



ANALISIS SIDIK JARI DNA VARIETAS UNGGUL PADI MENGGUNAKAN MARKA SSR (Simple Sequence Repeats)

Akhmad Hidayatullah

Agribisnis, Universitas Satyagama Jakarta Barat, Jakarta, Indonesia
Email: akhmad.hidayatullah89@gmail.com

Abstract

SSR markers are classified as highly effective molecular markers because they have been used in various genetic diversity studies or plant variety identification. The study was conducted at the DNA Laboratory of the Center for Rice Plant Assembly and Modernization (BRMT Padi) from May to August 2012. This study aimed to determine the level of polymorphism and genetic diversity of superior varieties and the latest hybrid rice parents based on SSR (Simple Sequence Repeats) markers. The results showed that the polymorphism level of 36 SSR markers produced had an average of 0.44 with PIC values ranging from 0.00 (RM1022 and RM4608) to 0.83 (RM1369). The genetic diversity values obtained ranged from 0.00 (RM1022 and RM4608) to 0.85 (RM1369). The total alleles from 36 primers produced 116 alleles with an average of 3.22 alleles/SSR locus and were included in the moderate category. Grouping 26 genotypes based on a 10% genetic similarity level resulted in six groups or clusters: klaster II (Inpago 4, Inpago 5), klaster VI (Inpari 20, Inpari 11, Inpari 13, Inpari 17, Inpari 16, Inpari 14, Inpari 15), klaster VII (Inpara 3, Inpara 1, Inpara 2), VIII (Inpari 18, Inpari 19), klaster X (GMJ6B, IR68897B, IR79156B), and klaster XI (BP51-1, BH95E, Bio9, IR40750), as well as five independent genotypes: Inpara 4, Inpago 6, Inpara 5, Inpari 12, and BH33D.

Keywords: Rice, genetic diversity, superior varieties, SSR markers

Abstrak

Marka SSR tergolong sebagai marka molekuler yang sangat efektif karena marka ini telah digunakan dalam berbagai studi keragaman genetik atau identifikasi varietas tanaman. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium DNA Balai Besar Perakitan dan Modernisasi Pertanian Tanaman Padi (BRMT Padi) dari bulan Mei sampai bulan Agustus 2012. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat polimorfisme dan tingkat keragaman genetik varietas unggul dan tetua hibrida padi terbaru berdasarkan marka SSR (Simple Sequence Repeats). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat polimorfisme dari 36 marka SSR yang dihasilkan memiliki rata-rata sebesar 0,44 dengan nilai PIC berkisar 0,00 (RM1022 dan RM4608) sampai 0,83 (RM1369). Nilai keragaman genetik diperoleh berkisar antara 0,00 (RM1022 dan RM4608) sampai 0,85 (RM1369). Total alel dari 36 primer menghasilkan sebanyak 116 alel dengan rata-rata 3,22 alel/lokus SSR dan termasuk dalam kategori sedang. Pengelompokan 26 genotipe berdasarkan tingkat kemiripan genetik 10% diperoleh enam kelompok atau klaster yaitu klaster II (Inpago 4, Inpago 5), klaster VI (Inpari 20, Inpari 11, Inpari 13, Inpari 17, Inpari 16, Inpari 14, Inpari 15), klaster VII (Inpara 3, Inpara 1, Inpara 2), VIII (Inpari 18, Inpari 19), klaster X (GMJ6B, IR68897B, IR79156B), dan klaster XI (BP51-1, BH95E, Bio9, IR40750), serta lima genotipe yang berdiri sendiri yaitu Inpara 4, Inpago 6, Inpara 5, Inpari 12 dan BH33D.

Kata Kunci: Padi, keragaman genetik, varietas unggul, marka SSR

1. Pendahuluan

Padi adalah tanaman pangan terkemuka secara global, menempati urutan kedua setelah gandum dalam hal budidaya ekstensif. Padi berfungsi sebagai sumber makanan mendasar bagi sebagian besar masyarakat Indonesia. Jumlah populasi terus bertambah, ditambah dengan tantangan yang ditimbulkan oleh hama dan penyakit, kekeringan, banjir, konversi lahan pertanian yang terus-menerus, ada kebutuhan penting untuk meningkatkan produksi padi setiap tahun. Jumlah penduduk Indonesia menurut data BPS pada pertengahan tahun 2024 mencapai 282,4 juta jiwa dengan peningkatan penduduk sebesar 1,7 juta jiwa dari tahun 2023. Peningkatan jumlah penduduk menyebabkan kebutuhan beras Indonesia semakin meningkat sehingga peningkatan produksi padi terus dilakukan untuk mendukung program ketahanan pangan.

Strategi yang layak untuk meningkatkan output padi dengan melibatkan pemanfaatan varietas unggul yang dikembangkan secara khusus untuk meningkatkan hasil padi per hektar

(Yulita & Naiola, 2013). Varietas unggul mewakili kemajuan teknologi yang tidak hanya mudah diterapkan tetapi juga hemat biaya dan ramah lingkungan, secara efektif berkontribusi pada peningkatan produktivitas pertanian. Skenario ini menguntungkan bagi petani, karena persyaratan utama mereka adalah terlibat dalam penanaman, sementara juga menguntungkan secara ekonomi, mengingat bahwa varietas unggul dengan ketahanan hama biasanya memerlukan aplikasi insektisida yang berkurang dibandingkan dengan varietas yang rentan. Selain itu, klasifikasi ini dianggap aman bagi lingkungan, karena tidak menimbulkan polusi atau degradasi ekologis (Nurdianawati et al., 2016).

Pengembangan varietas unggul yang baru terus dilakukan untuk menghadapi tantangan masa kini. Salah satu inovasi adalah menciptakan varietas padi unggul baru melalui teknologi marka molekuler. Teknologi ini merupakan alat yang hebat bagi pemulia dan ahli genetik dalam menganalisis DNA tanaman. Sistem ini telah mengubah cara pemetaan genetik dan bisa digunakan untuk menjawab berbagai pertanyaan terkait keragaman genetik, klasifikasi, serta filogeni dalam pengelolaan plasma nutfah, serta sebagai alat bantu dalam proses pemuliaan dan pemilihan melalui penandaan gen (Azrai, 2005). Kemajuan teknologi marka molekuler sangat bermanfaat untuk analisis sidik jari DNA, karena dapat memberikan informasi berharga dalam merancang program pemuliaan, terutama untuk menciptakan segregasi baru, varietas hibrida, dan varietas unggul yang baru, serta dalam menentukan tetua yang akan digunakan untuk persilangan baru. (Terryana et al., 2020) Marka molekuler yang berkaitan dengan gen membantu memperkecil ukuran populasi dan mempercepat waktu generasi dalam program pemuliaan. Teknik marka molekuler seperti RLFP, RAPD, AFLP, dan Mikrosatelit telah digunakan untuk menguji polimorfisme DNA dalam pemetaan genetik, penandaan untuk pemuliaan tanaman, dan menjelajahi hubungan kekerabatan (Bucheyski et al., 2010).

Marka SSR atau mikrosatelit sangat penting sebagai alat pengenalan genetik karena sifat kodominannya yang mengakibatkan heterozigositas tinggi. Ini berarti bahwa kemampuannya untuk membedakan antara individu sangat baik, dan lokasi marka ini dapat diidentifikasi di dalam DNA. Dengan demikian, SSR mampu mendeteksi keragaman alel pada tingkat yang signifikan, serta mudah dan biaya rendah dalam penerapannya melalui proses PCR (Polimerase Chain Reaction). Teknik PCR yang menggunakan metode SSR hanya memerlukan sedikit DNA dengan area amplifikasi kecil, sekitar 100 – 300 pasang basa dari genom. (Terryana et al., 2018).

Di samping itu, penggunaan marka SSR diharapkan dapat mendukung program pemuliaan untuk memaksimalkan potensi plasma nutfah padi yang merupakan sumber genetik utama dan landasan dalam pengembangan varietas baru yang unggul. Selain itu, peta keterkaitan marka SSR dalam pengembangan varietas baru juga berpotensi untuk menghemat waktu, tenaga, dan biaya. Penerapan marka SSR telah banyak dilakukan untuk mengidentifikasi keragaman genetik berbagai plasma nutfah tanaman padi diantaranya deteksi dini padi cekaman kekeringan (Johana et al., 2022) seleksi padi populasi F2 untuk toleransi suhu tinggi (Manulu et al., 2023). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat polimorfisme dan keragaman genetik dari varietas unggul serta tetua hibrida padi berdasarkan marka SSR. (Marka et al., 2023.)

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium DNA Balai Besar Perakitan dan Modernisasi Pertanian Tanaman Padi (BRMT Padi) Sukamandi, yang berlokasi di Kabupaten Subang, Provinsi Jawa Barat, selama periode Mei hingga Agustus 2012. Materi yang digunakan berfokus pada varietas unggul (VUB) terbaru sebagaimana dirinci pada Tabel 1, sedangkan penanda molekuler yang digunakan terdiri dari 36 marka SSR yang berkaitan dengan sifat-sifat signifikan tanaman padi, seperti yang digambarkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Varietas unggul terpilih untuk pengujian menggunakan marka SSR

No	Genotipe	Keterangan	No	Genotipe	Keterangan
1	IR68897B	Tetua Hibrida	14	INPARI 13	VUB terbaru padi sawah
2	GMJ6B	Tetua Hibrida	15	INPARI 14	VUB terbaru padi sawah
3	IR79156B	Tetua Hibrida	16	INPARI 15	VUB terbaru padi sawah
4	IR40750	Tetua Hibrida	17	INPARI 16	VUB terbaru padi sawah
5	Bio9	Tetua Hibrida	18	INPARI 17	VUB terbaru padi sawah
6	BH95E-Mr-15-6-2-2	Tetua Hibrida	19	INPARI 18	VUB terbaru padi sawah
7	BP51-1	Tetua Hibrida	20	INPARI 19	VUB terbaru padi sawah
8	BH33D-Mr-57-1-2-2	Tetua Hibrida	21	INPARI 20	VUB terbaru padi sawah
9	INPAGO 4	VUB terbaru padi gogo	22	INPARA 1	VUB terbaru padi rawa
10	INPAGO 5	VUB terbaru padi gogo	23	INPARA 2	VUB terbaru padi rawa
11	INPAGO 6	VUB terbaru padi gogo	24	INPARA 3	VUB terbaru padi rawa
12	INPARI 11	VUB terbaru padi sawah	25	INPARA 4	VUB terbaru padi rawa
13	INPARI 12	VUB terbaru padi sawah	26	INPARA 5	VUB terbaru padi rawa

Metode Metodologi yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah teknik CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), yang kemudian diikuti oleh reaksi polimerase (PCR), pemisahan elektroforetik dalam gel poliakrilamida, pewarnaan menggunakan Ethidium bromide, dan pemeriksaan migrasi fragmen DNA di bawah penerangan ultraviolet. Analisis data hasil penilaian dilakukan menggunakan perangkat lunak Power Marker, versi 3.25. Prosedur isolasi DNA yang menggunakan teknik CTAB, seperti yang digambarkan oleh Murray dan Thompson (1980), dilakukan pada sampel daun dari tanaman sekitar 35 hari setelah penanaman (HST), di mana setiap spesimen terdiri dari daun muda yang dipotong dan kemudian dihancurkan menggunakan mortar dan alu. Setelah ini, volume 500 µl dari buffer ekstraksi 2x CTAB (mercaptoethanol) dimasukkan ke dalam bahan bubuk. Campuran yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikrocentrifuge 2 mL. Tabung mikrocentrifuge yang berisi sampel dan buffer ekstraksi mengalami pemanasan dalam penangas air pada suhu 65° C selama 60 menit. (Nahdi, 2019)

Setelah menyelesaikan fase pemanasan, sampel diekstraksi dan dibiarkan menyeimbangkan pada suhu sekitar selama 10 menit. Selanjutnya, Kloroform:Isoamyl alcohol (Chisam) dalam rasio 24:1 relatif terhadap 500 µl dimasukkan ke dalam campuran. Sampel diaduk dengan interval 5 menit. Prosedur sentrifugasi dijalankan selama 10 menit pada kecepatan rotasi 10.000 rpm, menghasilkan stratifikasi sampel menjadi tiga lapisan yang berbeda. Lapisan paling atas, disebut sebagai supernatan, dikumpulkan dengan cermat dan dipindahkan ke dalam tabung mikrocentrifuge 2 mL baru. Ke supernatan, 500 ul isopropanol ditambahkan, dan campuran diinkubasi pada suhu -20° C selama 30 menit. Setelah inkubasi, sampel menjalani sentrifugasi pada 12.000 rpm selama 5 menit untuk memfasilitasi pengendapan DNA. Isopropanol kemudian dibuang, setelah itu DNA yang diendapkan dibersihkan dengan etanol 70%. Cairan sisa dihilangkan, memungkinkan

endapan DNA mengering pada suhu kamar selama 2 jam. Setelah itu, endapan DNA dilarutkan kembali dalam 100 µl buffer TE, dengan penambahan 1 µl RNase. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya, 10 ul natrium asetat dimasukkan, bersama dengan 200 ul etanol absolut, dan sampel disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 5 menit, setelah itu etanol dihilangkan dan sampel dicuci kembali dengan etanol 70%, membiarkannya mengering semalaman. Pelet yang dihasilkan dilarutkan kembali dalam 100 ul buffer TE (Thomson et al., 2007).

Tabel 2. Marka SSR untuk identifikasi varietas unggul padi

SSR	Chr	Karakter Terpaut	Forward	Reverse	Tm
RM443	1	Pemulih kesuburan 3	GATGGTTTTTCATCGGCTACG	AGTCCCAGAATGTCGTTTCG	55
RM1287	1	Salinitas	GTGAAGAAAGCATGGTAAATG	CTCAGCTTGCTGTGGTTAG	55
RM1022	3	Wereng batang coklat 18	GGTTGAACCCAAATCTGCA	CTTTGATAGCGGCTTTGTCC	60
RM6308	3	Wereng batang coklat 19	TCGACCTGGCTCCTCTAG	TATCAACCTGCTCCTCTGG	60
RM5444	3	Pembungaan 8	AACGTACCAGTCGCTGGTTC	CCCGTGATTTCTCCGAC	60
RM5639	3	Pembungaan 8	GGAAGAACAGAGTTGCTCGG	GTGCCATTTATTTCCGTCC	61
RM349	4	Hawar daun bakteri 12	TTGCCATTGCGTGGAGGGC	GTCCATCATCCCTATGGTCG	55
RM20589	6	Hawar daun bakteri 7	CATGTATTTGTGTGACGTACCG	ACCTTTCTTGGGCCTTTCTGG	55
RM589	6	Wereng batang coklat 3	ATCATGGTCGGTGGCTTAAC	CAGGTTCCAACCAGACACTG	55
RM4608	6	Pembungaan 3	CAGGTAATAGTCATACTCCT	GGAAACTAGATTAGCTCATA	55
RM1369	6	Pembungaan 3	AACCTGAGAGTGCCAATTGG	TCCCTAGTAAAGCGGATTC	58
RM6344	7	Pemulih kesuburan 4	ACACGCCATGGATGATGAC	TGGCATCATCACTTCTCCTAC	60
RM7338	7	Pembungaan 4	CTTATCTCTCGCAAGCAGC	CTCACACGCATGGATCAATC	60
RM3859	7	Pembungaan 4	TTGCAGATCGGTTTCCACTG	GGTCCTGGATTCATGGTGTC	60
RM3571	8	Pembungaan 12	GAGGACCCGAATCGATC	AACAGGGCCGGGTTAAGTAG	60
RM6070	8	Pembungaan 12	TTGCTAGTGCTTACCACCCC	TCCCAGTCACCCTGCTACTC	60
RM247	12	Wereng batang coklat 1	TAGTGCCGATCGATGTAACG	CATATGGTTTTGACAAAGCG	55
RM7102	12	Wereng batang coklat 2	TAGGAGTGTTTAGAGTGCCA	TCGGTTTGCTTATACATCAG	55
RM5341	12	Wereng batang coklat 9	TGCATTTCCATACAATACG	ATTTGATACATGGACGATGC	56
RM464a	9	Rendaman 1	AACGGGCACATCTGTCTTC	TGGAAGACCTGATCGTTTCC	55
RM315	1	Pemulih kesuburan 3	GAGGTACTTCTCCGTTTCAC	AGTCAGTCACTGTGCAATG	55
RM10852	1	Salinitas	GAATTTCTAGGCCATGAGAGC	AACGGAGGAGTATATGTTAGCC	55
RM266	2	Kemurnian benih	TAGTTTAACCAAGACTCTC	GGTTGAACCCAAATCTGCA	55
RM282	3	Bulir	CTGTGTCGAAAGGCTGCAC	CAGTCTGTGTTGCAGCAAG	55
RM241	4	Tinggi tanaman	GAGCCAAATAAGATCGCTGA	TGCAAGCAGCAGATTTAGTG	55
RM164	5	Kekeringan	TCTTGCCCGTCACTGCAGATATCC	GCAGCCCTAATGCTACAATTCTTC	55
RM190	6	Ketan	CTTTGTCTATCTCAAGACAC	TTGCAGATGTTCTTCTGATG	55
RM510	6	Konsistensi gel	AACCGGATTAGTTTCTCGCC	TGAGGACGACGAGCAGATTC	55
RM234	7	Umur	ACAGTATCCAAGGCCCTGG	CACGTGAGACAAAGACGGAG	55
RM248	7	Perkembangan akar	TCTTGTGAAATCTGGTCCC	GTAGCTGATGATGGTGATG	55
RM3459	8	Indeks panen	ATGGACTTTTCGAGAATGTTG	GAGTACGAAATGAAGGCAAG	55
RM219	9	Rendaman 1	CGTCGGATGATGTAAGCCT	CATATCGGCATTCCGCTG	55
RM258	10	Jumlah anakan	TGCTGTATGTAGCTCGCAC	TGGCCTTTAAAGCTGTCCG	55
RM3701	11	Panjang bulir	GAGCTAGAGGGAGGAGGTGC	TTGACTGATAGCCGATTTGGG	55
RM1261	12	Indeks panen kekeringan	GTCCATGCCCAAGACACAAC	GTTACATCATGGGTGACCCC	55
RM406	2	Blast	GAGGGAAAAGGTGGACATG	TGTGCTCCTTGGGAAGAAAG	55

Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan penanda SSR yang dipilih seperti yang digambarkan pada Tabel 2. Campuran PCR diformulasikan dalam volume total 10 µl, terdiri dari 2 µl DNA dari setiap sampel individu, 2 µl air suling ganda (ddH₂O), 5 µl campuran induk, dan 0,5 µl primer untuk kedua untai maju dan mundur. Protokol amplifikasi PCR dimulai dengan fase denaturasi pada 94°C selama 5 menit, digantikan oleh 35 siklus denaturasi pada 96°C selama 1 menit, diikuti oleh fase anil pada 55°C selama 1 menit, dan periode perpanjangan pada 72°C selama 2 menit. Selanjutnya, ekstensi akhir dieksekusi pada 72°C selama 5 menit. Produk PCR yang dihasilkan diawetkan pada suhu 10°C sampai diperlukan untuk analisis lebih lanjut. Suhu annealing untuk setiap primer bervariasi, sehingga memberikan spesifisitas yang berbeda untuk setiap primer. Prosedur elektroforesis dilakukan di bawah tegangan konstan 75 volt selama 90 menit. Untuk memvisualisasikan hasil elektroforesis digunakan etidium bromida, diikuti dengan visualisasi menggunakan

sistem Gel-Doc. Hasil visualisasi kemudian dievaluasi dan dianalisis menggunakan perangkat lunak Power Marker, versi 3.25 (Pabendon et al., 2016).

a. Skoring

Setiap pita yang terlihat pada gel menunjukkan alel. Profil DNA adalah informasi tentang alel yang terlihat di setiap lokasi yang ada. Alel-alel ini diubah menjadi format biner. Setiap alel dianggap sebagai satu karakter dan diberi nilai tergantung pada kehadiran atau ketidakhadiran suatu alel. Nilai 1 diberikan jika alel ada, sedangkan nilai 0 diberikan jika alel tidak ada. Proses penilaian tentang ada tidaknya pita genetik dilakukan secara manual. Pada marka SSR, setiap pita DNA yang terbentuk menunjukkan letak alel pada lokus, dengan 1 marka SSR merepresentasikan satu lokus. (Putri & Handayani, 2021)

b. Analisis Tingkat Polimorfisme (*Polimorphic Information Content = PIC*)

Tingkat polimorfisme atau PIC dalam istilah ini setara dengan keragaman gen (heterozigositas) (Weir, 1996). Angka PIC memberikan gambaran tentang kemampuan tanda tersebut dalam membedakan dengan cara menghitung tidak hanya jumlah alel dalam satu lokus, tetapi juga frekuensi relatif dari sejumlah alel dalam populasi yang telah diidentifikasi. Lokus tanda yang memiliki banyak alel biasanya akan ditemukan pada frekuensi yang seimbang dengan nilai PIC yang maksimal. Nilai PIC dihitung untuk setiap marka SSR (Smith et al., 2000). Angka PIC dimanfaatkan untuk menilai keragaman alel pada satu lokus dengan rumus:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2 \quad i=1,2,3, \dots, n \quad (1)$$

di mana f_i^2 adalah frekuensi alel ke-i

c. Profil Hasil Karakterisasi Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)

Keragaman alelik merupakan variasi yang dinilai atau diperkirakan berdasarkan keragaman aleliknya, yaitu jumlah alel dalam setiap lokus dan jumlah lokus yang memiliki polimorfisme (Boer, 2007). Parameter yang bisa dihitung meliputi: Jumlah Rata-rata Alel per Lokus, A. Jumlah rata-rata alel per lokus adalah perbandingan total alel di semua lokus dengan jumlah lokus yang bersifat monomorfik dan polimorfik, seperti berikut ini: (Budiani et al., 2014)

$$A = \frac{\text{Jumlah total semua alel pada semua lokus}}{\text{Jumlah lokus monomorfik dan polimorfik}} \quad (2)$$

Persentase Lokus Polimorfik, P. Persentase lokus polimorfik merupakan rasio antara banyaknya lokus polimorfik dengan keseluruhan lokus monomorfik dan polimorfik, seperti yang tertera di bawah ini:

$$P = \frac{\text{Jumlah lokus polimorfik}}{\text{Jumlah lokus monomorfik dan polimorfik}} \quad (3)$$

Jumlah Rata-rata Alel pada Lokus Polimorfik, AP. Rata-rata alel per lokus polimorfik merupakan perbandingan antara total semua alel di semua lokus dengan jumlah lokus polimorfik, seperti yang dijelaskan berikut ini;

$$AP = \frac{\text{Jumlah total alel pada semua lokus}}{\text{Jumlah lokus polimorfik}} \quad (4)$$

d. Analisis Kemiripan Genetik

Tingkat kesamaan genetik antara para induk yang digunakan dianalisis melalui analisis kluster dengan metode pautan rata-rata menggunakan perangkat Power Marker. Hasil dari skoring pita-pita yang ada dan tidak ada, disusun dalam format excel untuk memudahkan pembacaan data di perangkat lunak. Berdasarkan nilai kesamaan genetik yang diperoleh, dilaksanakan analisis pengelompokan matriks data serta pembuatan dendrogram kekerabatan dengan menggunakan metode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic). Estimasi tingkat kemiripan genetik (GS) dilakukan dari data ukuran alel dengan memakai koefisien Jaccard (Rohlf, 2000) melalui rumus: (Dede Nuraida, 2012)

$$GS = \frac{m}{(n+u)} \quad (5)$$

Dimana,

m = jumlah pita (alel) DNA yang sama posisinya

n = total pita DNA,

u = jumlah pita (alel) DNA yang tidak sama posisinya

Dendrogram dikonstruksi untuk 26 genotipe. Analisis jarak genetik diperoleh dengan formula :

$$S = 1 - GS, \quad (6)$$

Dimana, S = Jarak genetik dan GS = kemiripan genetik (Pabendon, 2008).

3. Hasil dan Pembahasan

Tingkat kemurnian DNA yang telah diisolasi dapat diketahui dengan membagi nilai absorban pada 260 nm dengan nilai absorban pada 280 nm. Hasil kuantifikasi total DNA menggunakan nanodrop pada panjang gelombang 260 nm menunjukkan nilai absorban antara 0,802 hingga 67,554. Syafaruddin dan Santoso (2011) menjelaskan bahwa konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm, sementara protein diukur pada panjang gelombang 280 nm. Semakin tinggi konsentrasi DNA yang diperoleh, semakin mudah untuk melakukan proses pengenceran. DNA yang telah terukur konsentrasinya kemudian diencerkan untuk mencapai konsentrasi yang seragam, guna digunakan dalam analisis PCR (Rizkyantoro et al., 2021).

Tabel 3. Konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan Nanodrop

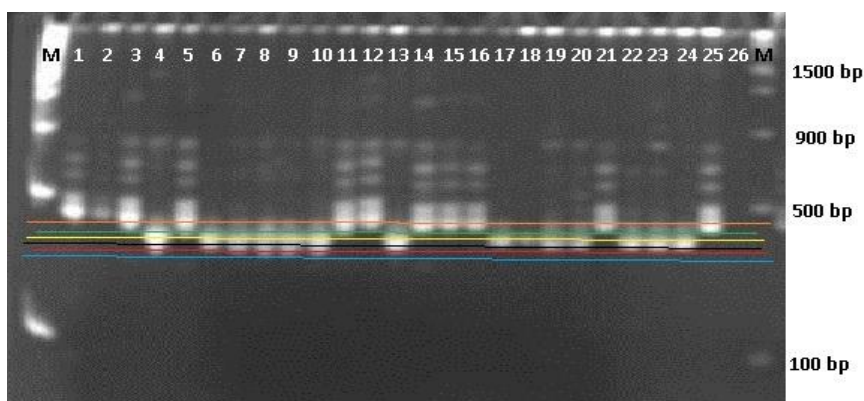
No	Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260	A280	Kemurnian 260/280
1	IR68897B	40,1	0.802	0.403	1,99
2	GMJ6B	91,3	1.826	0.978	1,87
3	IR79156B	163,4	3.368	1.727	1,89
4	IR40750	129,7	2.593	1.343	1,93
5	Bio9	403,0	8.061	4.132	1,95
6	BH95E	286,0	5.719	3.043	1,88
7	BP51-1	233,2	4.664	2.429	1,92
8	BH33D	116,6	2.332	1.175	1,98
9	Inpago 4	541,4	10.829	5.492	1,97
10	Inpago 5	600,7	12.013	6.355	1,89
11	Inpago 6	532,5	10.65	5.522	1,93
12	Inpari 11	331,3	6.627	3.451	1,92
13	Inpari 12	539,0	10.78	5.636	1,91
14	Inpari 13	1563,3	31.265	15.84	1,97

No	Sampel	Konsentrasi DNA (ng/ μ l)	A260	A280	Kemurnian 260/280
15	Inpari 14	506,5	10.129	5.16	1,96
16	Inpari 15	191,5	3.831	1.958	1,96
17	Inpari 16	2870,9	57.417	30.376	1,89
18	Inpari 17	3377,7	67.554	33.841	2,00
19	Inpari 18	2257,3	45.146	23.279	1,94
20	Inpari 19	675,1	13.501	7.328	1,84
21	Inpari 20	714,1	14.283	7.326	1,95
22	Inpara 1	310,1	6.201	3.107	2,00
23	Inpara 2	924,9	18.498	9.435	1,96
24	Inpara 3	1492,9	29.858	14.938	2,00
25	Inpara 4	1483,7	29.673	15.018	1,98
26	Inpara 5	84,5	1.689	0.882	1,91

3.1 Karakterisasi Sidik Jari DNA

Analisis DNA dilakukan dengan memperbanyak DNA dari sampel 18 varietas unggul dan 8 induk hibrida menggunakan 36 penanda SSR yang terkait dengan gen yang mengatur berbagai karakter penting pada tanaman padi. Pola pita yang muncul pada setiap genotipe memungkinkan identifikasi primer yang bersifat monomorfis dan polimorfis. Keragaman genetik dalam suatu populasi diukur dari jumlah gen yang memiliki lebih dari satu alel (gen yang bersifat polimorfis), serta banyaknya alel di masing-masing gen tersebut (Botstein et al., 1980).

Menurut Tabel 4, dalam pengujian terhadap 26 genotipe dengan penggunaan 36 marker SSR, diperoleh rata-rata keragaman gen sebesar 0,50. Rata-rata jumlah alel per lokus (A) tercatat sebanyak 3,22, dengan jumlah alel yang bervariasi dari 1 (monomorfis) hingga 8 alel per lokus SSR. Persentase lokus yang bersifat polimorfik (P) mencapai 94%, di mana terdapat 34 primer yang polimorfis dan 2 primer yang monomorfis (RM1022 dan RM4608). Rata-rata jumlah alel yang ditemukan pada lokus polimorfik (AP) adalah 3,41. Profil DNA yang menggunakan primer RM3859 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil hasil amplifikasi PCR 26 genotipe menggunakan marka RM3859 terpaut gen Pembungaan 4 menghasilkan pita polimorfis, M = Ladder, 1 – 26 = genotipe padi

3.2 Tingkat Polimorfisme (Polymorphism Information Content, PIC)

Hasil dari studi yang melibatkan 36 marka menunjukkan bahwa dua dari marka tersebut, yaitu RM4608 dan RM1022, tidak memberikan nilai PIC karena sifat monomorfiknya.

Penelitian oleh Ravi et al., (2003) yang menggunakan 38 pasangan primer SSR menemukan hanya satu lokus, yakni RM115, yang menunjukkan sifat monomorfik. Rata-rata nilai PIC yang diperoleh adalah 0,578, dengan rentang dari 0 (RM115) hingga 0,890 (RM202). Dalam Tabel 4, terlihat bahwa nilai PIC tertinggi dan keragaman gen yang signifikan berasal dari marka polimorfis, ditunjukkan oleh RM1369 (0,83 dan 0,85), sementara nilai PIC terendah dicatat untuk RM4608 dan RM1022 (0,00). Penelitian Tasliyah et al., (2011) mengungkapkan bahwa nilai PIC tertinggi diperoleh dari primer RM1369. Tingginya nilai PIC menunjukkan bahwa primer ini memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi dengan menghasilkan banyak alel. Pabendon et al., (2007) menyatakan bahwa tingkat polimorfisme yang tinggi dipengaruhi oleh polimorfisme dari marka SSR yang dipakai. Oleh karena itu, pemilihan marka dengan polimorfisme tinggi memberikan kontribusi terhadap nilai PIC. Botstein et al., (1980) mengelaskan nilai PIC menjadi tiga kategori yaitu $PIC > 0,5$ yang sangat informatif, $0,25 > PIC > 0,5$ yang tergolong sedang, dan $PIC < 0,25$ yang kurang informatif (Hidayatun et al., 2011).

Tabel 4. Data profil karakterisasi DNA menggunakan 36 Marka SSR

Primer	Jumlah Alel	Size	Keragaman Gen	Tingkat Polimorfisme (PIC)
RM5341	2	135	0,30	0,25
RM234	5	156	0,71	0,66
RM7102	2	168	0,49	0,37
RM3459	5	197	0,51	0,47
RM247	3	131	0,60	0,53
RM219	3	202	0,53	0,47
RM589	5	186	0,74	0,70
RM258	3	148	0,62	0,55
RM6308	2	176	0,09	0,09
RM3701	2	179	0,47	0,36
RM5444	2	225	0,45	0,35
RM406	4	146	0,55	0,50
RM1022	1	169	0,00	0,00
RM5639	2	168	0,24	0,21
RM3859	6	191	0,77	0,73
RM1261	4	148	0,69	0,63
RM3571	3	184	0,54	0,43
RM10852	3	171	0,66	0,59
RM6070	4	172	0,66	0,60
RM164	2	246	0,20	0,18
RM6344	4	163	0,74	0,69
RM7338	3	158	0,62	0,55
RM443	4	124	0,67	0,61
RM1287	3	162	0,47	0,42
RM349	3	136	0,53	0,43
RM4608	1	135	0,00	0,00
RM20589	3	263	0,59	0,51
RM464a	2	262	0,48	0,36
RM315	3	133	0,49	0,40
RM266	3	127	0,54	0,48
RM1369	8	176	0,85	0,83
RM248	4	102	0,65	0,58
RM510	2	122	0,48	0,36
RM190	5	124	0,52	0,49

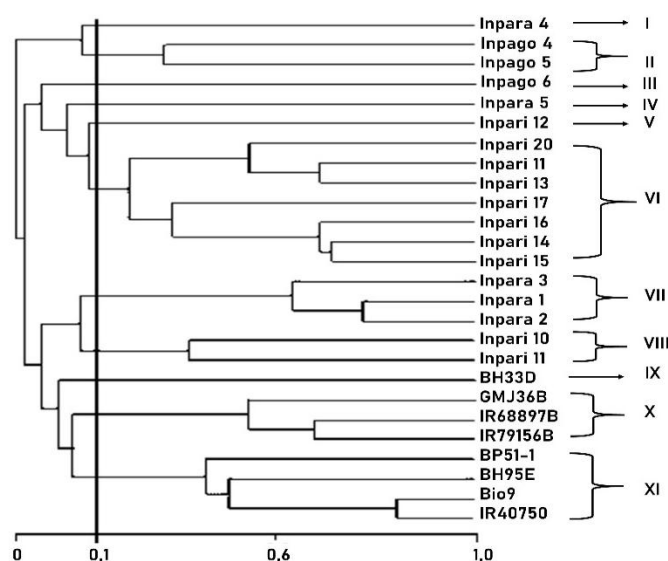
Primer	Jumlah Alel	Size	Keragaman Gen	Tingkat Polimorfisme (PIC)
RM282	2	136	0,41	0,32
RM241	3	138	0,18	0,17
Rata - rata	3,22		0,50	0,44

Jumlah keseluruhan alel yang dihasilkan dari 36 primer tersebut adalah 116, dengan rata-rata 3,22 alel per lokus SSR. Dualembang et al., (2011) melaporkan temuan tentang keragaman genetik pada sorgum menggunakan 30 primer yang menunjukkan nilai polimorfisme cukup tinggi sebesar 0,77 karena banyaknya alel yang terdeteksi. Sebanyak 394 alel terdeteksi dari 30 primer SSR yang digunakan untuk 330 aksesi padi, dengan nilai PIC berkisar antara 0,34 (RM507 dan RM484) sampai 0,88 (RM154 dan RM474), dan rata-rata sebesar 0,66 (Michael, 2007). Variasi jumlah alel yang terdapat pada Tabel 4 tidak menunjukkan banyak perbedaan. Jumlah alel yang tidak terlalu banyak menunjukkan bahwa variasi antar genotipe tidak begitu besar, dan sebaliknya, jumlah alel yang banyak dapat menunjukkan adanya variasi antar genotipe yang lebih signifikan. (Andarini & Nugroho, 2023).

3.3 Analisis Kemiripan Genetik

Analisis pengelompokan menggunakan metode UPGMA (*Unweighed Pair Group with Arithmetic Means*) dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan genetik di antara 26 genotipe berdasarkan 36 tanda SSR. Dendrogram yang dihasilkan menunjukkan bahwa genotipe yang dianalisis dapat dibedakan dengan jelas satu sama lain. Ketika garis ditarik pada tingkat kekerabatan 10%, terbentuk enam kelompok atau klaster serta lima genotipe yang terpisah, yaitu Inpara 4, Inpago 6, Inpara 5, Inpari 12, dan BH33D. Genotipe yang terpisah ini juga berpotensi untuk disilangkan dengan kelompok lainnya. Klaster II dan klaster VIII masing-masing terdiri dari dua genotipe, yaitu (Inpago 4, Inpago 5) dan (Inpari 18, Inpari 19). Klaster VI beranggotakan tujuh genotipe, yaitu (Inpari 20, Inpari 11, Inpari 13, Inpari 17, Inpari 16, Inpari 14, Inpari 15). Klaster VII dan X mencakup tiga genotipe, yakni (Inpara 3, Inpara 1, Inpara 2) dan (GMJ6B, IR68897B, IR79156B). Klaster XI terdiri dari empat genotipe, yaitu BP51-1, Bio9, IR40750, dan BH95E. Matriks kecocokan genetik memberikan nilai jarak genetik antara masing-masing dari 26 genotipe yang telah dikarakterisasi. (Collins et al., 2021).

Hasil dari analisis menunjukkan bahwa 26 genotipe padi menunjukkan variasi genetik yang cukup besar, dengan jarak genetik berkisar antara 0,08 (IR40750 vs Bio9) hingga 1 (Inpara 5 vs BH33D). Ini menunjukkan bahwa hubungan antar kelompok memiliki kedekatan yang relatif. Semakin tinggi tingkat kepercayaan dalam pengelompokan menunjukkan semakin kuatnya kesamaan genetik dari galur dalam kelompok tersebut. Oleh karena itu, jika persilangan dilakukan di antara individu dalam kelompok atau klaster yang sama (dengan tingkat kepercayaan pengelompokan yang tinggi), berarti individu-individu tersebut memiliki kemiripan genetik yang kuat, dan kemungkinan terjadinya inbreeding akan semakin meningkat (Susanto et al., 2014).



Gambar 2. Dendrogram 26 genotipe yang digambarkan berdasarkan analisis kluster UPGMA berdasarkan koefisien Jaccard menggunakan 36 marka SSR.

4. Simpulan

Dari analisis yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa polimorfisme dari 36 marka SSR yang diperoleh memiliki rata-rata 0,44 dengan nilai PIC berkisar antara 0,00 (RM1022 dan RM4608) hingga 0,83 (RM1369). Nilai keragaman genetik yang didapat berkisar antara 0,00 (RM1022 dan RM4608) hingga 0,85 (RM1369). Sebanyak 116 alel ditemukan dari 36 primer, dengan rata-rata 3,22 alel per lokus SSR. Pengelompokan 26 genotipe berdasarkan kesamaan genetik 10% pada dendrogram, ditemukan lima genotipe berdiri sendiri dan enam kelompok atau kluster, yaitu kluster II, kluster VI, kluster VII, kluster VIII, kluster X dan kluster XI. Nilai keragaman genetik yang tinggi diharapkan dapat disilangkan antara genotipe unggul untuk program perakitan varietas unggul baru sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

5. Referensi

- Andarini, Y. N., & Nugroho, K. (2023). Pemanfaatan Kegiatan Analisis Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal di Indonesia. *Vegetalika*, 12(1), 47. <https://jurnal.ugm.ac.id/jbp/article/view/77050>
- Anisaea, H., Masniawati, A., & Tambaru, E. (2015). *Characterization and Kinship Between Bata Pulu Kuning Local Corn From Sinjai South Sulawesi and Carotenoid Syn 3 Corn From CIMMYT Based on Simple Sequence Repeat (SSR) Molecular Marker*.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Botstein. *Am J Hum Gen*, 32, 314–331. [papers2://publication/uuid/0B80518E-A22B-41F3-BE43-171F51007E42](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10160074/)
- Bucheyeki, T., Gwanama, C., Mgonja, M., Chisi, M., Folkertsma, R., & Mutegi, R. (2010). Genetic variability characterisation of Tanzania sorghum landraces based on simple sequence repeats (ssrs) molecular and morphological markers. *African Crop Science Journal*, 17(2), 71–86. <https://doi.org/10.4314/acsj.v17i2.54201>
- Budiani, A., Woelan, S., Minarsih, H., Haris, N., & Putranto, R. A. (2014). Evaluasi 18 primer SSR untuk pengembangan sidikjari DNA tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Menara Perkebunan*, 82(2), 81–94.
- Collins, S. P., Storrow, A., Liu, D., Jenkins, C. A., Miller, K. F., Kampe, C., & Butler, J. (2021). *No Title* 济

無No Title No Title No Title.

- Dede Nuraida. (2012). Pemuliaan Tanaman Cepat Dan Tepat Melalui Pendekatan Marka Molekuler. *El-Hayah*, 2(2), 97–103.
- Hidayatun, N., Chaerani, C., & Utami, D. W. (2011). Sidik Jari DNA 88 Plasma Nutfah Ubi Jalar di Indonesia Berdasarkan Delapan Penanda SSR. *Jurnal AgroBiogen*, 7(2), 119. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n2.2011.p119-127>
- Johana, D., Dyah, R. P., Mufidah, Suprayogi, Satyawan, D., & Tasma, I. M. (2022). Analisis Segregasi Markah SSR dan Keragaan Fenotipe Empat Populasi F2 Kedelai Berdasarkan Karakter Morfologi dan Markah SSR. *Jurnal AgroBiogen*, 18(1), 11–20.
- Marka, B., Simple, S. S. R., & Repeats, S. (n.d.). *Karakterisasi genetik koleksi plasma nutfah sorgum* (. 1–15.
- Nahdi, M. S. (2019). Biologi Konservasi : Integrasi Pandangan Islam dan Peran Masyarakat Dalam Konservasi Ekosistem Menuju Pembangunan Berkelanjutan (Sustainable Development Goals/SDGs). *Biologi Konservasi*, 1–8.
- Nurdianawati, S., Wicaksana, N., & Anas, A. (2016). Analisis Kesesuaian Marka SSR (Simple Sequence Repeats) untuk Identifikasi Keragaman Genetik pada Kacang Bambara Asal Jawa Barat. *Agrikultura*, 27(2), 120–123. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v27i2.10528>
- Pabendon, M. B., Dahlan, M., Sutrisno, S., & George, M. L. C. (2016). Karakterisasi Kemiripan Genetik Koleksi Inbrida Jagung Berdasarkan Marka Mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen*, 2(2), 45. <https://doi.org/10.21082/jbio.v2n2.2006.p45-51>
- Putri, R. E., & Handayani, E. (2021). Keragaman Genetik 27 Aksesori Kedelai (Glycine Max L . Merr .) Introduksi Subtropis Berdasarkan Marka SSR Genetic Diversity of 27 Accessions of Soybean (Glycine max L . Merr .) Introduced from Subtropics Based on SSR Marker. *Jurnal Agroteknologi Dan Inovasi Pertanian*, 10(1), 1–17.
- Rizkyantoro, A. F., Afifuddin, A., & Widhiarso, D. (2021). *Pemanfaatan Penanda SSR untuk Analisis Sidik Jari DNA Kentang (Solanum tuberosum L .) (Utilization of SSR markers for DNA Fingerprinting Analysis of Potato (Solanum tuberosum L .))*. September, 380–393.
- Susanto, U., Satoto, S., Rohmah, N. A., & Mejaya, M. J. (2014). Similarity of 26 New Released Rice Varieties and Rice Parental Hybrids Based on 36 SSR Markers. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 33(2), 71. <https://doi.org/10.21082/jpntp.v33n2.2014.p71-76>
- Terryana, R. T., Ningrum, N. D. S. A., Nugroho, K., Saptadi, D., Kurniawan, H., & Lestari, P. (2020). Genetic Diversity Analysis and Development of DNA Fingerprints of 20 Indonesian Local Chili Pepper Varieties Based on SSR Markers. *Jurnal AgroBiogen*, 16(2), 45. <https://doi.org/10.21082/jbio.v16n2.2020.p45-58>
- Terryana, R. T., Nugroho, K., Reflinur, R., Mulya, K., Dewi, N., & Lestari, P. (2018). Keragaman Genotipik dan Fenotipik 48 Aksesori Kedelai Introduksi Asal Cina. *Jurnal AgroBiogen*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.21082/jbio.v13n1.2017.p1-16>
- Thomson, M. J., Septiningsih, E. M., Suwardjo, F., Santoso, T. J., Silitonga, T. S., & McCouch, S. R. (2007). Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (Oryza sativa L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(3), 559–568. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0457-1>
- Yulita, S. K., & Naiola, B. (2013). Keragaman Genetik Beberapa Aksesori Jagung dari Nusa Tenggara Timur Berdasarkan Profil Inter Short Sequence Repeat profiles. *Jurnal Biologi Indonesia*, 9(2), 255–263.