

KERAGAMAN GENETIK 24 VARIETAS PADI SAWAH DAN PADI GOGO (*Oryza sativa* L.) INDONESIA BERDASARKAN MARKA SSR

KRISTIANO NUGROHO, SLAMET, PUJI LESTARI

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian - Badan Litbang Pertanian
Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Telp. 0251-8337975; Faks. 0251-8338820

ABSTRACT

The use of molecular marker is an efficient approach to analyze the genetic diversity and it can be used widely in biological studies. The characterization of rice germplasms by using molecular markers technique is more precise because it is not influenced by environmental factors. The purpose of this study was to analyze the genetic diversity of 24 varieties of lowland and upland rice by using 15 SSR markers. The results showed as many as 86 alleles were detected in 24 rice varieties, with the average number of alleles per marker was 5.73 and the range of alleles per locus was 2-10. The average of major allele frequency was 43% with the lowest score was 26% on RM6997 and RM536 markers and the highest score was 65% on RM60 marker. A total of 14 SSR markers were able to discriminate heterozygous alleles within a range between 0.17 (RM105) to 1.00 (RM201, RM263, RM416, RM518 and RM223). The value of gene diversity ranged from 0.48 (RM60) to 0.81 (RM536) with an average of 0.70. The value of PIC (Polymorphic Information Content) ranged from 0.38 (RM105) to 0.78 (RM536) with an average of 0.65. The phylogenetic analysis showed that 24 rice varieties separate into two main clusters in the coefficient of 0.63. The first cluster consists of 12 lowland varieties and the second cluster consists of 12 upland varieties. The genetic diversity data in this study were expected could be a valuable information in the rice plant breeding activities in the future.

KEY WORDS: genetic diversity, SSR, microsatellite, rice *Oryza sativa* L.

Penulis korespondensi: KRISTIANO NUGROHO | email: nugrohoxkristianto@gmail.com

Dikirim: 20-02-2017 | Diterima: 01-03-2017

PENDAHULUAN

Padi adalah salah satu tanaman sereal penting yang termasuk anggota famili Poaceae dan digunakan sebagai makanan pokok sepertiga penduduk dunia termasuk Asia. Di Indonesia padi merupakan komoditas pangan strategis pertama dan diprioritaskan dalam pembangunan pertanian (Somantri, 2001). Rata-rata produksi padi di Indonesia tahun 2015 adalah 5,3 ton/ha, sedangkan konsumsi rata-rata beras masyarakat Indonesia per kapita per minggu mencapai 1,626 kg (BPS, 2015a). Laju pertumbuhan penduduk Indonesia dari 2010-2014 mencapai 1,4% per tahun dan diproyeksikan jumlah penduduk dari tahun 2015 yang sekitar 255 juta mencapai 296 juta pada tahun 2025 (BPS, 2015b). Hingga saat ini produksi padi di Indonesia masih belum sebanding dengan kebutuhan beras masyarakat yang mendorong pemerintah untuk selalu menyediakan dan meningkatkan produksi padi dalam jumlah yang cukup (Kementan, 2015). Peningkatan produksi padi perlu didukung koleksi plasma nutfah padi sebagai materi genetik.

Di Indonesia padi sawah dan padi gogo menjadi tumpuan sumber pangan. Sebagian besar lahan ditanami padi sawah baik varietas unggul maupun varietas lokal, dan beberapa daerah masih memanfaatkan varietas lokal khususnya padi gogo yang banyak tersebar dan spesifik di pulau-pulau di Indonesia. Kurang lebih 4000 varietas padi termasuk pada sawah dan padi gogo tersedia di bank gen Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pemanfaatan plasma nutfah dalam bank gen ini akan mendukung perakitan varietas unggul baru baik melalui pemuliaan maupun

seleksi plasma nutfah untuk tercapainya produksi tinggi (Bahagiawati *et al.*, 2005). Karena itulah karakterisasi dan evaluasi plasma nutfah merupakan hal yang esensial dalam program pemuliaan (Chakravarthi *et al.*, 2006). Melalui kegiatan karakterisasi, sifat-sifat unggul dari plasma nutfah yang dimiliki dapat diidentifikasi dengan baik, untuk selanjutnya diperoleh varietas-varietas yang potensial untuk dikembangkan lebih lanjut (Somantri *et al.*, 2002; Surahman *et al.*, 2009). Karakterisasi plasma nutfah padi ini juga penting dalam konservasi dan preservasi varietas lokal.

Selama ini, karakterisasi materi genetik umumnya dilakukan berdasarkan penanda morfologi, yang membutuhkan observasi yang intensif dan sangat sulit membedakan individu-individu dengan hubungan kekerabatan yang dekat karena adanya pengaruh faktor lingkungan (Hartati *et al.*, 2010). Seleksi varietas padi berdasarkan karakter morfologi juga kurang terpercaya mengingat karakter utama yang diinginkan biasanya penurunan sifatnya rendah secara genetik (Joshi *et al.*, 2000). Sementara itu karakterisasi secara molekuler melalui penggunaan marka molekuler memberikan hasil yang lebih presisi karena tidak dipengaruhi lingkungan (Ram, 2007; Risliawati *et al.*, 2015). Pemanfaatan marka molekuler merupakan pendekatan efisien untuk analisis keragaman genetik dan dapat dimanfaatkan secara luas diberbagai studi biologi.

Berbagai jenis marka molekuler berbasis PCR telah dikembangkan, dan salah satu marka yang banyak diaplikasikan dalam kegiatan karakterisasi tanaman adalah *Simple Sequence Repeat* (SSR) atau mikrosatelit. SSR merupakan sekuen berulang sebanyak 2-4 nukleotida yang keberadaannya melimpah dalam genom organisme eukariotik dengan

kelebihan bersifat kodominan, polimorfisme tinggi, dan mudah dalam aplikasinya (Prasetyono dan Tasliah, 2004; Shu *et al.*, 2009). Penggunaan marka SSR dalam mengidentifikasi keragaman genetik padi dari berbagai status pemuliaan maupun plasma nutfah telah banyak dilakukan (Sarao *et al.*, 2009; Aliyu *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2010; Ashfaq and Khan, 2012). Pemanfaatan marka SSR dalam menganalisis keragaman genetik padi telah lama dilakukan di BB Biogen dan hingga saat ini masih terus dilakukan (Thomson *et al.*, 2007; Prasetyono *et al.*, 2008; Chaerani *et al.*, 2009; Utami *et al.*, 2011; Lestari *et al.*, 2012). Khusus keragaman genetik padi sawah dan padi gogo untuk berbagai tujuan juga telah dilakukan di negara lain (Zhang *et al.*, 2013; Alam *et al.*, 2016) tetapi studi tersebut masih terbatas di Indonesia mengingat sebagian daerah seperti Kalimantan Tengah, Kalimantan Timur, dan NTT lebih memilih memproduksi padi gogo di Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman genetik 24 varietas padi sawah dan padi gogo serta mengetahui marka SSR yang informatif dalam membedakan padi sawah dengan padi gogo. Informasi keragaman genetik yang diperoleh pada penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai informasi awal dalam kegiatan pemuliaan tanaman padi di Indonesia.

METODE

Penelitian ini menggunakan sebanyak 24 varietas padi koleksi BB Biogen yang terdiri atas 12 varietas padi sawah dan 12 varietas lokal padi gogo (Tabel 1). Semua varietas di tanam di rumah kaca sampai umur 4 minggu untuk diisolasi DNA genomiknya. Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, BB Biogen, Bogor antara bulan November hingga Desember 2016.

Tabel 1. Daftar 24 varietas padi yang digunakan dalam penelitian ini

No.	Nama Varietas/ Varietas	Asal Daerah/Negara	Ekosistem	Keterangan
1.	Inpari 13	Indonesia	Sawah	Varietas unggul
2.	ARC 10550	India	Sawah	Varietas lokal
3.	PTB 33	India	Sawah	Varietas lokal
4.	Swarnalata	India	Sawah	Varietas unggul
5.	Rathu Heenati	Sri Lanka	Sawah	Varietas unggul
6.	Mudgo	India	Sawah	Varietas unggul
7.	IR64	Filipina	Sawah	Varietas unggul
8.	Ciherang	Indonesia	Sawah	Varietas unggul
9.	Babawee	Srilanka	Sawah	Varietas unggul
10.	ASD7	India	Sawah	Varietas unggul
11.	Pokkali	India	Sawah	Varietas unggul
12.	Pelita 1-1	Indonesia	Sawah	Varietas unggul
13.	Panada	Sulawesi Selatan	Gogo	Varietas Lokal
14.	Ketan Huma	NTT	Gogo	Varietas Lokal
15.	Ketan Hitam	Sumatera Selatan	Gogo	Varietas Lokal
16.	P. Nyuhu	Kalimantan Timur	Gogo	Varietas Lokal
17.	Genjah Mayangan	Yogyakarta	Gogo	Varietas Lokal
18.	Sipelang	Aceh	Gogo	Varietas Lokal
19.	Way Rarem	Jawa Barat	Gogo	Varietas Lokal
20.	Kemala Water	NTT	Gogo	Varietas Lokal
21.	Gadabung	Kalimantan Tengah	Gogo	Varietas Lokal
22.	Surau Parigi	Sulawesi Tenggara	Gogo	Varietas Lokal
23.	Pae Daye Indolobyne	Sulawesi Utara	Gogo	Varietas Lokal
24.	Sedang Menawan	Lampung	Gogo	Varietas Lokal

Ekstraksi DNA menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sebanyak 0.5 gram potongan daun padi digerus menggunakan nitrogen cair

menggunakan mortal steril. Bubuk hasil penggerusan kemudian dimasukkan dalam tabung Eppendorf 2 ml diikuti dengan penambahan sebanyak 800 µl buffer ekstraksi (100 mM Tris-HCl pH 8,0, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8,0, 2% (w/v) CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*), 2% (w/v) PVP (*polyvinylpyrrolidone*), dan 0,38% (w/v) natrium disulfit), dan ditambahkan senyawa B-merkaptotanol sebanyak 5 µl. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 65 °C selama 15 menit dan dihomogenkan dengan cara membolak-balik tabung setiap 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 800 µl larutan kloroform: isoamil alkohol (24:1) ke dalam tiap sampel diikuti dengan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 20 °C. Supernatan yang terbentuk lalu dipindahkan ke tabung Eppendorf baru. Selanjutnya dilakukan penambahan 3M natrium asetat pH 5,2 sebanyak 1/10 kali volume supernatan diikuti dengan penambahan isopropanol sebanyak satu kali volume supernatan. Campuran kemudian dibolak-balik secara perlahan lalu diinkubasi pada suhu -20 °C selama satu jam. Setelah itu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 20 °C. Supernatan kemudian dibuang dan pelet DNA yang terbentuk lalu dicuci dengan larutan 70% etanol sebanyak 500 µl. Pelet tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 12.000 rpm suhu 20 °C. Supernatan kemudian dibuang dan pelet yang terbentuk kemudian dikeringanginkan untuk menghilangkan sisa-sisa etanol. Pelet yang telah kering lalu dilarutkan dalam 100 µl larutan TE (10 mM Tris pH 8.0 dan 1 mM EDTA) yang ditambah RNase A (10 mg/ml). Selanjutnya larutan DNA stok diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam lalu disimpan pada suhu -20 °C hingga siap digunakan.

Marka SSR yang digunakan adalah sebanyak 15 (Tabel 2). Reaksi PCR memiliki total volume 10 µl yang terdiri atas DNA *template* dengan konsentrasi 10 ng/µl sebanyak 2 µl; Kapa2G Fast ReadyMix (Kapa Biosystems, USA) sebanyak 5 µl; primer *Forward* dan *Reverse* (10 µM) masing-masing sebanyak 0,5 µl, dan ddH₂O steril. Reaksi PCR dilakukan dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Germany) dengan profil PCR sebagai berikut: denaturasi awal dilakukan pada suhu 95 °C selama 3 menit, diikuti oleh sebanyak 35 siklus proses denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, *annealing* (tahap penempelan primer) pada suhu 55 °C selama 30 detik, dan *elongation* (tahap perpanjangan basa) pada suhu 72 °C selama 30 detik. Reaksi PCR diakhiri dengan siklus *final extension* (tahap akhir perpanjangan basa) pada suhu 72 °C selama 1 menit. Hasil PCR selanjutnya dielektroforesis menggunakan gel poliakrilamid 8% pada tangki berisi buffer 1x TBE, dengan tegangan 90 volt selama 110 menit. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasi pada alat *UV Transilluminator* (Biorad, USA).

Data hasil visualisasi berupa pita ampikon selanjutnya diskoring dengan bantuan perangkat lunak *Gel Analyzer* (Gambar 1). Setiap pita yang terlihat pada gel dianggap sebagai satu alel. Pita-pita DNA dengan laju pergerakan yang sama diasumsikan sebagai lokus yang sama. Pada laju yang sama, setiap pita yang terlihat diberi skor 1 sedangkan pita yang tidak tampak diberi skor 0 sehingga hasil dari skoring berupa data biner. Data hasil skoring selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN)-UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1. (Rohlf, 2000).

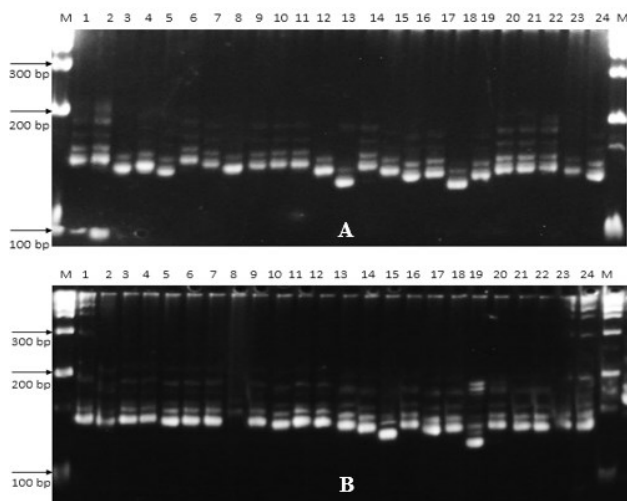
Tabel 2. Daftar marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini

Nama Primer	Forward (5' → 3')	Reverse (5' → 3')	Pola SSR	Posisi Kromosom	Referensi
RM5742	GCGGAGCGATCCTCAAAC	GTTTACTCACGCTCTGCCAG	(ACC)8	4	Mc Couch <i>et al.</i> (2002)
RM6997	CAACGCGGCAGTAAATTTGC	GGCCTTGTCACTCTACATGC	(TTG)12	4	Mc Couch <i>et al.</i> (2002)
RM201	CTCGTTTATACCTACAGTACC	CTACCTCCTTCTAGACCGATA	(CT)17	9	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM263	CCCAGGCTAGCTCATGAACC	GCTACGTTTGTAGCTACCACG	(CT)34	2	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM324	CTGATTCCACACTTTGTGC	GATTCCACGTCAGGATCTTC	(CAT)21	2	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
RM416	GGGAGTTAGGTTTTGGAGC	TCCAGTTTCACACTGCTTCG	(GA)9	3	Temnykh <i>et al.</i> (2001)
RM518	CTCTTCACTCACTCACCATGG	ATCCATCTGGAGCAAGCAAC	(TC)15	4	Temnykh <i>et al.</i> (2001)
RM60	AGTCCCATGTTCCACTTCCG	ATGGCTACTGCCTGTACTAC	(AATT)5AATCT(AATT)	3	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM105	GTCGTCGACCCATCGGAGCCAC	TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	(CCT)6	9	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
RM124	ATCGTCTGCGTTGCGGCTGCTG	CATGGATCACCGAGCTCCCCC	(TC)10	4	Temnykh <i>et al.</i> (2000)
RM223	GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC	GAAGGCAAGTCTTGGCACTG	(CT)25	8	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM215	CAAAATGGAGCAGCAAGAGC	TGAGCACCTCCTTCTGTGTAG	(CT)16	9	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM259	TGGAGTTTGTAGAGGAGGG	CTTGTTCATGGTGCATGT	(CT)17	1	Chen <i>et al.</i> (1997)
RM431	TCCTGCGAACTGAAGAGTTG	AGAGCAAACCTGGTTCAC	(AG)16	1	Temnykh <i>et al.</i> (2001)
RM536	TCTCTCTTGTGTTGGCTC	ACACACCAACACGACCACAC	(CT)16	11	Temnykh <i>et al.</i> (2001)

Hasil analisis disajikan dalam bentuk fenogram dan matriks kesamaan genetik. Selanjutnya data hasil skoring juga dianalisis menggunakan perangkat lunak PowerMarker 3.25 (Liu & Muse, 2005) untuk mengetahui nilai frekuensi alel utama, diversitas genetik, PIC (*Polymorphic Information Content*), dan heterozigositas yang dihasilkan oleh total marka yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total 15 marka SSR menghasilkan 100% pita polimorfik (Gambar 1). Analisis polimorfisme menghasilkan sebanyak 86 alel, dimana rerata jumlah alel per marka sebesar 5,73 dengan kisaran 2–10 alel per lokus. Rerata jumlah alel yang diobservasi pada 24 varietas padi dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Neeraja *et al.* (2005) dengan nilai 3,9 alel per marka dan penelitian Ram *et al.* (2007) dengan nilai 4,86 alel per marka.

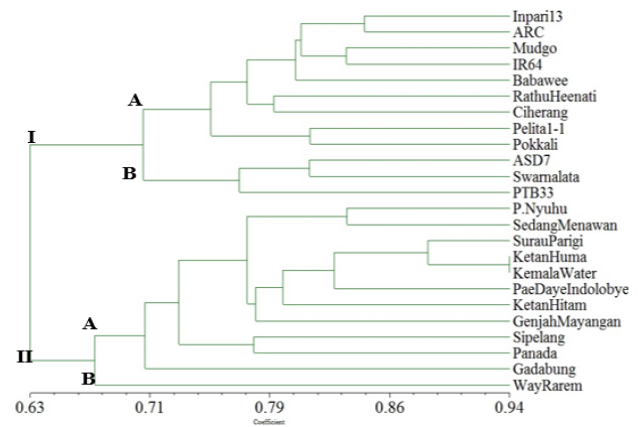


Gambar 1. Contoh pola pita yang divisualisasikan pada elektroforesis gel poliakrilamid 8% dengan menggunakan marka (A) RM518 dan (B) RM201

Kisaran alel yang diperoleh pada penelitian ini juga lebih banyak dibanding hasil Neeraja *et al.* (2005) yang memperoleh kisaran 1–9 alel per lokus; Ram *et al.* (2007) dengan kisaran 3–8 alel per lokus; dan Seetharam *et al.* (2009) yang memperoleh 2–4 alel per lokus. Namun hasil penelitian ini lebih rendah dibanding penelitian Nejad *et al.* (2008) dengan

kisaran 3–14 alel per lokus dan Shah *et al.* (2012) yang berhasil memperoleh 5–17 alel per lokus. Hal ini dikarenakan jumlah varietas dan marka yang digunakan pada penelitian ini lebih sedikit dibanding pada penelitian-penelitian tersebut.

Rerata frekuensi alel utama yang diperoleh sebesar 43% dengan nilai terendah sebesar 26% pada marka RM6997 dan RM536 serta nilai tertinggi 65% pada marka RM60. Sementara Nejad *et al.* (2008) memperoleh kisaran frekuensi alel utama yang lebih besar antara 14–83%. Sebanyak 14 marka SSR mampu mendiskriminasi alel heterozigot dalam koleksi padi dengan nilai heterozigositas berkisar antara 0,17 (RM105) hingga 1,00 (RM201, RM263, RM416, RM518, dan RM223). Ringkasan statistik analisis polimorfisme marka ditampilkan pada Tabel 3.



Gambar 2. Fenogram 24 varietas padi berdasarkan 15 marka SSR yang dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSYS

Nilai diversitas gen yang menunjukkan tingkat keragaman dalam suatu populasi (Somantri *et al.*, 2002) berkisar antara 0,48 (RM60) hingga 0,81 (RM536) dengan rerata 0,70. Dibandingkan hasil studi ini, nilai diversitas gen penelitian Lapitani *et al.* (2007) berada pada kisaran lebih besar antara 0,28–0,9 namun dengan rerata lebih rendah (0,68). Hasil dalam penelitian ini sebanding dengan yang diobservasi pada penelitian Zhao *et al.* (2009) dengan rerata diversitas gen sebesar 0,70.

Nilai PIC (*Polymorphic Information Content*) berkisar antara 0,38 (RM105) hingga 0,78 (RM536) dengan rerata sebesar 0,65. Kisaran nilai PIC pada penelitian ini lebih rendah dibanding hasil penelitian Shah *et al.* (2012) dengan kisaran nilai 0,74–0,89; Ram *et al.* (2007) dengan kisaran 0,498–0,89; dan Davla *et al.* (2013) dengan kisaran 0,50–0,86 namun lebih tinggi dari hasil penelitian Seetharam *et al.* (2009) dengan kisaran PIC 0,064–0,72. Sementara rerata nilai PIC pada penelitian ini lebih tinggi dibanding hasil yang diperoleh Pervaiz *et al.* (2009) dengan rerata 0,603.

Sebanyak delapan marka SSR dari total 15 marka yang digunakan memiliki nilai PIC > 0,7. Kedelapan marka tersebut antara lain RM5742, RM6997, RM263, RM518, RM124, RM223, RM259, dan RM536. Berdasarkan kriteria Hildebrand *et al.* (1992), kedelapan marka tersebut dikategorikan marka sangat informatif yang bermanfaat untuk membedakan varietas-varietas padi ke depannya (Tabel 3).

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa 24 varietas padi memisah menjadi dua klaster utama

pada koefisien 0,63 (Gambar 2). Klaster pertama terdiri atas 12 varietas yang seluruhnya merupakan jenis padi sawah sedangkan klaster kedua terdiri atas 12 varietas yang seluruhnya merupakan padi gogo. Marka SSR yang digunakan pada penelitian ini mampu membedakan antara jenis padi sawah dengan jenis padi gogo yang cenderung memiliki ketahanan terhadap kekeringan. Klaster pertama terbagi kembali menjadi 2 subklaster yaitu subklaster IA yang terdiri atas 9 varietas dan subklaster IB yang terdiri atas 3 varietas. Sementara klaster kedua terpisah menjadi dua subklaster yaitu subklaster IIA yang merupakan subklaster dengan densitas tertinggi yaitu sebanyak 11 varietas dan subklaster IIB yang hanya terdiri atas satu varietas yaitu Way Rarem asal Jawa Barat.

Berdasarkan dendrogram pada Gambar 2 terlihat bahwa seluruh varietas padi sawah asal Indonesia cenderung berada pada subklaster IA bersama dengan varietas IR64 asal Filipina dan varietas asal Sri Lanka yaitu Babawee dan Rathu Heenati. Sementara varietas padi sawah asal India menyebar baik pada subklaster IA maupun IB.

Tabel 3. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme (*polymorphism information content*, PIC) yang dihasilkan dari 24 plasma nutfah padi pada penelitian ini

Primer	Jumlah alel	Frekuensi alel utama	Diversitas Gen	Heterozigositas	PIC
RM5742	6	0,42	0,77	0,96	0,74
RM6997	5	0,26	0,79	0,70	0,76
RM201	8	0,48	0,67	1,00	0,62
RM263	10	0,48	0,73	1,00	0,71
RM324	7	0,44	0,70	0,88	0,66
RM416	4	0,46	0,58	1,00	0,49
RM518	7	0,35	0,80	1,00	0,78
RM60	2	0,65	0,48	0,00	0,40
RM105	3	0,50	0,50	0,17	0,38
RM124	6	0,40	0,78	0,92	0,76
RM223	8	0,45	0,77	1,00	0,75
RM215	7	0,48	0,67	0,96	0,62
RM259	4	0,44	0,74	0,63	0,71
RM431	3	0,44	0,67	0,50	0,61
RM536	6	0,26	0,81	0,83	0,78
Jumlah	86				
Rata-rata	5,73	0,43	0,70	0,77	0,65

Tabel 4. Matriks kesamaan genetik 24 varietas padi pada penelitian ini

Sampel	Inpari13	ARC	Mudgo	ASD7	Pelita1-1	Rathu Heenati	PTB33	Swarnalata	Ciherang	Babawee	IR64	Pokkali	P. Nyuhu	Sedang Menawan	Sipelang	Surau Parigi	Genjah Mayangan	Gadabung	Panada	Pae Daye Indoloby	Ketan Huma	Kemala Water	Way Rarem	Ketan Hitam	
Inpari13	1.00																								
ARC	0.849	1.00																							
Mudgo	0.826	0.814	1.00																						
ASD7	0.733	0.721	0.791	1.00																					
Pelita1-1	0.756	0.744	0.791	0.721	1.00																				
Rathu Heenati	0.791	0.756	0.779	0.64	0.779	1.00																			
PTB33	0.756	0.767	0.767	0.791	0.721	0.779	1.00																		
Swarnalata	0.667	0.707	0.733	0.813	0.627	0.613	0.747	1.00																	
Ciherang	0.837	0.756	0.709	0.686	0.779	0.791	0.733	0.627	1.00																
Babawee	0.769	0.833	0.782	0.705	0.756	0.795	0.744	0.693	0.731	1.00															
IR64	0.779	0.814	0.837	0.698	0.791	0.802	0.791	0.653	0.779	0.833	1.00														
Pokkali	0.686	0.651	0.744	0.674	0.814	0.733	0.674	0.667	0.779	0.769	0.744	1.00													
P. Nyuhu	0.713	0.775	0.750	0.625	0.775	0.713	0.625	0.609	0.638	0.75	0.725	0.675	1.00												
Sedang Menawan	0.733	0.744	0.744	0.651	0.744	0.733	0.674	0.627	0.709	0.808	0.767	0.744	0.838	1.00											
Sipelang	0.605	0.570	0.640	0.523	0.663	0.651	0.593	0.587	0.628	0.59	0.57	0.686	0.700	0.756	1.00										
Surau Parigi	0.640	0.698	0.698	0.558	0.698	0.663	0.581	0.587	0.593	0.692	0.698	0.674	0.875	0.791	0.756	1.00									
Genjah Mayangan	0.593	0.628	0.628	0.512	0.674	0.663	0.605	0.507	0.616	0.667	0.651	0.721	0.750	0.744	0.756	0.86	1.00								
Gadabung	0.570	0.581	0.628	0.535	0.605	0.616	0.628	0.520	0.570	0.577	0.651	0.628	0.700	0.721	0.64	0.767	0.767	1.00							
Panada	0.580	0.580	0.642	0.580	0.630	0.556	0.568	0.600	0.580	0.658	0.667	0.667	0.720	0.815	0.778	0.815	0.728	0.753	1.00						
Pae Daye Indoloby	0.628	0.640	0.593	0.523	0.593	0.605	0.570	0.480	0.581	0.718	0.663	0.616	0.720	0.733	0.651	0.802	0.756	0.616	0.716	1.00					
Ketan Huma	0.640	0.721	0.651	0.535	0.651	0.640	0.628	0.533	0.593	0.692	0.721	0.605	0.788	0.791	0.709	0.884	0.767	0.721	0.778	0.872	1.00				
Kemala Water	0.651	0.709	0.663	0.547	0.663	0.651	0.593	0.520	0.605	0.679	0.709	0.616	0.788	0.802	0.698	0.895	0.756	0.733	0.815	0.814	0.942	1.00			
Way Rarem	0.616	0.581	0.674	0.558	0.628	0.616	0.605	0.600	0.616	0.551	0.605	0.698	0.625	0.628	0.756	0.698	0.721	0.674	0.691	0.616	0.651	0.663	1.00		
Ketan Hitam	0.651	0.709	0.709	0.593	0.663	0.628	0.593	0.533	0.558	0.641	0.663	0.616	0.763	0.733	0.581	0.826	0.756	0.663	0.679	0.767	0.779	0.814	0.709	1.00	

Pengelompokan padi gogo pada kluster kedua cenderung tidak menunjukkan pola tertentu karena hampir seluruh varietas berada pada subkluster IIA kecuali varietas Way Rarem yang berada pada subkluster IIB

Pada kluster pertama terdapat dua varietas padi sawah dengan kekerabatan paling dekat yaitu antara varietas ARC 10550 dengan Inpari 13 dengan nilai matriks kesamaan sebesar 84,9% sementara pada kluster kedua terdapat dua varietas padi gogo yang memiliki kekerabatan paling dekat yaitu antara varietas ketan huma dan kemala water yang keduanya berasal dari Nusa Tenggara Timur dengan nilai kesamaan genetik sebesar 94,2% (Tabel 4). Varietas-varietas dengan jarak genetik yang dekat tersebut tidak potensial untuk dijadikan tetua persilangan karena memperbesar peluang terjadinya *inbreeding*. Di antara sesama varietas padi sawah pada kluster pertama terdapat dua varietas dengan jarak genetik terjauh yaitu antara varietas Rathu Heenati dengan Swarnalata sedangkan di antara sesama varietas padi gogo pada kluster kedua, jarak genetik terjauh diperlihatkan oleh varietas Gadabung dengan Panada dan PaeDayeIndolobyte dengan Way Rarem dengan nilai kesamaan sebesar 61.6% (Tabel 4). Secara keseluruhan terdapat dua varietas dengan kekerabatan paling jauh yaitu antara varietas padi gogo Genjah Mayangan dengan padi sawah ASD7 dengan nilai kesamaan genetik sebesar 51.2% (Tabel 4). Varietas-varietas dengan jarak genetik yang cukup jauh tersebut potensial untuk dijadikan tetua persilangan sehingga memperkecil peluang terjadinya *inbreeding*

KESIMPULAN

Analisis keragaman genetik 24 varietas padi menggunakan 15 marka SSR menunjukkan dua pengelompokan utama pada koefisien kemiripan genetik 0,63. Kluster pertama terdiri atas 12 varietas padi sawah dan kluster kedua terdiri atas 12 varietas padi gogo. Total 15 marka SSR tersebut mampu mendiskriminasi varietas padi sawah dari padi gogo dan dapat dimanfaatkan untuk seleksi dalam program persilangan menggunakan varietas padi gogo dan padi sawah sebagai tetua persilangan.

Sebanyak 8 marka SSR, yaitu RM5742, RM6997, RM263, RM518, RM124, RM223, RM259, dan RM536. memiliki nilai PIC > 0.70 dan merupakan marka yang informatif sehingga dapat dikembangkan sebagai Marka Assisted Selection (MAS) varietas padi sawah dan padi gogo ke depannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari anggaran APBN Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Badan Litbang Pertanian.

DAFTAR REFERENSI

Alam MMA, Siddika S, Haque ME, Islam MA, Mukherjee A, Sikdar B. 2016. Genetic diversity of some upland and lowland rice

cultivars in Bangladesh using RAPD, ISSR, and SSR markers. *The Nucleus*. 59:15-23.

Aliyu R, Adamu AK, Muazu S, Alonge SO, Gregorio GB. Tagging and validation of SSR markers to Salinity Tolerance QTLs in Rice (*Oryza spp*). *IPCBEE* 1:328-332.

Ashfaq M, Khan AS. 2012. Genetic diversity in Basmati rice (*Oryza sativa*L.) germplasm as revealed by microsatellite (SSR) markers. *Russian Journal of Genetics*: 48(1):53-62

Bahagiawati, Septiningsih EM, Yunus M, Prasetyono J, Dadang A, Sutrisno. 2005. Aplikasi teknologi marka molekuler untuk verifikasi identitas genetik varietas sayuran komersial. *J. Hort*. 15(3):153-159.

BPS. 2015a. Konsumsi Rata-Rata per Kapita Seminggu Beberapa Macam Bahan Makanan Penting, 2007-2014.

<https://www.bps.go.id/linkTabelStatis/view/id/950>. [24 Februari 2017]

BPS. 2015b. Produksi (ton) padi 2015.

<https://www.bps.go.id/site/pilihdata>. [10 Januari 2017]

Chaerani, Hidayatun N, Utami DW. 2009. Pengembangan set multipleks penanda DNA mikrosatelit untuk analisis variasi genetik padi dan kedelai. *J.AgroBiogen* 5(2):57-64.

Chakravarthi BK, Naravaneni R. 2006. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa* L). *Afr. J. Biotechnol.* 5 (9):684-688.

Chen X, Temnykh S, Xu Y, Cho YG, McCouch SR. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and applied genetics* 95:553-567.

Davla D, Sasidharan N, Macwana S, Chakraborty S, Trivedi R, Ravikiran R, Shah G. 2013. Molecular characterization of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for salt tolerance using microsatellite markers. *The Bioscan*8(2):499-502.

Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.

Hartati, Sumadi, Subandriyo, Hartatik T. 2010. Keragaman morfologi dan diferensiasi genetik sapi peranakan Ongole di peternakan rakyat. *JITV* 15(1):72-80.

Hildebrand E, Torney DC, Wagner RP. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science* 20:100-102.

Joshi SP, Gupta VS, Aggarwal RK, Ranjekar PK, Brar DS. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theor Appl Genet*.100:1311-1320.

Kementan. 2015. Produksi, luas panen, dan produktivitas padi Indonesia 2011- 2015. Kementerian Pertanian Sub Sektor Tanaman Pangan.

http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datap. [24 Desember 2016]

Lapitani VC, Brar DS, Abe T, Redofia ED. 2007. Assessment of genetic diversity of Philippine rice cultivars carrying good quality traits using SSR markers. *Breeding Science* 57:263-270.

Lestari P, Risliawati A, Koh HJ. 2012. Identifikasi dan aplikasi marka berbasis PCR untuk identifikasi varietas padi dengan palatabilitas tinggi. *J. AgroBiogen* 8(2):69-77

Liu K, Muse SV. 2005. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics Research Center, North Carolina State University, Raleigh*.

McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li Z, Xing Y, Zhang Q, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware D, Stein L. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes* 9:199-207

Neeraja, CN, Hariprasad AS, Malathi S, Siddiq EA. 2005. Characterization of tall landraces of rice (*Oryza sativa* L.) using gene-derived simple sequence repeats. *Current Science* 88(1):149-152

Nejad GM, Arzani A, Rezai AM, Singh RK, Gregorio GB. Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the *saltol* QTL. *Afr. J. Biotechnol.* 7(6), pp. 730-736

Pervaiz ZH, Rabbani MA, Pearce SR, Malik SA. 2009. Determination of genetic variability of Asian rice (*Oryza sativa* L.) varieties using microsatellite markers. *Afr. J. Biotechnol.* 8(21):5641-5651.

- Prasetyono J, Tasliah. 2004. Marka mikrosatelit: marka molekuler yang menjanjikan. *Buletin AgroBio* 6(2):41–47.
- Prasetyono J, Aswidinnoor H, Moeljopawiro S, Sopandie D, Bustamam M. 2008. Identifikasi marka polimorfik untuk pemuliaan padi toleran defisiensi fosfor. *J. AgroBiogen* 4(2):51–58.
- Ram SG, Thiruvengadam V, Vinod KK. 2007. Genetic diversity among cultivars, landraces and wild relatives of rice as revealed by microsatellite markers. *J Appl Genet* 48(4): 337–345.
- Risliawati A, Riyanti EI, Lestari P, Utami DW, Silitonga TS. 2015. Development of SSR marker set to identify fourty two Indonesian soybean varieties. *J. AgroBiogen* 11(2):49–58.
- Rohlf FJ. 2000. NTSYSpC: Numerical taxonomy and multivariate analysis sistem. Version: 2.1. Exeter Software, New York.
- Sarao NK, Vikal Y, Singh K, Joshi MA, Sharma RC. 2009. SSR marker-based DNA fingerprinting and cultivar identification of rice (*Oryza sativa* L.) in Punjab state of India. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 8(1):42–44.
- Seetharam K, Thirumeni S, Paramasivam K. 2009. Estimation of genetic diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using SSR markers and morphological characters. *Afr. J. Biotechnol.* 8(10):2050–2059.
- Shah G, Sasidharan N, Chakraborty S, Trivedi R, Ravikiran R, Davla D. 2012. Genetic diversity and molecular analysis for fertility restorer genes in Rice (*Oryza sativa* L.) for wild abortive (WA) cytoplasm using microsatellite markers. *Journal of Agricultural Technology* 8(1):261–271.
- Shu AP, Kim JH, Zhang SY, Cao GL, Nan ZH, Lee KS, Lu Q, Han LZ. 2009. Analysis on genetic similarity of japonica rice variety from different origins of geography in the world. *Agric Sci China.* 8(5):513–520.
- Singh H, Deshmukh RK, Singh A, Singh AK, Gaikwad K, Sharma TR, Mohapatra T, Singh NK. 2010. Highly variable SSR markers suitable for rice genotyping using agarose gels. *Mol Breeding* 25:359–364
- Somantri IH, Santoso TJ, Minantyorini, Ambarwati AD, Sisharmini A, Apriana A. 2002. Karakterisasi Molekuler Plasma Nutfah Tanaman Pangan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman.* Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. p. 66–74.
- Somantri IH. 2001. Wild Rice (*Oryza* spp.): Their Existence and Research in Indonesia. *Buletin AgroBio* 5(1):14–20
- Surahman M, Santosa E, Nisya FN. 2009. Karakterisasi dan Analisis Gerombol Plasma Nutfah Jarak Pagar Indonesia dan Beberapa Negara Lain Menggunakan Marka Morfologi dan Molekuler. *J. Agron. Indonesia* 37(3):256–264
- Temnykh S, Park WD, Ayres NM, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and applied genetics* 100:697–712.
- Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome research* 11:1441–1452.
- Thomson MJ, Septiningsih EM, Suwardjo F, Santoso TJ, Silitonga TS, McCouch SR. 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 114:559–568
- Utami DW, Sutoro, Hidayatun N, Risliawati R, Hanarida I. 2011. Keragaman Genetik 96 Varietas Plasma Nutfah Padi Berdasarkan 30 Marka SSR Terpaut Gen Pengatur Waktu Pembungaan (HD Genes). *J. AgroBiogen* 7(2):76–84.
- Zhang L, Cao G, Han L. 2013. Genetic diversity of rice landraces from lowland and upland accessions of China. *Rice Science.* 20(4):259–266.
- Zhao W, Chung JW, Ma KH, Kim TS, Kim SM, Shin DI, Kim CH, Koo HM, Park YJ. 2009. Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Rice Cultivars from Korea, China and Japan using SSR Markers. *Genes & Genomics* 31(4):283–292.