

**Evaluasi Kemudahan Transfer Marka SSR Padi Untuk Menganalisis Keragaman Genetik Famili Poaceae Toleran Kekeringan
(Transferability Evaluation of Rice SSR Markers for Genetic Diversity Analysis in Poaceae Family Tolerant To Drought)**

Fatimah, Masumah, Joko Prasetyono, & Sustiprijatno

Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Jl. Tentara Pelajar no.3A. Bogor
Email: fatimahsuw@gmail.com

ABSTRACT

Anticipating climate change and its impacts on crop production, it requires the development of adaptive rice varieties that respond to drought stress and minimize the damage while keeps growing and maintaining yield. The aim of this study was to evaluate the transferability of rice simple sequence repeat (SSR) markers to Poaceae family and analyze the genetic diversity among 16 accessions of Poaceae family (12 genera and 14 species) using 41 rice SSR markers. The result revealed that the transferability of rice SSR markers was varied. High amplification produced in rice group (>70%) and low amplification in grass group (<30%) with an average of 35.2%. A total of 128 cross-species alleles were identified with an average of 3 alleles/locus. The value of gene diversity ranged from 0.15 to 0.83 with an average of 0.53 and the value of Polymorphic Information Content (PIC) ranged from 0.14 to 0.80 with an average of 0.46. The results of phylogenetic analysis determined two clusters at similarity coefficient of 0.72. The first cluster consisted of 14 accessions from Poaceae family (12 genera and 14 species) while the second cluster consisted of two cultivated rice varieties (Inpari 30 and Situ Bagendit). The genetic relatedness data revealed from this study could be used as basic information for parental selection. The 14 accessions of Poaceae family have a potential for drought tolerant donor and separated clearly from cultivated rice varieties (Inpari 30 and Situ Bagendit) for recipient parents in spike-stalk injection method (SIM) to develop drought tolerant rice varieties.

Keywords: Cross amplification, Drought tolerant, Inpari 30, Situ Bagendit

ABSTRAK

Untuk mengantisipasi perubahan iklim dan dampaknya pada produksi padi maka diperlukan pengembangan varietas padi adaptif cekaman kekeringan sehingga mampu meminimalkan kerusakan, bertahan pada cekaman, tetap tumbuh dan berproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemudahan transfer (*transferability*) marka *simple sequence repeat* (SSR) padi pada famili Poaceae dan menganalisis kedekatan genetik pada 16 aksesi plasma nutfah yang terdiri dari 12 marga dan 14 spesies dalam satu famili Poaceae dengan menggunakan 41 marka SSR padi. Hasil analisis menunjukkan kemudahan transfer (*transferability*) marka yang bervariasi dan cenderung rendah dengan rerata sebesar 32,2%. Hasil amplifikasi terbanyak adalah pada kelompok padi (>70%) dan amplifikasi paling rendah adalah pada kelompok rerumputan (<30%). Sebanyak 128 alel polimorfik telah berhasil dideteksi dengan rentang jumlah alel 2 hingga 7 per lokus dengan rerata 3 alel. Nilai diversitas gen sebesar 0,15 hingga 0,83 dengan rerata 0,53 dan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) dengan rentang dari 0,14 hingga 0,80 dengan rerata 0,46. Hasil analisis dendrogram membagi ke dalam dua klaster dengan koefisien kemiripan sebesar 0,72. Klaster pertama terdiri dari 14 aksesi plasma nutfah famili Poaceae yang terdiri dari 12 marga dan 14 spesies dan klaster kedua terdiri dari dua varietas padi budidaya (Inpari 30 dan Situ Bagendit). Data kekerabatan genetik dalam studi ini selanjutnya digunakan sebagai informasi awal pada seleksi tetua. Pada 14 aksesi plasma nutfah famili Poaceae ini memiliki potensi sebagai donor toleran kekeringan dan terpisah dengan padi budidaya Inpari 30 dan Situ Bagendit yang akan digunakan sebagai tetua penerima dalam metode *spike-stalk injection* (SIM) untuk mengembangkan padi toleran kekeringan.

Kata Kunci: Amplifikasi silang, Toleran kekeringan, Inpari 30, Situ Bagendit

PENDAHULUAN

Tingginya permintaan beras nasional ini perlu diimbangi dengan peningkatan produksi padi secara berkelanjutan untuk mencapai kondisi ketahanan pangan. Namun demikian,

hingga saat ini upaya peningkatan produksi padi nasional masih dihadapkan pada berbagai kendala dan masalah, antara lain penurunan produktivitas lahan, penyimpangan iklim, serta cekaman biotik dan abiotik. Salah satu bentuk cekaman abiotik yang menjadi kendala utama dalam produksi padi

adalah kekeringan. Kekeringan akan memberikan dampak serius terhadap pertumbuhan tanaman padi, terutama pada fase generatif yang pada akhirnya dapat mengurangi hasil padi dan kualitas gabah (Sujinah & Jamil 2016).

Selain itu, sebagai konsekuensi pertanian modern adalah terjadinya penurunan sumber biodiversitas sehingga mengarah pada penurunan toleransi terhadap cekaman abiotik selama proses domestikasi (Dwivedi *et al.* 2016). Namun dengan adanya pemanfaatan plasma nutfah baik lokal ataupun kerabat liarnya akan mendorong penemuan sifat genetik yang berguna untuk perbaikan tanaman. Salah satunya adalah pemanfaatan famili Poaceae yang merupakan sumber genetik toleran terhadap cekaman abiotik diantaranya adalah toleran terhadap cekaman kekeringan (Landi *et al.* 2017).

Simple sequence repeats (SSR) merupakan salah satu penanda molekuler yang paling populer digunakan. SSR memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi, berlimpah, luas terdistribusi di seluruh genom. SSR berdasarkan jumlah nukleotida per unit ulangan dapat diklasifikasikan sebagai mono-, di-, tri-, tetra-, penta- atau hexa-nukleotida. Keuntungan menggunakan SSR yaitu mudah diautomasi, reproduksi tinggi dan tidak bersifat radioaktif (Miah *et al.* 2013). Penanda SSR banyak digunakan untuk mempelajari dan mengetahui latar belakang genetik pengendali berbagai sifat penting khususnya pada tanaman padi karena sifatnya yang kodominan, multialelik, dapat digunakan pada *indica* dan *japonica* dengan tepat, serta mudah, cepat, dan ekonomis dalam aplikasinya karena berdasarkan teknik PCR (McCouch *et al.* 2002).

Marka SSR telah digunakan untuk melihat variasi genetik dan keragaman genetik pada famili Poaceae seperti pada rumput Benggala (*Panicum maximum*) (Chandra dan Tiwari, 2010), tebu (Devarumath *et al.* 2012), sorgum (Ramu *et al.* 2013), Jajagoan (*Echinochloa* sp.) (Lee *et al.* 2016), padi liar (Van Oosten *et al.* 2016), *Brachypodium* (Shiposha *et al.* 2016), Rumput Mulato (*Brachiaria*) (Trivino *et al.* 2017) dan Jagung (Ramlah *et al.* 2017).

Studi genetik pada tanaman rerumputan jarang ditemukan karena dianggap sebagai tanaman minor, maka ketersediaan informasi marka SSR untuk tanaman tersebut menjadi

langka. Beberapa amplifikasi silang (*cross species amplification*) telah banyak dipelajari dan berhasil diaplikasikan. Wang *et al.* (2005) mengaplikasikan marka SSR dari jagung, sorgum, padi dan gandum pada spesies rerumputan minor (*finger millet*, *seashore paspalum* dan *bermuda grass*). Kawube *et al.* (2015) dan Negawo *et al.* (2018) menggunakan marka SSR yang berasal dari jewawut, jagung, dan sorgum diaplikasikan pada rumput gajah.

Keterbatasan marka SSR pada tanaman minor tersebut memungkinkan untuk menggunakan database marka SSR padi karena telah banyak tersedia (<http://www.gramene.org/>) dan dapat dijadikan sebagai sumber marka SSR untuk mengamplifikasi spesies lain, seperti pada tanaman tebu (Banumathi *et al.* 2010), bambu (Sharma *et al.* 2008; Chen *et al.* 2010), *Miscanthus sinensis* (Yu *et al.* 2013), gandum (Pathak *et al.* 2015), sorgum (Krupa & Shashidhar 2017), *finger millet* (Babu *et al.* 2017), dan *Barnyard millet* (Babu *et al.* 2018).

Peneliti Cina National Hybrid Rice Research telah mengembangkan metode *Spike-stalk Injection Methods* (SIM) (Zhao *et al.* 2005). Metode ini mentransfer DNA genom dari tanaman donor ke dalam tanaman target dengan cara menyuntikkan DNA tersebut pada fase permulaan bunting (*early booting stage*) kemudian DNA dibiarkan terintegrasi secara alami dan ikut dalam proses meiosis. Zhao *et al.* (2007) menyuntikkan DNA rumput jajagoan (*Echinochloa crusgalli*) ke dalam padi hibrida *restorer* (R207) untuk memperbaiki potensi hasil pada galur padi hibrida pada program pengembangan padi hibrida super. Peng *et al.* (2016) mentransfer genom DNA padi liar *Oryza minuta* sebagai tetua donor ke dalam padi budidaya *Oryza sativa indica* V20B untuk memperbaiki sifat kualitas gabah (*grain quality*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemudahan transfer (*transferability*) marka SSR padi pada famili Poaceae dan menganalisis keragaman genetik pada 16 aksesi plasma nutfah dari famili Poaceae pada 12 marga dan 14 spesies dengan menggunakan 41 marka SSR padi. Diharapkan informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar pemilihan tetua donor dan tetua resipien dalam aplikasi metode SIM.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) mulai Bulan Mei - Desember 2016. Bahan tanaman yang digunakan, yaitu 16 aksesori plasma nutfah Poaceae yang terdiri dari empat aksesori lokal (tiga aksesori berasal dari famili Poaceae dan satu aksesori berasal dari famili Phyllanthaceae) berasal dari Muara, Bogor, enam aksesori koleksi BB Biogen (3 marga dan 4 spesies dari famili Poaceae) dan enam aksesori rerumputan (6 marga dan 6 spesies dari famili Phyllanthaceae) hasil isolasi dari Nusa Tenggara Timur (Tabel 1). Aksesori tersebut ditanam di dalam pot dan dipelihara di rumah kawat BB-Biogen.

Analisis molekuler menggunakan 41 marka SSR padi yang terdistribusi pada 12 kromosom padi (Tabel 2). Daun tanaman diisolasi secara miniprep dengan mengacu pada metode Dellaporta (Dellaporta *et al.* 1983). Reaksi PCR dilakukan pada 20 µl volume yang mengandung 1 × bufer PCR (10 mM tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% gelatin, 100 µM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,5 µM primer (F dan R), DNA 50 ng/ul, dan 1 unit taq DNA polimerase. Parameter PCR yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 menit pada suhu 94°C untuk denaturasi permulaan, selanjutnya dilakukan 35 siklus yang terdiri atas: 60 detik pada suhu 94°C untuk denaturasi, 60 detik pada suhu 55°C (sesuai primer) untuk penempelan primer, dan 2 menit pada suhu 72°C untuk perpanjangan primer. Perpanjangan

Tabel 1. Daftar aksesori plasma nutfah Poaceae yang meliputi 12 marga dan 14 spesies yang digunakan dalam penelitian ini.

No.	Nama latin	Nama umum	Varietas	Famili	Asal Daerah	Keterangan
1	<i>Saccharum</i> spp.	Tebu	-	Poaceae	Muara, Bogor	lokal
2	<i>Antidesma stipulare</i>	Asahan	-	Phyllanthaceae	Ciapus, Bogor	lokal
3	<i>Pennisetum purpureum</i>	Rumput gajah	-	Poaceae	Ciapus, Bogor	lokal
4	<i>Echinochloa crusgalli</i>	Jajagoan	-	Poaceae	Muara, Bogor	lokal
5	<i>Sorghum bicolor</i>	Sorgum	Mutiara L70	Poaceae	Kulon Progo, Jogja	Koleksi BB Biogen Reg. 05005-00074
6	<i>Zea mays</i>	Jagung	Lamuru	Poaceae	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	Koleksi BB Biogen Reg. 05002-03696
7	<i>Oryza nivara</i>	Padi liar	-	Poaceae	IRRI, Filipina	Koleksi BB Biogen Reg. 05012-00001
8	<i>Oryza sativa</i>	Padi	Cabacu	Poaceae	Brazil	Koleksi BB Biogen
9	<i>Oryza sativa</i>	Padi	Inpari 30	Poaceae	BB Padi	Koleksi BB Biogen
10	<i>Oryza sativa</i>	Padi	Situ Bagendit	Poaceae	BB Padi	Koleksi BB Biogen
11	<i>Ischaemum timoriensis</i>	Rumput Sarang Buaya		Poaceae	Kupang, NTT	Koleksi BB Biogen
12	<i>Pennisetum purpuroideum</i>	Rumput Raja	Kalanjana	Poaceae	Waingapu NTT	Koleksi BB Biogen
13	<i>Brachiaria hybrid</i>	Rumput Mulato	Mulato	Poaceae	Kupang, NTT	Koleksi BB Biogen
14	<i>Panicum maximum</i>	Rumput Benggala/ Suket Londo	Guinea	Poaceae	Kupang, NTT	Koleksi BB Biogen
15	<i>Bothriochloa pertusa</i>	Rumput embun		Poaceae	Kupang, NTT	Koleksi BB Biogen
16	<i>Cenchrus echinatus</i>	Rumput darah		Poaceae	Kupang, NTT	Koleksi BB Biogen

primer terakhir selama 7 menit pada suhu 72°C. Hasil PCR kemudian dipisahkan menggunakan gel poliakrilamid 8%. Pewarnaan DNA dilakukan dengan *ethidium bromida* dan visualisasi menggunakan Gel Doc.

Marka SSR padi yang dapat ditransfer ke tanaman lain (dalam studi ini adalah Poaceae) adalah marka yang dapat teramplifikasi dan berada pada ukuran yang diharapkan. Untuk menghindari false negatif maka dilakukan dua kali PCR. Marka SSR yang telah berhasil mengamplifikasi dan menunjukkan pola pita yang mudah dibaca selanjutnya dilakukan skoring berupa data biner (Gambar 1). Pita yang muncul diberi skor 1 dan pita yang tidak muncul diberi skor 0. Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam Microsoft excel dan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program PowerMarker 3.2 (Liu & Muse 2004) dan dendrogram dianalisis dengan metode UPGMA (*unweighted pair group method average*) menggunakan program NT Sys versi 2.1 (Rohlf, 1998).

HASIL

Analisis Marka Molekuler

Empat puluh satu marka SSR padi yang digunakan telah berhasil mengamplifikasi 16 aksesi plasma nutfah famili Poaceae yang meliputi 12 marga dan 14 spesies dengan rata-rata sebesar 35,2% atau sebanyak 14 marka SSR/spesies. Sebanyak >70% marka SSR padi mampu mengamplifikasi padi budidaya *Oryza sativa* (Situ Bagendit, Inpari 30, Cabacu) diikuti padi liar *Oryza minuta* (68,3 %), jagung (46,3 %) dan tebu (34,1 %) sedangkan dari 7 spesies

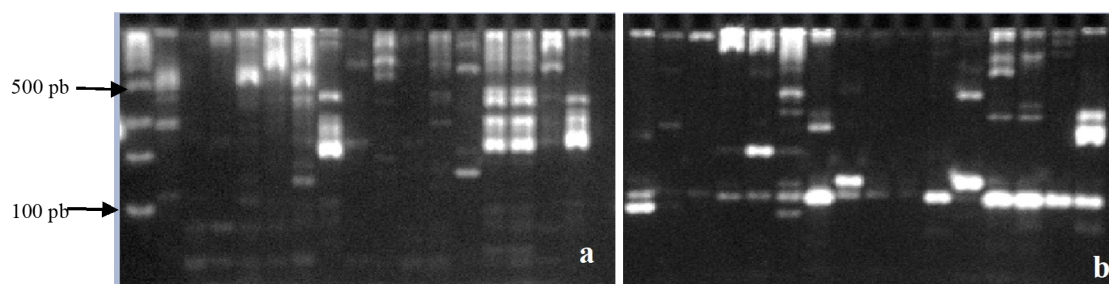
rerumpunan diperoleh jumlah marka SSR yang berhasil mengamplifikasi terbanyak adalah rumput darah (31,7 %) dan yang paling sedikit adalah rumput gajah (7,3 %) (Tabel 2).

Analisis Keragaman genetik

Dari total 41 marka SSR padi yang digunakan untuk mengamplifikasi 16 aksesi plasma nutfah famili Poaceae (12 marga dan 14 spesies) diperoleh sebanyak 128 alel berhasil diidentifikasi (Tabel 3) dengan jumlah alel

Tabel 2. Persentase kemudahan transfer (*transferability*) marka SSR padi pada 16 aksesi plasma nutfah Poaceae yang meliputi 12 marga dan 14 spesies dengan jumlah marka untuk setiap jenisnya=41.

Nama	Teramplifikasi	Transferability (%)
Tebu	14	34,1
Asahan	6	14,6
Rumput gajah	3	7,3
Jajagoan	6	14,6
Sorgum	5	12,2
Jagung	19	46,3
Padi liar <i>O. nivara</i>	28	68,3
Rumput Sarang Buaya	9	22
Rumput Raja	6	14,6
Rumput Mulato	6	14,6
Rumput Benggala	7	17,1
Rumput embun	11	26,8
Padi Inpari 30	34	82,9
Padi Situ Bagendit	35	85,4
Rumput darah	13	31,7
Padi Cabacu	29	70,7
Rerata	14,04	35,2



Gambar 1. Elektroforegram hasil PCR tetua SIM dengan marka SSR padi (a) RM175 dan (b) RM596 pada 16 aksesi plasma nutfah Poaceae dalam 8% gel poliakrilamid, Berturut-turut dari kiri ke kanan: 100 bp ladder, tebu, asahan, rumput gajah, sorgum, jajagoan, jagung, padi liar, rumput sarang buaya, rumput raja, rumput mulato, rumput benggala, rumput embun, Inpari 30, Situ Bagendit, rumput darah, Cabacu.

Tabel 3. Karakterisasi 41 primer yang digunakan pada 16 aksesori plasma nutfah Poaceae,

Marker	Krom	Jumlah Alel	Ukuran alel	Frekuensi Alel Utama	Diversitas (He)	Heterozygositas (Ho)	PIC
RM1282	1	2	150 - 200	0,5	0,5	0	0,38
RM24	1	2	150 - 200	0,67	0,44	0	0,35
RM3475	1	3	200 - 275	0,5	0,63	0	0,55
RM3817	1	4	175- 350	0,43	0,62	0,29	0,55
RM233A	2	3	100 - 200	0,63	0,53	0,75	0,47
RM483	2	4	150 - 300	0,38	0,68	0,38	0,62
RM4	2	4	250 - 500	0,4	0,72	0,4	0,67
RM1920	2	2	150 - 200	0,67	0,44	0	0,35
RM569	3	2	275 - 300	0,67	0,44	0	0,35
RM523	3	2	250 - 300	0,6	0,48	0	0,36
RM22	3	3	250 - 350	0,82	0,31	0,36	0,28
RM232	3	3	175 - 250	0,63	0,5	0,08	0,41
RM175	3	6	150 - 500	0,3	0,81	0,4	0,78
RM537	4	3	200 - 400	0,6	0,56	0,8	0,5
RM564A	4	2	220 - 450	0,67	0,44	0,67	0,35
RM564	4	2	350 - 300	0,92	0,15	0,17	0,14
RM241	4	2	350 - 400	0,5	0,5	0	0,38
RM473C	5	5	200 - 400	0,3	0,76	0,2	0,72
RM161	5	7	150 - 400	0,33	0,79	0,47	0,77
RM276	6	2	200 - 250	0,75	0,38	0	0,3
RM586	6	2	300 - 350	0,75	0,38	0	0,3
RM540	6	2	300 - 400	0,75	0,38	0	0,3
RM500	7	4	250 - 500	0,38	0,72	0,25	0,67
RM418	7	2	300 - 400	0,75	0,38	0	0,3
RM337	8	2	150 - 250	0,75	0,38	0,5	0,3
RM819	8	4	250 - 500	0,38	0,69	0	0,63
RM1676	8	2	300 - 350	0,75	0,38	0	0,3
RM547	8	2	300 - 350	0,67	0,44	0	0,35
RM257	9	5	150 - 400	0,55	0,65	0,3	0,61
RM553	9	4	150 - 300	0,3	0,74	0,2	0,69
RM242	9	5	200 - 400	0,43	0,73	0	0,7
RM1026	9	2	150 - 200	0,8	0,32	0	0,27
RM474	10	3	200 - 350	0,6	0,56	0,4	0,5
RM330A	10	3	150 - 300	0,33	0,67	0	0,59
RM5438	10	2	250 - 300	0,5	0,5	0	0,38
RM596	10	7	100 - 400	0,25	0,83	0,17	0,8
RM1240	11	4	100 - 400	0,75	0,41	0,25	0,39
RM167	11	3	100 - 350	0,63	0,53	0,25	0,47
RM1812	11	2	150 - 250	0,5	0,5	1	0,38
RM552	11	2	200 - 250	0,5	0,5	1	0,38
RM519	12	3	150 - 300	0,75	0,41	0,25	0,37
Rata-rata		3		0,57	0,53	0,23	0,46

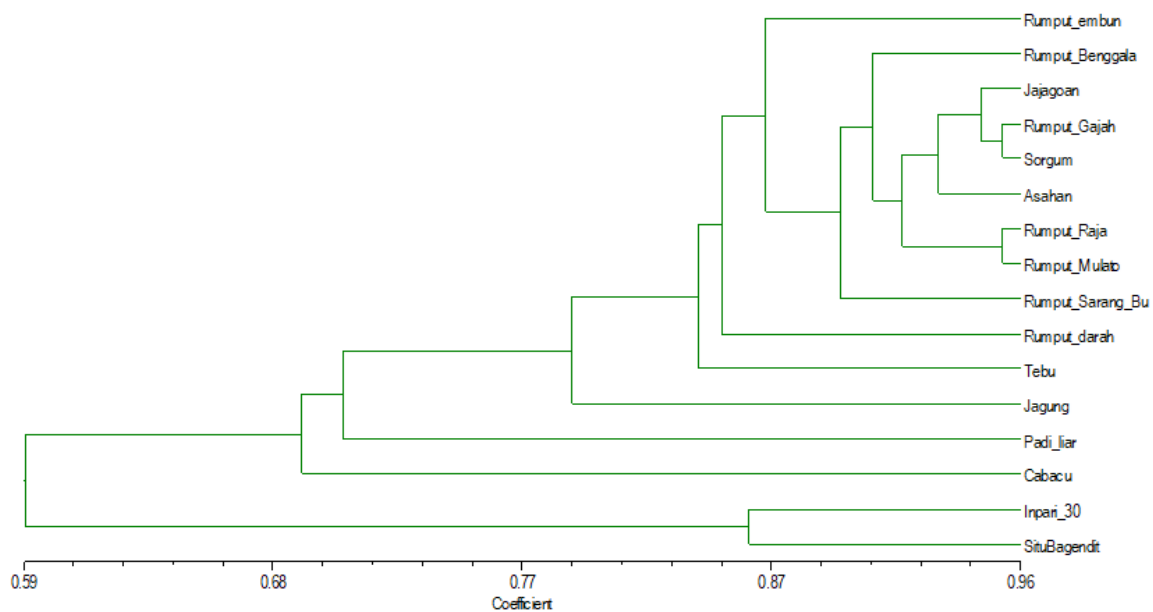
berkisar antara 2 hingga 7 per lokus dengan rerata jumlah alel adalah 3 alel per lokus. Diperoleh 22 marka SSR padi dengan jumlah alel sama atau lebih dari nilai rerata (> 3 alel/lokus) dan 19 marka SSR padi dengan jumlah alel kurang dari nilai rerata (< 3 alel/lokus). Marka SSR padi RM161 dan RM596 merupakan marka SSR yang berhasil mengamplifikasi keseluruhan 16 aksesi plasma nutfah Poaceae (12 marga dan 14 spesies) tersebut dengan jumlah alel paling tinggi (7 alel).

Nilai diversitas gen yang diperoleh dari total 16 aksesi plasma nutfah famili Poaceae (12 marga dan 14 spesies) dengan menggunakan 41 marka SSR padi diperoleh berkisar antara 0,15 pada marka SSR padi RM564 hingga 0,83 pada marka SSR padi RM596 dengan rerata 0,53. Sebanyak 17 marka SSR padi memiliki nilai *He* lebih tinggi dari nilai rerata ($> 0,53$) dan 24 marka SSR padi memiliki nilai diversitas gen (*He*) lebih rendah dari nilai rerata ($< 0,53$). Nilai Heterosigositas (*Ho*) terobservasi berkisar antara 0,0 pada marka SSR padi RM1812 hingga 1,0 pada marka SSR padi RM552 dengan rerata 0,23. Sebanyak 18 marka SSR memiliki nilai *Ho* lebih tinggi dari nilai rerata ($> 0,23$) dan 23 marka SSR memiliki nilai *Ho* lebih rendah dari nilai rerata ($< 0,23$). Nilai PIC

diperoleh berkisar antara 0,14 pada marka SSR RM564 hingga 0,80 pada marka SSR RM596 dengan rerata 0,46. Terdapat lima marka SSR yang memiliki nilai $PIC > 0,70$ yaitu RM175, RM473C, RM161, RM242, dan RM596.

Dendrogram hasil analisis kluster menunjukkan bahwa keenambelas aksesi plasma nutfah Poaceae tersebut mengelompok menjadi dua kluster utama pada koefisien kesamaan 0,72 (*goodness fit* $r=0,97$; Mantel t-test $t = 4.7163$; *Probability random Z < observed Z*: $p = 1.0000$) (Gambar 2). Kluster pertama terdiri dari 14 aksesi Phyllanthaceae (12 marga dan 14 spesies) yang dapat digunakan sebagai donor toleran kekeringan sedangkan kluster kedua terdiri dari dua aksesi padi budidaya (*Oryza sativa*) yaitu Padi Varietas Inpari 30 dan Situ Bagendit yang merupakan varietas unggul padi dan dapat digunakan sebagai tetua penerima.

Pada kluster pertama terbagi menjadi dua subkluster, yaitu subkluster Ia dan subkluster Ib. Pada subkluster Ia, terdiri dari grup Ia.1 yang terdiri dari 12 aksesi plasma nutfah famili Phyllanthaceae rerumputan yaitu rumput embun, rumput benggala, jajagoan, rumput gajah, sorgum, asahan, rumput raja, rumput mulato, rumput sarang burung, rumput darah, tebu dan jagung sedangkan grup Ia.2 berisi satu



Gambar 2. Dendrogram UPGMA 16 aksesi plasma nutfah Poaceae dengan 41 primer SSR padi yang tersebar pada 12 kromosom.

aksesi plasma nutfah Poaceae yaitu padi liar *Oryza nivara*. Pada subklaster Ia1, terdapat tiga aksesori plasma nutfah yang memiliki kekerabatan paling dekat yaitu sorgum, rumput gajah dan jajagoan. Meskipun bukan merupakan satu spesies, ketiga aksesori tersebut memiliki nilai kesamaan genetik sebesar 96% berdasarkan matriks kesamaan genetik Nei (Tabel 4). Sedangkan dari 12 aksesori dalam subklaster Ia.1 tersebut terdapat 2 aksesori yaitu jagung (*Zea mays*) dan tebu (*Saccharum* sp.) yang terpisah dengan 10 aksesori plasma nutfah Poaceae rerumputan (rumpun embun, rumpun benggala, jajagoan, rumput gajah, sorgum, asahan, rumput raja, rumput mulato, rumput sarang burung dan rumput darah).

PEMBAHASAN

Varshney *et al.* (2005) melaporkan bahwa *transferability of markers* merupakan kemampuan suatu marka dari satu spesies (umumnya tanaman utama) yang dapat mengamplifikasi sekuen konservatif saat diaplikasikan pada spesies lain (tanaman minor) dalam satu famili sehingga menghasilkan ampikon (*cross-amplification*). *Transferability* menjadi tinggi jika terdapat situs penempelan primer (*primer*

binding site) yang terletak pada daerah yang konservatif pada spesies tersebut dan menjadi rendah jika tidak terdapat homologi dari sekuen konservatif tersebut khususnya pada spesies dengan kekerabatan jauh.

Transferability pada studi ini masih bervariasi dan cenderung rendah. Tahan *et al.* (2009) menyatakan bahwa kemampuan *transferability* marka SSR genom umumnya sebesar 29-30%. Sourdille *et al.* (2001) melaporkan bahwa marka SSR genom umumnya menunjukkan amplifikasi silang (*cross amplification*) yang rendah. Namun pada studi lain dilaporkan *transferability* marka SSR padi pada gandum sebesar 34,78% (Pathak *et al.* 2015), 41,5% pada *Mischantus sinensis* (Yu *et al.* 2013), 45% pada sorgum (Krupa dan Shashidhar 2017), dan 49,4% pada *finger millet* (Babu *et al.* 2017).

Ketersediaan informasi yang lengkap untuk marka SSR padi (McCouch *et al.* 2002) dapat dimanfaatkan sebagai tanaman referen/model untuk ditransfer (*transferability*) atau amplifikasi silang (*cross amplification*) pada spesies dengan kekerabatan yang dekat dalam satu famili Poaceae. Marka SSR padi telah dapat mengamplifikasi sekitar 15 spesies sebagai marka konservatif untuk membantu analisis komparasi genom (Varshney *et al.* 2005).

Tabel 4. Matriks kesamaan genetik (Nei, 1973) pada 16 aksesori plasma nutfah Poaceae

Sampel	Tebu	Asahan	gajah	Sorgum	Jajagoan	Jagung	Padi liar	Sarang Buaya	Raja	Mulato	Benggala	Embun	Inpari30	SituBagendit	Darah	Cabacu
Tebu	1															
Asahan	0,88	1														
R. gajah	0,89	0,95	1													
Sorgum	0,87	0,95	0,96	1												
Jajagoan	0,86	0,93	0,95	0,96	1											
Jagung	0,77	0,83	0,84	0,87	0,84	1										
Padi liar	0,69	0,73	0,73	0,73	0,71	0,75	1									
R. Sarang Buaya	0,84	0,91	0,94	0,91	0,89	0,83	0,73	1								
R. Raja	0,85	0,91	0,95	0,94	0,91	0,83	0,7	0,91	1							
R. Mulato	0,84	0,91	0,94	0,91	0,9	0,82	0,7	0,91	0,95	1						
R. Benggala	0,83	0,89	0,91	0,93	0,93	0,82	0,69	0,88	0,92	0,92	1					
R. Embun	0,81	0,87	0,9	0,87	0,86	0,77	0,69	0,89	0,88	0,91	0,89	1				
Inpari_30	0,48	0,55	0,54	0,57	0,55	0,53	0,47	0,53	0,53	0,55	0,57	0,52	1			
SituBagendit	0,49	0,55	0,55	0,57	0,56	0,53	0,49	0,54	0,54	0,55	0,58	0,53	0,86	1		
R. Darah	0,8	0,85	0,87	0,89	0,86	0,77	0,66	0,83	0,87	0,85	0,85	0,81	0,56	0,57	1	
Cabacu	0,62	0,69	0,71	0,69	0,68	0,64	0,64	0,67	0,69	0,69	0,67	0,66	0,66	0,64	0,71	1

Analisis keragaman genetik pada parameter jumlah alel dalam studi ini sebesar 128 alel dengan rentang 2–7 alel. Nilai ini mendekati jumlah alel yang diperoleh pada studi Yu *et al.* (2013) yaitu 140 alel dengan jumlah alel berkisar 1–7 dan rerata 2,4 dari 41 marka SSR padi yang digunakan pada *Miscanthus sinensis*. Namun hasil ini berbeda dengan Babu *et al.* (2018) yang mendapatkan jumlah alel lebih sedikit yaitu 54 alel dengan jumlah alel berkisar 2 – 6 dan rerata 3,38 dari 16 marka SSR padi yang diaplikasikan pada *Barnyarn millet* (*Echinochloa* sp.).

Diversitas gen atau *expected heterozygosity* (H_e) merupakan probabilitas bahwa dua alel terpilih secara acak dari suatu populasi (Babu *et al.*, 2017). H_e merupakan estimator terbaik dalam melihat keragaman genetik dalam suatu populasi (Kim *et al.* 2002). Dalam studi ini mengindikasikan bahwa populasi plasma nutfah famili Poaceae (12 marga dan 14 spesies) yang digunakan memiliki keragaman genetik yang tinggi yaitu sebesar 0,53 namun nilai ini masih lebih rendah dibandingkan dengan Kawube *et al.* (2015) yang menganalisis keragaman genetik pada rumput gajah dengan menggunakan marka SSR yang berasal dari jagung, *pearl millet*, padi dan sorgum sehingga diperoleh nilai heterosigositas H_e yang lebih tinggi yaitu berkisar 0,55 – 0,90 dengan rerata 0,60.

Pada parameter heterosigositas (H_o) mengindikasikan bahwa terdapat rentang heterosigositas yang lebar pada famili Poaceae (12 marga dan 14 spesies) dalam studi ini yaitu 0,0 – 1,0 dengan rerata 0,23 dari 41 marka SSR padi yang digunakan. Hal ini sejalan dengan Babu *et al.* (2018) yang mendapatkan nilai H_o sebesar 0,3 dengan rentang nilai H_o sebesar 0,0 – 0,73 pada tanaman *finger millet* dengan menggunakan 120 marka SSR padi.

Nilai PIC menyediakan informasi mengenai kemampuan polimorfisme suatu marka. Nilai PIC yang diperoleh dalam studi ini bervariasi antara satu primer dengan primer yang lain dipengaruhi oleh karakteristik primer dan perbedaan spesies. Terdapat lima marka yang memiliki nilai PIC yang tinggi hal ini mengindikasikan kemampuan kelima marka tersebut untuk membedakan di antara dan di dalam individu itu sendiri di dalam suatu

populasi. Semakin tinggi nilai PIC suatu marka SSR menunjukkan bahwa marka SSR tersebut memiliki potensi yang tinggi dalam mengidentifikasi hubungan kekerabatan genetik. Varshney *et al.* (2001) menyebutkan bahwa lokus SSR yang memiliki lebih banyak alel dan diversitas gen yang tinggi akan memperoleh nilai PIC yang tinggi atau berkorelasi positif dengan jumlah alel dan diversitas gen.

Pada empat aksesori plasma nutfah padi budidaya (*Oryza sativa*) yang digunakan yaitu Padi Varietas Inpari 30, Situ Bagendit, Cabacu dan padi liar *Oryza nivara* berada di dalam kluster yang berbeda. Padi Varietas Inpari 30 dan Situ Bagendit berada di dalam kluster yang sama yaitu kluster II. Kedua padi ini termasuk ke dalam padi tipe *indica* (Prasetyono *et al.* 2018). Sedangkan Padi Varietas Cabacu berada di dalam subkluster Ib. Padi Varietas Cabacu merupakan padi introduksi yang berasal dari Brazil dan termasuk ke dalam padi tipe *japonica* (Prasetyono dkk. 2018). Padi Cabacu memiliki karakteristik toleran kekeringan, tahan penyakit blas, memiliki mutu gabah yang baik dan *wide compatibility variety* (Trijatmiko dkk. 2014). Padi *Oryza nivara* berada pada subkluster Ia.2 merupakan spesies padi liar yang berkerabat paling dekat dengan padi Asia (*Oryza sativa*) dan beradaptasi dengan habitat yang kering (Samal *et al.* 2018).

Perbedaan jarak genetik dalam materi tanaman yang akan digunakan menjadi sangat penting bagi pemulia dalam menentukan tetua yang akan dipilih. Pada studi ini, 41 marka SSR padi yang digunakan telah mampu memisahkan tetua penerima yaitu Padi Varietas Inpari 30 dan Situ Bagendit dengan tetua donor toleran kekeringan yang berasal dari famili Poaceae (12 marga dan 14 spesies). Informasi dari hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar pemilihan tetua donor dan tetua penerima dalam aplikasi metode SIM untuk pengembangan padi toleran kekeringan.

KESIMPULAN

Analisis molekuler pada 16 aksesori plasma nutfah Poaceae (12 marga dan 14 spesies) dengan menggunakan 41 marka SSR padi telah diperoleh kemudahan transfer (*transferability*)

marka SSR padi yang bervariasi dan cenderung rendah yaitu sebesar 35,2% dengan hasil amplifikasi terbanyak adalah pada kelompok padi (>70%) dan amplifikasi paling rendah adalah pada kelompok rumput (<30%). Berdasarkan hubungan kekerabatan mengelompok menjadi dua klaster utama pada koefisien kemiripan genetik 0,72. Klaster I terdiri dari 14 aksesori plasma nutfah Poaceae (12 marga dan 14 spesies) dan klaster II adalah padi budidaya (Padi Varietas Inpari 30 dan Situ Bagendit). Keempatbelas aksesori plasma nutfah Poaceae (12 marga dan 14 spesies) tersebut dapat dilanjutkan sebagai tetua donor toleran kekeringan ke dalam Padi budidaya Varietas Inpari 30 dan Situ Bagendit pada aplikasi metode SIM untuk pengembangan padi toleran kekeringan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Mahrup dan Mushlihatun Baroya atas bantuannya dalam penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh KKP3N TA 2016 No. 87.3/PL.040/I.1/04/2016.K. Badan Penelitian dan Pengembangan. Kementerian Pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu, BK., J. Anjeli, S. Sood & PK. Agrawal. 2017. Identification of microsatellite markers for finger millet genomics application through cross transferability of rice genomic SSR markers. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 77(1): 92-98.
- Babu, BK., S. Sood, D. Kumar, A. Joshi, A. Pattanayak, L. Kant & HD. Upadhyaya. 2018. Cross-genera transferability of rice and finger millet genomic SSRs to barnyard millet (*Echinochloa* spp.). *3 Biotechnology* 8(2): 95-14.
- Banumathi, G., V. Krishnasamy, M. Maheswaran, R. Samiyappan, P. Govindaraj & N. Kumaravadivel. 2010. Genetic diversity analysis of sugarcane (*Saccharum* sp.) clones using simple sequence repeat markers of sugarcane and rice. *Electronic Journal of Plant Breeding* 1(4): 517-526.
- Chandra, A. & KK. Tiwari. 2010. Isolation and characterization of microsatellite markers from guineagrass (*Panicum maximum*) for genetic diversity estimate and cross-species amplification. *Plant Breeding* 129(1): 120-124.
- Chen, SY., YT. Lin, CW. Lin, WY. Chen, CH. Yang & HM. Ku. 2010. Transferability of rice SSR markers to bamboo. *Euphytica* 175(1): 23-33.
- Dellaporta, SL, J. Wood & JB. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version ii. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 19-21.
- Devarumath, RM., SB. Kalwade, PG. Kavar & KV. Sushir. 2012. Assessment of Genetic Diversity in Sugarcane Germplasm Using ISSR and SSR Markers. *Sugar Technology* 14(4): 334-344.
- Dwivedi, SL., S. Ceccarelli, MW. Blair, HD. Upadhyaya, AK. Are & R. Ortiz. 2016. Landrace germplasm for improving yield and abiotic stress adaptation. *Trends Plant Science* 21(1): 31-42.
- Kawube, G., T. Alicai, B. Wanjala, M. Njahira, J. Awalla & R. Skilton. 2015. Genetic diversity in Napier grass (*Pennisetum purpureum*) assessed by SSR markers. *Journal of Agricultural Science* 7(7): 147-155.
- Kim, KS., JS. Yeo & CB. Choi. 2002. Genetic diversity of north-east Asian cattle based on microsatellite data. *Animal Genetics* 33(3): 201-204.
- Krupa, KN. & HE. Shashidhar. 2017. Transferability of rice SSR markers to sorghum. *Mysore Journal of Agricultural Sciences* 51(3): 584-589.
- Landi, S., JF. Hausman, G. Guerriero & S. Esposito. 2017. Poaceae vs. abiotic stress: focus on drought and salt stress, recent insights and perspectives. *Frontiers in Plant Science* 8: 1214-1222.
- Lee, EJ., GY. Nah, MJ. Yook, SH. Lim, TS. Park, DK. Lee & DS. Kim. 2016. Phylogenetic relationship of *Echinochloa* species based on simple sequence repeat and phenotypic marker analyses. *Weed Science* 64(3): 441-454.
- Liu, K. & S. Muse. 2004. PowerMarker: new genetic data analysis software. Version

3.0.

- McCouch, SR., L. Teytelman, Y. Xu, KB. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware & L. Stein. 2002. Development and mapping 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research* 9(6):199-207.
- Miah, G., MY. Rafii, MR. Ismail, AB. Puteh, HA. Rahim, KhN. Islam & MA. Latif. 2013. A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *International Journal of Molecular Sciences* 14(11): 22499-22528.
- Negawo, AT., A. Jorge, J. Hanson, A. Teshome, MS. Muktar, AL. Azevedo, FJS. Lédo, JC. Machado & CS. Jones. 2018. Molecular markers as a tool for germplasm acquisition to enhance the genetic diversity of a Napier grass (*Cenchrus purpureus* syn. *Pennisetum purpureum*) collection. *Tropical Grasslands - Forrajes Tropicales* 6(2):58–69.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding National Academic Science* 70: 3321-3323.
- Pathak, AK., RK. Gupta, AB. Mandal & P. Choudhury. 2015. Transferability of Rice Microsatellite Markers (STMS) Across Cool Season Crops. *Trends in Biosciences* 8(22): 6217-6221.
- Peng, Y., Y. Hu, B. Mao, H. Xiang, Y. Shao, Y. Pan, X. Sheng, Y. Li, X. Ni, Y. Xia, G. Zhang, L. Yuan, Z. Quan & B. Zhao. 2016. Genetic analysis for rice grain quality traits in the YVB stable variant line using RAD-seq. *Molecular Genetic Genomics* 291(1): 297-307.
- Prasetyono, J., N. Hidayatun & Tasliah. 2018. Analisis diversitas genetik 53 genotipe padi Indonesia menggunakan 6K marka *single nucleotide polymorphism*. *Jurnal AgroBiogen* 14(1): 1-10.
- Ramlah, IR. Aziz , C. Muthiadin, M. Masri, MK. Mustami & MB. Pabendon. 2017. Genetic diversity of local maize germplasm of Tana Toraja South Sulawesi using SSR (Simple Sequence Repeat). *Ilmu Pertanian* 2(3): 144-153.
- Ramu, P., C. Billot, JF. Rami, S. Senthilvel, HD. Upadhyaya, L. Ananda, Reddy & CT. Hash. 2013. Assessment of genetic diversity in the sorghum reference set using EST-SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 126(8): 2051-2064.
- Rohlf, FJ. 1998. NTSyS-p.c. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software Publishers Ltd., Setauket.
- Samal, R., PS. Roy, A. Sahoo, MK. Kar, BC. Patra, BC. Marndi & JNR. Gundimeda. 2018. Morphological and molecular dissection of wild rices from eastern India suggests distinct speciation between *O. rufipogon* and *O. nivara* populations. *Scientific Reports* 8(1): 2773-2785.
- Sharma, RK., P. Gupta, V. Sharma, A. Sood, T. Mohapatra & PS. Ahuja. 2008. Evaluation of rice and sugarcane SSR markers for phylogenetic and genetic diversity analyses in bamboo. *Genome* 51(2): 91-103.
- Shiposha, V., P. Catalán, M. Olonova & L. Marques. 2016. Genetic structure and diversity of the selfing model grass *Brachypodium stacei* (Poaceae) in Western Mediterranean: out of the Iberian Peninsula and into the islands. *Peer Reviewed Journal PeerJ* 4.e2407.
- Sourdille, P., M. Tavaud, G. Charmet & M. Bernard. 2001. Transferability of wheat micro satellites to diploid Triticeae species carrying the A, B and D genomes. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 346–352.
- Sujinah & A. Jamil. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. *Iptek Tanaman Pangan*. 11(1): 1-8.
- Tahan, O., YP. Geng, LY. Zeng, SS. Dong, F. Chen, J. Chen, ZP. Song & Y. Zhong. 2009. Assessment of genetic diversity and population structure of Chinese wild almond, *Amygdalus nana*, using EST- and genomic SSRs. *Biochemical Systematics and Ecology* 37:146-153.
- Trijatmiko, KR., Supriyanta, J. Prasetyono, MJ. Thomson. CMV. Cruz, S. Moeljopawiro & A. Pereira. 2014. Meta-analysis of quantitative trait

- loci for grain yield and component traits under reproductive-stage drought stress in an upland rice population. *Molecular Breeding* 34: 283–295.
- Trivino, NJ., JG. Perez, ME. Recio, M. Ebina, N. Yamanaka, SI. Tsuruta, M. Ishitani & M. Worthington. 2017. Genetic diversity and population structure of brachiaria species and breeding populations. *Crop Science* 57: 2633-2644.
- Van Oosten, MJ., A. Costa, P. Punzo, S. Landi, A. Ruggiero, G. Batelli & S. Grillo. 2016. Genetics of drought stress tolerance in crop plants dalam Drought Stress Tolerance in Plants, Vol. 2, eds. MA. Hossain, SH. Wani, S. Bhattacharjee, DJ. Burritt & LS. Phan Tran. hal. 39-70. Springer. Berlin. doi: 10.1007/978-3-319-32423-4.
- Varshney, RK., A. Kumar, HS. Balyan, JK. Roy, M. Prasad & PK. Gupta. 2001. Characterization of microsatellites and development of chromosome specific STMS markers in bread wheat. *Plant Molecular Biology Report* 18:5-16.
- Varshney, RK., A. Graner & ME. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnology* 23(1): 48–55.
- Wang, ML., NA. Barkley, JK. Yu, RE. Dean, ML. Newman, ME. Sorrells & GA. Pederson. 2005. Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. *Plant Genetic Resources* 3: 45–57.
- Yu, J., H. Zhao, T. Zhu, L. Chen & J. Peng. 2013. Transferability of rice SSR markers to *Miscanthus sinensis*, a potential biofuel crop. *Euphytica* DOI 10.1007/s10681-013-0915-1.
- Zhao, BR., QH. Xing, HA. Xia, HH. Yang, DM. Jin, X. Liu, SW. Wang, B. Wang & LP. Yuan. 2005. DNA polymorphism among Yewei B, V20B, and *Oryza minuta* J.S. Presl. Ex C. B. Presl. *Journal of Integrative Plant Biology* 47(12): 1485-1492.
- Zhao, C., B. Zhao, Y. Ren, W. Tong, J. Wang, K. Zhao, S. Shu, N. Xu & S. Liu. 2007. Seeking transformation markers: An analysis of differential tissue proteomes on the rice germ-plasm generated from transformation of *Echinochloa crusgalli* genomic DNA. *Journal of Proteome Research* 6(4): 1354-1363.

Fatimah dkk.