

Eksplorasi Marka SSR Terpaut Sifat Toleransi Padi Gogo terhadap Aluminium (Eksplorasi of SSR Markers Linked to Aluminum Tolerances of Upland Rice)

Yuliana Galih Dyan Anggraheni* & Enung Sri Mulyaningsih

Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong 16911

*Email: yuliana.galih@yahoo.com

Memasukkan: Oktober 2016, Diterima: Desember 2016

ABSTRACT

The objective of this research was to study molecular markers were linked to upland rice tolerance of Situ Patenggang x B11930F-TB2 against Al using SSR method. The plant materials were 36 lines of Situ Patenggang x B11930F-TB2 with categories tolerant, moderate, and susceptible to acid soil based on selection in East Lampung. IR6008032 line and ITA variety used as comparative control of tolerant and susceptible. The results showed that 40 primer pairs were applied to 36 lines and allegedly 3 primer pairs that are: RM205, RM257 and RM247 linked to Al tolerance. The markers location analysis on rice chromosome listed as follows: RM205 and RM257 were located on chromosome 9 and RM247 located on chromosome 12 with genetic distance 93,12 cM, 772.62 cM and 13,05 cM, respectively.

Keywords: SSR marker, upland rice, aluminium tolerance, ultisols

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari marka molekuler yang terpaut dengan sifat toleransi tanaman padi gogo hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 terhadap Al dengan menggunakan metode SSR. Bahan tanam yang digunakan adalah 36 galur terpilih hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 dengan kategori toleran, moderat dan peka berdasarkan seleksi di tanah masam Lampung Timur. Galur IR6008032 dan varietas ITA digunakan sebagai kontrol pembandingan toleran dan peka. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 40 pasang primer yang diaplikasikan pada 36 galur hasil persilangan, 3 pasang primer diantaranya yaitu: RM205, RM257 dan RM247 diduga terpaut dengan sifat toleransi terhadap Al. Analisis lokasi marka pada kromosom padi tercatat sebagai berikut: RM205 dan RM257 berada pada kromosom 9 dan RM247 berada di kromosom 12 dengan jarak genetik masing-masing sebesar 93,12 cM, 72,62 cM, dan 13,05 cM.

Kata Kunci: marka SSR, padi gogo, toleran, aluminium, ultisol

PENDAHULUAN

Produksi beras nasional perlu ditingkatkan untuk menjamin kebutuhan pangan di masa depan. Pada tahun 2010-2014 rerata konsumsi beras rumah tangga mencapai 98,57 kg/kapita/tahun. Jika jumlah penduduk Indonesia sebesar 252, 17 juta orang dengan laju pertumbuhan 1,31 % maka konsumsi beras akan mencapai 132, 98 kg/kapita/tahun, sehingga diperlukan peningkatan produksi padi pada tiap tahunnya (Kementan 2015). Produksi padi pada tahun 2014 mengalami penurunan sebesar 0,63% dari tahun 2013 yaitu sebesar 70,83 juta ton gabah kering giling (BPS 2015). Usaha pemerintah dalam meningkatkan produksi beras dilakukan dengan intensifikasi yaitu peningkatan produksi dengan cara penggunaan bibit unggul, pemberian pupuk dengan dosis dan jenis yang tepat serta sistem

irigasi yang efektif dan efisien. Selain intensifikasi peningkatan produksi beras juga dilakukan secara ekstensifikasi, yaitu perluasan lahan pertanian (Yanti & Setiawan 2012). Tercatat produksi beras pada tahun 2015 mengalami peningkatan sebesar 6,37 % dibanding tahun 2014. Kenaikan produksi ini terjadi karena peningkatan luas panen sebesar 0,32 juta hektar dan peningkatan produktivitas sebesar 2,04 kuintal/hektar. Kenaikan produksi sebesar 2,31 juta ton terjadi di Pulau Jawa dan 2,21 juta ton terjadi di luar Pulau Jawa (BPS 2016).

Lahan sub optimal perlu dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai lahan pertanian. Luasan lahan potensial pertanian mencapai 95,81 juta hektar, terdiri dari 70,59 juta hektar lahan kering, 5,32 juta hektar lahan basah non rawa dan 19,99 juta hektar lahan rawa (Kementan 2015). Ultisol merupakan lahan kering podzolik merah kuning (PMK) yang potensial untuk dikembangkan yang

tersebar di Kalimantan, Sumatera, Maluku, Papua, Sulawesi, Jawa dan Nusa Tenggara (Subagyo *et al.* 2004). Mulyani *et al.* (2011) menyebutkan bahwa luasan lahan kering potensial dikembangkan sebagai areal pertanian untuk wilayah Sumatera mencapai 5,5 juta ha, Bali dan NTT 0,79 juta ha, Kalimantan 12,3 juta ha, Sulawesi 1,2 juta ha, dan Maluku serta Papua sebesar 10,61 juta ha. Diperkirakan tahun 2050 kebutuhan perluasan lahan kering untuk areal penanaman padi meningkat mencapai 7,2 juta ha dengan prediksi permintaan padi sebesar 80,3 juta ton. Oleh karena itu diperlukan upaya pemanfaatan lahan kering sebagai alternatif bagi permasalahan ketahanan pangan nasional.

Kendala utama yang dihadapi di tanah ultisol ialah kandungan hara yang rendah karena pencucian basa berlangsung intensif dan pH tanah rendah yang menyebabkan kandungan logam berat (Al, Fe, dan Mn) terlarut tinggi sehingga berpotensi meracuni tanaman (Syahputra *et al.* 2015). Prasetyo & Suriadikarta (2006) menyebutkan pengelolaan tanah ultisol dapat dilakukan dengan pengapuran, pemupukan fosfat dan kalium, serta penambahan bahan organik. Penggunaan varietas unggul toleran Al menjadi salah satu cara dalam memanfaatkan tanah ultisol (Lubis *et al.* 1993). Upaya perakitan padi toleran Al telah banyak dilakukan dan dikembangkan. Berikut beberapa varietas dan galur padi yang memiliki sifat terpaut dengan toleransi terhadap Al: IR60080-23, ITA131, B11923F-MR-35-5, B11604E-TB-2-10-10, B12154D-MR-22-8, B12838E-TB-9-11, B11423G-MR-1, B12497E-MR-45, Batutugi, Danau Gaung, dan Grogol (Hairmansis *et al.* 2015). Dilaporkan oleh Santika (2011) bahwa IR60080-23 dan ITA 131 yang digunakan sebagai pembandingan pada uji cekaman Al pada 63 kombinasi persilangan memiliki nilai relatif panjang akar (RPA) berturut-turut sebagai berikut 0,68 (IR60080-23) dikategorikan agak toleran dan 0,49 (ITA131) dikategorikan peka. Sedangkan galur padi Grogol menunjukkan konsistensi sifat toleran terhadap cekaman Al pada kondisi kultur hara, lapang dan pot (Wirnas *et al.* 2002).

Mekanisme Al dalam menghambat pertumbuhan tanaman belum banyak diketahui akan tetapi keracunan Al menyebabkan pertumbuhan akar menjadi terganggu. Pada konsentrasi 15 ppm ion Al^{3+} dapat menghambat pertumbuhan akar yang menyebabkan akar menjadi pendek dan

kerdil (Miftahudin *et al.* 2007). Semakin tinggi konsentrasi Al maka pemanjangan akar menjadi lambat. Menurut Tasma (2015) mekanisme toleransi Al terbagi menjadi dua yaitu: apoplastik atau pencegahan ion Al^{3+} memasuki akar tanaman dan simplastik atau menghilangkan racun Al^{3+} yang telah masuk dalam akar tanaman. Mekanisme toleransi tanaman dalam menetralkan keracunan ion Al^{3+} antar tanaman berbeda. Hal yang sama juga akan terjadi jika antar varietas tanaman disilangkan untuk mendapatkan varietas unggul toleran Al. Prasetyono *et al.* (2003) menyebutkan bahwa perbedaan antar varietas tua persilangan diduga menyebabkan mekanisme toleransi keracunan Al yang dimiliki oleh varietas tua tertentu mungkin berbeda dengan varietas tua yang lainnya.

Sifat toleransi padi terhadap Al dikendalikan oleh banyak gen (multigenik) yang terlihat dari pewarisan secara kuantitatif (Prasetyono *et al.* 2003; Nguyen *et al.* 2002; Tasma 2015). Seleksi tanaman yang dilakukan secara konvensional membutuhkan waktu dan biaya tinggi. Seleksi secara molekuler menggunakan marka menjadi harapan untuk mendapatkan galur potensial toleran yang lebih cepat dan akurat. Teknik seleksi dengan marka molekuler tidak dipengaruhi lingkungan karena pengujian berdasarkan genetik dan dapat dilakukan dengan cepat. Keberadaan marka yang sangat dekat dengan posisi gen target, sangat memungkinkan untuk dilakukan isolasi gen guna keperluan lebih lanjut. Akan tetapi informasi keterpautan marka pada padi gogo terhadap cekaman Al belum banyak dipelajari. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari marka molekuler yang terpaut dengan toleransi tanaman padi gogo terhadap Al dengan metode SSR (*Simple Sequences Repeat*).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan adalah 36 galur padi generasi F6 hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2. Galur-galur tersebut telah diseleksi secara fenotipik pada lahan masam di Lampung Timur dengan kategori: toleran, moderat dan peka Al (Tabel 1). Galur B11930F-TB2 memiliki keunggulan toleran Al, tahan blas dan bertekstur pulen, sedangkan Situ Patenggang memiliki keunggulan aromatik dan merupakan varietas

unggul nasional. Galur IR6008032 digunakan sebagai pembanding toleran dan ITA sebagai pembanding peka. Primer SSR yang digunakan berjumlah 40 pasang.

Isolasi DNA padi dilakukan dengan menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle 1987). Sebanyak 100 mg daun padi muda dihaluskan dengan nitrogen cair hingga menjadi serbuk. Serbuk dimasukkan dalam tabung 2 mL kemudian ditambahkan 500 μ L buffer CTAB dengan 2% (v/v) PVP. Tabung diinkubasi dalam *waterbath* (60°C) selama 1 jam, kemudian ditambah dengan 1% (v/v) mercapthoenatol. Setelah diinkubasi, ke dalam tabung ditambahkan chloroform dan isoamylalcohol dengan perbandingan 24:1, dicampur perlahan dengan cara diputar balikkan beberapa kali kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dipindahkan ke tabung baru dan ditambah dengan 100 ml Isopropanol dan 50 ml 3M NaOAc. Tabung diinkubasi semalam pada suhu -20°C untuk pengendapan DNA kemudian disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit. Pelet dicuci dua kali dengan 70% etanol dan dikering anginkan pada suhu kamar (1-2 jam). Pelet yang sudah kering dilarutkan dalam 50 μ L air bebas *nuclease*. Konsentrasi DNA dihitung dengan menggunakan mesin *Gene Quant Pro spectrophotometer*.

DNA hasil isolasi diamplifikasi dengan mesin PCR ABI 2720 *Thermal Cycler Applied Biosystem*. Reaksi PCR menggunakan KAPA 2G FAST PCR KIT dengan total volume pada setiap tabung PCR adalah 12,5 μ L dengan komposisi: 2,5 μ L 5X KAPA2G Buffer, 0,25 μ L dNTP (10 μ M), 0,625 μ L primer SSR (100 pM), 0,05 μ L KAPA 2G Taq polymerase (5U/ μ L), 8,2 ml dH₂O, dan 1 μ L DNA (100 ng/ μ L) sebagai cetakan. Program PCR yang digunakan: pradenaturasi 94°C (5 menit); 35 kali siklus amplifikasi (denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* pada 55°C-65°C selama 1 menit (Tabel 2) dan sintesis 72°C selama 3 menit).

Pemanjangan primer dilakukan pada 72°C selama 5 menit.

Hasil PCR dianalisis dengan menggunakan 2% gel agarose dan *dirunning* dengan menggunakan mesin elektroforesis *Cleaver* dengan daya 55 volt selama 60 menit. Gel agarose yang telah selesai *dirunning* kemudian diwarnai menggunakan (4%) SYBR safe DNA Stain. Pita DNA dalam gel agarose divisualisasi menggunakan gel dokumentasi *Illumina UV Transilluminator*.

Seleksi dari 40 primer yang digunakan dilakukan dengan menganalisis hasil elektroforegram DNA dari tetua dengan galur-galur hasil persilangan. Seleksi didasarkan pada kesamaan pola pita antara tetua toleran, varietas pembanding peka dan galur-galur hasil persilangan. Primer yang menunjukkan pola pita yang sama antara tetua toleran B11930F-TB2 dan galur toleran dipilih, karena diduga primer tersebut terpaut dengan sifat toleransi terhadap Al. Lokasi gen toleran Al dapat diketahui dengan mencari posisi primer (marka) pada kromosom padi berdasarkan database genom padi yang tersedia di <http://www.gramene.org>. Penentuan jarak genetik dihitung menurut Chen *et al.* (2002) dimana jarak genetik merupakan konversi dari jarak fisik 244 kb untuk jarak genetik 1 centimorgan.

HASIL

Hasil analisis elektroforegram dari kegiatan PCR pada 36 galur hasil persilangan didapatkan 3 pasang primer SSR terpilih (Gambar 1) yang digunakan untuk kegiatan skoring dan analisis lebih lanjut. Adapun ukuran alel yang diperoleh dari masing-masing primer ialah 122 bp (RM205), 147 bp (RM257) dan 131 bp (RM247).

Skoring pita hasil elektroforegram (Tabel 3) dari 3 pasang primer terpilih menunjukkan bahwa pita antara tetua Situ Patenggang dengan varietas kontrol ITA ialah sama A, sedangkan pita antara

Tabel 1. Galur-galur padi hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 terpilih dari seleksi di lahan masam Lampung Timur.

Kategori	Galur
Toleran	B14081H-12, B14081H-14, B14081H-82, B14081H-83, B14081H-84, B14081H-85, B14081H-87, B14081H-207, dan B14081H-208
Moderat	B14081H-13-1, B14081H-13-2, B14081H-78-1, B14081H-78-2, B14081H-80-1, B14081H-80-2, B14081H-81, B14081H-86, B14081H-88, B14081H-210, B14081H-218, B14081H-296, B14081H-298, B14081H-302, B14081H-416, B14081H-461, dan B14081H-463
Peka	B14081H-461-1, B14081H-461-2, B14081H-461-3, B14081H-463-1, B14081H-463-2, B14081H-463-3, B14081H-463-4, B14081H-463-5, B14081H-463-6 dan B14081H-463-7

Tabel 2. Nama lokus, urutan basa nukleotida primer, ukuran produk amplifikasi dan motif ulangan dari 40 pasang primer SSR yang digunakan pada penelitian

No	Nama lokus	Urutan basa	Ukuran alel (Kb)	TM (°C)	Ref
1	RM205	F:CTGGTTCTGTATGGGAGCAG R:CTGGCCCTTCACGTTTCAGTG	122	55	6
2	RM247	F:TAGTGCCGATCGATGTAACG R:CATATGGTTTGACAAAGCG	131	60	2,3,6
3	RM257	F:CAGTTCCGAGCAAGAGTACTC R:GGATCGGACGTGGCATATG	147	60	2,3
4	RM439	F:TCATAACAGTCCACTCCCC R:TGGTACTCCATCATCCCATG	269	55	3
5	RM256	F:GACAGGGAGTGATTGAAGGC R:GTTGATTTCCGCAAGGGC	127	60	3
6	RM492	F:CCAAAAATAGCGCGAGAGAG R:AAGACGTACATGGGTCAGGC	224	55	3
7	RM13	F:TCCAACATGGCAAGAGAGAG R:GGTGGCATTTCGATTCCAG	141	55	6
8	RM232	F:CCGGTATCCTTCGATATTGC R:CCGACTTTTCCTCCTGACG	158	55	3
9	RM489	F:ACTTGAGACGATCGGACACC R:TCACCCATGGATGTTGTCAG	271	55	3
10	RM475	F:CCTCACGATTTTCCTCCAAC R:ACGGTGGGATTAGACTGTGC	235	55	3
11	RM548	F:TCGGTGAGAACTGAGAGTACG R:AAGGAGGCCATCTCAATGTG	259	55	3
12	RM18	F:TTCCCTCTCATGAGCTCCAT R:GAGTGCCTGGCGCTGTAC	157	60	3
13	RM283	F:GTCTACATGTACCCTTGTTGGG R:CGGCATGAGAGTCTGTGATG	151	63	1, 5
14	RM307	F:GTACTACCGACCTACCGTTAC R:CTGCTATGCATGAACTGCTC	174	63	3
15	RM282	F:CTGTGTCGAAAGGCTGCAC R:CAGTCCTGTGTTGCAGCAAG	136	55	3
16	RM221	F:ACATGTCAGCATGCCACATC R:TGCAAGAATCTGACCCGG	192	57	2,3
17	RM474	F:AAGATGTACGGGTGGCATTG R:TATGAGCTGGTGAGCAATGG	136	55	3
18	RM464	F:AACGGGCACATTCTGTCTTC R:TGGAAGACCTGATCGTTTCC	262	55	3
19	RM202	F:CAGATTGGAGATGAAGTCCTCC R:CCAGCAAGCATGTCAATGTA	189	55	3
20	RM244	F:CCGACTGTTCGTCCTTATCA R:CTGCTCTCGGGTGAACGT	163	55	6
21	RM264	F:GTTGCGTCCTACTGCTACTTC R:GATCCGTGTCGATGATTAGC	178	55	3
22	RM104	F:GGAAGAGGAGAGAAAGATGTGTGTCG R:TCAACAGACACACCGCCACCGC	222	60	1,6
23	RM162	F:GCCAGCAAACCAGGGATCCGG R:CAAGGTCTTGTGCGGCTTGCGG	229	60	6
24	RM125	F:ATCAGCAGCCATGGCAGCGACC R:AGGGGATCATGTGCCGAAGGCC	127	60	6
25	RM11	F:TCTCCTCTTCCCCGATC R:ATAGCGGGCGAGGCTTAG	140	58	3
26	RM248	F:TCCTTGTGAAATCTGGTCCC R:GTAGCCTAGCATGGTGCATG	102	58	3,6
27	RM201	F:CTCGTTTATTACCTACAGTACC R:CTACCTCCTTTCTAGACCGATA	158	58	3,4,6

Tabel 2. Lanjutan

No	Nama lokus	Urutan basa	Ukuran alel (Kb)	TM (°C)	Ref
28	RM233	F: CCAAATGAACCTACATGTTG R: GCATTGCAGACAGCTATTGA	162	60	5,6
29	RM17	F: TGCCCTGTTATTTTCTTCTCTC R: GGTGATCCTTTCCCATTTCA	184	57	5
30	RM164	F: TCTTGCCCGTCACTGCAGATATCC R: GCAGCCCTAATGCTACAATTCTTC	264	65	5
31	RM167	F: GATCCAGCGTGAGGAACACGT R: AGTCCGACCACAAGGTGCGTTGTC	128	65	3,6
32	RM263	F: CCCAGGCTAGCTCATGAACC R: GCTACGTTTGAGCTACCACG	199	65	3,6
33	RM203	F: CCTATCCCATTAGCCAAACATTGC R: GATTTACCTCGACGCCAACCTG	203	65	2
34	RM273	F: GAAGCCGTCGTGAAGTTACC R: GTTTCCTACCTGATCGCGAC	207	61	3
35	RM526	F: CCCAAGCAATACGTCCCTAG R: ACCTGGTCATGACAAGGAGG	240	60	2
36	RM340	F: GGTAAATGGACAATCCTATGGC R: GACAAATATAAGGGCAGTGTGC	163	60	3
37	RM481	F: TAGCTAGCCGATTGAATGGC R: CTCCACCTCCTATGTTGTTG	169	60	3
38	RM240	F: CCTTAATGGGTAGTGTGCAC R: TGTAAACCATTCTTCCATCC	132	57	3,6
39	RM5	F: TGCAACTTCTAGCTGCTCGA R: GCATCCGATCTTGATGGG	113	57	3,6
40	RM249	F: GCGTAAAGGTTTTGCATGT R: ATGATGCCATGAAGGTCAGC	121	57	5

Keterangan: Ref 1: Akhmad 2008, 2: Famoso *et al.* 2011, 3: Prasetyono *et al.* 2003, 4: Nguyen *et al.* 2002, 5: Nguyen *et al.* 2003, 6: Yuniarini 2013

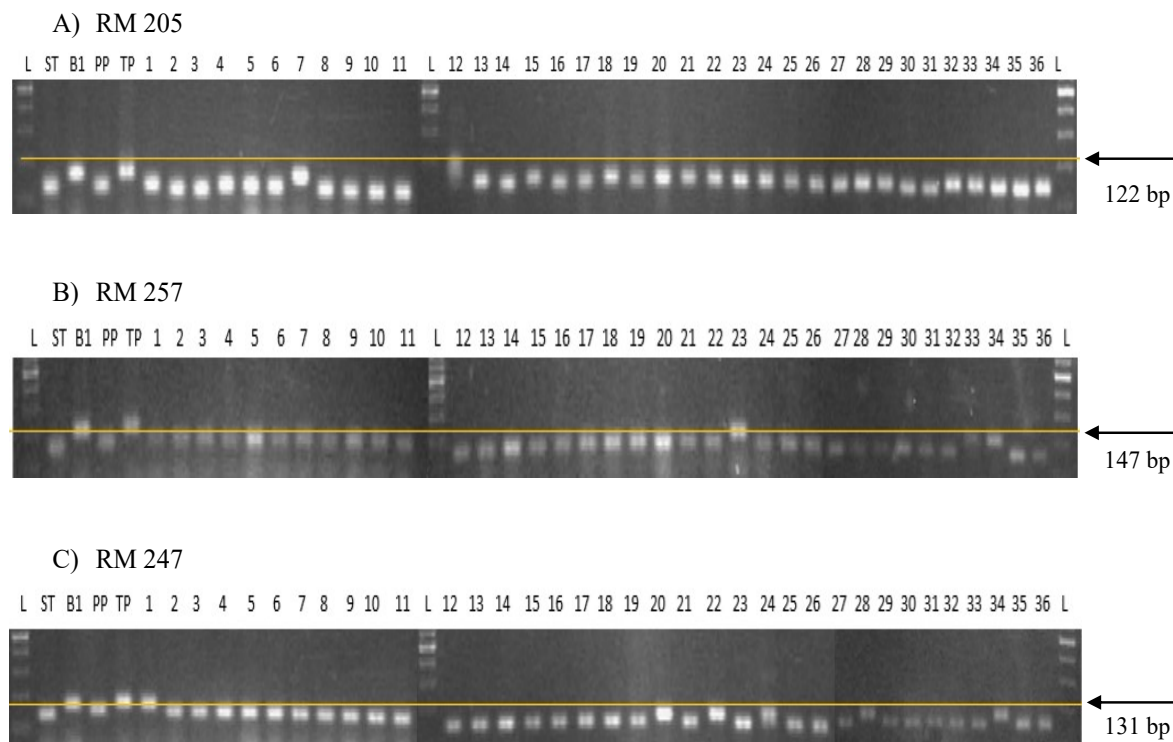
tetua B11930F-TB2 dengan varietas kontrol IR6008032 ialah sama B. Pita galur-galur hasil persilangan didominasi oleh pita A, akan tetapi beberapa galur persilangan menunjukkan pita yang sama dengan tetua B11930F-TB2 yaitu galur B14081H-78-1, B14081H-302, B14081H-13-1, B14081H-13-2, B14081H-416, B14081H-78-2, B14081H-210, B14081H12 dan B14081H-207. Hal ini menunjukkan bahwa ke 9 galur tersebut memiliki toleransi terhadap Al yang sama dengan tetuanya B11930F-TB2. Galur-galur tersebut dalam seleksi fenotipik di lahan masam Lampung Timur menunjukkan tingkat toleransi kategori toleran dan moderat dan secara genetik memiliki marka yang sama dengan tetua B11930F-TB2.

Pola pita dari 9 galur persilangan yang sama dengan tetua B11930F-TB2 ditemui pada galur toleran serta moderat akan tetapi tidak ditemui pada galur dengan kategori peka. Hasil analisis lokasi 3 pasang primer menunjukkan bahwa 2 pasang primer berada pada kromosom 9 yaitu RM205 dan RM257, sedangkan RM247

berada pada kromosom 12. Adapun jarak fisik dan genetik gen pada kromosom padi untuk setiap primer tercatat sebagai berikut: RM205 22.720.624 bp (93,12 cM), RM257 17.719.660 bp (72,62 cM) dan RM247 3.185.384 bp (13,05 cM).

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini kegiatan pencarian marka terpaut sifat toleransi padi gogo persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 dimulai dengan seleksi primer SSR. Sebanyak 40 pasang primer digunakan untuk melihat adanya polimorfisme antar tetua yaitu Situ Patenggang dan B11930F-TB2. Marka yang menunjukkan polimorfisme antar tetua juga menunjukkan kesesuaian pola pita dengan varietas kontrol toleran (IR6008032), dan varietas kontrol peka (ITA). Hasil aplikasi 3 pasang primer pada 36 galur hasil persilangan diperoleh 9 galur persilangan yaitu: B14081H-78-1, B14081H-302, B14081H-13-1, B14081H-13-2, B14081H-416, B14081H-78-2, B14081H-210, B14081H12 dan B14081H-207



Gambar 1. Elektroforegram agarose gel 2 % dari tiga primer terpilih A) RM 205, B) RM 257 dan C) RM247. Keterangan: L: Ladder 100bp, ST: Situ Patenggang, B1: B11930F-TB2, PP: ITA (kontrol peka) , TP: IR6008032 (kontrol toleran), No.1-36: Galur-galur hasil persilangan yang diuji.

yang memiliki pola pita B yang sama dengan tetua B11930F-TB2 dan varietas IR6008032. Pada galur hasil persilangan kategori peka pada lahan masam yang diseleksi secara fenotipik di Lampung Timur tidak didapatkan pola pita B akan tetapi pola pita yang muncul pada galur peka ini adalah pola pita A yang sama dengan tetua Situ Patenggang dan varietas ITA (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa 9 galur persilangan tersebut baik diseleksi secara fenotipik dan genetik menunjukkan sifat toleransi terhadap Al.

Informasi keberadaan marka bermanfaat untuk mengidentifikasi galur-galur hasil persilangan yang memiliki sifat toleransi terhadap Al yang sama dengan tetuanya. Hal ini didukung oleh Prasetiyono *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa penelitian polimorfisme antar tetua diperlukan untuk menentukan primer yang dapat digunakan untuk seleksi tanaman hasil persilangan. Semakin banyak marka polimorfis yang mencakup semua lokasi genom, maka semakin besar peluang untuk mendapatkan peta genetik yang akurat (Reflinur & Lestari 2015). Dalam penelitiannya Prasetiyono *et al.* (2003) melakukan identifikasi marka terpaut toleransi terhadap Al pada persilangan

DUPA x ITA 131, diperoleh 110 primer polimorfis dari 243 primer yang digunakan. Akan tetapi hanya 67 primer yang dapat diskor dan analisis. Sedangkan Utami *et al.* (2015) yang melakukan analisis galur toleran Al dengan 384 marka SNP mendapatkan 9 marka SNP yang bersifat signifikan dan dapat diaplikasikan untuk kegiatan seleksi galur padi gogo yang memiliki sifat toleran terhadap Al. Keberhasilan marka dalam menyeleksi kegiatan pemuliaan dipengaruhi oleh 1) ketersediaan peta genetik dengan jumlah marka polimorfis yang cukup banyak, sehingga dapat dilakukan identifikasi QTL gen-gen target secara tepat 2) marka terpaut dekat dengan QTL gen target pada peta genetik yang sudah dikonstruksi 3) kemampuan analisis tanaman secara efektif (Azrai 2006).

Hasil analisis lokasi gen toleran Al pada kromosom berdasarkan *database* genom padi, dalam penelitian ini diduga gen yang terpaut dengan sifat toleransi padi gogo persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 berada pada kromosom 9 dan 12 sesuai dengan posisi marka RM205 (22.720.624 bp), RM257 (17.719.660 bp) dan RM247 (3.185.384 bp). Pada beberapa penelitian terpetakan beberapa QTL gen-gen

Tabel 3. Skoring pita galur-galur hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2

Kode	Galur	Sifat toleransi di lahan masam	Primer/ Marka			Galur	Sifat toleransi di lahan masam	Primer/ Marka		
			RM205	RM247	RM257			RM205	RM247	RM257
ST	Situ Patenggang	-	A	A	A	B14081H 463-4	Peka	A	A	A
B1	B11930F-TB2	Toleran	B	B	B	B14081H 81	Moderat	A	A	A
PP	ITA	Peka	A	A	A	B14081H 463-2	Peka	A	A	A
TP	IR60080-23	Toleran	B	B	B	B14081H 13-1	Moderat	A	B	A
1	B14081H 78-1	Moderat	A	B	A	B14081H 296	Moderat	A	A	A
2	B14081H 463-7	Peka	A	A	A	B14081H 13-2	Moderat	A	B	A
3	B14081H 463-6	Peka	A	A	A	B14081H 416	Moderat	A	A	B
4	B14081H 461-2	Peka	A	A	A	B14081H 78-2	Moderat	A	B	A
5	B14081H 461-3	Peka	A	A	A	B14081H 80-2	Moderat	A	A	A
6	B14081H 87	Toleran	A	A	A	B14081H 80-1	Moderat	A	A	A
7	B14081H 84	Toleran	A	A	A	B14081H 218	Moderat	A	A	A
8	B14081H 85	Toleran	A	A	A	B14081H 210	Moderat	A	B	A
9	B14081H 83	Toleran	A	A	A	B14081H 88	Moderat	A	A	A
10	B14081H 14	Toleran	A	A	A	B14081H 463-1	Peka	A	A	A
11	B14081H 298	Moderat	A	A	A	B14081H 463-3	Peka	A	A	A
12	B14081H 302	Moderat	B	A	A	B14081H 208	Toleran	A	A	A
13	B14081H 86	Moderat	A	A	A	B14081H 12	Toleran	A	A	B
14	B14081H 463	Moderat	A	A	A	B14081H 207	Toleran	A	B	B
15	B14081H 461	Moderat	A	A	A	B14081H 82	Toleran	A	A	A
16	B14081H 463-5	Peka	A	A	A	B14081H 461-1	Peka	A	A	A

Tabel 4. Primer SSR terpilih yang menghasilkan pola pita antara galur toleran dengan tetua B11930F-TB2 pada kromosom padi.

Primer/ Marka	Kromosom	Posisi primer di kromosom padi	
		Jarak fisik	Jarak genetik
RM205	9	22.720.624 bp	93,12 cM
RM257	9	17.719.660 bp	72,62 cM
RM247	12	3.185.384 bp	13,05 cM

yang terpaut dengan sifat toleransi terhadap Al pada kromosom 9 dan 12. Dilaporkan oleh Xue *et al.* (2007) bahwa gen *Alt-9* berada antara RM24702 dan ID47-2 yang berada di kromosom 9 serta Mao *et al.* (2004) yang telah mendeteksi gen toleran Al pada kromosom 1, 9 dan 12. Zhang *et al.* (2016) menambahkan Os12g0438400 merupakan kandidat gen yang berada pada kromosom 12. Lebih lanjut dalam penelitiannya Zhang *et al.* (2016) menemukan empat lokus yang terletak pada jarak tertentu dari daerah QTL yang telah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya. Seperti

terdapat jarak genetik sebesar 0,35 Mb antara RM220 dan OsCDT3, PSM377 terletak dari CQL3 pada jarak 3,8 Mb, RM407 terletak pada jarak 6,5 cM dari qALRR-3 dan RM407 yang terpisah sejauh 3,4 cM dari QA1Rr8.1. Sifat toleransi tanaman terhadap Al dikendalikan oleh banyak gen (Prasetyono *et al.* 2003). Ma *et al.* (2002) menemukan 3 QTL yang terpaut dengan toleransi padi terhadap Al pada kromosom 1, 2 dan 6. Nguyen *et al.* (2002) memperkuat pernyataan tersebut dengan menunjukkan hasil penelitiannya yang menyebutkan bahwa gen-gen yang terpaut dengan

sifat toleransi padi terhadap Al tersebar di 10 kromosom padi.

Peta genetik ialah pengembangan genetika klasik melalui biologi molekuler, dimana pemetaan genetik didasarkan pada segregasi gen saat pembelahan meiosis (Reflinur & Lestari 2015, Surahman 2002). Gen/marka yang saling berdekatan akan diwariskan pada keturunannya dengan frekuensi lebih tinggi dibandingkan dengan gen/marka yang letaknya berjauhan. Jumlah marka yang digunakan dalam pembuatan peta genetik harus dalam jumlah yang besar, sehingga dapat terbentuk peta pautan, dan mempermudah penentuan lokus suatu gen dalam kromosom (Reflinur & Lestari 2015). Peta genetik memungkinkan penentuan gen dan jumlah gen yang bertanggung jawab terhadap karakter tertentu, lokasi pada kromosom dan kekuatan gen tersebut terhadap suatu karakter (Surahman 2002). Marka yang ideal menurut Zulfahmi (2013) harus memiliki beberapa sifat seperti: a) tingkat polimorfisme yang tinggi, b) terdistribusi merata dalam genom, c) memberikan resolusi perbedaan genetik yang cukup, d) pewarisan sifat kodominan, dan e) netral. Takdir *et al.* (2009) menyebutkan marka SSR sering digunakan dalam membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan gen, alat bantu seleksi, studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik. Di Indonesia penggunaan marka molekuler untuk identifikasi toleransi tanaman terhadap Al telah dilakukan pada tanaman padi (Prasetyono *et al.* 2003, Utami *et al.* 2015), dan kedelai (Tasma & Warsun 2009; Sirait 2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 diperoleh 3 pasang primer SSR terpilih yaitu: RM205, RM257 dan RM247 yang menunjukkan polimorfisme antara tetua toleran dengan tetua peka. Adapun lokasi ketiga marka tersebut menurut *database* genom padi berada pada kromosom 9 dan 12. Hasil analisis dari penggunaan 3 pasang primer terpilih pada 36 galur hasil persilangan menunjukkan 9 galur yaitu: galur B14081H-78-1, B14081H-302, B14081H-13-1, B14081H-13-2, B14081H-416, B14081H-78-2, B14081H-210, B14081H12 dan B14081H-207 memiliki marka yang sama dengan tetua B11930F-TB2. Informasi marka ini bermanfaat untuk memperkuat kegiatan seleksi secara genetik

galur-galur harapan toleran Al yang berasal dari di lapangan, dan lebih lanjut berguna bagi kegiatan pemuliaan padi gogo unggul toleran Al. Selain itu informasi ini dapat dijadikan pertimbangan dalam mempelajari keanekaragaman mekanisme toleransi padi gogo khususnya hasil persilangan Situ Patenggang x B11930F-TB2 terhadap Al.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Tematik Kompetensi Inti Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI TA 2015-2016. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Amrih Susetiyono A yang telah membantu dan terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhmad. 2008. Analisis marka molekuler terpaat karakter fisiologis dari sifat toleransi aluminium pada populasi F2 padi. [Tesis]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Azrai, M. 2006. Sinergi teknologi marka molekuler dalam pemuliaan tanaman jagung. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25(3): 81-89.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2015. Produksi padi, jagung, dan kedelai (Angka sementara tahun 2014) Produksi padi tahun 2014 (angka sementara) diperkirakan turun 0,63 persen. http://www.bps.go.id/website/brs_ind/brsInd-20150302130203.pdf. (Diunduh tanggal 28 November 2016)
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2016. Produksi padi, jagung dan kedelai (Angka sementara tahun 2015) Produksi padi tahun 2015 naik, 6,37 persen. <https://www.bps.go.id/brs/view/id/1271> (Diunduh tanggal 30 Agustus 2016).
- Chen, M., G. Presting, WB. Barbazuk, JL. Goicoechea, B. Blackmon, G. Fang, H. Kim, D. Frisch, Y. Yu, S. Sun, S. Higingbottom, J. Phimphilai, D. Phimphilai, S. Thurmond, B. Gaudette, P. Li, J. Liu, J. Hatfield, D. Main, K. Farrar, C. Henderson, L. Barnett, R. Costa, B. Williams, S. Walser, M. Atkins, C. Hall, MA. Budiman, JP. Tomkins, M. Luo, I. Bancroft, J. Salse, F. Regad, T. Mohapatra, NK. Singh, AK. Tyagi, C. Soderlund, RA. Dean, & RA. Wing. 2002. An integrated physical and genetic map of the

- rice genome. *The Plant Cell*. 14 (3): 537-545.
- Doyle, JJ., & JL. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation from small amount of fresh leaf tissue. *Phytochem Bulletin*. 19:11-15.
- Famoso, AN., K. Zhao, RT. Clark, CW. Tung, MH. Wright, C. Bustamante, LV. Kochian, & SR. Mc Couch. 2011. Genetic architecture of aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through genome-wide association analysis and QTL mapping. *PLoS Genetics*. 7 (8): e1002221.
- Hairmansis, A., Supartopo, Yullianida, Sunaryo, Warsono, Sukirman, & Suwarno. 2015. Pemanfaatan plasma nutfah padi (*Oryza sativa*) untuk perbaikan sifat padi gogo. *Prosiding Seminar Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(1):15-18.
- Kementan. 2015. Rencana strategis kementerian pertanian tahun 2015-2019. Kementerian Pertanian Indonesia.
- Lubis, E., M. Diredja, Z. Harahap, & B. Kustianto. 1993. Perbaikan padi gogo. Disajikan sebagai makalah penunjang dalam Simposium Penelitian Tanaman Pangan II, Puslitbangtan. Jakarta/Bogor, 23-25 Agustus 1993. *Buletin Plasma Nutfah*. 6 (1): 47-52.
- Ma, JF., R. Shen, Z. Zhao, M. Wissuwa, Y. Takeuchi, T. Ebitani, & M. Yano. 2002. Response of rice to Al stress and identification of quantitative trait loci for Al tolerance. *Plant Cell Physiology*. 43(6):652-659.
- Mao, C., K. Yi, L. Yang, B. Zheng, Y. Wu, F. Liu, & P.Wu. 2004. Identification of aluminum-regulated genes by cDNA-ALFP in rice (*Oryza sativa* L.): aluminum-regulated genes for the metabolism of cell wall components. *Journal of Experimental Botany*. 55 (394): 137-143.
- Miftahudin, Nurlaela, & Juliarni. 2007. Uptake and distribution of aluminum in root apices of two rice varieties under aluminum stress. *HAYATI Journal of Biosciences*. 14 (3): 110-114.
- Mulyani, A., S. Ritung, & I. Las. Potensi dan ketersediaan sumber daya lahan untuk mendukung ketahanan pangan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 30 (2): 73-80.
- Nguyen, VT., BD. Nguyen, S. Sarkarung, C. Martinez, AH. Paterson, & HT. Nguyen. 2002. Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: comparison of different genetic backgrounds. *Molecular Genetics and Genomics*. 267: 772-780.
- Nguyen, BD., DS. Brar, BC. Bui, TV. Nguyen, LN. Pham, & HT. Nguyen. 2003. Identification and mapping of the QTL for aluminum tolerance introgressed from the new source, *Oryza Rufipogon* Griff., into indica rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical Applied Genetics*. 106: 583-593
- Prasetyo, BH., & DA. Suriadikarta. 2006. Karakteristik, potensi, dan teknologi pengelolaan tanah ultisol untuk pengembangan pertanian lahan kering di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25 (2): 39-47.
- Prasetyono, J., Tasliah, H. Aswidinnoor, & S. Moeljoprawiro. 2003. Identifikasi marka mikrosatelit yang terpaut dengan sifat toleransi terhadap keracunan aluminium pada padi persilangan DUPA x ITA131. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 8 (2): 35-45.
- Prasetyono, J., H. Aswidinnoor, S. Moeljoprawiro, D. Sopandie, & M. Bustamam. 2008. Identifikasi marka polimorfik untuk pemuliaan padi toleran defisiensi fosfor. *Jurnal Agro Biogen*. 4 (2): 51-58.
- Reflinur, & P. Lestari. 2015. Penentuan lokus gen dalam kromosom tanaman dengan bantuan marka DNA. *Jurnal Litbang Pertanian*. 34(4): 177-186.
- Santika, A. 2011. Teknik pengujian galur padi gogo terhadap keracunan aluminium di rumah kaca. *Buletin Teknik Pertanian*. 16 (2): 43-47.
- Setiawan, A. 2002. Pemetaan marker ALFP untuk membuat peta genetic bit gula. *Buletin Agronomi*. 29(2):40-49.
- Sirait, BA. 2004. Penanda kedelai toleran aluminium hasil penapisan secara *in vitro* dan korelasi peubah amatan dengan biji kering di rumah kaca. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. 2(2): 1-7.
- Subagyo, HN., Suharta, & AB. Siswanto. 2004. Tanah-tanah pertanian di Indonesia. pp. 21-66. Dalam Adimihardja, A., LI. Amien, F. Agus, & D. Djaenudin (Ed.). Sumberdaya lahan Indonesia dan pengelolaannya. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanah dan Agroklimat, Bogor.

- Surahman, M. 2002. Peta genetik tanaman, prinsip dan aplikasinya. *Buletin Agronomi*. 30(1): 27-30.
- Syahputra, E., Fauzi, & Razali. 2015. Karakterisasi sifat kimia sub grup tanah ultisol di beberapa wilayah Sumatera Utara. *Jurnal Agroekoteknologi*. 572:1796-1803.
- Takdir, AM., H. Aswindinnor, Trikoesoemaningtyas, & J. Koswara. 2009. Estimasi jarak genetic galur jagung pulut berbasis marka mikrosatelit dan korelasinya dengan karakter morfologi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 28 (1): 7-16.
- Tasma, IM. 2015. Gen dan QTL pengendali toleransi tanaman terhadap keracunan aluminium dan aplikasinya untuk pemuliaan tanaman di Indonesia. *Jurnal Agro Biogen*. 11 (3): 111-124.
- Tasma, IM., & A. Warsun. 2009. Genetic diversity analysis of aluminium-toxicity tolerant and sensitive soybean genotypes assessed with microsattelite markers. *Jurnal AgroBiogen*. 5(1):1-6.
- Utami, DW., I. Rosdianti, S. Yuriyaha, AD. Ambarwati, I. Hanarida, Suwarno, & Miftahudin. 2015. Identifikasi gen/ QTL (*Quantitative Trait Loci*) sifat toleran cekaman aluminium pada galur-galur padi gogo. <https://www.researchgate.net/publication/280301554>. (Diunduh tanggal 6 Desember 2016).
- Wirnas, D., A. Makmur, D. Sopandie, & H. Aswindinnor. 2002. Eवालusi keteganggan galur padi gogo terhadap cekaman aluminium dan efisiensi penggunaan kalium. *Buletin Agronomi*. 30 (2): 39-44.
- Xue, Y, L. Jiang, N. Su, JK. Wang, & P. Deng. 2007. The genetic basic and fine-mapping of a stable quantitative-trait loci for aluminium tolerance in rice. *Planta*. 227: 255-262.
- Yanti, D., & D, Setiawan. 2012. Analisa nilai manfaat irigasi pompa dangkal ditinjau keberlanjutan sumber daya air untuk Pertanian. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. 16 (1): 78-82.
- Yuniarini, S. 2013. Eksplorasi marka mikrosatelit yang terkait dengan sifat toleransi keracunan aluminium pada padi. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk analisis genetik tanaman. *Jurnal Agroteknologi*. 3 (2):41-52.