

Survei Polimorfisme Tetua untuk Pengembangan Panel CSSL Padi (*Oryza sativa* L.) dan Identifikasi Tanaman F₁

Mariana Susilowati^{1,2}, Panjisakti Basunanda², Wening Enggarini¹, Ma'sumah¹, dan Kurniawan R. Trijatmiko^{1*}

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: ktrijatmiko@gmail.com

²Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur, Yogyakarta

Diajukan: 7 Juli 2014; Diterima: 30 Oktober 2014

ABSTRACT

Parental Polymorphism Survey for Rice CSSL Development and F₁ Plants Identification. Mariana Susilowati, Panjisakti Basunanda, Wening Enggarini, Ma'sumah, and Kurniawan R. Trijatmiko. Raising yield potential of modern indica varieties is essential to meet the increased demand of rice production. This is due to increased human population, threats of climate change and degradation of agricultural resources. The use of chromosome segment substitution lines (CSSL) is more effective for identification of genes those are useful for improvement of yield potential. The aims of this study were to observe the morphological trait differences between recipient parent (var. Ciherang) and three candidates of donor parent (var. Fatmawati and new plant type lines, i.e. B12743 and B11143D), to identify polymorphic SSR markers among them and to verify F₁ individuals. Ciherang and B11143D showed significant differences on flowering time, plant height, flag leaf area, tiller number, productive tiller number, panicle length, spikelet number per panicle and 1,000 grain weight. The rate of SSR marker polymorphisms between Ciherang and B11143D was the highest, where 155 of 513 markers (30.2%) were polymorphic. Marker genotyping using three polymorphic markers showed that 26 of 27 plants resulted from the cross of Ciherang x B11143D were F₁. These F₁ plants could become the basis of CSSL panel that facilitate the mapping of genes responsible for increasing the yield potential.

Keywords: CSSL, Ciherang, new plant type, *Oryza sativa*, SSR markers.

ABSTRAK

Survei Polimorfisme Tetua untuk Pengembangan Panel CSSL Padi (*Oryza sativa* L.) dan Identifikasi Tanaman F₁. Mariana Susilowati, Panjisakti Basunanda, Wening Enggarini, Ma'sumah, dan Kurniawan R. Trijatmiko. Peningkatan potensi hasil padi kelompok *indica* moderen sangat penting untuk memenuhi permintaan produksi beras yang meningkat akibat penambahan jumlah penduduk, ancaman perubahan iklim, dan degradasi sumber daya lahan pertanian. Penggunaan *chromosome segment substitution lines* (CSSL) lebih efektif untuk mengidentifikasi gen-

gen yang bertanggung jawab terhadap perbaikan potensi hasil. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati perbedaan morfologi antara tetua penerima (varietas Ciherang) dan tiga calon tetua donor (varietas Fatmawati, galur padi tipe baru: B12743 dan B11143D), mengidentifikasi penanda SSR polimorfik antartetua, dan memverifikasi individu-individu F₁. Ciherang dan B11143D menunjukkan perbedaan yang nyata pada umur berbunga, tinggi tanaman, luas daun bendera, jumlah anakan, jumlah anakan produktif, panjang malai, jumlah bulir per malai, dan bobot 1.000 butir. Polimorfisme penanda SSR lebih banyak ditemukan pada kombinasi persilangan antara Ciherang dengan B11143D dibanding dengan kombinasi persilangan yang lain, yaitu sebanyak 155 dari 513 penanda SSR (30,2%). Pengujian genotipe terhadap hasil persilangan Ciherang x B11143D menggunakan tiga penanda polimorfik menunjukkan bahwa 26 dari 27 tanaman yang diuji merupakan tanaman F₁. Tanaman-tanaman F₁ ini dapat menjadi dasar pengembangan panel CSSL yang memfasilitasi pemetaan gen-gen yang bertanggung jawab terhadap potensi hasil.

Kata kunci: CSSL, Ciherang, padi tipe baru, *Oryza sativa*, penanda SSR.

PENDAHULUAN

Salah satu cara untuk meningkatkan hasil tanaman pangan terutama padi adalah dengan perbaikan varietas unggul melalui peningkatan potensi hasil. Hal ini dilakukan melalui persilangan antara varietas unggul yang telah dirilis dan sumber material genetik baru.

Usaha mengintroduksi sifat baru ke dalam genom varietas yang sudah ada dapat dilakukan melalui metode silang balik (*backcross*). Untuk mengefektifkan proses seleksi tanaman setiap kali silang balik, penanda genetik dapat digunakan dalam membantu pemulia menyeleksi genotipe yang diinginkan berdasarkan segmen kromosom donor yang terintrogressi.

Salah satu penanda atau marka molekuler yang banyak digunakan dalam pemuliaan berbantuan *marker assisted selection* (MAS) adalah mikrosatelit atau *simple sequence repeats* (SSR). SSR merupakan segmen berulang pada genom dan menyebar secara

merata di seluruh genom padi (Temnykh *et al.*, 2000). Penanda ini merupakan penanda kodominan yang mampu membedakan alel heterozigot dan homozigot (McCouch, 2002), bersifat akurat, relatif praktis, memerlukan sedikit DNA untuk PCR dalam mendeteksi polimorfisme, tingkat polimorfismenya tinggi, dan memungkinkan dilakukannya pengamatan terhadap beberapa penanda sekaligus (*multiplexing*) (Yadav *et al.*, 2007).

Panel *chromosome segment substitution lines* (CSSL) adalah populasi yang terdiri atas galur-galur yang masing-masing membawa segmen kromosom tetua donor pada kromosom tertentu dengan latar belakang genetik yang sama. Panel CSSL sangat berguna dalam kegiatan pemetaan gen dan selanjutnya untuk mempelajari fungsi genetik dari segmen-segmen kromosom yang tersubstitusi. Dibanding dengan panel pemetaan lainnya, panel CSSL merupakan pemetaan gen yang lebih selektif dan galur-galur tersebut dapat langsung digunakan untuk pengujian fenotipe. Hal ini dilakukan untuk menguji segmen kromosom yang bertanggungjawab terhadap QTL yang mengendalikan sifat tertentu (Jiankang *et al.*, 2006; Lina *et al.*, 2008).

Varietas Ciherang berpotensi sebagai tetua bagi pembentukan panel CSSL karena popularitas dan keunggulannya. Ciherang memiliki karakteristik bentuk tanaman tegak, tingginya mencapai 107–115 cm, menghasilkan anakan produktif 14–17 batang, tetapi jumlah bunga setiap malai teramati mengalami penurunan dari generasi ke generasi (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2010).

Untuk meningkatkan potensi hasil varietas Ciherang digunakan donor tanaman padi tipe baru (PTB). PTB memiliki beberapa keunggulan, yaitu jumlah anakan per rumpun yang sedikit (8–10 batang) tetapi semua produktif, jumlah bulir per malai mencapai 200–250 butir, dan hasil mencapai 10–30% lebih tinggi daripada varietas unggul yang lain, seperti IR64, Way Apu Buru, Ciherang, dan Memberamo (Abdullah *et al.*, 2008). PTB diharapkan dapat menyumbang sifat jumlah bulir per malai yang tinggi untuk perbaikan potensi hasil pada Ciherang. Pembentukan panel CSSL berlatar belakang varietas Ciherang dengan donor PTB diharapkan mampu menambah keunggulan varietas Ciherang.

Tujuan penelitian ini adalah (1) mengamati perbedaan morfologi tetua penerima (Ciherang) dengan tiga calon tetua donor PTB (Fatmawati, galur B12743, dan galur B11143D), (2) mengidentifikasi penanda SSR polimorfik antara tetua penerima dan tiga calon tetua donor PTB, dan (3) memverifikasi individu-individu F_1 .

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di rumah kaca dan Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, pada bulan Januari sampai September 2013.

Karakterisasi Morfologi dan Agronomi

Materi tanaman yang digunakan adalah varietas unggul Ciherang dan PTB yang meliputi varietas Fatmawati, galur B12743, dan B11143D. Tanah dan pupuk kandang telah dilumpurkan beberapa minggu sebelum tanam agar didapatkan struktur tanah seperti sawah. Benih disemai di dalam cawan petri kemudian bibit dipindah ke dalam ember berisi media lumpur, setiap ember ditanami satu bibit. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga ulangan untuk setiap varietas, masing-masing ulangan digunakan satu ember.

Pengamatan karakter morfologis dilakukan sejak tanaman mulai berbunga sampai memasuki tahap panen, yaitu tinggi tanaman, jumlah anakan, jumlah anakan produktif, luas daun bendera, persentase berbunga, panjang malai, jumlah bulir per malai, dan bobot 1.000 butir. Tinggi tanaman diamati menjelang fase generatif pada umur tanaman 77 hari setelah semai (hss); jumlah anakan, jumlah anakan produktif, lebar daun bendera, panjang daun bendera, dan luas daun bendera diamati menjelang panen pada umur 105 hss; panjang malai, jumlah bulir per malai, dan bobot 1.000 butir diamati setelah panen pada umur 113 hss; umur berbunga diamati pada saat bunga mulai keluar.

Data morfologi tanaman yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian dan analisis lanjut (uji Tukey) untuk mengenali morfologi tetua yang berbeda nyata.

Survei Polimorfisme Penanda SSR Antarcalon Tetua Persilangan

Pada saat tanaman padi berumur tiga minggu setelah semai, daunnya diambil untuk ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan prosedur Murray dan Thompson (1980) dengan modifikasi. Pengukuran kuantitas dan kualitas DNA dilakukan menggunakan Nanodrop (*Thermo Fisher Scientific*).

Amplifikasi DNA dengan mesin PCR menggunakan 513 pasang primer SSR yang tersebar pada 12 kromosom padi. Total volume reaksi PCR adalah 10 μ l yang mengandung cetakan DNA genomik 10 ng, campuran dNTP 10 mM, primer SSR *forward* dan *reverse*

0,5 μ M, enzim *Taq* DNA polimerase 0,1 unit dalam larutan bufer 1x. Reaksi amplifikasi dilakukan pada mesin PCR (PCT-100, MJ Research Inc. USA) dengan program sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit; diikuti dengan 35 siklus pengulangan tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 55°C selama 30 detik, dan pemanjangan primer pada suhu 72°C selama 30 detik; diakhiri dengan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Hasil amplifikasi dipisahkan pada gel poliakrilamida 8% yang dijalankan pada arus konstan 80 V selama 100 menit. Hasil elektroforesis gel diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasi menggunakan Chemidoc atau dengan pewarnaan perak nitrat (*silver staining*). Letak penanda SSR polimorfik yang tersebar pada 12 kromosom ditampilkan menggunakan perangkat lunak MapChart 2.2 (Voorrips, 2002).

Seleksi Molekuler dan Karakterisasi Morfologi Tanaman F₁

Persilangan dilakukan antara varietas Ciherang dan ketiga PTB. Namun, berdasarkan hasil survei polimorfisme antartetua, hanya tanaman hasil kombinasi persilangan antara Ciherang dan galur B11143D yang memiliki jumlah penanda SSR polimorfik yang paling tinggi. Tanaman F₁ hasil kombinasi persilangan tersebut diuji lebih lanjut dengan penanda SSR terpilih (RM6909, RM405, dan RM20582-Xa7) dan tiga tanaman di antaranya diamati morfologinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Morfologi dan Agronomi

Tanaman Fatmawati dan galur B11143D secara nyata lebih tinggi dibanding dengan Ciherang (Tabel 1). Fatmawati merupakan PTB yang memiliki tanaman paling tinggi, sedangkan tinggi tanaman galur B12743 yang paling rendah dibanding dengan jenis PTB lainnya.

Jumlah anakan dan anakan produktif Ciherang secara nyata lebih banyak dibanding dengan PTB (Tabel 1). Walaupun postur tanamannya kecil, Ciherang memiliki fase vegetatif yang paling lama. Fase vegetatif lebih banyak digunakan untuk produksi anakan. Karakter potensi hasil pada varietas ini masih dapat ditingkatkan dengan perbaikan komponen hasil terutama jumlah bulir per malai.

Luas daun bendera Fatmawati dan galur B11143D secara nyata lebih besar nilainya dibanding dengan Ciherang (Tabel 1). Daun bendera menyumbang karbohidrat sebagai fotosintat paling besar di antara organ vegetatif lainnya untuk proses pembungaan dan pengisian bulir (Wahyuti *et al.*, 2013). Fatmawati dan galur B11143D lebih potensial menjadi tetua donor jika dilihat dari karakter luas daun bendera.

Dari ketiga PTB, B11143D nyata berbunga lebih cepat dibanding dengan Ciherang, yaitu sembilan hari lebih awal (Tabel 2). Umur berbunga Fatmawati dan B12743 tidak berbeda nyata dari Ciherang pada persentase berbunga $\leq 20\%$, 50%, dan 80%. Umur berbunga menentukan umur panen tanaman, yaitu

Tabel 1. Karakter agronomis varietas Ciherang dan calon tetua donor persilangan padi di rumah kaca tahun 2013.

Varietas/galur	Tinggi tanaman (cm) ^{1,2}	Jumlah anakan ^{1,2}	Jumlah anakan produktif ^{1,2}	Luas daun bendera (cm ²) ^{1,2}
Ciherang	111,5 \pm 8,5c	30,0 \pm 3,5a	29,0 \pm 2,6a	51,1 \pm 9,8c
Fatmawati	142,5 \pm 2,2a	13,3 \pm 1,5b	13,0 \pm 2,0b	132,0 \pm 12,7a
B12743	117,6 \pm 0,1bc	16,3 \pm 0,6b	16,3 \pm 0,6b	60,6 \pm 9,5bc
B11143D	129,9 \pm 9,8ab	11,7 \pm 3,1b	11,7 \pm 3,1b	107,5 \pm 32,5ab

¹Rerata dari tiga ulangan.

²Angka-angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey.

Tabel 2. Umur berbunga (hari setelah semai) varietas Ciherang dan calon tetua donor persilangan padi.

Varietas/galur	Persentase berbunga ^{1,2}		
	$\leq 20\%$	50%	80%
Ciherang	75,7 \pm 1,5a	80,3 \pm 1,5a	85,0 \pm 1,0a
Fatmawati	72,7 \pm 0,6a	77,7 \pm 0,6ab	84,3 \pm 1,2a
B12743	75,0 \pm 2,6a	78,0 \pm 1,0ab	80,7 \pm 2,3ab
B11143D	67,0 \pm 0,0b	72,7 \pm 3,8b	75,7 \pm 4,7b

¹Rerata dari tiga ulangan.

²Angka-angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey.

tanaman yang lebih genjah akan memiliki umur panen yang lebih cepat. Umur panen galur B11143D paling cepat di antara tetua lainnya, yaitu 21 hari lebih cepat dibanding dengan varietas Ciherang. Dilihat dari umur berbunga, galur B11143D lebih potensial digunakan sebagai tetua donor dibanding dengan PTB lainnya.

Pengamatan terhadap komponen hasil menunjukkan bahwa varietas Fatmawati memiliki malai terpanjang, yaitu 30,9 cm (Tabel 3). Oleh karena itu, varietas Fatmawati memiliki jumlah bulir per malai yang banyak, namun tingkat kehampaan bulir pada tetua ini juga sangat tinggi, mencapai $\pm 40\%$ dari jumlah bulir per malai. Salah satu penyebab kehampaan varietas Fatmawati adalah tidak seimbangannya *sink* (limbung) yang besar dan *source* (sumber) yang sedikit, sehingga asimilat yang dihasilkan oleh *source* kurang mencukupi untuk pengisian bulir yang mengakibatkan kehampaan semu (Abdullah *et al.*, 2008).

Panjang malai dan jumlah bulir per malai antara galur B11143D dan B12743 tidak berbeda nyata. Namun galur B11143D memiliki daun bendera yang lebih luas dibanding dengan galur B12743. Hal ini juga mendukung jumlah bulir per malai yang banyak pada galur B11143D. Bobot 1.000 butir galur B11143D nyata paling berat dibanding dengan tetua lainnya. Bentuk bulir B11143D yang cenderung lebih besar merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi bobot 1.000 butir.

Galur B11143D merupakan PTB yang sangat ideal digunakan sebagai tetua donor untuk pembentukan panel CSSL. Galur ini memiliki umur berbunga dan umur panen yang paling cepat di antara tetua yang lain. Galur ini juga memiliki daun bendera yang lebih panjang dan luas dibanding dengan varietas Ciherang. Keunggulan lain pada karakter komponen hasil yang dimilikinya yaitu panjang malai, jumlah bulir per malai, dan bobot 1.000 butir.

Polimorfisme Penanda SSR

Pada uji pendahuluan menggunakan 24 penanda SSR, yaitu RM112, RM573, RM525, RM17, RM211, RM53, RM555, RM145, RM29, RM465, RM573, RM530, RM482, RM266, RM207, RM213, RM8, RM27, RM341, RM475, RM106, RM525, RM535, dan RM27, hanya ada empat lokus yang polimorfik antara Ciherang dan Fatmawati. Oleh karena itu, uji polimorfisme SSR dilanjutkan untuk calon tetua persilangan, yaitu Ciherang, B12743, dan B11143D menggunakan 513 penanda SSR yang tersebar merata pada 12 kromosom padi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat 69 penanda polimorfik (13,4%) antara Ciherang dengan galur B12743 dan 155 penanda polimorfik (30,2%) antara Ciherang dan galur B11143D (Tabel 4).

Target awal penelitian ini adalah mendapatkan 120 penanda polimorfik yang tersebar pada 12 kromosom padi (10 penanda polimorfik per kromo-

Tabel 3. Komponen hasil varietas Ciherang dan calon tetua donor persilangan padi.

Varietas/galur	Panjang malai (cm) ^{1,2}	Jumlah bulir per malai ^{1,2}	Bobot 1.000 bulir (g) ^{1,2}
Ciherang	23,0 \pm 0,2c	132,6 \pm 4,2c	21,1 \pm 0,8cb
Fatmawati	30,9 \pm 1,2a	373,5 \pm 32,5a	23,4 \pm 0,7b
B12743	26,2 \pm 0,7b	205,2 \pm 20,1b	19,7 \pm 1,0c
B11143D	26,8 \pm 0,8b	207,0 \pm 17,8b	26,7 \pm 1,2a

¹Rerata dari tiga ulangan.

²Angka-angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey.

Tabel 4. Polimorfisme penanda SSR antara Ciherang dan dua galur PTB.

Kromosom	Jumlah penanda SSR	Jumlah penanda polimorfik antara Ciherang dan B12743	Jumlah penanda polimorfik antara Ciherang dan B11143D
1	81	12	19
2	49	5	16
3	57	5	7
4	42	8	17
5	48	9	14
6	51	4	21
7	36	2	7
8	35	8	15
9	21	2	7
10	25	3	8
11	25	4	11
12	43	7	13
Total	513	69	155

som) sehingga calon PTB donor yang memenuhi target untuk analisis selanjutnya adalah galur B11143D.

Berdasarkan posisi fisik dan rekombinan penanda SSR yang polimorfik pada Nipponbare/Kasalath (Harushima *et al.*, 1998, <http://rgp.dna.affrc.go.jp>, www.gramene.org), rerata jarak antar ke-120 penanda polimorfik antara Ciherang dan B11143D adalah sebesar 11,18 cM (Tabel 5), tetapi sebarannya tidak merata pada semua kromosom (Gambar 1). Pada kromosom 1 dan 5, penanda SSR polimorfik mengumpul di daerah lengan atas sehingga masih diperlukan penambahan penanda SSR pada kromosom 1 dengan posisi rekombinan 73,4–181,8 cM dan kromosom 5 dengan posisi rekombinan 37,8–122,3 cM. Pada kromosom 10 dan 12, penanda SSR polimorfik mengumpul di daerah tengah kromosom. Keadaan ini memerlukan penambahan penanda SSR pada kromosom 10 dengan posisi rekombinan 0–50,5 cM dan 56,4–83,8 cM, serta pada kromosom 12 dengan posisi rekombinan 0–47 cM dan 77,8–109,5 cM. Penanda SSR polimorfik pada kromosom 4 dan 11 mengumpul di daerah lengan bawah, sehingga diperlukan penambahan penanda SSR pada kromosom 4 dengan posisi rekombinan 0–57,5 cM dan kromosom 11 dengan posisi rekombinan 0–49,1 cM. Sementara itu, kromosom 3 dan 9 masih memerlukan banyak penambahan penanda SSR karena pada kedua kromosom ini hanya terdapat 7 penanda SSR yang polimorfik. Pada kromosom 3, diperlukan penambahan penanda SSR polimorfik pada posisi rekombinan 48,2–158,2 cM. Kromosom 9 memiliki nilai cakupan yang tinggi, yaitu 96,9%, namun penanda SSR polimorfik hanya terdapat pada ujung dan pangkal kromosom saja. Oleh karena itu,

perlu dilakukan penambahan penanda SSR pada bagian tengah kromosom, yaitu pada posisi 2,4–81,8 cM.

Penambahan penanda SSR tidak diperlukan untuk kromosom 2, 6, 7, dan 8 karena sebaran penanda SSR polimorfik sudah merata (Gambar 1). Nilai cakupan penanda pada keempat kromosom ini tinggi (Tabel 5). Kromosom 8 memiliki nilai cakupan yang paling tinggi, yaitu 97%.

Identifikasi Tanaman F_1 secara Molekuler

Survei polimorfisme keempat calon tetua mendapatkan 155 penanda SSR polimorfik untuk kombinasi tetua varietas Ciherang dan galur B11143D, sedangkan untuk kombinasi tetua varietas Ciherang dan galur PTB yang lain diperoleh penanda SSR polimorfik yang jumlahnya tidak memenuhi target penelitian sebesar 120 penanda. Oleh karena itu, pengujian molekuler tanaman hasil persilangan hanya dilakukan untuk kombinasi persilangan antara Ciherang dan galur B1143D. Dari persilangan ini diperoleh 1.000 butir benih yang 30 benih di antaranya dipilih secara acak dan disemai dalam tiga tahap, masing-masing sebanyak 10 benih.

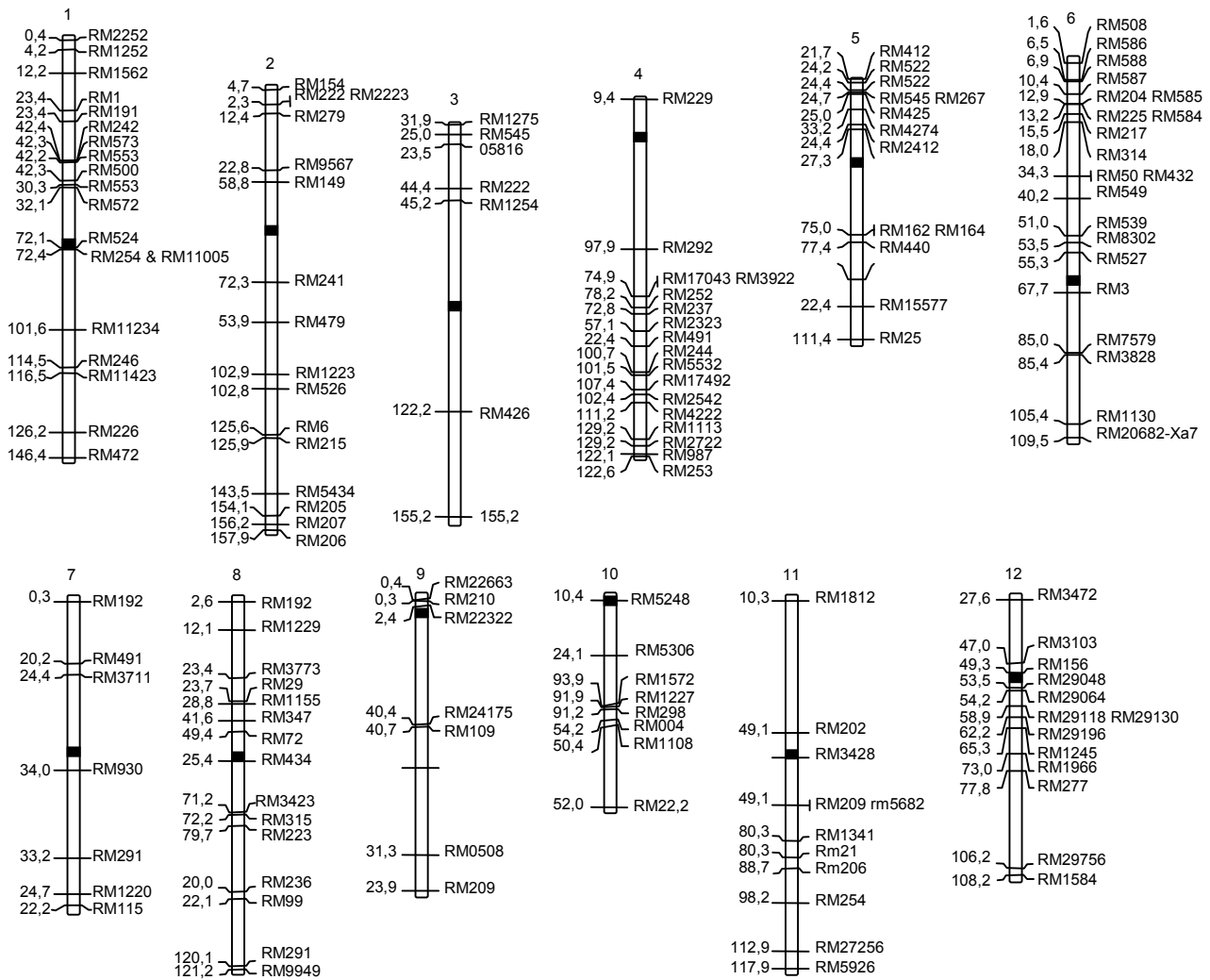
Sebanyak 27 tanaman yang tumbuh diuji secara molekuler menggunakan tiga penanda SSR polimorfik, yaitu RM20582-Xa7 (kromosom 6), RM405 (kromosom 5), dan RM6909 (kromosom 4). Ketiga penanda ini dipilih untuk identifikasi molekuler F_1 karena memiliki jarak polimorfik antarkedua tetua yang lebih jauh dibanding dengan penanda polimorfik lainnya. Dari 27 tanaman hasil persilangan tersebut, terdapat 26 tanaman yang memiliki genotipe heterosigot, sehingga dipastikan merupakan tanaman F_1 (Gambar 2).

Tabel 5. Distribusi penanda SSR polimorfik antara Ciherang dan B11143D pada 12 kromosom padi.

Kromosom	Jumlah penanda SSR	Jumlah penanda polimorfik	Penanda polimorfik (%)	Panjang peta tautan (cM) ^a	Rerata jarak penanda dan kisaran (cM)	Cakupan (%) ^b
1	81	19	23,5	181,8	9,6	80,3
2	49	16	32,7	157,9	9,9	97,0
3	57	7	12,3	167,2	23,9	81,7
4	42	17	40,5	132,7	7,8	93,6
5	48	14	29,2	122,3	8,7	73,5
6	51	21	41,2	125,0	6,0	86,3
7	36	7	19,4	118,6	16,9	83,1
8	35	15	42,9	121,2	8,1	97,0
9	21	7	33,3	96,1	13,7	96,9
10	25	8	32,0	83,8	10,5	79,5
11	25	11	44,0	117,9	10,7	91,3
12	43	13	30,2	109,5	8,4	73,6
Rerata	-	-	31,8	-	11,2	86,2
Jumlah	513	155	-	1534	-	-

^aPanjang peta tautan berdasarkan peta tautan Nipponbare/Kasalath (Harushima *et al.*, 1998, International Rice Genome Sequencing Project, 2008).

^bNilai cakupan menunjukkan besarnya daerah pada kromosom yang terwakili oleh penanda SSR yang polimorfik.



Gambar 1. Peta sebaran penanda SSR polimorfik antara Ciherang dan B11143D pada 12 kromosom padi berdasarkan posisi rekombinan penanda SSR pada Nipponbare/Kasalath (International Rice Genome Sequencing Project, 2008).

Tanaman nomor 27 bersifat homosigot seperti tetua Ciherang. Tanaman ini telah mengalami penyerbukan sendiri (*selfing*) sebelum dilakukan persilangan buatan. Ciherang merupakan tetua betina sehingga jika terjadi penyerbukan sendiri, tanaman keturunannya akan memiliki sifat yang sama persis dengan Ciherang.

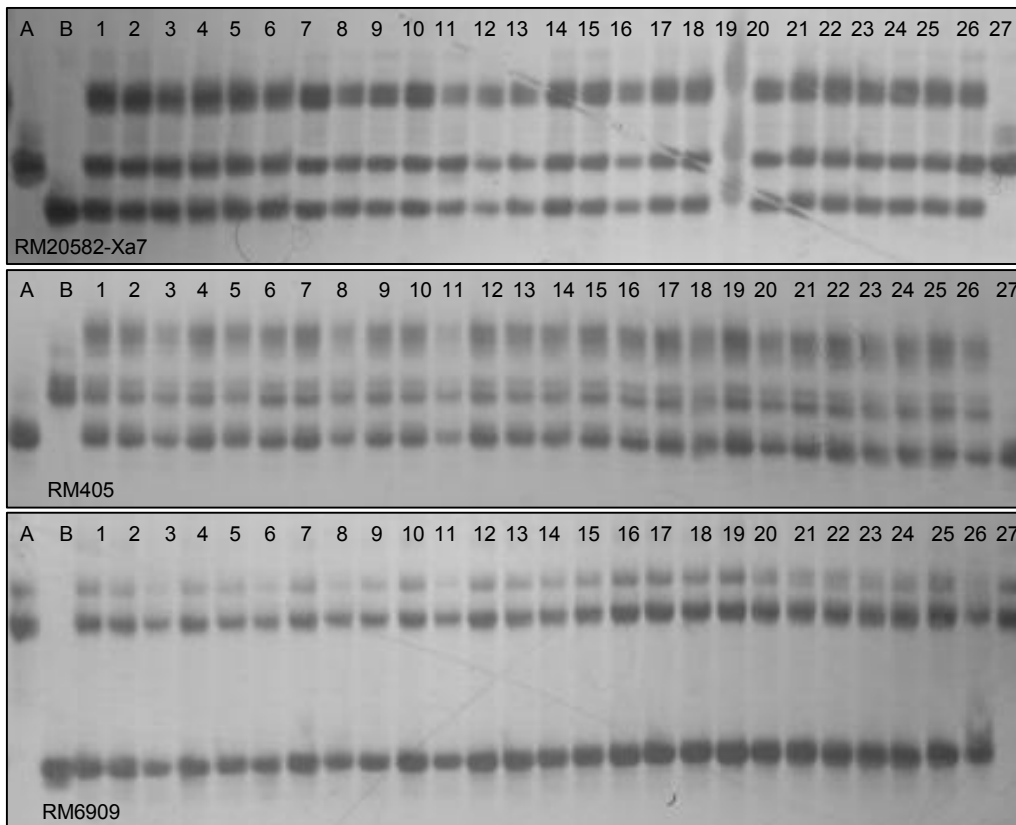
Karakteristik Morfologi Tanaman F₁

Dari 26 tanaman F₁, tiga tanaman dipilih secara acak dan dibanding dengan morfologi kedua tetuanya. Sifat-sifat F₁ merupakan hasil perpaduan sifat dari kedua tetuanya yang dapat diamati dari postur, tinggi tanaman, jumlah anakan, luas daun bendera, panjang malai, dan umur berbunga. Postur dan tinggi tanaman F₁ lebih mirip galur B11143D, sedangkan jumlah anakannya mengikuti Ciherang (Gambar 3). Anakan tanaman F₁ sebagian besar merupakan anakan yang

produktif dan sudah mulai bunting pada umur 80 hss. Daun bendera F₁ lebih besar daripada daun bendera Ciherang, tetapi tidak sebesar daun bendera B11143D. Pada saat tanaman berumur 80 hss, malai tanaman B11143D dan F₁ sudah banyak yang keluar. Malai tanaman F₁ lebih panjang dari Ciherang. Panjang malai merupakan salah satu karakter komponen hasil. Semakin panjang malai tanaman, semakin banyak bulir yang dihasilkan oleh tanaman tersebut.

Tanaman F₁ memiliki umur berbunga ≤20% dan 80% yang berbeda nyata dari Ciherang, tetapi tidak berbeda nyata dari Ciherang pada umur berbunga 50% (Tabel 6). Umur berbunga F₁ lebih mengikuti tetua donor B11143D, yaitu tidak berbeda nyata baik pada persentase berbunga ≤20%, 50%, maupun 80%.

Sebanyak 26 tanaman F₁ tersebut selanjutnya disilang balik dengan Ciherang. Populasi BC₃F₁ yang



Gambar 2. Hasil identifikasi tanaman hasil persilangan antara Cihorang (A) dan galur B11143D (B) menggunakan penanda SSR polimorfik RM20582-Xa7, RM405, dan RM6909. Tanaman nomor 1 sampai 26 merupakan tanaman F_1 , sedangkan tanaman nomor 27 memiliki genotipe homosigot untuk alel Cihorang.



Gambar 3. Penampilan tanaman varietas Cihorang dan galur B11143D serta F_1 Cihorang x galur B11143D pada umur 80 hss.

dihasilkan akan menjadi dasar pembentukan panel CSSL.

KESIMPULAN

Dari hasil pengamatan karakteristik morfologi dan agronomi, tiga PTB calon tetua donor (varietas Fatmawati, galur B12743, dan B11143D), galur PTB B11143D merupakan tetua yang paling potensial untuk

perbaikan varietas Cihorang karena memiliki daun bendera yang lebih panjang dan luas dibanding dengan Cihorang. Keunggulan lain pada karakter komponen hasil yang dimilikinya, yaitu panjang malai, jumlah bulir per malai, dan bobot 1.000 butir. Hasil survei polimorfisme penanda SSR menunjukkan bahwa polimorfisme antara Cihorang dan B11143D yang paling tinggi (155 dari 513 penanda SSR [30,2%])

Tabel 6. Umur berbunga (hari setelah semai) Ciherang, galur B11143D, dan F₁ Ciherang x galur B11143D.

Tanaman	Persentase berbunga ^{1,2}		
	≤20%	50%	80%
Ciherang	78,3±1,5a	80,0±1,0a	87,0±2,0a
B11143D	68,7±3,1b	74,0±4,0a	81,0±1,0b
F ₁	70,0±2,0b	75,7±2,1a	82,3±1,5b

¹Rerata dari tiga ulangan.

²Angka-angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji Tukey.

dibanding dengan polimorfisme antara Ciherang dan dua PTB lainnya. Sebanyak 26 dari 27 tanaman hasil persilangan antara Ciherang dan galur B11143D diidentifikasi sebagai tanaman F₁ berdasarkan pengujian menggunakan penanda SSR. Tanaman-tanaman F₁ ini dapat dijadikan sebagai dasar pengembangan panel CSSL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini, khususnya kepada Bapak Iman Ridwan dan Ika Atifah Zahroh, S.Si. Penelitian ini didanai oleh APBN TA 2013 BB Biogen, No. Register 1.798.011.001.015.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, B., S. Tjokrowidjojo, dan Sularjo. 2008. Perkembangan dan prospek perakitan Padi Tipe Baru di Indonesia. *J. Litbang Pertanian* 1:2-27.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Padi Ciherang. <http://epetani.deptan.go.id>. [30 Desember 2012].
- International Rice Genome Sequencing Project. 2008. IRGSP Build5 Pseudomolecules of the Rice Genome. <http://rgp.dna.affrc.go.jp/E/IRGSP/Build5/build5.html>. [5 Februari 2013].
- Harushima, Y., M. Yano, A. Shomura, M. Sato, T. Shimano, Y. Kuboki, T. Yamamoto, S.Y. Lin, B.A. Antonio, A. Parco, H. Kajiya, N. Huang, K. Yamamoto, Y. Nagamura, N. Kurata, G.S. Khush, and T. Sasaki. 1998. A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F₂ population. *Genetics* 148(1):479-494.
- Jiankang, W., W. Xiangyuan, C. Jose, C. Jonathan, W. Jianfeng, Z. Huqu, and W. Jianmin. 2006. QTL mapping of grain length in rice (*Oryza sativa* L.) using chromosome segment substitution lines. *Gen. Res. Camb.* 88:93-104.
- Lina, Z., Z. Hongju, L. Liaoxun, L. Li, L. Xianghua, L. Yongjun, and Y. Sibin. 2008. Identification of quantitative trait loci controlling rice mature seed culturability using chromosome segment substitution lines. *J. Genet. Genomics* 7:1-10.
- McCouch, S.R. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.* 9:199-207.
- Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8(19):4321-4325.
- Temnykh, S., W.D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii, and S.R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100:697-712.
- Voorrips, R.E. 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J. Hered.* 93(1):77-78.
- Wahyuti, T.B., B.S. Purwoko, A. Junaedi, Sugiyanta, dan A. Abdullah. Hubungan karakter daun dengan hasil padi varietas unggul. *J. Agron. Indonesia* 41(3):181-187.
- Yadav, O.P., S.E. Mitchell, A. Zamora, T.M. Fulton, and S. Kresovich. 2007. Development of new simple sequence repeat markers for pearl millet. *J. SAT Agric. Res.* 3(1):34-37.