yang diuji masih lebih genjah beberapa hari dibanding dengan tetua Code (Tabel 3, Gambar 2). Hal ini berarti, beberapa tanaman BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> akan memiliki umur lebih genjah dengan potensi hasil yang jauh lebih besar dibanding dengan Code. Namun, umur yang berkurang umumnya akan diikuti dengan jumlah anakan yang lebih sedikit. Ini merupakan fenomena umum yang kerap ditemukan dalam program pemendekan umur padi (Tasliyah *et al.*, 2011). Namun, pemendekan umur yang disertai dengan peningkatan hasil adalah hal yang jarang terjadi. Wei *et al.* (2010) mensinyalir gen-gen yang

**Tabel 3.** Keragaan agronomis progeni BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> dibanding dengan tetua pemulih varietas Code (pola HHA).

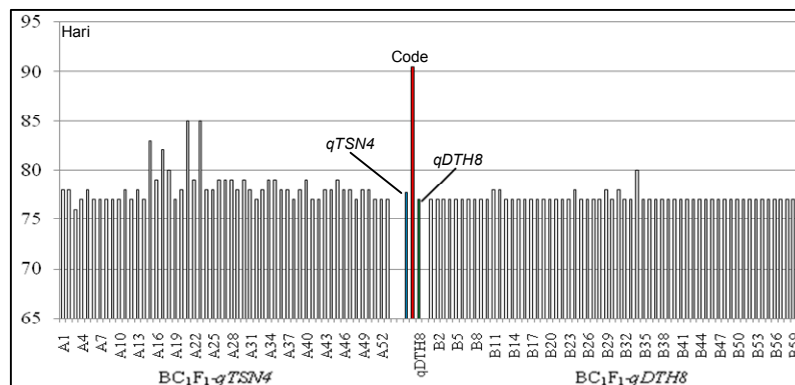
Peubah	Galur	Jumlah sampel	Rerata	Standar deviasi	Kisaran
Tinggi tanaman (cm)	Code	4	90,50	2,4	89,0–94,0
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	90,25	1,7	88,0–92,0
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	83,25	2,9	81,0–87,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	99,98	5,7	79,0–112,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	88,81	6,0	67,0–104,0
Jumlah anakan total	Code	4	16,75	1,3	15,0–18,0
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	20,50	3,4	17,0–25,0
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	20,00	5,6	15,0–28,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	21,64	5,8	5,0–35,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	15,17	3,9	7,0–22,0
Jumlah anakan produktif	Code	4	7,75	1,3	6,0–9,0
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	18,00	2,5	16,0–21,0
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	20,00	5,7	15,0–27,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	9,83	4,4	2,0–19,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	10,85	3,4	2,0–20,0
Umur berbunga 50% (hari setelah sebar)	Code	4	90,5	2,4	89,0–94,0
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	77,75	0,5	77,0–78,0
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	77,00	0,6	76,0–77,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	78,30	1,8	76,0–85,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	77,14	0,5	77,0–80,0
Panjang malai (cm)	Code	4	26,73	0,3	26,3–27,2
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	25,86	0,7	24,9–26,7
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	22,08	0,9	20,0–23,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	26,22	1,4	21,0–28,5
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	24,65	1,5	17,5–27,3
Jumlah bulir isi per malai (bulir)	Code	4	114,75	19,0	95,3–137,7
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	143,08	11,8	126,3–152,7
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	93,00	14,5	66,0–118,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	129,52	22,9	38,0–174,7
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	102,51	21,0	8,5–136,3
Jumlah bulir hampa per malai (bulir)	Code	4	23,10	7,9	14,7–31,7
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	24,00	5,0	20,3–31,0
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	36,00	9,4	25,0–57,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	20,98	11,6	4,3–53,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	23,01	12,4	2,0–52,3
Bobot 100 bulir (g)	Code	4	2,41	0,4	2,0–2,9
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	2,33	0,1	2,3–2,4
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	2,23	0,6	2,2–2,3
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	2,53	0,2	2,0–2,9
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	2,53	0,1	2,2–2,8
Bobot bulir total (g)	Code	4	15,23	0,8	5,2–24,2
	NIL- <i>qTSN4</i>	4	38,72	4,7	33,1–43,8
	NIL- <i>qDTH8</i>	4	25,01	9,0	15,2–35,0
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qTSN4</i>	53	34,50	9,7	12,3–65,7
	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - <i>qDTH8</i>	59	24,70±	8,9	0,4–44,0

berada pada lokus *qDTH8* menghasilkan protein yang menimbulkan efek pleiotropik yang menyebabkan terjadinya peningkatan potensi hasil. Hal ini terlihat pada jumlah anakan produktif pada galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> dan tetua NIL masih lebih tinggi dibanding dengan tetua Code.

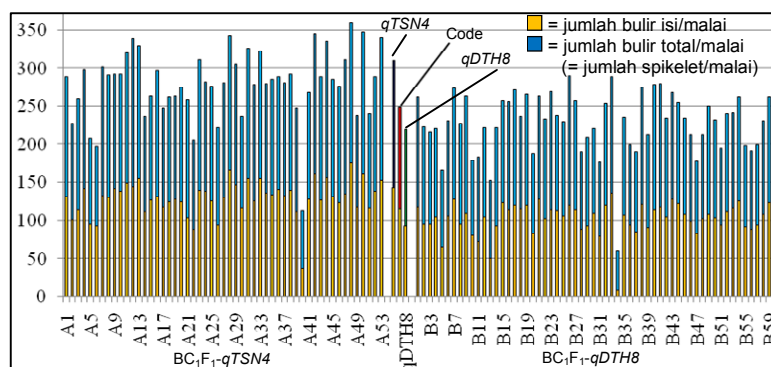
Data komponen hasil jumlah bulir isi dan bulir total menunjukkan peningkatan keragaan komponen hasil tersebut pada beberapa galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> dibanding dengan tetua pemulih (Code). Efek lokus *qTSN4* sangat terlihat pada jumlah bulir isi dan jumlah bulir total (Tabel 3, Gambar 4). Jumlah spikelet yang jauh melebihi Code memberi peluang galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* memiliki jumlah bulir isi yang lebih banyak. Jumlah bulir yang lebih banyak memberi peluang bobot bulir isinya juga lebih banyak. Pada BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-

*qDTH8* terlihat jumlah bulir isi yang dihasilkan lebih sedikit dibanding dengan Code, namun bobot bulir isi per tanaman lebih tinggi dibanding dengan Code. Hal ini dapat terjadi karena bobot 100 bulir isi galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> lebih tinggi dibanding dengan bobot 100 bulir isi tetua Code.

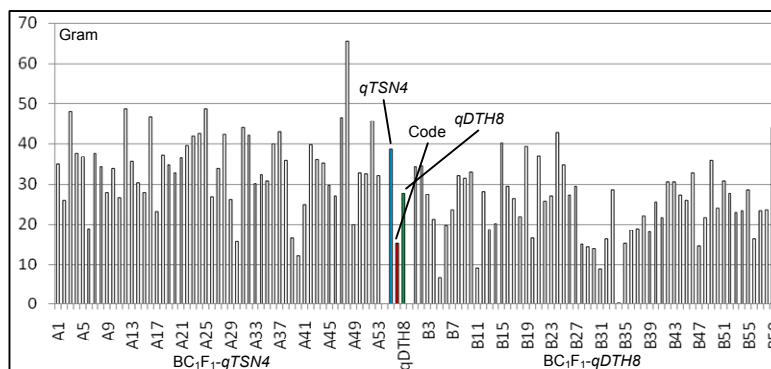
Peningkatan komponen hasil pada jumlah dan bobot bulir membuktikan introgresi lokus *qTSN4* dan *qDTH8* dapat meningkatkan potensi hasil padi yang sudah ada. Hal ini diduga karena efek heterosis dan kombinasi genom *tropical japonica* (awal mula pencarian lokus *qTSN4* dan *qDTH8*) dengan genom tanaman tipe *indica*. Efek heterosis antara padi *indica/japonica* dan *indica/tropica* telah dilaporkan oleh Vaithiyalingan dan Nadarajan (2010). Walaupun telah



Gambar 2. Umur berbunga galur-galur terpilih BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* (pola AAH) dibanding dengan tetua Code.



Gambar 3. Jumlah spikelet galur-galur terpilih BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* (pola HHA) dibanding dengan tetua Code.



Gambar 4. Bobot bulir isi per tanaman galur-galur terpilih BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qTSN4* dan BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-*qDTH8* (pola HHA) dibanding dengan tetua Code.

dibuat *qTSN4* dan *qDTH8* dengan *background* genetik IR64, segmen yang dipertahankan masih sekitar 5 cM. Hal ini berarti, masih banyak gen-gen selain gen target yang dapat memengaruhi ekspresi tanaman yang mengandung lokus tersebut.

Upaya pemuliaan tanaman yang mengandung kedua lokus tersebut masih diperlukan untuk menghasilkan galur-galur berumur genjah dan berpotensi hasil tinggi yang sesuai dengan kondisi agroklimat di Indonesia. Tetua *qTSN4* dan *qDTH8*, selain dapat di-

gunakan sebagai sumber gen untuk peningkatan hasil dan pemendekan umur, memiliki potensi untuk dikembangkan di Indonesia sebagai varietas baru karena latar belakang genetiknya IR64 (tipe *indica*) yang telah terbukti cocok dengan kondisi agroklimat Indonesia. Untuk itu, diperlukan pengujian daya hasil di beberapa lokasi di Indonesia. Penggunaan varietas Code sebagai tetua pemulih karena varietas tersebut sudah populer di sebagian wilayah Indonesia, mempunyai karakter morfologis dan mutu beras seperti

IR64 serta tahan terhadap penyakit HDB (Suprihatno *et al.*, 2010). Pada pengujian di rumah kaca (Tasliyah *et al.*, 2013), *Xa7* termasuk salah satu gen yang efektif menghadapi penyakit HDB di Indonesia. Penggunaan varietas ini diharapkan akan memperpanjang masa pakai di lapangan.

### KESIMPULAN

Hasil analisis molekuler menggunakan primer RM17483 dan RM6838 untuk lokus *qTSN4* dan RM6909 dan RM5556 untuk lokus *qDTH8* menunjukkan pola alel pada galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> masih bervariasi. Didapatkan 63 tanaman *qTSN4* dan 65 tanaman *qDTH8* yang memiliki pola heterozigot (HHA) dari tiap 250 galur yang diobservasi.

Introgresi lokus *qTSN4* dan *qDTH8* terbukti memperpendek umur Code dan meningkatkan jumlah bulir isi dan bobot bulir isi. Umur berbunga galur *qTSN4* dan *qDTH8* lebih genjah, yaitu 12–13 hari lebih genjah dibanding dengan tetua Code. Jumlah bulir isi per malai galur *qTSN4* 129,52 lebih banyak dibanding dengan Code (114,75). Bobot bulir isi per tanaman *qTSN4* dan *qDTH8* masing-masing 34,5 g dan 24,7 g, sedangkan Code hanya 15,23 g.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian TA 2013 dan TA 2014. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Nailatul Karomah dan Bestran Virlando Panjaitan (Mahasiswa Departemen Biokimia, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor) yang terlibat dalam penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Chen, S., Z. Huang, L. Zeng, J. Yang, Q. Liu, and X. Zhu. 2008. High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* resistance gene *Xa7*. *Mol. Breed.* 22:433–441.
- Chen, S., J. Zhong, X. Zhu, J. Yang, S. Wu, L. Dai, and L. Zeng. 2012. Genetic analysis and gene detection of bacterial blight resistance in new released varieties Lvzhen8072 and Baixiangzhan. *Rice Genomics and Genetics* 3(9):55–60.
- Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, and E.C.K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169–196.
- Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: Version II. *Plant. Mol. Biol. Rep* 1(4):19–21.
- Fujita, D., R.E. Santos, L.A. Ebron, M.J. Telebanco-Yanoria, H. Kato, S. Kobayashi, Y. Uga, E. Araki, T. Takai, H. Tsunematsu, T. Imbe, G.S. Khush, D.S. Brar, Y. Fukuta, and N. Kobayashi. 2009. Development of introgression lines of an *Indica*-type rice variety, IR64, for unique agronomic traits and detection of the responsible chromosomal regions. *Field Crop Res.* 114:244–254.
- Fujita, D., R.E.M. Santos, L.A. Ebron, M.J. Telebanco-Yanoria, H. Kato, S. Kobayashi, Y. Uga, E. Araki, T. Takai, H. Tsunematsu, T. Imbe, G.S. Khush, D.S. Brar, Y. Fukuta, and N. Kobayashi. 2010. Characterization of introgression lines for yield-related traits with *indica*-type rice variety IR64 genetic background. *JARQ* 44:277–290.
- Fujita, D., A.G. Tagle, L.A. Ebron, Y. Fukuta, and N. Kobayashi. 2012. Characterization of near-isogenic lines carrying QTL for high spikelet number with the genetic background of an *indica* rice variety IR64 (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.* 62:18–26.
- Fujita, D., K.R. Trijatmiko, A.G. Tagle, M.V. Sapasap, Y. Koide, K. Sasaki, N. Tsakirpaloglou, R.B. Gannaban, T. Nishimura, S. Yanagihara, Y. Fukuta, T. Koshiba, I.H. Slamet-Loedin, T. Ishimaru, and N. Kobayashi. 2013. *NAL1* allele from a rice landrace greatly increases yield in modern *indica* cultivars. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310790110](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310790110):1–6.
- Matsui, T. and H. Kagata. 2003. Characteristic of floral organs related to reliable self-pollination in rice (*Oryza sativa* L.). *Ann. Bot.* 91:473–477.
- Mohanty, S. 2013. Trends in global rice consumption. *Rice Today* (January-March):44–45.
- Prasetyono, J., Tasliyah, 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 Plant Sci.* 3(6):236–239.
- Seck, P.A., A. Diagne, S. Mohanty, and M.C.S. Wopereis. 2012. Crops that feed the world 7: Rice. *Food Sec.* 4:7–24.
- Suprihatno, B., A.A. Daradjat, Satoto, Baehaki S.E., Suprihanto, A. Setyono, S.D. Indrasari. I.P. Wardana, dan H. Sembiring. 2010. Deskripsi Varietas Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Tasliyah, 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.
- Tasliyah, Mahrup, dan J. Prasetyono. 2013. Identifikasi molekuler hawar daun bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) dan uji patogenitasnya pada galur-galur padi isogenik. *J. AgroBiogen* 9(2):49–57.
- Vaithiyalingan, M. and N. Nadarajan. 2010. Heterosis for yield contributing characters in inter sub-specific crosses of rice. *J. Plant Breed.* 1(3):305–310.
- Wei, X., J. Xu, H. Guo, L. Jiang, S. Chen, C. Yu, Z. Zhou, P. Hu, H. Zhai, and J. Wan. 2010. DTH8 suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiol.* 153:1747–1758.