

**KERAGAMAN GENETIK 22 AKSESI PADI LOKAL TORAJA UTARA
BERBASIS MARKA *SIMPLE SEQUENCE REPEATS* (SSR)****Genetic Diversity of 22 Local Rice Accessions from North Toraja Based on Simple
Sequence Repeats (SSR) Markers****Holy Ekklesia Ladjao, Rinaldi Sjahril*, Muh. Riadi**Program Studi Magister Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis
Kemerdekaan KM 11, 90245, Makassar, Sulawesi Selatan*Email: rinaldi.sjahril@gmail.com**ABSTRACT**

One way to explore the potential of local rice is by the characterization that could obtain genetic diversity of that plants. The aim of this study was to obtain the genetic diversity of 22 local rice accession from North Toraja. Twenty-two of local rice accessions from North Toraja were characterized by 30 SSR markers and using NTSYS pc 2.1 program to analyze genetic diversity. The results showed that twenty-six SSR markers that had been analyzed produced some alleles with a size between 106.75-311 bp, the average number of alleles were 3 and the polymorphism rate was 0.53. On coefficient genetic similarity at 0.38, the population formed three clusters. Cluster I and II were dominated by rice that had no hair on the tip of the grain and cluster III were dominated by rice that had hair on the tip of the grain. There were 105 probabilities to crossing between accessions when the genetic distance was above 0.7.

Keywords: *genetic diversity, local rice, North Toraja, polymorphism rate, SSR markers***ABSTRAK**

Salah satu cara untuk menggali potensi padi lokal adalah dengan karakterisasi. Dengan adanya kegiatan karakterisasi tersebut maka dapat diketahui bagaimana keragaman genetik dari suatu tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dari 22 aksesori padi lokal Toraja Utara. Duapuluh dua aksesori padi lokal Toraja Utara dikarakterisasi menggunakan 30 marka SSR dan dianalisis keragaman genetiknya menggunakan program NTSYS pc 2.1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa duapuluh enam marka SSR yang dianalisis memiliki kisaran ukuran alel antara 106.75-311 bp, dengan jumlah alel rata-rata 3 dan tingkat polimorfisme sebesar 0,53. Koefisien kemiripan genetik 0,38 dan terbentuk 3 klaster. Pada klaster I dan klaster II didominasi oleh padi yang tidak memiliki rambut pada ujung gabahnya, dan pada klaster III didominasi oleh padi yang memiliki rambut pada ujung gabahnya. Selain itu, pada jarak genetik diatas 0,7 terdapat 105 peluang persilangan.

Kata Kunci: keragaman genetik, marka SSR, padi lokal, tingkat polimorfisme, Toraja Utara

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa*) adalah salah satu tanaman sereal terpenting di dunia saat ini dan berfungsi sebagai sumber makanan pokok lebih dari separuh populasi manusia di dunia. Tanaman padi termasuk salah satu spesies tertua di dunia, yang melalui proses domestikasi sejak ribuan tahun yang lalu (Molina et al. 2011; Gross dan Zhao 2014). Sebagai negara dengan kekayaan alam yang melimpah, saat ini Indonesia menduduki peringkat ketiga dunia dalam hal keanekaragaman hayati (Maulana et al. 2014). Khusus untuk padi, Indonesia memiliki lebih dari 17 ribu aksesori dan sekitar 3.500 aksesori diantaranya telah dikarakterisasi dan digunakan sebagai sumber gen atau tetua dalam perakitan varietas unggul padi (Las et al. 2004).

Kabupaten Tana Toraja merupakan salah satu daerah penghasil padi di Indonesia. Padi yang ditanam di Tana Toraja ada yang berupa padi lokal dan padi varietas baru (Juhriah et al. 2013). Padi lokal telah dibudidayakan secara turun-temurun sehingga genotip telah beradaptasi dengan baik pada berbagai kondisi lahan dan iklim spesifik di daerah pengembangannya. Padi lokal secara alami memiliki ketahanan terhadap hama dan penyakit, toleran terhadap cekaman abiotik, dan memiliki kualitas beras yang baik sehingga disenangi oleh banyak konsumen di tiap lokasi tumbuh dan berkembangnya (Sitaresmi et al. 2013). Padi lokal Toraja yang sangat beragam tersebut, memiliki keunggulan dan merupakan aset yang potensial untuk dimanfaatkan dan dilestarikan (Limbongan dan Djufry 2015). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menggali potensi padi lokal adalah dengan melakukan karakterisasi. Karakterisasi secara molekuler dilakukan dengan menggunakan bantuan penanda atau marka molekuler dalam membedakan genom tanaman.

Teknologi penanda molekuler telah banyak dilaporkan aplikasinya pada berbagai spesies tanaman karena penanda DNA tidak terpengaruh lingkungan (Kristantini et al. 2014). Pada penelitian dasar, penggunaan marka DNA lebih diarahkan sebagai alat bantu dalam analisis hubungan kekerabatan antarindividu (analisis filogenetik) dalam rangka perbaikan

sifat atau karakter suatu individu tanaman (Reflinur dan Lestari 2015). Salah satu marka molekuler yang biasa digunakan yaitu marka mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeats* (SSR). Marka SSR memiliki beberapa keunggulan, di antaranya memiliki tingkat polimorfisme tinggi, bersifat kodominan, memiliki akurasi tinggi dan terdapat berlimpah pada genom (Mulsanti et al. 2013).

Pemanfaatan marka molekuler SSR pada tanaman padi sudah banyak diaplikasikan, di antaranya untuk mengidentifikasi kekerabatan beberapa aksesori padi lokal tahan HPT (Rohaeni et al. 2016), keragaman 96 aksesori plasma nutfah padi terkait umur genjah (Utami et al. 2011), keragaman genetik beras berwarna berdasarkan marka terkait sifat warna beras (Utami et al. 2009; Kristantini et al. 2014), mengidentifikasi sifat toleransi tanaman padi terhadap aluminium (Anggraheni dan Mulyaningsih 2017), dan diagnostik awal dalam mendeteksi alel-alel ketahanan terhadap wereng batang coklat (WBC) (Chaerani et al. 2014).

Karakterisasi merupakan salah satu bentuk pelestarian plasma nutfah karena dapat diketahui sifat-sifat penting pada tanaman yang bermanfaat dalam perakitan varietas unggul (Putra et al. 2014). Dengan adanya kegiatan karakterisasi tersebut maka dapat diketahui bagaimana keragaman genetik dari suatu individu/populasi suatu tanaman.

Keragaman genetik berkaitan erat dengan hubungan kekerabatan. Hubungan kekerabatan genetik antar genotipe dalam populasi dapat diukur berdasarkan kesamaan sejumlah karakter, sehingga dapat diasumsikan bahwa karakter yang berbeda dari suatu individu, menggambarkan perbedaan susunan genetiknya (Sukartini 2008). Informasi keragaman genetik tanaman pada tingkat individu, spesies maupun populasi perlu diketahui, sebagai dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya genetik tanaman secara berkelanjutan (Zulfahmi 2013).

Kabupaten Tana Toraja sejak tahun 2008, mengalami pemekaran sehingga terbagi menjadi 2 kabupaten, yaitu Tana Toraja dan Toraja Utara. Sama seperti

Tabel 1. Materi genetik yang digunakan dalam penelitian

Kode aksesori	Nama padi lokal	Asal (kecamatan)
TU-01	Pare Loto-loto	Nanggala
TU-02	Pare Lotong Tanduk	Nanggala
TU-03	Pare Pulu Lotong	Nanggala
TU-04	Pare Pulu Mandoti	Tikala
TU-05	Pare Cina	Balusu
TU-06	Pare Tallang	Balusu
TU-07	Pare Lea	Balusu
TU-08	Pare Seko	Balusu
TU-09	Pare Mansur Buri	Balusu
TU-10	Pare Pulu Kombong	Balusu
TU-11	Pare Pulu Seba	Balusu
TU-12	Pare Ko'Bo	Balusu
TU-13	Pare Birri	Balusu
TU-14	Pare Ambo	Balusu
TU-15	Pare Pulu Lallodo	Balusu
TU-16	Pare Mansur Putih	Balusu
TU-17	Pare Birrang	Sesean Suloara
TU-18	Pare Mandi	Sesean Suloara
TU-19	Pare Barri Rarang	Bangkele Kila
TU-20	Pare Jawa	Bangkele Kila
TU-21	Pare Pulu Kalloko	Bangkele Kila
TU-22	Pare Barri Busa	Sa'dan

Kabupaten Tana Toraja, Kabupaten Toraja Utara juga memiliki aset padi lokal yang sangat beragam dan masih dibudidayakan oleh penduduk setempat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dari 22 aksesori padi lokal Toraja Utara dengan menggunakan marka SSR.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah 22 aksesori padi lokal yang berasal dari Kabupaten Toraja Utara yang merupakan koleksi dari Laboratorium Biosains Terapan dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman dan Ilmu Benih Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin (Tabel 1). DNA tiap aksesori tanaman padi diamplifikasi pada mesin PCR dengan menggunakan 30 marka SSR (Tabel 2).

Persiapan materi genetik

Persiapan materi genetik untuk isolasi DNA dilakukan dengan menanam sebanyak

15 biji untuk masing-masing aksesori tanaman padi pada bak plastik ukuran 30 cm × 40 cm. Duapuluh satu hari setelah tanam (HST) (Gambar 1), daun tanaman padi diambil untuk selanjutnya dilakukan isolasi DNA.

Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan mengikuti prosedur George et al. (2004) yang dimodifikasi dengan mengganti nitrogen cair dengan buffer CTAB pada saat penggerusan jaringan segar tanaman berdasarkan metode Khan et al. (2004).

Uji kualitas dan uji kuantitas DNA

Uji kualitas dan kuantitas DNA diverifikasi melalui elektroforesis horizontal pada gel agarosa 1%. Kuantifikasi setiap hasil ekstraksi dilakukan dengan membandingkan sampel DNA dengan lambda DNA standar (50, 100, 200, dan 300 ng/μL larutan).

Proses PCR

Reaksi PCR dilakukan dengan membuat campuran larutan yang terdiri dari 1 μL DNA cetakan, 6,25 μL Taq DNA polimerase, 0,5 μL primer SSR 0,5 mM (*Forward*), 0,5 μL primer SSR 0,5 mM (*Reverse*), dan 2,25 μL ddH₂O.

Proses amplifikasi dilakukan dalam mesin PCR *Techne Fuse TIGA FTC Plus/02*. Siklus reaksi PCR terdiri atas beberapa tahap yaitu: (1) denaturasi awal 94°C selama 2 menit, (2) denaturasi 94°C selama 30 detik, (3) *annealing* pada 53°C, 55°C, 57°C, 61°C, atau 63°C (d disesuaikan dengan suhu *annealing* masing-masing primer (Tabel 2)) selama 1 menit, (4) ekstensi pada 72°C selama 1 menit, (5) pengulangan siklus (kembali ke tahap denaturasi, sebanyak 29 kali), (6) ekstensi terakhir pada 72°C selama 5 menit, dan (7) penyimpanan (*soak*) pada 4°C.

Elektroforesis dan visualisasi pita DNA

Pemisahan pita DNA hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan 8% PAGE. Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan alat elektroforesis vertikal mini yaitu *Dual mini-verticals complete system MGV-202-33*. Visualisasi fragmen-fragmen DNA hasil elektroforesis dilakukan menggunakan teknik pewarnaan perak (*silver staining*).

Tabel 2. Marka SSR yang digunakan

Marka	Letak kromosom	Susunan basa nukleotida (F = Forward, R = Reverse)	Suhu annealing	Referensi
RM259	1	F: TGGAGTTTGAGAGGAGGG R: CTTGTTGCATGGTGCCATGT	55	Gramene (2006)
RM1287	1	F: GTGAAGAAAGCATGGTAAATG R: CTCAGCTTGCTTGTGGTTAG	55	Thomson <i>et al.</i> (2010)
RM220	1	F: GGAAGGTAAGTGTTCAC R: GAAATGCTTCCCACATGTCT	55	Utami <i>et al.</i> (2009)
RM154	2	F: ACCCTCTCCGCTCGCCTCCTC R: CTCCTCCTCCTGCGACCGCTCC	61	Gramene (2006)
RM452	2	F: CTGATCGAGAGCGTTAAGGG R: GGGATCAAACACGTTTCTG	61	Gramene (2006)
RM338	3	F: CACAGGAGCAGGAGAAGAGC R: GGCAAACCGATCACTCAGTC	55	Gramene (2006)
RM489	3	F: ACTTGAGACGATCGGACACC R: TCACCCATGGATGTTGTCAG	55	Gramene (2006)
RM241	4	F: GAGCCAAATAAGATCGCTGA R: TGCAAGCAGCAGATTTAGTG	55	Susanto <i>et al.</i> (2015)
RM252	4	F: TTCGCTGACGTGATAGGTTG R: ATGACTTGATCCCGAGAACC	55	Utami <i>et al.</i> (2009)
RM307	4	F: GTACTACCGACCTACCGTTCAC R: CTGCTATGCATGAACTGCTC	55	Gramene (2006)
RM161	5	F: TGCAGATGAGAAGCGGCGCCTC R: TGTGTCATCAGACGGCGCTCCG	61	Gramene (2006)
RM334	5	F: GTTCAGTGTTTCAGTGCCACC R: GACTTTGATCTTTGGTGGACG	55	Gramene (2006)
RM507	5	F: CTTAAGCTCCAGCCGAAATG R: CTCACCCTCATCATCGCC	55	Gramene (2006)
RM190	6	F: CTTTGTCTATCTCAAGACAC R: TTGCAGATGTTCTTCTGATG	55	Chen <i>et al.</i> (2008)
RM133	6	F: TTGGATTGTTTTGCTGGCTCGC R: GGAACACGGGGTTCGGAAGCGAC	63	Gramene (2006)
RM454	6	F: CTAAGCTTAGCTGCTGCTG R: GTGATCAGTGCACCATAGCG	55	Gramene (2006)
RM180	7	F: CTACATCGGCTTAGGTGTAGCAACACG R: ACTTGCTCTACTTGTGGTGAGGGACTG	55	Utami <i>et al.</i> (2009)
RM125	7	F: ATCAGCAGCCATGGCAGCGACC R: AGGGGATCATGTGCCGAAGGCC	63	Gramene (2006)
RM455	7	F: AACAAACCCACCACCTGTCTC R: AGAAGGAAAAGGGCTCGATC	57	Gramene (2006)
RM433	8	F: TGGCTGAACATAAACACAGC R: AGACAAACCTGGCCATTAC	53	Utami <i>et al.</i> (2011)
RM447	8	F: CCCTTGTGCTGTCTCCTCTC R: ACGGGCTTCTTCTCCTTCTC	55	Gramene (2006)
RM316	9	F: CTAGTTGGGCATACGATGGC R: ACGCTTATATGTTACGTCAAC	55	Gramene (2006)
RM105	9	F: GTCGTCGACCCATCGGAGCCAC R: TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	63	Fatimah <i>et al.</i> (2016)
CBG	10	F: AGCTTCCCTAATGGCTTCGT R: ATTTGCCAACTTTTGGATGG	55	Lestari <i>et al.</i> (2009)
RM484	10	F: TCTCCCTCCTCACCATTGTC R: TGCTGCCCTCTCTCTCTCTC	55	Chaerani <i>et al.</i> (2014)
RM224	11	F: ATCGATCGATCTTACGAGG R: TGCTATAAAAGGCATTCGGG	55	Utami <i>et al.</i> (2009)
RM3701	11	F: GAGCTAGAGGGAGGAGGTGC R: TTGACTGATAGCCGATTGGG	55	Gramene (2006)
RM552	11	F: CGCAGTTGTGGATTTTCAGTG R: TGCTCAACGTTTGTACTGTCC	55	Gramene (2006)
RM277	12	F: CGGTCAAATCATCACCTGAC R: CAAGGCTTGCAAGGGAAG	55	Utami <i>et al.</i> (2011)
RM19	12	F: CAAAAACAGAGCAGATGAC R: CTCAAGATGGACGCCAAGA	55	Gramene (2006)



Gambar 1. Sampel padi lokal yang berumur 21 HST

Analisis data

Analisis data dilakukan berdasarkan hasil skoring pola pita DNA yang muncul pada gel poliakrilamid. Hasil skoring dalam bentuk data biner, jika ada pita ditulis 1, jika tidak ada pita ditulis 0, dan jika penampilan pita sangat meragukan ditulis 9 (*missing data*). Data biner dianalisis dengan menggunakan program komputer NTSYS-pc 2.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis polimorfisme marka SSR

Untuk mendapatkan profil data marka SSR, maka dilakukan seleksi terhadap 30 marka SSR yang dilakukan berdasarkan data yang hilang (*missing data*). Menurut Efendi et al. (2015), marka dengan data hilang >15% dieliminasi sehingga tidak diikuti dalam analisis data. Berdasarkan hasil seleksi, terdapat empat marka yang tidak dianalisis lebih lanjut yaitu *RM1287*, *RM220*, *RM454*, dan *RM19*. Setelah mengeliminasi marka yang hilang, selanjutnya 22 aksesori padi lokal dikarakterisasi dengan menggunakan marka SSR yang digunakan.

Duapuluh enam marka SSR yang dianalisis memiliki total alel sebanyak 85 dengan rata-rata 3 alel. Marka SSR yang digunakan masing-masing mewakili 1 kromosom pada padi, yaitu 1 marka berada pada kromosom 1, 2 marka pada kromosom 2, 2 marka pada kromosom 3, 3 marka pada kromosom 4, 3 marka pada kromosom 5, 2 marka pada kromosom 6, 3 marka pada kromosom 7, 2 marka pada kromosom 8, 2 marka pada kromosom 9, 2 marka pada

kromosom 10, 3 marka pada kromosom 11, dan 1 marka pada kromosom 12.

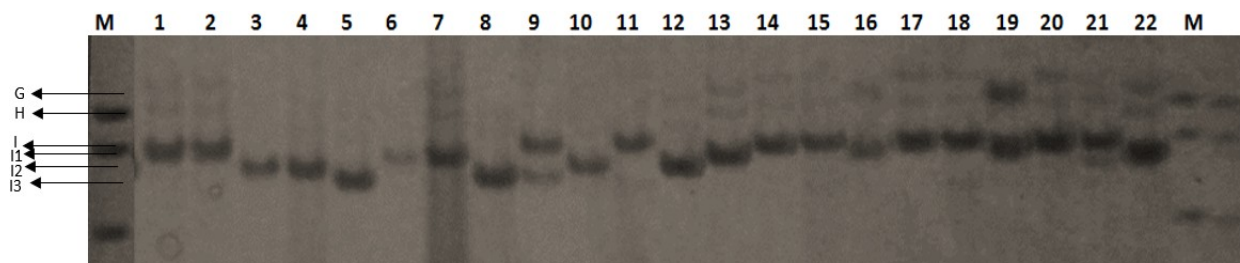
Nilai frekuensi alel mayor berkisar antara 0,25-0,86 dan rata-rata 0,60. Alel yang memiliki bobot terendah berada pada marka *RM447* (106,75 bp) dan yang tertinggi berada pada marka *RM552* dan *RM316* (311 bp). Data keragaman alel pada setiap marka SSR dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis polimorfisme marka SSR pada Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat variasi ukuran alel pada tiap marka SSR yang digunakan. Hal ini dapat terlihat pada salah satu contoh hasil visualisasi pita DNA dengan menggunakan marka *RM105* pada Gambar 2. Hasil visualisasi menunjukkan bahwa marka *RM105* mendeteksi 4 alel yang masing-masing memiliki ukuran 155,08 bp (G), 138,53 bp (I1), 135,11 bp (I2), dan 130,22 bp (I3). Ukuran masing-masing alel tersebut didapatkan dari hasil perhitungan dengan melakukan perbandingan dengan DNA *ladder* yang digunakan (Promega Φ X174 DNA/Hinfl). Perbedaan ukuran alel tersebut disebabkan karena perbedaan pengulangan basa nitrogen. Chaerani et al. (2009) mengemukakan bahwa variasi dalam jumlah pengulangan basa terlihat sebagai produk PCR yang berbeda panjangnya dan dikenal sebagai polimorfisme.

Polimorfisme berkaitan erat dengan PIC (*Polymorphic Information Content*), yaitu mengacu pada nilai suatu marka untuk mendeteksi polimorfisme dalam suatu populasi (Anderson et al. 1993). Nilai PIC dari hasil penelitian yang dilakukan berkisar dari 0,24-0,82 dengan rata-rata 0,53. Botstein et al. (1980) mengategorikan nilai PIC menjadi tiga yaitu $PIC > 0,5$ = sangat informatif, kemudian $0,5 \geq PIC > 0,25$ = sedang, dan $PIC < 0,25$ = rendah. Berdasarkan kategori tersebut, nilai PIC marka SSR yang diuji ada yang tergolong rendah, sedang, dan sangat informatif. Nilai PIC dengan kategori rendah ada 1 marka yaitu *RM455*; yang tergolong kategori sedang ada 13 marka yaitu *RM452*, *RM338*, *RM489*, *RM241*, *RM307*, *RM190*, *RM133*, *RM433*, *RM316*, *RM105*, *RM484*, *RM3701*, dan *RM277*; yang tergolong sangat informatif ada 12 marka yaitu *RM259*, *RM154*, *RM252*, *RM161*, *RM334*, *RM507*, *RM180*, *RM125*, *RM447*, *CBG*, *RM224*, dan *RM552*.

Tabel 3. Profil data keragaman 22 aksesori padi lokal Toraja Utara menggunakan 26 marka SSR

Marka	Kromosom	Jumlah alel	Frekuensi alel mayor	PIC	Ukuran alel (bp)
RM259	1	5	0,45	0,71	155,08-284,43
RM154	2	3	0,55	0,58	175,50-195,92
RM452	2	3	0,68	0,48	200,00-216,33
RM338	3	3	0,68	0,46	183,67-200,00
RM489	3	2	0,64	0,46	232,67-266,71
RM241	4	2	0,73	0,40	130,22-140,00
RM252	4	4	0,48	0,63	187,75-232,67
RM307	4	3	0,82	0,31	119,47-139,02
RM161	5	3	0,41	0,63	167,33-183,67
RM334	5	6	0,25	0,82	140,00-198,37
RM507	5	3	0,55	0,60	241,38-249,00
RM190	6	3	0,70	0,49	109,00-171,42
RM133	6	2	0,82	0,30	221,78-232,67
RM180	7	2	0,57	0,59	129,00-134,50
RM125	7	5	0,45	0,72	122,89-167,33
RM455	7	2	0,86	0,24	125,33-132,67
RM433	8	2	0,82	0,30	220,69-227,22
RM447	8	3	0,64	0,52	106,75-118,00
RM316	9	2	0,59	0,48	293,29-311,00
RM105	9	4	0,68	0,47	130,22-155,08
CBG	10	5	0,45	0,69	145,50-183,67
RM484	10	2	0,77	0,35	269,67-290,33
RM224	11	4	0,43	0,71	118,98-151,00
RM3701	11	2	0,55	0,50	159,17-183,67
RM552	11	6	0,43	0,77	179,58-284,43
RM277	12	4	0,61	0,50	113,50-140,00
Total		85	15,59	13,68	-
Rata-rata		3	0,60	0,53	-



Gambar 2. Produk PCR dengan marka RM105 pada 22 padi lokal Toraja Utara. M = DNA *ladder* (Promega Φ X174 DNA/Hinfl), G = Ukuran alel DNA padi lokal (155,08 bp), H = DNA *ladder* 151bp, I = DNA *ladder* 140bp, I1 = Ukuran alel DNA padi lokal (138,53 bp), I2 = Ukuran alel DNA padi lokal (135,11 bp), I3 = Ukuran alel DNA padi lokal (130,22 bp), 1 = Pare Loto-loto, 2 = Pare Lotong Tanduk, 3 = Pare Pulu Lotong, 4 = Pare Pulu Mandoti, 5 = Pare Cina, 6 = Pare Tallang, 7 = Pare Lea, 8 = Pare Seko, 9 = Pare Mansur Buri, 10 = Pare Pulu Kombong, 11 = Pare Pulu Seba, 12 = Pare Ko'Bo, 13 = Pare Birri, 14 = Pare Ambo, 15 = Pare Pulu Lallodo, 16 = Pare Mansur Putih, 17 = Pare Mansur Putih, 18 = Pare Mandi, 19 = Pare Barri Rarang, 20 = Pare Jawa, 21 = Pare Pulu Kalloko, 22 = Pare Barri Busa

Nilai PIC marka SSR yang digunakan sangat penting untuk diketahui dalam analisis keragaman genetik dan kekerabatan plasma nutfah (Rohaeni et al. 2016). Semakin besar nilai PIC suatu marka maka marka tersebut semakin bagus digunakan sebagai penanda molekuler (Anderson et al. 1993). Marka molekuler yang memiliki nilai PIC yang besar, menunjukkan bahwa marka tersebut mampu mendeteksi jumlah alel yang banyak. Rohaeni et al. (2016) mengemukakan bahwa marka molekuler yang polimorfis dapat menghasilkan pola pita yang beragam antarvarietas atau aksesori sehingga baik digunakan untuk kegiatan analisis kekerabatan plasma nutfah.

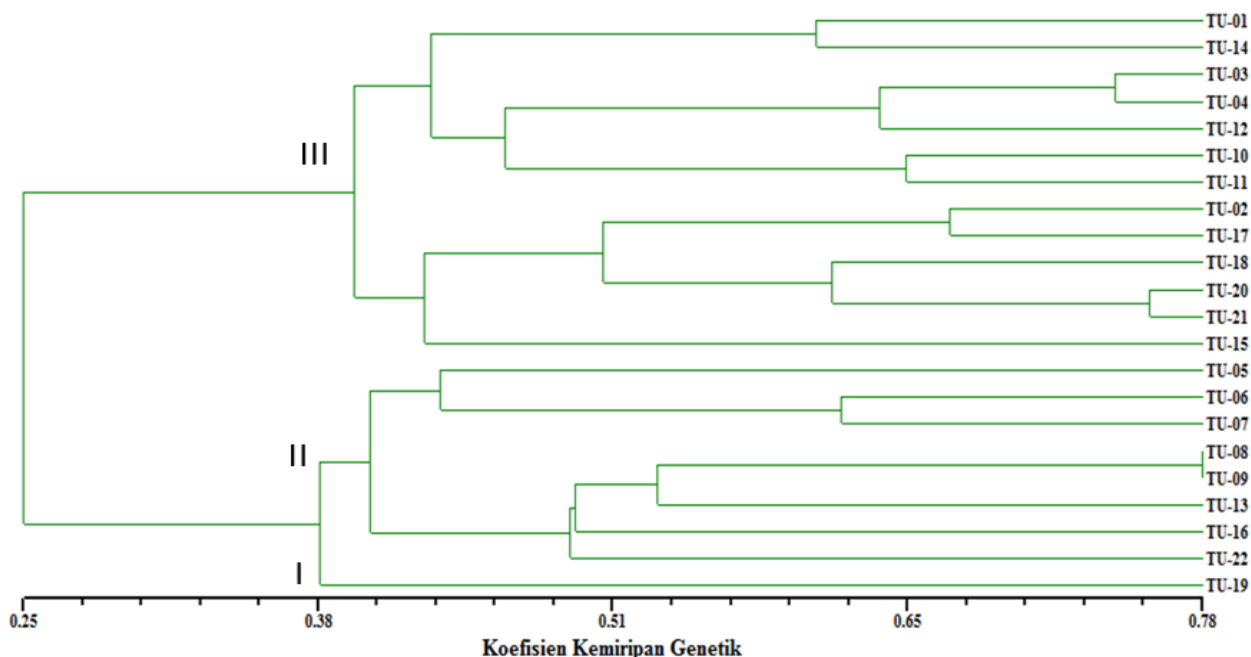
Terdapat beberapa marka SSR yang mendeteksi jumlah alel yang sama namun memiliki nilai frekuensi alel mayor dan PIC yang berbeda, seperti yang terlihat pada marka *RM484* dan *RM180* yang sama-sama mendeteksi 2 alel, dengan nilai frekuensi alel mayor masing-masing yaitu 0,77 dan 0,57 dan nilai PIC berturut-turut yaitu 0,35 dan 0,59. Berdasarkan data tersebut, ada kecenderungan bahwa semakin besar nilai frekuensi alel mayor, maka nilai PIC nya akan semakin rendah sehingga nilai PIC sangat bergantung pada frekuensi alel. Hal ini sesuai dengan pendapat Anderson et al. (1993) yang mengemukakan bahwa nilai PIC

tergantung dari banyaknya frekuensi dan distribusi alel yang ditemukan.

Analisis klaster

Hasil analisis kekerabatan berdasarkan program NTSYS pc 2.1 menghasilkan dendrogram yang dapat dilihat pada Gambar 3. Apabila dendrogram tersebut ditarik garis vertikal pada koefisien kemiripan genetik 0,38, maka terbentuk 3 klaster. Klaster I terdiri atas 1 aksesori yaitu TU-19. Klaster II terdiri atas 8 aksesori, yaitu TU-22, TU-16, TU-13, TU-09, TU-08, TU-07, TU-06, dan TU-05. Klaster III terdiri dari 13 aksesori yaitu TU-15, TU-21, TU-20, TU-18, TU-17, TU-02, TU-11, TU-10, TU-12, TU-04, TU-03, TU-14, dan TU-01.

Sebagai informasi tambahan, terdapat 16 padi lokal yang tergolong subspecies *indica* (salah satu cirinya yaitu memiliki rambut pada ujung gabahnya). Adapun padi lokal dengan kode aksesori TU-05, TU-06, TU-07, TU-08, TU-09, dan TU-19 merupakan padi lokal yang tergolong subspecies *javanica* (salah satu cirinya yaitu tidak memiliki rambut pada ujung gabahnya). Sehingga, berdasarkan analisis klaster tersebut, padi yang memiliki rambut pada ujung gabahnya berada pada klaster tersendiri, yaitu klaster III. Pada klaster I, hanya terdapat 1 aksesori yaitu Pare Barri



Gambar 3. Hasil analisis klaster 22 aksesori padi lokal Toraja Utara berdasarkan 26 marka SSR menggunakan program NTSYS pc 2.1

Rarang. Hal tersebut mengindikasikan bahwa terdapat karakter khas dari padi lokal tersebut sehingga berdiri sendiri dalam hasil analisis kluster. Pada kluster II, terdapat 5 aksesori yang tidak memiliki rambut pada ujung gabahnya dan 3 aksesori yang memiliki rambut pada ujung gabahnya (TU-22, TU-16, dan TU-13). Diduga ketiga aksesori ini sudah mengalami persilangan sehingga memiliki kekerabatan yang dekat dengan padi yang tidak memiliki rambut pada ujung gabahnya.

Penelitian Rohaeni et al. (2016) pada beberapa aksesori padi lokal tahan hama penyakit tanaman (HPT) yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia didapati bahwa padi golongan subspecies *indica* dan subspecies padi *javanica* berada dalam kluster yang terpisah.

Jarak genetik

Berdasarkan hubungan kekerabatan diantara 22 aksesori padi lokal yang diteliti,

diperoleh kisaran nilai jarak genetik padi lokal Toraja Utara (Tabel 4). Rohaeni et al. (2016) mengemukakan bahwa, informasi kekerabatan dan jarak genetik ini penting dalam penentuan tetua persilangan berkerabat jauh karena padi lokal yang berasal dari daerah yang sama dapat berkerabat jauh ataupun dekat.

Nilai jarak genetik yang diperoleh, mulai dari 0,22 (TU-08 vs TU-09) sampai 0,92 (TU-04 vs TU-19). Misalnya pada pasangan TU-08 vs TU-09 memiliki jarak genetik 0,22 yang berarti bahwa kode aksesori padi TU-08 memiliki perbedaan genetik sebesar 22% terhadap padi dengan kode aksesori TU-09, ini dibuktikan dengan kedua aksesori ini berada pada kluster yang sama. Berbeda halnya bila dibandingkan dengan pasangan TU-04 vs TU-19 yang berbeda kluster, memiliki nilai jarak genetik 0,92 yang berarti bahwa kode aksesori padi TU-04 memiliki perbedaan genetik sebesar 92% terhadap padi dengan kode aksesori TU-19.

Tabel 4. Jarak genetik 22 aksesori padi lokal Toraja Utara

	TU-01	TU-02	TU-03	TU-04	TU-05	TU-06	TU-07	TU-08	TU-09	TU-10	TU-11	TU-12	TU-13	TU-14	TU-15	TU-16	TU-17	TU-18	TU-19	TU-20	TU-21	TU-22	
TU-01	0,00																						
TU-02	0,55	0,00																					
TU-03	0,51	0,53	0,00																				
TU-04	0,57	0,54	0,26	0,00																			
TU-05	0,75	0,67	0,76	0,73	0,00																		
TU-06	0,69	0,73	0,86	0,84	0,62	0,00																	
TU-07	0,68	0,78	0,88	0,82	0,51	0,38	0,00																
TU-08	0,80	0,80	0,83	0,80	0,55	0,46	0,54	0,00															
TU-09	0,78	0,73	0,78	0,83	0,56	0,47	0,55	0,22	0,00														
TU-10	0,70	0,67	0,54	0,63	0,76	0,81	0,81	0,76	0,70	0,00													
TU-11	0,53	0,47	0,55	0,53	0,77	0,75	0,71	0,77	0,68	0,35	0,00												
TU-12	0,51	0,54	0,45	0,28	0,75	0,82	0,76	0,76	0,76	0,54	0,42	0,00											
TU-13	0,70	0,71	0,79	0,83	0,65	0,55	0,61	0,50	0,43	0,72	0,67	0,71	0,00										
TU-14	0,39	0,51	0,63	0,61	0,77	0,73	0,68	0,70	0,71	0,63	0,47	0,53	0,69	0,00									
TU-15	0,59	0,63	0,56	0,65	0,81	0,78	0,78	0,83	0,81	0,64	0,59	0,66	0,74	0,63	0,00								
TU-16	0,70	0,64	0,73	0,80	0,67	0,58	0,64	0,56	0,46	0,59	0,53	0,73	0,49	0,50	0,73	0,00							
TU-17	0,59	0,33	0,63	0,67	0,80	0,78	0,80	0,80	0,72	0,63	0,50	0,56	0,63	0,41	0,63	0,53	0,00						
TU-18	0,65	0,53	0,60	0,67	0,82	0,80	0,82	0,82	0,74	0,42	0,37	0,58	0,61	0,55	0,49	0,57	0,34	0,00					
TU-19	0,88	0,84	0,88	0,92	0,64	0,70	0,53	0,62	0,59	0,77	0,78	0,89	0,65	0,82	0,84	0,69	0,78	0,74	0,00				
TU-20	0,71	0,63	0,66	0,80	0,83	0,85	0,85	0,85	0,75	0,60	0,59	0,72	0,70	0,62	0,55	0,60	0,46	0,32	0,76	0,00			
TU-21	0,74	0,56	0,69	0,76	0,74	0,82	0,82	0,82	0,72	0,64	0,59	0,68	0,67	0,58	0,56	0,61	0,43	0,45	0,75	0,24	0,00		
TU-22	0,76	0,76	0,84	0,90	0,76	0,64	0,70	0,56	0,46	0,71	0,66	0,85	0,49	0,65	0,79	0,51	0,67	0,70	0,54	0,70	0,70	0,00	
Peluang Persilangan*	10	7	9	11	10	10	9	9	8	3	1	5	2	1	3	0	1	2	2	1	1	0	
Jumlah Peluang	105																						

Keterangan: * = Peluang persilangan yang dihitung dengan jarak genetik >0,7

Berdasarkan nilai jarak genetik tersebut, dapat diketahui bahwa padi lokal yang berasal dari daerah yang sama, belum tentu memiliki jarak genetik yang dekat. Dari hasil penelitian ini ternyata ada yang memiliki jarak genetik yang jauh.

Aksesori yang memiliki nilai jarak genetik yang dekat, keduanya berasal dari populasi yang sama sehingga tidak bisa dilakukan rekombinasi persilangan karena memiliki kemiripan genetik yang sangat kuat. Semakin jauh jarak genetik antar aksesori, maka akan memiliki efek heterosis yang tinggi apabila disilangkan. Hal ini

Rekomendasi tetua persilangan pada tanaman padi yaitu yang memiliki koefisien jarak genetik $>0,7$ (Rohaeni et al. 2016). Sehingga, berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan (Tabel 4), terdapat 105 peluang pasangan persilangan yang dapat terbentuk apabila melihat nilai koefisien jarak genetik yang lebih dari 0,7.

Dalam melakukan seleksi materi untuk persilangan, selain faktor jarak genetik, korelasi antara karakter vegetatif dan generatif perlu diperhitungkan untuk menghasilkan rekombinan yang baik, sehingga perakitan varietas unggul tersebut lebih terarah dan efektif. Mulsanti et al. (2013) menerangkan bahwa pengaruh heterosis pada padi dikendalikan oleh multi gen sehingga heterosis tidak cukup diterangkan hanya melalui jarak genetik. Akan tetapi, pemulia dapat memanfaatkan plasma nutfah dengan jarak genetik yang jauh sehingga pilihan galur-galur lebih banyak.

KESIMPULAN

Marka SSR yang digunakan mampu mendeteksi keragaman genetik padi lokal Toraja Utara yang didukung dengan nilai kisaran ukuran alel antara 106,75 s/d 311 bp, dengan jumlah alel rata-rata 3 dan tingkat polimorfisme sebesar 0,53. Hasil analisis kluster menunjukkan bahwa pada koefisien kemiripan genetik 0,38 terbentuk 3 kluster. Pada kluster I dan kluster II didominasi oleh padi yang tidak memiliki rambut pada ujung gabahnya, dan pada kluster III didominasi oleh padi yang memiliki rambut pada ujung gabahnya. Selain itu, terdapat 105 peluang pasangan heterotik potensial dengan nilai jarak genetik diatas 0,7.

sesuai dengan pendapat Makkulawu et al. (2009) yang mengemukakan bahwa dalam pembentukan varietas hibrida, diperlukan tetua penyusun varietas hibrida yang memiliki jarak genetik yang jauh. Rohaeni et al. (2016) juga mengemukakan bahwa persilangan antartetua yang memiliki jarak genetik yang jauh kemungkinan besar akan menghasilkan keturunan yang memiliki tingkat keragaman yang tinggi dan terdapat peluang untuk memperoleh galur keturunan yang memiliki sifat unggul lebih baik daripada kedua tetuanya (heterosis).

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36:181-186. doi: 10.1139/g93-024
- Anggraheni YGD dan Mulyaningsih ES (2017) Eksplorasi marka SSR terpaut sifat toleransi padi gogo terhadap aluminium. *J Biol Indones* 13:97-106
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32:314-331
- Chaerani, Hidayatun N, Utami DW (2009) Pengembangan set multiplex penanda DNA mikrosatelit untuk analisis variasi genetik padi dan kedelai. *J AgroBiogen* 5:57-64. doi: 10.21082/jbio.v5n2.2009.p57-64
- Chaerani, Utami DW, Hidayatun N, Abdullah B, Suprihatno B (2014) Asosiasi antara marka SSR dengan ketahanan terhadap wereng batang coklat pada varietas dan calon galur harapan padi. *J Entomol Indones* 11:43-52. doi: 10.5994/jei.11.1.43
- Chen MH, Bergman C, Pinson S, Fjellstrom R (2008) Waxy gene haplotypes: Associations with apparent amylose content and the effect by the environment in an international rice germplasm collection. *J Cereal Sci* 47:536-545. doi: 10.1016/j.jcs.2007.06.013
- Efendi R, Musa Y, Farid MB, Rahim MD, Azrai M, Pabendon MB (2015) Seleksi jagung inbrida dengan marka molekuler dan

- toleransinya terhadap kekeringan dan nitrogen rendah. *J Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 34:43-53. doi: 10.21082/jpftp.v34n1.2015.p43-53
- Fatimah, Herlina L, Silitonga TS (2016) Genetic diversity and trait association analysis of Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using SSR markers. *J Biotropia* 23:105-115. doi: 10.11598/btb.2016.23.2.489
- George MLC, Regalado E, Li W, Cao M, Dahlan M, Pabendon M, Warburton ML, Xianchun X, Hoisington D (2004) Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor Appl Genet* 109: 80-91. doi:10.1007/s00122-004-1626-8
- Gramene (2006) Panel of 50 standard SSR markers. http://archive.gramene.org/markers/microsat/50_ssr.html. Accessed 26 July 2018
- Gross BL dan Zhao Z (2014) Archaeological and genetic insights into the origins of domesticated rice. *PNAS*. 111:6190-6197. doi: 10.1073/pnas.1308942110
- Juhriah, Masniawati A, Tambaru E, Sajak A (2013) Karakterisasi morfologi malai padi lokal asal Kabupaten Tana Toraja Utara, Sulawesi Selatan. *J Sainsmat* 2:22-31. doi: 10.2685/sainsmat217492013
- Khan IA, Awan FS, Ahmad A, Khan AA (2004) A modified mini-prep method for economical and rapid extraction of genomic DNA in plants. *Plant Mol Biol Rep* 22:89. doi: 10.1007/BF02773355
- Konda V, Suryono, Gosal PH (2017) Pengaruh layanan terminal bolu di Kecamatan Tallunglipu terhadap pertumbuhan wilayah Kabupaten Toraja Utara. *J Spasial* 4: 67-78
- Kristamtini, Taryono, Basunanda P, Murti RH (2014) Keragaman genetik kultivar padi beras hitam lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. *J AgroBiogen* 10:69-76. doi: 10.21082/jbio.v10n2.2014.p69-76
- Las I, Suprihatno B, Daradjat AA, Suwarno, Abdullah B, Satoto (2004) Inovasi teknologi varietas unggul padi: Perkembangan, arah, dan strategi ke depan. Hal 375-395. *Dalam: Kasryno F, Pasandaran E, Fagi AM (Eds). Ekonomi Padi dan Beras di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, Jakarta
- Lestari P, Ham TH, Lee HH, Woo MO, Jiang W, Chu SH, Kwon SW, Ma K, Lee JH, Cho YC, Koh HJ (2009) PCR marker-based evaluation of the eating quality of japonica rice (*Oryza sativa* L.). *J Agric Food Chem* 57:2754–2762. doi: 10.1021/jf803804k
- Limbongan Y dan Djufry F (2015) Karakterisasi dan observasi lima aksesori padi lokal dataran tinggi Toraja, Sulawesi Selatan. *Bul Plasma Nutrafah* 21:61-70
- Makkulawu AT, Aswidinnoor H, Trikoesoemaningtyas, Koswara J (2009) Estimasi jarak genetik galur jagung pulut berbasis marka mikrosatelit dan korelasinya dengan karakter morfologi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 28:7-16
- Maulana Z, Kuswinanti T, Sennang NR, Syaiful SA (2014) Eksplorasi keragaman plasma nutrafah padi lokal asal Tana Toraja dan Enrekang berdasarkan karakterisasi morfologi. Hal 347-352. *Prosiding SEMNAS 2014*. UNMAS Press, Denpasar
- Molina J, Sikora M, Garud N, Flowers JM, Rubinstein S, Reynolds A, Huang P, Jackson S, Schaal BA, Bustamante CD, Boyko AR, Purugganan MD (2011) Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice. *PNAS* 108:8351-8356. doi: 10.1073/pnas.1104686108
- Mulsanti IW, Surahman M, Wahyuni S, Utami DW (2013) Identifikasi galur tetua padi hibrida dengan marka SSR spesifik dan pemanfaatannya dalam uji kemurnian benih. *J Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 32:1-8. doi: 10.21082/jpftp.v32n1.2013.p1-8
- Putra OD, Samudin S, Lakani I (2014) Karakterisasi genotip padi lokal Kamba asal dataran Lore. *J Agrotekbis* 2:146-154
- Reflinur dan Lestari P (2015) Penentuan lokus gen dalam kromosom tanaman dengan bantuan marka DNA. *J Litbang Pert* 34:177-186. doi: 10.21082/jp3.v34n4.2015.p177-186
- Rohaeni WR, Susanto U, Yunani N, Usyati N, Satoto (2016) Kekekabatan beberapa aksesori padi lokal tahan hama penyakit berdasarkan analisis polimorfisme marka SSR. *J*

- AgroBiogen 12:81-90
- Sitairesmi T, Wening RH, Rakhmi AT, Yunani N, Susanto U (2013) Pemanfaatan plasma nutfah padi varietas lokal dalam perakitan varietas unggul. *Iptek Tanaman Pangan* 8:22-30
- Sukartini (2008) Analisis jarak genetik dan kekerabatan aksesori-aksesori pisang berdasarkan primer random amplified polymorphic DNA. *J Hort* 18:261-266. doi: 10.21082/jhort.v18n3.2008.p%25p
- Susanto U, Rohmah NA, Mejaya MJ (2015) Distinguishing rice genotypes using morphological, agronomical, and molecular markers. *J Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 34:79-87. doi: 10.21082/jpptp.v34n2.2015.p79-87
- Thomson MJ, de Ocampo M, Egdane J, Rahman MA, Sajise AG, Adorada DL, Tumimbang-Raiz E, Blumwald E, Seraj ZI, Singh RK, Gregorio GB, Ismail AM (2010) Characterizing the Saltol quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice* 3:148-160. doi: 10.1007/s12284-010-9053-8
- Utami DW, Kristamtini, Prajitno (2009) Karakterisasi plasma nutfah padi beras merah lokal asal provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta berdasarkan karakter morfo-agronomi dan marka SSRs. *Zuriat* 20:10-18
- Utami DW, Sutoro, Hidayatun N, Risliawati A, Hanarida I (2011) Keragaman genetik 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR terpaut gen pengatur waktu pembungaan (*HD Genes*). *J AgroBiogen* 7:76-84. doi: 10.21082/jbio.v7n2.2011.p76-84
- Zulfahmi (2013) Penanda DNA untuk analisis genetik tanaman. *J Agroteknologi* 3:41-52. doi: 10.24014/ja.v3i2.87