

## Karakterisasi Molekuler dan Keragaman Genetik Populasi Padi Generasi F<sub>4</sub> Hasil Piramidisasi pada Beberapa Karakter Agronomi

Prayitno<sup>1</sup>, Muhammad Yasser Ibrahim<sup>2</sup>, Anas<sup>3</sup>, Santika Sari<sup>3</sup> dan Nono Carsono<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Program Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

<sup>3</sup>Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM-21, Jatinangor, 45363

\*Alamat korespondensi, email: n.carsono@unpad.ac.id

---

### INFO ARTIKEL

Diterima: 06-01-2025

Direvisi: 19-06-2025

Dipublikasi: 31-12-2025

---

### ABSTRACT/ABSTRAK

---

#### Molecular Characterization and Genetic Diversity of F<sub>4</sub> Rice Populations Derived from Gene Pyramiding on Agronomic Traits

#### Keywords:

Allelic diversity, Gene pyramiding, Jaccard's dissimilarity coefficient, Molecular markers, Rice, UPGMA

Gene pyramiding is a breeding approach that aims to integrate multiple favorable genes from different parents into a single genotype. In rice, high yield, brown planthopper (BPH) resistance, medium amylose content, early maturity, and aroma are traits that must be fulfilled to satisfy both farmers' and consumers' preferences. This study aimed to identify F<sub>4</sub> genotypes carrying molecular markers linked to these agronomic traits, evaluate their genetic diversity, and establish the genetic relationships among 115 F<sub>4</sub> rice genotypes. The experiment was conducted from September to November 2021 at the Ciparanje Experimental Station and the Plant Breeding Laboratory, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran. Molecular characterization was performed by using 10 Simple Sequence Repeats (SSR), which were: IFAP/ESP (fragrance), SSIIa (waxy), RM586, RM8213 (BPH resistance), RM259 (panicle number), RM7601, RM19414 (heading date), RM3701, RM3600 (panicle length), and RM282 (grain weight). Data were analyzed using analysis of molecular variance (AMOVA), while clustering was performed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA). Sixty genotypes with all target markers were obtained. The genetic variation was partitioned into 36% within genotypes, 63% among genotypes, and 1% between the populations. According to cluster analysis using ten molecular markers, 64% dissimilarity existed among genotypes grouped into two major clusters. The wide genetic distances among selected genotypes provide evidence for successful gene pyramiding, with a high degree of allelic variation derived from diverse parents. These selected genotypes will be advanced for further agronomic evaluation to confirm their potential as multi-trait improved lines.

#### Kata Kunci:

Keragaman alel,  
Koefisien kekerabatan  
Jaccard, Marka  
molekuler, Padi,  
Piramidisasi gen,  
UPGMA

Piramidisasi gen adalah salah satu teknik pemuliaan yang dapat digunakan untuk menggabungkan beberapa gen yang menguntungkan dari banyak tetua ke dalam satu genotipe tanaman. Daya hasil tinggi, tahan terhadap wereng coklat, kandungan amilosa sedang, umur genjah dan aromatik adalah beberapa karakter yang diharapkan untuk digabungkan untuk memenuhi keinginan petani dan konsumen. Penelitian bertujuan memperoleh genotipe yang memiliki marka molekuler yang terkait dengan karakter agronomis, mendapatkan informasi keragaman genetik dan mengetahui hubungan kekerabatan 115 genotipe padi generasi F<sub>4</sub> hasil piramidisasi. Penelitian

dilaksanakan pada bulan September – November 2021 di Kebun Percobaan Ciparanje dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Analisis molekuler dilakukan dengan menggunakan marka *Simple Sequence Repeats* (SSR) yaitu IFAP/ESP terpaut gen (*fgf/fragrance*), SSIIa (*waxy*), RM586 (*Bph3* dan *bph4*), RM8213 (*Qbph4* dan *bph17(t)*), RM259 (*qPNI*), RM7601 (*Hd2/heading date*), RM19414 (*Hd3/heading*), RM3701 (*SP1/short panicle*), RM3600 (*LPI/long panicle*), dan RM282 (*GW3/grain weight*). Data dianalisis dengan menggunakan analisis varians molekuler (AMOVA), sedangkan untuk analisis kluster dilakukan menggunakan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages* (UPGMA). Diperoleh sebanyak enam puluh genotipe yang teridentifikasi memiliki marka molekuler terkait beberapa karakter agronomis. Keragaman genetik secara molekuler genotipe hasil piramidisasi didapatkan variasi genetik sebesar 36% di dalam genotipe, 63% antar genotipe dan 1% antar populasi. Berdasarkan analisis *cluster* dengan 10 marka molekuler menunjukkan 64% ketidakmiripan antar tetua dan genotipe hasil piramidisasi dan mengelompok dalam dua kelompok. Jauhnya jarak genetik menunjukkan bukti keberhasilan piramidisasi gen, yang ditunjukkan dengan besarnya variasi alel yang berasal dari tetua yang beragam. Genotipe-genotipe yang terpilih akan dievaluasi lebih lanjut karakter agronominya untuk mengkonfirmasi potensi galur-galur tersebut sebagai galur unggul pada beberapa karakter.

---

## PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan penting ketiga di dunia setelah jagung dan gandum. Di Indonesia, padi sebagai tanaman penghasil beras, merupakan komoditas yang strategis karena mempunyai pengaruh besar terhadap kestabilan ekonomi dan politik (Yusuf *et al.*, 2024). Pertumbuhan produksi dan nilai produktivitas padi di Indonesia selama 37 tahun yang hingga saat ini masih relatif rendah (3,5 - 5,2 ton/ha), menunjukkan ketidakmampuan negara untuk menutupi kebutuhan pangan masyarakat (Kusmana *et al.*, 2017). Rendahnya produktivitas padi disebabkan berbagai faktor, diantaranya yaitu adanya serangan hama dan penyakit. Terdapat sekitar 40 lebih jenis organisme pengganggu tanaman yang menyerang padi, salah satunya adalah hama wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal) yang menjadi hama utama padi pada hampir di semua negara penanam padi (Prayoga dkk., 2022). Untuk mengatasi permasalahan tersebut perlu dilakukan upaya untuk mendapatkan varietas yang tahan hama wereng coklat yaitu melalui perakitan tanaman padi yang tahan beragam biotipe wereng. Perakitan varietas ini dapat dipandang lebih ekonomis dan ramah lingkungan karena dapat menghindari penggunaan insektisida yang berlebihan (Maqbool *et al.*, 2001). Perakitan galur-galur tahan terhadap wereng coklat dapat dilakukan melalui introgresi gen-

gen ketahanan yang dimiliki oleh padi liar atau kultivar tahan. Kultivar-kultivar yang sampai saat ini diketahui memiliki ketahanan yang tinggi terhadap beragam biotipe wereng coklat adalah PTB-33 dan Rathu Heenati (Sun *et al.*, 2005; Jairin *et al.*, 2007a; Santhanalakshmi *et al.*, 2010; Carsono *et al.*, 2021). Introgresi gen-gen ketahanan yang dimiliki oleh PTB-33 ke dalam varietas unggul Indonesia merupakan upaya yang dipandang lebih efektif dan kompatibel dengan beragam komponen pengendalian yang ada saat ini.

Aspek lain yang perlu diperhatikan dalam upaya menggabungkan gen ketahanan yang dimiliki oleh PTB-33 adalah ketepatan dan keterandalan metode seleksi yang digunakan untuk menyeleksi populasi yang bersegregasi. Salah satu metode seleksi yang dapat digunakan adalah menggunakan seleksi berbasis marka molekuler, seperti menggunakan *Simple Sequence Repeats* (SSR) *marker*, dengan memanfaatkan berbagai marka yang diketahui terpaut dengan gen-gen ketahanan, seperti RM589, RM588 (Jairin *et al.*, 2007b; Jena & Mackill, 2008; Prayoga *et al.*, 2018; Yunus *et al.*, 2023), RM8213 dan RM5953 (Sun *et al.*, 2005). Beberapa peneliti telah berhasil mengaplikasikan teknik MAS untuk merakit yang tahan wereng dengan memanfaatkan gen *Bph18* (Wang *et al.*, 2024). Selain itu, telah dilaporkan bahwa terdapat 10 marka molekuler yang berkaitan dengan karakter daya hasil, baik daya hasil langsung maupun

karakter komponen hasil, seperti jumlah malai, bobot bulir, *fase senescence*, tinggi tanaman, jumlah anakan, serta kandungan klorofil. Sepuluh marka tersebut terdiri dari empat marka SSR : RM 282 (Guo *et al.*, 2009), RM 259 (Thomas *et al.*, 2024), RM 513 (Kumar *et al.*, 2022), RM 531 (Eimer *et al.*, 2019) dan enam marka gene specific; FLO (Zhang *et al.*, 2022), OsDOS (Xian-Zhi, 2012), MOC1 (Liao *et al.*, 2019), GLN1.1 (Zhao *et al.*, 2024), NADH-NAR1 (Yamaya & Kusano, 2014; Yap *et al.*, 2015).

Program pemuliaan tanaman dalam perakitan padi varietas unggul untuk produktivitas tinggi ataupun ketahanan terhadap cekaman biotik atau abiotik seringkali mengabaikan karakter mutu beras (*grain quality*), sehingga kultivar yang dilepas kurang diminati oleh konsumen karena mutu beras yang kurang baik. Oleh karena itu perlu dilakukan program perakitan kultivar elit yang memiliki karakter produktivitas tinggi, tahan wereng coklat, memiliki mutu beras yang baik, sehingga mampu memenuhi permintaan petani dan konsumen. Karakter kualitas beras merupakan salah satu target pemuliaan penting di Indonesia dan karakter ini termasuk ke dalam karakter kuantitatif, sangat erat kaitannya dengan *physicochemical properties* seperti: kandungan amilosa (KA), konsistensi gel (KG), *temperature of gelatinization* (Fan *et al.*, 2005), kandungan protein (Lestari *et al.*, 2009) serta aroma (*fragrance*; Jin *et al.*, 2010). Populasi tanaman hasil persilangan berbagai tetua dengan karakter unggul, umumnya akan menghasilkan populasi yang beragam, oleh karena itu perlu untuk dilakukan karakterisasi secara molekuler. Melalui kegiatan karakterisasi, diharapkan akan mendapatkan genotipe yang diinginkan tanpa dipengaruhi oleh faktor lingkungan, fase pertumbuhan tanaman dan tipe jaringan/tissue, dan memiliki keakurasian yang tinggi serta relatif mudah dilakukan (Park *et al.*, 2019). Program perakitan varietas tanaman padi di Indonesia dengan cara menggabungkan multi karakter, yaitu karakter daya hasil tinggi, tahan wereng coklat, umur genjah, aromatik, dan kandungan amilosa telah dilakukan melalui metode piramidisasi dan saat ini mencapai generasi F<sub>4</sub>. Namun, genotipe-genotipe hasil piramidisasi ini belum dikarakterisasi secara molekuler.

Populasi tanaman hasil piramidisasi umumnya memperlihatkan keragaman genetik yang tinggi. Sementara itu, keragaman genetik sangat berperan penting dalam pemuliaan tanaman karena merupakan sumber informasi genetik dari sifat-sifat penting suatu tanaman untuk perbaikan varietas dan

informasi keragaman tersebut dapat membantu keberhasilan program pemuliaan tanaman (Bhandari *et al.*, 2017). Informasi keragaman genetik tersebut dapat diperoleh dengan melakukan karakterisasi menggunakan marka molekuler untuk mendeteksi perbedaan genetik varietas-varietas tersebut secara lebih akurat (Appleby *et al.*, 2009). Marka SSR telah digunakan untuk menganalisis keragaman genetik antar galur/varietas dan spesies (Athaichindachote *et al.*, 2019; Ngangkham *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2013). Data hasil karakterisasi selanjutnya dapat digunakan dalam analisis kekerabatan genetik untuk memperoleh informasi jarak genetik yang dicerminkan dengan nilai matriks kemiripan genetik (*similarity matrix*) genotipe-genotipe yang diuji berdasarkan karakter yang menjadi target pemuliaan tanaman (Scutari *et al.*, 2015). Padi hasil piramidisasi yang telah disilangkan dan terkonfirmasi memiliki beberapa gen target, selanjutnya dianalisis hubungan kekerabatan berdasarkan analisis kemiripan genetik. Menurut Weeden & Wendel (1989), analisis kemiripan genetik berdasarkan karakter agronomi dan morfologi mempunyai beberapa kelemahan seperti pengaruh faktor lingkungan yang cukup besar, dan interaksi gen dominan resesif, serta adanya pengaruh faktor lingkungan yang menyebabkan kurang akuratnya hasil analisis. Oleh karena itu, maka analisis kekerabatan berdasarkan marka molekuler dapat dilakukan secara lebih akurat, sehingga dapat diketahui informasi tentang konstitusi genetik dari setiap genotipe atau setiap kelompok genotipe yang terbentuk. Sistem pengelompokan (*clustering*) diketahui dapat membantu dalam mengidentifikasi dan menganalisis penampilan suatu genotipe (Bennett, 1997). Riset tentang karakterisasi padi hasil piramidisasi secara molekuler relatif masih sedikit dilakukan. Hasil riset piramidisasi beragam karakter sebelumnya memperoleh 115 genotipe padi yang belum diketahui kekerabatannya secara genetik. Oleh karena itu, karakterisasi molekuler dan estimasi keragaman genetik pada populasi ini sangat penting untuk dilakukan agar bisa mendapatkan hubungan kekerabatan genetik antar genotipe padi yang digunakan.

## BAHAN DAN METODE

### Pelaksanaan Percobaan

Percobaan dilaksanakan pada bulan September - November 2021. Budidaya tanaman padi sebagai bahan isolasi DNA dilakukan di Kebun

Percobaan Fakultas Pertanian Unpad Ciparanje yang memiliki ketinggian 753 m di atas permukaan laut (mdpl), sedangkan kegiatan analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Materi genetik yang digunakan pada percobaan ini adalah generasi F<sub>4</sub> hasil selfing PP51 x CAKA283 sebanyak 115 genotipe yang merupakan hasil program piramidisasi empat tetua kultivar unggul yaitu Pandanwangi, PTB-33, Kitaake dan Ciapus.

### Analisis Marka Molekuler

Pengambilan bahan tanaman untuk pengujian molekuler dilakukan pada tiga helai daun muda yang masih berada pada fase vegetatif awal, sehingga tekstur daun masih lunak untuk memudahkan proses ekstraksi DNA. Daun diambil dari tetua dan genotipe generasi F<sub>4</sub> hasil persilangan PP51 x CAKA283. Pengambilan sampel dilakukan saat tanaman berumur sekitar tiga minggu setelah tanam (MST). Marka molekuler yang digunakan dalam percobaan ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Marka Molekuler *Simple Sequence Repeats* (SSR) yang digunakan untuk Karakterisasi Generasi F<sub>4</sub> hasil persilangan PP51 x CAKA283

| No. | Marka Molekuler | Gen                              | Karakter                | Referensi                                                   |
|-----|-----------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1.  | IFAP/ESP        | <i>Fgr</i>                       | Aromatik                | Bradbury <i>et al.</i> (2005b)                              |
| 2.  | RM259           | <i>qPNI</i>                      | Jumlah anakan produktif | Zhu <i>et al.</i> (2011)                                    |
| 3.  | RM3600          | <i>LP1</i>                       | Panjang malai           | Liu <i>et al.</i> (2016)                                    |
| 4.  | RM3701          | <i>SP1</i>                       | Panjang malai           | Li <i>et al.</i> (2009)                                     |
| 5.  | RM282           | <i>GW3</i>                       | Panjang dan bobot bulir | Guo <i>et al.</i> (2009)                                    |
| 6.  | RM7601          | <i>Hd2</i>                       | Umur genjah             | Prasetyono dkk. (2012)                                      |
| 7.  | RM19414         | <i>Hd3</i>                       | Umur genjah             | <a href="http://www.gramene.org">http://www.gramene.org</a> |
| 8.  | RM586           | <i>Bph3</i> dan <i>bph4</i>      | Tahan wereng cokelat    | Jairin <i>et al.</i> (2007a)                                |
| 9.  | RM8213          | <i>Qbph4</i> dan <i>Bph17(t)</i> | Tahan wereng cokelat    | Sun <i>et al.</i> (2005)                                    |
| 10. | SSIIa           | <i>SSIIa</i>                     | Kandungan pati          | Luo <i>et al.</i> (2015)                                    |

### Isolasi DNA

Isolasi DNA diawali dengan proses penggerusan daun padi muda sampai menjadi bubuk dengan menggunakan bantuan nitrogen cair. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode cetyltrimethylammonium-bromide (CTAB) sesuai dengan protokol Doyle (1996). Selanjutnya pengujian kualitas DNA dilakukan terhadap semua hasil isolasi DNA yang telah dilakukan. Kualitas DNA dianalisis menggunakan *gel*/elektroforesis dan divisualisasi baik atau tidaknya kualitas DNA hasil isolasi yang telah dilakukan sebelumnya.

Elektroforesis untuk pengujian kualitas DNA dilakukan dengan menggunakan 0,8% - 1% *gel agarose*, yang dibuat dengan melarutkan 0,8 - 1 g agarose dalam 100 ml larutan 0,5x TBE. Larutan tersebut kemudian dipanaskan pada oven selama 2 menit dengan suhu 150°C. Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 100V selama 30 menit, kemudian gel direndam pada larutan *ethidium bromide* (EtBr) selama 30 menit. Hasil perendaman ini kemudian dimasukkan ke dalam *Gel Documentation Box* SYNGENE *Type* G-Box (UV *transilluminator*) untuk melihat kualitas DNA yang dihasilkan.

### Amplifikasi DNA menggunakan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kegiatan ini bertujuan untuk menggandakan suatu bagian spesifik dari DNA, sehingga bagian spesifik DNA yang diinginkan dapat diidentifikasi dan diketahui keberadaannya. Amplifikasi PCR dilakukan pada volume 12,5 µL menggunakan campuran PCR Red Mix 9,5 µL, primer *forward/reverse* (10 mM) masing-masing 1 µL, dan DNA *template* sebanyak 1 µL pada konsentrasi 20 ng/µL, selanjutnya ditambahkan *nuclease free water* 1 µL. Kemudian tabung PCR dimasukkan ke dalam mesin PCR untuk memulai proses amplifikasi. Tahapan amplifikasi DNA membutuhkan temperatur, waktu, dan siklus yang berbeda untuk setiap primer dapat dilihat pada Tabel 2.

### Elektroforesis dan Visualisasi DNA

Produk hasil amplifikasi PCR, dielektroforesis menggunakan campuran 1,5 - 3% *gel agarose* dengan 0,8µm GelRed dalam larutan buffer 0,5X TBE yang di-*running* pada durasi waktu dan besaran tegangan listrik tertentu (Tabel 3). Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan *Gel documentation* (G-box dari *Syngene*). 100 bp DNA *ladder* (Promega)

digunakan sebagai standar untuk menetapkan ukuran menunjukkan ada atau tidaknya DNA target yang pita hasil amplifikasi DNA. Hasil visualisasi diharapkan.

Tabel 2. Program PCR untuk 10 primer yang digunakan untuk karakterisasi molekuler generasi F<sub>4</sub> hasil persilangan PP51 x CAKA283

| No | Primer   | Tahapan                 | Suhu (°C) | Waktu (menit) | Siklus |
|----|----------|-------------------------|-----------|---------------|--------|
| 1  | RM259    | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 3             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 0,5           | 30     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 60        | 1             |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 1             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 5             | 1      |
| 2  | RM282    | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 4             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 0,5           | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 58        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 5             | 1      |
| 3  | RM3600   | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 5             |        |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 0,5           | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 5             |        |
| 4  | RM3701   | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 5             |        |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 0,5           | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 5             |        |
| 5  | RM7601   | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 5             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 1             | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 1             |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 2             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 7             | 1      |
| 6  | RM19414  | <i>Pre-denaturation</i> | 95        | 2             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 95        | 1             | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 57        | 1             |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 2             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 5             | 1      |
| 7  | SSIIa    | <i>Pre-denaturation</i> | 95        | 5             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 95        | 1             | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 0,45          |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 1             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 10            | 1      |
| 8  | RM586    | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 5             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 1             |        |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 1             | 36     |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 1             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 7             | 1      |
| 9  | RM8213   | <i>Pre-denaturation</i> | 94        | 5             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 94        | 1             | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 55        | 1             |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 1             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 7             | 1      |
| 10 | IFAP/ESP | <i>Pre-denaturation</i> | 95        | 5             | 1      |
|    |          | <i>Denaturation</i>     | 95        | 1             | 35     |
|    |          | <i>Annealing</i>        | 58        | 0,5           |        |
|    |          | <i>Extension</i>        | 72        | 1             |        |
|    |          | <i>Final Extension</i>  | 72        | 7             | 1      |

Tabel 3. Program pengaturan elektroforesis untuk 10 primer yang digunakan.

| No | Primer   | Elektroforesis       |               |
|----|----------|----------------------|---------------|
|    |          | Tegangan listrik (V) | Waktu (Menit) |
| 1  | RM282    | 100                  | 90            |
| 2  | RM259    | 75                   | 75            |
| 3  | RM3701   | 80                   | 80            |
| 4  | RM3600   | 80                   | 80            |
| 5  | RM7601   | 100                  | 45            |
| 6  | RM19414  | 100                  | 45            |
| 7  | SSIIa    | 75                   | 90            |
| 8  | RM586    | 75                   | 90            |
| 9  | RM 8213  | 75                   | 90            |
| 10 | IFAP/ESP | 70                   | 75            |

#### Analisis Varians Molekuler

Analisis varians molekuler (AMOVA) dilakukan untuk menilai struktur genetik populasi (Laurent *et al.*, 1992). Ada atau tidak adanya varians

molekuler di dalam dan di antara sub kelompok yang diprediksi oleh *software STRUCTURE* kemudian diestimasi menggunakan *software* GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2006). Jarak genetik menunjukkan kekerabatan genetik di antara populasi yang diukur berdasarkan nilai numerik atau pengukuran secara kuantitatif dari perbedaan genetik pada frekuensi tingkat sekuens atau alel yang dihitung antara genotipe individu dan populasi (Doğan & Doğan, 2016). *F-statistics* digunakan untuk mengukur keragaman dari suatu populasi genetik berdasarkan pembagian varians genetik antar individu, antar populasi dan di antara populasi (Meirmans & Liu, 2018). Salah satu metode paling populer untuk menghitung *F-statistics* adalah melalui AMOVA (Dupanloup *et al.*, 2002; Meirmans & Liu, 2018). Analisis ini digunakan untuk melihat seberapa besar keragaman atau variasi genetik pada beberapa populasi dan individu yang ada di dalam populasi tersebut dan rumusnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis Varians Molekuler (AMOVA)

| Sumber Variasi                            | Derajat Bebas          | Deviasi Kuadrat Tengah (DKT) | Estimasi DKT                                |
|-------------------------------------------|------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|
| Di antara Lokus (AL)                      | $G-1$                  | $DKT/(AL)$                   | $\sigma_c^2 + n'\sigma_b^2 + n''\sigma_a^2$ |
| Di antara Populasi dalam Lokus (AP/DL)    | $\sum_{g=1}^G I_g - G$ | $DKT/(AP/DL)$                | $\sigma_c^2 + n\sigma_b^2$                  |
| Di antara Genotipe dalam Populasi (AG/DP) | $N - \sum_{g=1}^G I_g$ | $DKT/(AG)$                   | $\sigma_c^2$                                |
| Total Variasi                             | $N-1$                  |                              |                                             |

Sumber: Laurent *et al.* (1992)

#### Estimasi Polymorphism Information Content (PIC) Menggunakan GeneAIEx

Nilai PIC merupakan gambaran keragaman alel dan frekuensi antar varietas bila diuji menggunakan penanda tertentu. Penghitungan tingkat polimorfis dari marka yang digunakan dengan menghitung nilai PIC dihitung dengan dengan formula berdasarkan (Smith *et al.*, 1998):

$$PIC_j = 1 - \sum (P_{ij})^2$$

Jika  $P_{ij}$  adalah frekuensi alel  $i$  yang dihasilkan oleh primer  $j$ , kemudian dijumlah untuk keseluruhan alel yang dihasilkan primer. Nilai PIC dibagi menjadi tiga kelas yaitu  $PIC > 0,5$  sangat informatif,  $0,25 > PIC < 0,5$  sedang dan  $PIC < 0,25$  rendah (Botstein *et al.*, 1980).

#### Estimasi nilai keragaman genetik

Analisis hubungan kekerabatan genotipe hasil piramidisasi dilakukan menggunakan *software XLSTAT* untuk membentuk matrik *similarity shared allele distance* dengan koefisien *euclidean distance* sebagai pembentuk jarak genetik untuk marka molekuler. Selanjutnya dilakukan *clustering* dengan metode analisis kekerabatan. Pengelompokan populasi dilakukan dengan menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) dengan bantuan aplikasi XLSTAT menggunakan matriks *dissimilarity* dengan koefisien jarak *Jaccard*. Apabila nilai *dissimilarity* semakin kecil maka hal tersebut menunjukkan bahwa keragamannya juga sempit, namun jika nilai *dissimilarity* besar maka keragaman genetiknya luas. Hasil pengelompokan digambarkan dengan *dendrogram* untuk mengetahui kekerabatan antar

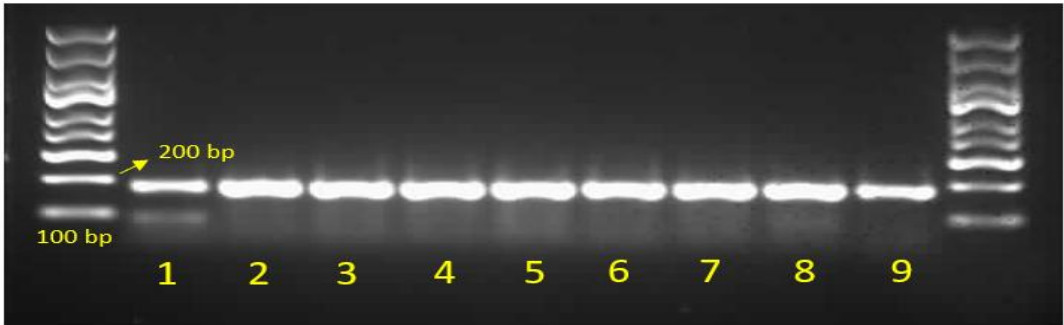
genotipe hasil piramidisasi. Nilai jarak genetik berkisar 0–1, nilai 0 menunjukkan spesies yang diamati memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat, sedangkan nilai 1 menunjukkan spesies yang diamati memiliki hubungan kekerabatan yang sangat jauh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

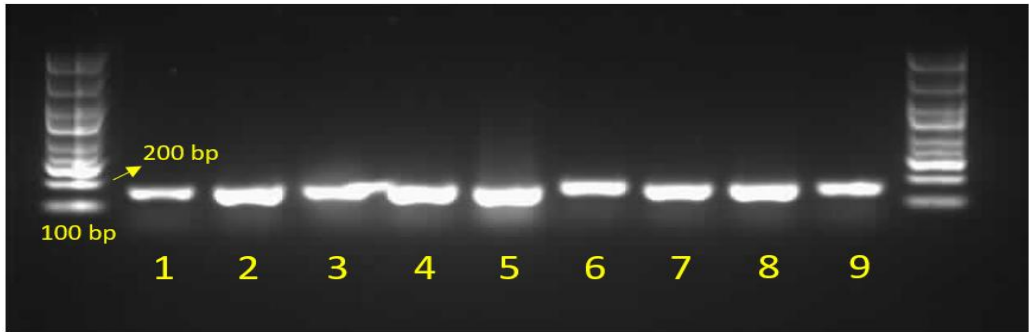
Amplifikasi DNA menggunakan PCR

Hasil visualisasi pola pita DNA menggunakan 10 marka SSR, yaitu IFAP/ESP terpaut gen

(*fgf/fragrance*), SSIIa (*waxy*), RM586 (*Bph3* dan *bph4*), RM8213 (*Qbph4* dan *bph17(t)*), RM259 (*qPNI*), RM7601 (*Hd2/heading date*), RM19414 (*Hd3/heading*), RM3701 (*SP1/short panicle*), RM3600 (*LP1/long panicle*), dan RM282 (*GW3/grain weight*), pada genotipe yang diuji menghasilkan pita DNA sesuai referensi, sehingga dapat disimpulkan genotipe-genotipe tersebut memiliki karakter target (daya hasil tinggi, tahan wereng coklat, umur genjah, aromatik, dan kandungan amilosa sedang). Adapun contoh beberapa marka yang teramplifikasi dengan baik disajikan pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka RM586. Keterangan: (1) Genotipe 185-58; (2) 185-72; (3) 185-74; (4) 185-78; (5) 185-83; (6) 185-85; (7) 185-90; (8) 185-93; (9) 185-90



Gambar 2. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka RM8213. Keterangan: (1) Genotipe 185-58; (2) 185-72; (3) 185-74; (4) 185-78; (5) 185-83; (6) 185-85; (7) 185-90; (8) 185-93; (9) 185-90

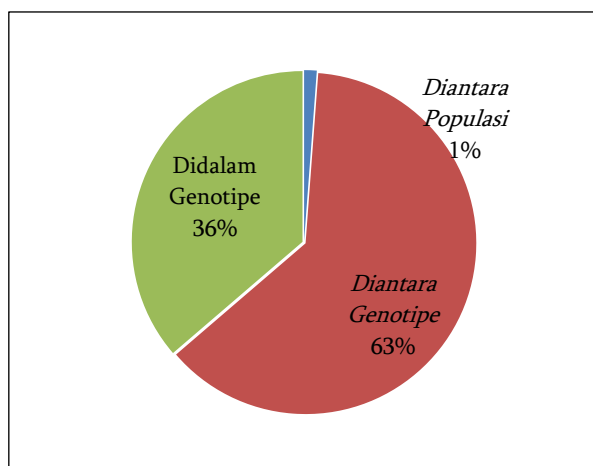
Tabel 5. Genotipe-genotipe yang terkonfirmasi memiliki marka molekuler yang diduga berasosiasi dengan daya hasil tinggi, tahan wereng coklat, umur genjah, aromatik, dan kandungan amilosa sedang.

| Genotipe Padi Hasil Piramidisasi |        |         |         |        |        |
|----------------------------------|--------|---------|---------|--------|--------|
| 185-8                            | 185-60 | 185-89  | 185-IJ  | 250-9  | 234-47 |
| 185-28                           | 185-64 | 185-90  | 185-RT  | 250-15 | 234-50 |
| 185-30                           | 185-67 | 185-91  | 185-100 | 250-25 | 234-52 |
| 185-39                           | 185-69 | 185-93  | 131-18  | 250-40 | 234-60 |
| 185-45                           | 185-70 | 185-95  | 131-23  | 234-6  | 234-63 |
| 185-46                           | 185-74 | 185-96  | 131-29  | 234-12 | 234-73 |
| 185-47                           | 185-75 | 185-100 | 131-46  | 234-15 | 234-85 |
| 185-49                           | 185-78 | 185-XC  | 131-85  | 234-30 | 234-86 |
| 185-55                           | 185-83 | 185-OK  | 250-3   | 234-36 | 234-90 |
| 185-59                           | 185-85 | 185-KC  | 250-8   | 234-43 | 234-97 |

Berdasarkan hasil analisis molekuler menggunakan PCR diperoleh 60 genotipe dari 115 genotipe uji (52,17%) yang terkonfirmasi memiliki seluruh marka molekuler yang digunakan dalam studi ini (10 marka molekuler) (Tabel 5). Hasil ini perlu dikonfirmasi lanjut pada generasi berikutnya untuk memastikan kalau sifat-sifat tersebut sudah diturunkan atau belum pada genotipe yang sudah terkonfirmasi memiliki sifat tersebut

### Analisis Varians Molekuler

Analisis varians molekuler dihitung berdasarkan nilai *F-statistics* yang dihitung dari komponen kovarian yang berhubungan dengan perbedaan tingkat hierarki pada struktur populasi (Dupanloup *et al.*, 2002; Michalakis & Excoffier, 1996). Analisis genetik yang telah dilakukan pada 115 genotipe padi generasi F<sub>4</sub>, yang terdiri dari dua kelompok hasil piramidisasi yaitu tetua dan progeni, menunjukkan bahwa 36 % variasi terdapat dalam individu itu sendiri, 63 % antar individu, dan hanya 1 % antar populasi, sedangkan nilai indeks fiksasi (*Fst*) tercatat sebesar 0,058. Temuan ini menunjukkan bahwa perbedaan terbesar terdapat pada antar genotipe, sementara variasi yang muncul di tingkat populasi relatif sangat rendah. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat diferensiasi genetik antar populasi.



Gambar 3. Variasi genetik 115 genotipe padi menggunakan GeneAIEx

Hasil analisis AMOVA menggunakan aplikasi GeneAIEx dapat dilihat pada Gambar 3. Nilai *Fst* dipengaruhi oleh banyaknya sampel dan populasi yang akan dianalisis. Populasi dengan alel yang beragam akan menyebabkan nilai *Fst* rendah, sedangkan jika alelnya seragam (alel privat) dan hanya terdapat di populasi tersebut maka nilai *Fst*

tinggi (Hasan & Whitlock, 2024). Alel dengan frekuensi yang tinggi akan memengaruhi *Fst* (Jakobsson *et al.*, 2013). Adapun hasil lengkap dari AMOVA dan *F-statistics* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Varians Molekuler (AMOVA)

| Sumber Variasi     | df         | SS              | MS    | Est. Var.    |
|--------------------|------------|-----------------|-------|--------------|
| Antar Populasi     | 1          | 8,585           | 8,585 | 0,058        |
| Di antara Genotipe | 113        | 893,315         | 7,905 | 3,064        |
| Di dalam Genotipe  | 115        | 204,500         | 1,778 | 1,778        |
| <b>Total</b>       | <b>229</b> | <b>1106,400</b> |       | <b>4,900</b> |

Keterangan: df = Derajat bebas; SS = Jumlah deviasi kuadrat; MS = Mean kuadrat deviasi; Est. Var = Perkiraan komponen varians.

Hasil AMOVA yang tersaji pada Gambar 3 menunjukkan bahwa hanya terdapat 1% variasi antar kedua populasi yang dievaluasi (populasi genotipe tetua dan populasi generasi F<sub>4</sub>). Hal tersebut menunjukkan kalau populasi generasi F<sub>4</sub> dan tetua sangat mirip dan mengindikasikan bahwa piramidisasi gen berhasil, karena sifat dari tetua sudah diturunkan pada progeninya dengan indikasi kalau populasi tersebut memiliki profil SSR yang sama antara masing-masing genotipe (Ahmed *et al.*, 2022). Nilai variasi yang tinggi antara genotipe (63%) dan keragaman di dalam genotipe (36%) disebabkan karena proses persilangan untuk memunculkan sifat-sifat yang berbeda pada setiap genotipe dan tetua memiliki latar belakang genetik yang berbeda.

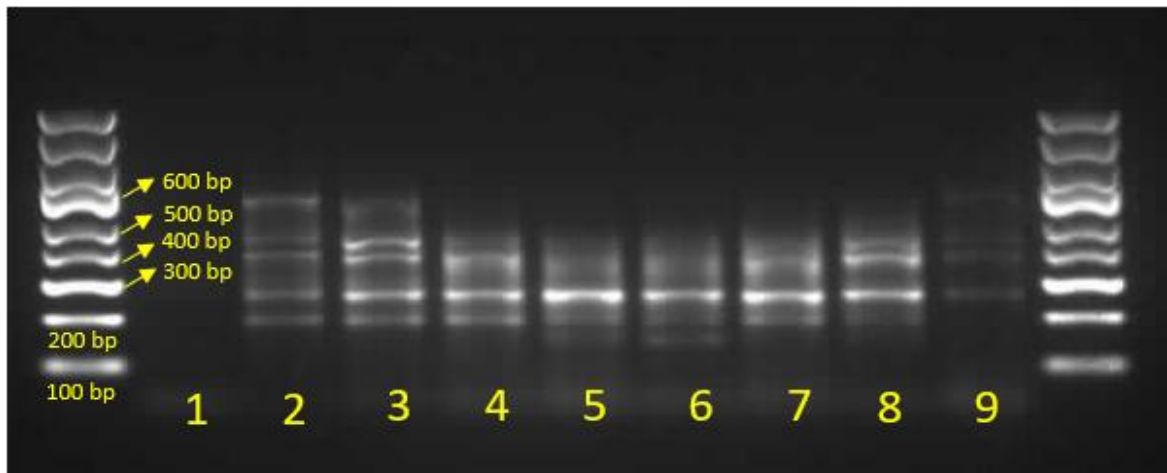
### Polymorphism Information Content (PIC)

Hasil amplifikasi PCR secara keseluruhan menunjukkan pita DNA sehingga mudah dilakukan skoring. Hasil visualisasi pola pita DNA dapat dilihat pada Gambar 4 (SS1a) dan Gambar 5 (RM8213). Pola pita DNA hasil visualisasi dengan menggunakan marka molekuler sebagai standar untuk menentukan atau menghitung letak (base pair) DNA sampel yang diuji.

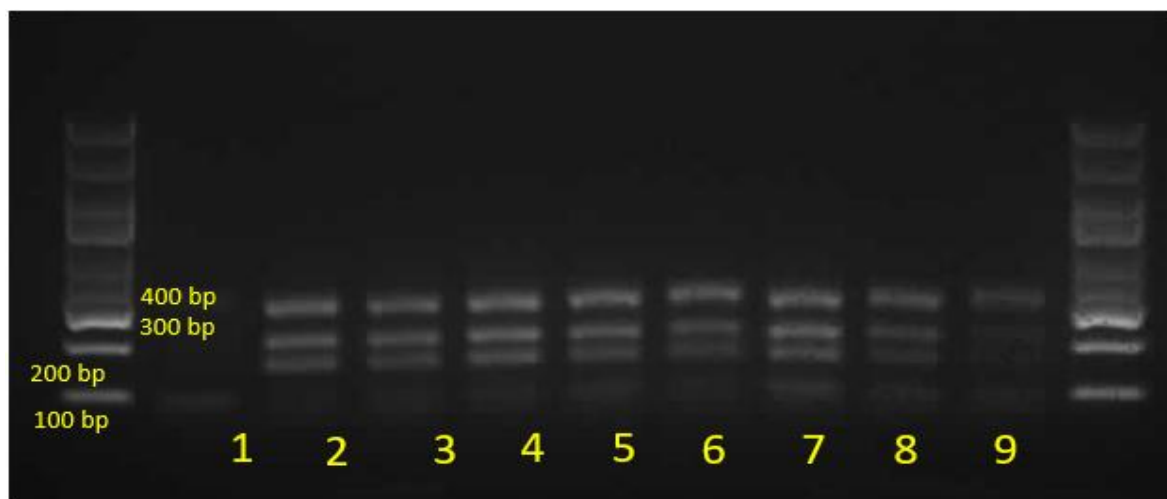
Penggunaan marka molekuler dalam penelitian ini ditentukan dengan menduga nilai PIC, yang menunjukkan kemampuan setiap marka molekuler dalam mengestimasi adanya keragaman antar genotipe berdasarkan jumlah dan frekuensi alel, serta menunjukkan keinformatifan setiap marka. Nilai PIC dari hasil penelitian bervariasi pada setiap marka yang digunakan. Nilai PIC yang diperoleh dari 143 genotipe dalam penelitian ini berkisar antara 0,50

– 0,98. Hal ini menunjukkan bahwa marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini mampu mendeteksi polimorfisme dalam populasi sebesar 50% – 98%. Nilai PIC terendah terdapat pada RM3701 (0,50),

sedangkan nilai PIC tertinggi terdapat pada IFAP/ESP, SSIIa, RM586, RM8213, RM259, RM7601 dan RM282 (0,98) (Tabel 7).



Gambar 4. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka SSIIa. Keterangan: (1) 185-58; (2) 185-72; (3) 185-74; (4) 185-78; (5) 185-83; (6) 185-85; (7) 185-90; (8) 185-93; (9) 185-90



Gambar 5. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka RM 19414. Keterangan: (1) Genotipe 185-58; (2) 185-72; (3) 185-74; (4) 185-78; (5) 185-38; (6) 185-85; (7) 185-90; (8) 185-93; (9) 185-90

Sepuluh marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini menghasilkan 57,5 alel yang terdeteksi pada 115 genotipe padi dengan rata-rata 1,5 alel per lokus. Semua marka SSR menunjukkan polimorfisme dari 115 genotipe yang diuji. Tingginya tingkat polimorfisme marka SSR menunjukkan keefektifannya dalam menilai keragaman genetik pada genotipe padi (Rini *et al.*, 2023). Polimorfisme ini juga menunjukkan bahwa marka SSR dapat membedakan antara berbagai sumber daya genetik (El-Esawi *et al.*, 2022). Untuk memperoleh informasi genetik yang lebih banyak dapat dilakukan evaluasi menggunakan marka molekuler alternatif seperti

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), *Insertion Deletion* (InDel), atau *Start Codon Targeted* (SCoT) (Amiteye, 2021). Hasil ini menunjukkan bahwa 10 marka SSR yang digunakan sudah sangat efektif dan dapat membedakan genotipe-genotipe dengan baik, sehingga dapat digunakan untuk penelitian padi di masa mendatang.

Polimorfisme merupakan gambaran amplifikasi yang diperoleh dari perbedaan fragmen DNA sebagai ada atau tidaknya perbedaan ukuran sekuen sehingga menunjukkan ada tidaknya variasi (Supriyanti dkk., 2015). Rentang nilai polimorfis sebesar 0,50 – 0,98 pada hasil riset ini menunjukkan

bahwa variasi alel pada setiap genotipe yang diuji termasuk sedang menurut Botstein *et al.* (1980). Variasi alel yang sedang ini sebagai akibat dari proses seleksi yang sudah dilakukan untuk populasi yang diuji saat ini. Jika variasi alel dapat diasumsikan sebagai variasi genetik, maka variabilitas genetik pada populasi tergolong tinggi, maka akan lebih mudah dalam memilih genotipe-genotipe yang diinginkan untuk dilakukan rekombinasi genetik (melalui persilangan) guna perbaikan varietas (Duaembang *et al.*, 2011).

Tabel 7. Nilai *Polymorphism Information Content* (PIC)

| Marka SSR | <i>Polymorphism Information Content</i> (PIC) |                                  |
|-----------|-----------------------------------------------|----------------------------------|
|           | Populasi Tetua                                | Populasi Genotipe F <sub>4</sub> |
| IFAP/ESP  | 0,667                                         | 0,980                            |
| SSIIa     | 0,722                                         | 0,989                            |
| RM586     | 0,667                                         | 0,985                            |
| RM8213    | 0,667                                         | 0,982                            |
| RM259     | 0,778                                         | 0,987                            |
| RM7601    | 0,833                                         | 0,986                            |
| RM19414   | 0,667                                         | 0,975                            |
| RM3701    | 0,500                                         | 0,967                            |
| RM3600    | 0,667                                         | 0,971                            |
| RM282     | 0,667                                         | 0,985                            |

Variasi genetik yang tinggi juga lebih memudahkan dalam melakukan proses seleksi. Selain itu, nilai PIC juga menunjukkan tingkat keseragaman populasi yang diuji (Asri, 2016), semakin rendah nilai PIC, maka diduga semakin seragam populasi tersebut. Nilai PIC juga menunjukkan keinformatifan suatu marka molekuler yang digunakan, semakin tinggi nilai PIC, maka semakin informatif sebuah marka. Penelitian ini menggunakan marka-marka SSR yang bersifat kodominan, mampu membedakan antara genotipe yang homozigot dengan yang heterozigot, sehingga informasi nilai PIC sangat berarti bagi riset tahap selanjutnya, serta diharapkan mampu mendukung program pemuliaan padi yang memiliki aroma (gene *fgr*), umur genjah (*Hd2* dan *Hd3*), tahan wereng coklat (*Bph3*, *bph4*, *qbph4* dan *qBPH17(t)*), kandungan amilosa sedang (*ssIIa*), berdaya hasil tinggi (panjang malai *LP1*, *SP1* dan jumlah anakan produktif *qPNI*) sesuai yang tercantum pada Tabel 1.

Hasil dari analisis tersebut menunjukkan heterozigositas atau keragaman dari alel terlihat pada semua genotipe hasil piramidisasi. Hal ini menunjukkan 10 marka SSR yang digunakan walaupun menghasilkan satu pita DNA tetapi berdasarkan perbedaan dari berat molekuler pada setiap alel (Tabel 8), marka tersebut polimorfik pada populasi genotipe uji dan monomorfik pada populasi tetua.

Tabel 8. Ukuran molekul DNA pada 115 genotipe padi yang diuji.

| Genotipe | Ukuran Molekul DNA (bp) |       |       |        |       |        |         |        |        |       |
|----------|-------------------------|-------|-------|--------|-------|--------|---------|--------|--------|-------|
|          | IFAP/ESP                | SSIIa | RM586 | RM8213 | RM259 | RM7601 | RM19414 | RM3701 | RM3600 | RM282 |
| 185-8    | 189                     | 345   | 138   | 1.258  | 85    | 96     | 144     | 269    | 100    | 171   |
| 185-12   | 167                     | 310   | 147   | 0      | 0     | 0      | 0       | 162    | 0      | 0     |
| 185-19   | 0                       | 0     | 0     | 126    | 146   | 66     | 96      | 0      | 0      | 0     |
| 185-22   | 0                       | 0     | 0     | 76     | 0     | 0      | 0       | 138    | 97     | 84    |
| 185-27   | 163                     | 89    | 100   | 145    | 146   | 66     | 92      | 0      | 0      | 0     |
| 185-28   | 205                     | 241   | 142   | 1.258  | 85    | 100    | 161     | 280    | 100    | 176   |
| 185-29   | 0                       | 0     | 198   | 150    | 133   | 66     | 84      | 0      | 0      | 0     |
| 185-30   | 197                     | 199   | 142   | 1.223  | 92    | 104    | 134     | 133    | 96     | 187   |
| 185-34   | 147                     | 1.537 | 166   | 244    | 172   | 100    | 358     | 0      | 0      | 167   |
| 185-37   | 147                     | 1.410 | 166   | 126    | 161   | 100    | 374     | 0      | 0      | 167   |
| 185-39   | 231                     | 365   | 146   | 1.223  | 85    | 104    | 126     | 292    | 96     | 197   |
| 185-40   | 157                     | 1.294 | 161   | 115    | 151   | 96     | 2.542   | 0      | 0      | 166   |
| 185-45   | 231                     | 87    | 150   | 1.258  | 100   | 100    | 114     | 145    | 96     | 228   |
| 185-46   | 231                     | 87    | 154   | 1.258  | 100   | 112    | 114     | 145    | 92     | 134   |
| 185-47   | 213                     | 85    | 150   | 82     | 108   | 104    | 109     | 317    | 96     | 241   |
| 185-48   | 157                     | 1.058 | 161   | 119    | 151   | 88     | 92      | 0      | 0      | 166   |
| 185-49   | 222                     | 82    | 202   | 82     | 92    | 96     | 99      | 157    | 92     | 141   |
| 185-50   | 213                     | 82    | 95    | 80     | 92    | 117    | 112     | 317    | 92     | 270   |
| 185-53   | 157                     | 1.370 | 161   | 251    | 137   | 85     | 314     | 0      | 0      | 150   |
| 185-55   | 152                     | 816   | 156   | 251    | 151   | 85     | 328     | 142    | 100    | 145   |
| 185-58   | 264                     | 0     | 207   | 74     | 204   | 125    | 409     | 275    | 100    | 148   |
| 185-60   | 190                     | 86    | 157   | 144    | 103   | 109    | 107     | 172    | 124    | 83    |
| 185-64   | 110                     | 239   | 95    | 78     | 112   | 84     | 82      | 113    | 120    | 121   |
| 185-67   | 108                     | 222   | 100   | 80     | 100   | 100    | 88      | 113    | 122    | 121   |
| 185-69   | 113                     | 73    | 102   | 78     | 100   | 84     | 78      | 113    | 126    | 118   |

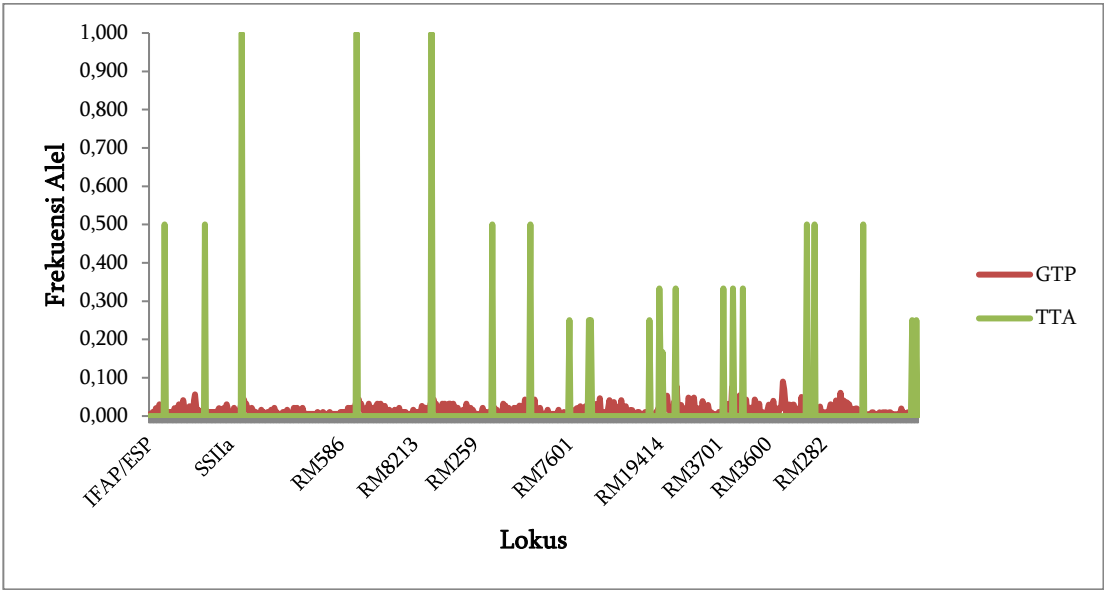
| Genotipe | Ukuran Molekul DNA (bp) |       |       |        |       |        |         |        |        |       |
|----------|-------------------------|-------|-------|--------|-------|--------|---------|--------|--------|-------|
|          | IFAP/ESP                | SSIIa | RM586 | RM8213 | RM259 | RM7601 | RM19414 | RM3701 | RM3600 | RM282 |
| 185-70   | 135                     | 0     | 110   | 78     | 96    | 94     | 78      | 110    | 126    | 114   |
| 185-72   | 256                     | 1.494 | 201   | 133    | 126   | 135    | 362     | 268    | 97     | 148   |
| 185-74   | 272                     | 1.311 | 191   | 145    | 126   | 135    | 381     | 261    | 97     | 143   |
| 185-75   | 122                     | 174   | 110   | 76     | 100   | 84     | 82      | 119    | 130    | 114   |
| 185-78   | 272                     | 566   | 196   | 141    | 132   | 142    | 390     | 275    | 97     | 148   |
| 185-83   | 281                     | 523   | 190   | 133    | 142   | 145    | 430     | 253    | 97     | 148   |
| 185-85   | 272                     | 523   | 190   | 163    | 137   | 153    | 462     | 268    | 94     | 154   |
| 185-86   | 150                     | 296   | 155   | 0      | 0     | 121    | 0       | 296    | 0      | 0     |
| 185-89   | 128                     | 84    | 110   | 74     | 96    | 84     | 88      | 113    | 134    | 106   |
| 185-90   | 172                     | 537   | 168   | 145    | 142   | 149    | 419     | 319    | 92     | 148   |
| 185-91   | 128                     | 89    | 110   | 74     | 94    | 80     | 92      | 113    | 138    | 96    |
| 185-93   | 264                     | 716   | 185   | 145    | 142   | 145    | 419     | 247    | 92     | 148   |
| 185-95   | 128                     | 87    | 110   | 76     | 94    | 94     | 92      | 119    | 140    | 74    |
| 185-96   | 256                     | 1.575 | 259   | 158    | 142   | 138    | 430     | 240    | 92     | 78    |
| 185-98   | 172                     | 303   | 164   | 0      | 0     | 0      | 0       | 311    | 0      | 0     |
| 185-100  | 167                     | 298   | 691   | 180    | 114   | 104    | 104     | 109    | 104    | 147   |
| 185-XC   | 141                     | 225   | 161   | 161    | 103   | 116    | 314     | 268    | 93     | 156   |
| 185-KC   | 141                     | 393   | 151   | 171    | 103   | 120    | 83      | 312    | 96     | 161   |
| 185-CN   | 0                       | 0     | 0     | 108    | 0     | 227    | 368     | 156    | 93     | 162   |
| 185-OK   | 141                     | 225   | 156   | 171    | 103   | 125    | 326     | 301    | 104    | 172   |
| 185-IJ   | 141                     | 362   | 161   | 182    | 103   | 130    | 338     | 325    | 0      | 172   |
| 185-RT   | 131                     | 333   | 166   | 176    | 103   | 135    | 364     | 350    | 115    | 172   |
| 131-4    | 0                       | 0     | 176   | 155    | 0     | 170    | 117     | 156    | 90     | 150   |
| 131-6    | 0                       | 0     | 0     | 97     | 217   | 0      | 0       | 142    | 100    | 106   |
| 131-14   | 0                       | 0     | 0     | 94     | 100   | 0      | 0       | 142    | 94     | 112   |
| 131-18   | 127                     | 342   | 151   | 176    | 107   | 135    | 378     | 350    | 120    | 178   |
| 131-23   | 202                     | 86    | 157   | 144    | 110   | 250    | 115     | 144    | 120    | 176   |
| 131-28   | 167                     | 303   | 159   | 0      | 0     | 0      | 0       | 319    | 0      | 0     |
| 131-29   | 127                     | 372   | 161   | 182    | 97    | 135    | 378     | 364    | 115    | 184   |
| 131-46   | 184                     | 86    | 142   | 144    | 103   | 250    | 115     | 154    | 124    | 77    |
| 131-47   | 111                     | 404   | 143   | 194    | 100   | 112    | 93      | 191    | 120    | 0     |
| 131-54   | 115                     | 520   | 156   | 188    | 156   | 188    | 156     | 231    | 171    | 0     |
| 131-61   | 226                     | 168   | 149   | 154    | 122   | 113    | 77      | 137    | 104    | 182   |
| 131-64   | 167                     | 283   | 173   | 0      | 0     | 0      | 0       | 336    | 0      | 0     |
| 131-77   | 233                     | 204   | 149   | 154    | 122   | 113    | 318     | 147    | 111    | 189   |
| 131-85   | 173                     | 84    | 152   | 144    | 107   | 258    | 107     | 343    | 124    | 169   |
| 131-86   | 188                     | 256   | 145   | 168    | 114   | 104    | 100     | 114    | 104    | 171   |
| 131-93   | 241                     | 178   | 153   | 154    | 0     | 122    | 318     | 158    | 124    | 202   |
| 131-KP   | 233                     | 215   | 153   | 154    | 133   | 250    | 363     | 176    | 138    | 202   |
| 185-68   | 150                     | 296   | 155   | 0      | 0     | 0      | 0       | 296    | 0      | 0     |
| 234-4    | 0                       | 0     | 158   | 189    | 0     | 100    | 368     | 172    | 111    | 168   |
| 234-6    | 257                     | 103   | 184   | 150    | 138   | 241    | 80      | 182    | 148    | 202   |
| 234-9    | 161                     | 296   | 198   | 0      | 0     | 0      | 0       | 336    | 0      | 0     |
| 234-10   | 0                       | 0     | 176   | 182    | 0     | 110    | 368     | 184    | 115    | 187   |
| 234-12   | 275                     | 100   | 175   | 183    | 144   | 138    | 88      | 195    | 148    | 217   |
| 234-15   | 194                     | 235   | 151   | 168    | 114   | 104    | 96      | 111    | 111    | 156   |
| 234-24   | 161                     | 283   | 168   | 0      | 0     | 0      | 0       | 319    | 0      | 0     |
| 234-28   | 0                       | 0     | 153   | 197    | 0     | 91     | 368     | 197    | 104    | 187   |
| 234-29   | 0                       | 0     | 142   | 189    | 0     | 95     | 350     | 197    | 100    | 168   |
| 234-30   | 228                     | 84    | 157   | 148    | 107   | 115    | 102     | 160    | 129    | 183   |
| 234-31   | 0                       | 0     | 142   | 213    | 0     | 91     | 100     | 178    | 100    | 156   |
| 234-32   | 0                       | 0     | 137   | 213    | 0     | 95     | 100     | 167    | 104    | 145   |
| 234-38   | 170                     | 88    | 143   | 140    | 135   | 105    | 85      | 143    | 90     | 159   |
| 234-36   | 167                     | 230   | 151   | 172    | 112   | 104    | 92      | 111    | 119    | 150   |
| 234-43   | 235                     | 86    | 142   | 100    | 103   | 112    | 105     | 343    | 124    | 117   |
| 234-45   | 97                      | 88    | 153   | 144    | 118   | 110    | 85      | 157    | 87     | 159   |
| 234-46   | 275                     | 63    | 145   | 154    | 144   | 250    | 84      | 189    | 143    | 195   |
| 234-47   | 239                     | 97    | 145   | 158    | 144   | 149    | 332     | 189    | 143    | 195   |
| 234-50   | 0                       | 183   | 149   | 163    | 138   | 143    | 80      | 189    | 143    | 202   |
| 234-52   | 188                     | 91    | 158   | 148    | 126   | 105    | 288     | 152    | 87     | 159   |
| 234-60   | 157                     | 93    | 0     | 319    | 85    | 154    | 1.212   | 283    | 90     | 147   |
| 234-63   | 170                     | 88    | 163   | 153    | 135   | 116    | 85      | 168    | 93     | 173   |
| 234-67   | 176                     | 151   | 158   | 157    | 139   | 105    | 210     | 173    | 97     | 179   |

| Genotipe | Ukuran Molekul DNA (bp) |       |       |        |       |        |         |        |        |       |
|----------|-------------------------|-------|-------|--------|-------|--------|---------|--------|--------|-------|
|          | IFAP/ESP                | SSIIa | RM586 | RM8213 | RM259 | RM7601 | RM19414 | RM3701 | RM3600 | RM282 |
| 234-73   | 170                     | 85    | 163   | 157    | 130   | 116    | 77      | 173    | 103    | 173   |
| 234-75   | 154                     | 0     | 158   | 157    | 126   | 100    | 73      | 179    | 103    | 164   |
| 234-77   | 159                     | 0     | 174   | 161    | 122   | 100    | 153     | 168    | 97     | 189   |
| 234-78   | 139                     | 0     | 163   | 148    | 114   | 105    | 66      | 152    | 84     | 173   |
| 234-79   | 150                     | 341   | 136   | 475    | 150   | 74     | 104     | 134    | 93     | 176   |
| 234-85   | 167                     | 438   | 157   | 168    | 112   | 96     | 96      | 111    | 124    | 147   |
| 234-86   | 155                     | 190   | 120   | 355    | 96    | 100    | 84      | 153    | 89     | 176   |
| 234-90   | 177                     | 297   | 151   | 168    | 114   | 93     | 96      | 111    | 128    | 147   |
| 234-92   | 161                     | 296   | 159   | 0      | 0     | 0      | 0       | 304    | 0      | 0     |
| 234-93   | 0                       | 0     | 0     | 100    | 62    | 0      | 0       | 137    | 94     | 117   |
| 234-97   | 164                     | 202   | 136   | 458    | 104   | 63     | 94      | 327    | 96     | 169   |
| 234-X5   | 167                     | 93    | 151   | 72     | 95    | 154    | 913     | 360    | 93     | 143   |
| 234-PC   | 167                     | 87    | 151   | 344    | 95    | 168    | 1.212   | 336    | 93     | 147   |
| 234-XY   | 178                     | 90    | 156   | 319    | 106   | 176    | 1.212   | 373    | 100    | 143   |
| 250-1    | 172                     | 71    | 151   | 70     | 106   | 176    | 1.022   | 180    | 104    | 134   |
| 250-3    | 169                     | 66    | 136   | 100    | 108   | 63     | 60      | 158    | 108    | 183   |
| 250-8    | 169                     | 60    | 128   | 100    | 112   | 86     | 78      | 164    | 116    | 197   |
| 250-9    | 169                     | 60    | 154   | 96     | 116   | 117    | 67      | 168    | 112    | 176   |
| 250-25   | 164                     | 134   | 136   | 475    | 112   | 185    | 104     | 153    | 104    | 176   |
| 250-15   | 183                     | 268   | 145   | 166    | 116   | 86     | 88      | 105    | 128    | 145   |
| 250-40   | 164                     | 134   | 145   | 96     | 1.811 | 251    | 84      | 148    | 100    | 169   |
| 250-42   | 184                     | 84    | 156   | 311    | 117   | 184    | 1.282   | 180    | 112    | 127   |
| 250-45   | 0                       | 0     | 151   | 51     | 85    | 148    | 148     | 146    | 112    | 60    |
| 250-56   | 0                       | 0     | 0     | 97     | 103   | 0      | 0       | 133    | 89     | 110   |

Keragaman Alel dan Genetik

Hasil pengamatan menunjukkan sebanyak rata-rata 3 alel terdeteksi untuk 10 set primer SSR dalam populasi tetua (TTA), sedangkan terdapat rata-rata 37 alel pada seluruh primer pada populasi genotipe yang diuji (GTP) (Gambar 6). Locus atau marka SSIIa dan RM282 menunjukkan frekuensi alel yang paling tinggi di antara yang marka lainnya,

menunjukkan signifikansi pada populasi GTP dan TTA. Tingginya frekuensi dapat disebabkan karena tingkat sebaran alel yang luas pada dua populasi tersebut dan tingginya nilai frekuensi alel disebabkan beberapa alel yang panjangnya mencapai 2.542 bp pada marka RM19414 di genotipe 185-40 dan beberapa marka lainnya seperti RM3701 dan RM282 (Tabel 8).

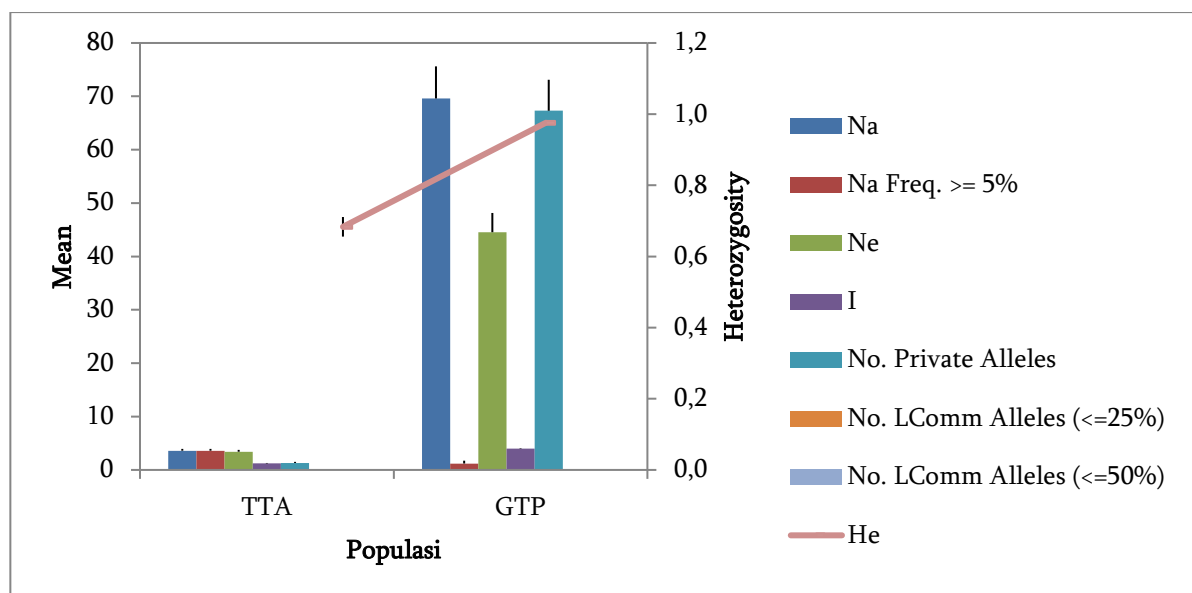


Gambar 6. Grafik Frekuensi Alel pada 10 marka SSR pada dua populasi utama (GTP: Genotipe yang Diuji dan TTA: Genotipe Tetua).

Analisis pola alel antar-populasi menunjukkan bahwa beberapa parameter genetik meningkat dari populasi tetua (TTA) ke populasi hasil piramidisasi (GTP). Rata-rata jumlah alel per locus ( $N_a$ ), yang

merefleksikan banyaknya variasi gen yang terdeteksi, naik bersama jumlah alel privat (No. Pr. Al.) atau alel yang hanya ada di satu populasi dan menggambarkan identitas genetik khas. Peningkatan juga tercatat pada jumlah alel efektif ( $N_e$ ), yang memperlihatkan berapa banyak alel yang memberikan kontribusi seimbang dalam keragaman, indeks informasi genetik ( $I$ ), serta pada ukuran kerumitan dan kedalaman variasi berdasarkan frekuensi alel. Sebaliknya, jumlah alel yang frekuensinya lebih besar dari 5% ( $N_a \text{ Freq.} \geq 5$ ), atau alel umum yang tersebar luas, turun sekitar 1,2% di generasi GTP. Penurunan ini menandakan, meski

keragaman total bertambah, distribusi frekuensi menjadi lebih rata, mencerminkan munculnya alel-alel minor akibat rekombinasi selama proses piramidisasi. Gambar 7 menunjukkan bahwa heterozigositas yang meningkat pada populasi GTP dengan implikasi tingginya variabilitas genetik pada populasi tersebut dibandingkan populasi TTA. Populasi GTP juga memiliki keragaman genetik dan jumlah alel unik yang lebih tinggi sehingga relevan untuk kajian diversitas genetik terutama pada tingkat alel.



Gambar 7. Pola alelik pada populasi TTA (Tetua) dan GTP (Genotipe yang Diuji).

Keterangan:  $N_a$ = jumlah alel yang berbeda;  $N_a \text{ Freq.}$ = frekuensi dari jumlah alel yang berbeda;  $N_e$ = jumlah alel yang efektif;  $I$ = *Shannon's Information Index*; No. Private Alleles= jumlah dari alel yang berbeda dari yang lain di suatu lokus; No. LComm Alleles= jumlah dari alel yang sama di suatu lokus.

Parameter variasi genetik untuk 10 SSR dihitung untuk menilai seberapa informatif marka yang digunakan pada 115 genotipe padi (Tabel 9) dan mengungkapkan akan adanya jumlah alel yang berbeda ( $N_a$ ) dengan variasi dari 23 hingga 53, jumlah alel efektif ( $N_e$ ) dari 14,05 hingga 32,70, indeks informasi ( $I$ ) antara 2,17 dan 2,89, rata-rata PIC pada kedua populasi berkisar dari 0,73 hingga 0,91, keragaman ( $H_o$ ) dari 0,04 hingga 0,99, dan keragaman tak bias ( $uHe$ ) dari 0,78 hingga 0,99. Secara umum, semua marka memiliki sifat polimorfik dan memiliki kapasitas diskriminasi yang tinggi. Marka yang paling informatif adalah RM7601 dengan 44 alel dan rata-rata nilai tertinggi untuk semua indeks yang telah diobservasi, sementara yang kurang informatif adalah RM3701 dengan nilai terendah.

Parameter variasi genetik pada taraf populasi menghasilkan jumlah alel yang berbeda pada populasi

tetua (TTA) dan populasi hasil piramidisasi (GTP) (Tabel 10). Rata-rata banyaknya alel per lokus ( $N_a$ ) melonjak nyata, dari 3,6 pada tetua (TTA) menjadi 69,6 pada populasi hasil piramidisasi (GTP). Lonjakan ini menandakan bahwa langkah piramidisasi berhasil menggabungkan alel dari beberapa nenek moyang, sehingga membuka ruang variasi lebih luas. Jumlah alel efektif ( $N_e$ ) juga menunjukkan tren naik dari 3,41 menjadi 44,54 yang artinya selain jumlah alel bertambah, frekuensi tiap alel jadi lebih merata dan memberi distribusi yang besar pada keragaman secara keseluruhan. Indeks informasi Shannon ( $I$ ) yang mengukur jumlah dan keseragaman alel, meningkat dari 1,21 tetua (TTA) menjadi 3,97 pada populasi hasil piramidisasi (GTP). Nilai tersebut menunjukkan bahwa alel-alel pada generasi piramidisasi jauh lebih rumit dan beragam.

Tabel 9. Hasil analisis kearagaman genetik berdasarkan 10 Marka SSR yang digunakan.

| Marka SSR   | Na           | Ne           | I           | PIC         | Ho          | uHe         |
|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| IFAP/ESP    | 39           | 25,89        | 2,59        | 0,82        | 0,24        | 0,89        |
| SSIIa       | 53           | 32,70        | 2,86        | 0,85        | 0,48        | 0,93        |
| RM586       | 35           | 25,43        | 2,56        | 0,82        | 0,09        | 0,89        |
| RM8213      | 29           | 23,18        | 2,49        | 0,82        | 0,01        | 0,89        |
| RM259       | 46           | 29,25        | 2,89        | 0,88        | 0,83        | 0,96        |
| RM7601      | 44           | 28,42        | 2,97        | 0,91        | 0,99        | 0,99        |
| RM19414     | 28           | 18,08        | 2,41        | 0,82        | 0,04        | 0,89        |
| RM3701      | 23           | 14,05        | 2,17        | 0,73        | 0,21        | 0,78        |
| RM3600      | 27           | 16,37        | 2,37        | 0,82        | 0,04        | 0,89        |
| RM282       | 45           | 26,38        | 2,64        | 0,82        | 0,21        | 0,89        |
| <b>Mean</b> | <b>36,60</b> | <b>23,98</b> | <b>2,60</b> | <b>0,83</b> | <b>0,31</b> | <b>0,90</b> |
| <b>SE</b>   | <b>8,12</b>  | <b>5,04</b>  | <b>0,32</b> | <b>0,04</b> | <b>0,08</b> | <b>0,02</b> |

Keterangan: Na= jumlah alel yang berbeda; Ne= jumlah alel yang efektif; I= *Shannon's Information Index*; PIC= *Polymorphism Information Content*; Ho= *Observed Heterozygosity*; uHe= *Unbiased Expected Heterozygosity*; SE = *Standard Error*.

Tabel 10. Hasil analisis keragaman genetik pada dua populasi yang dievaluasi.

| Populasi                          | Na          | Ne           | I           | Ho          | uHe          |
|-----------------------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Tetua (TTA)                       | 3,6 ± 0,34  | 3,41 ± 0,34  | 1,21 ± 0,08 | 0,23 ± 0,11 | 0,82 ± 0,03  |
| Genotipe Hasil Piramidisasi (GTP) | 69,6 ± 6,01 | 44,54 ± 3,61 | 3,97 ± 0,09 | 0,39 ± 0,11 | 0,98 ± 0,002 |
| Mean                              | 36,6 ± 8,11 | 23,97 ± 5,03 | 2,59 ± 0,32 | 0,31 ± 0,08 | 0,90 ± 0,02  |

Keterangan: Na= jumlah alel yang berbeda; Ne= jumlah alel yang efektif; I= *Shannon's Information Index*; Ho= *Observed Heterozygosity*; uHe= *Unbiased Expected Heterozygosity*.

### Analisis Kekerbatan

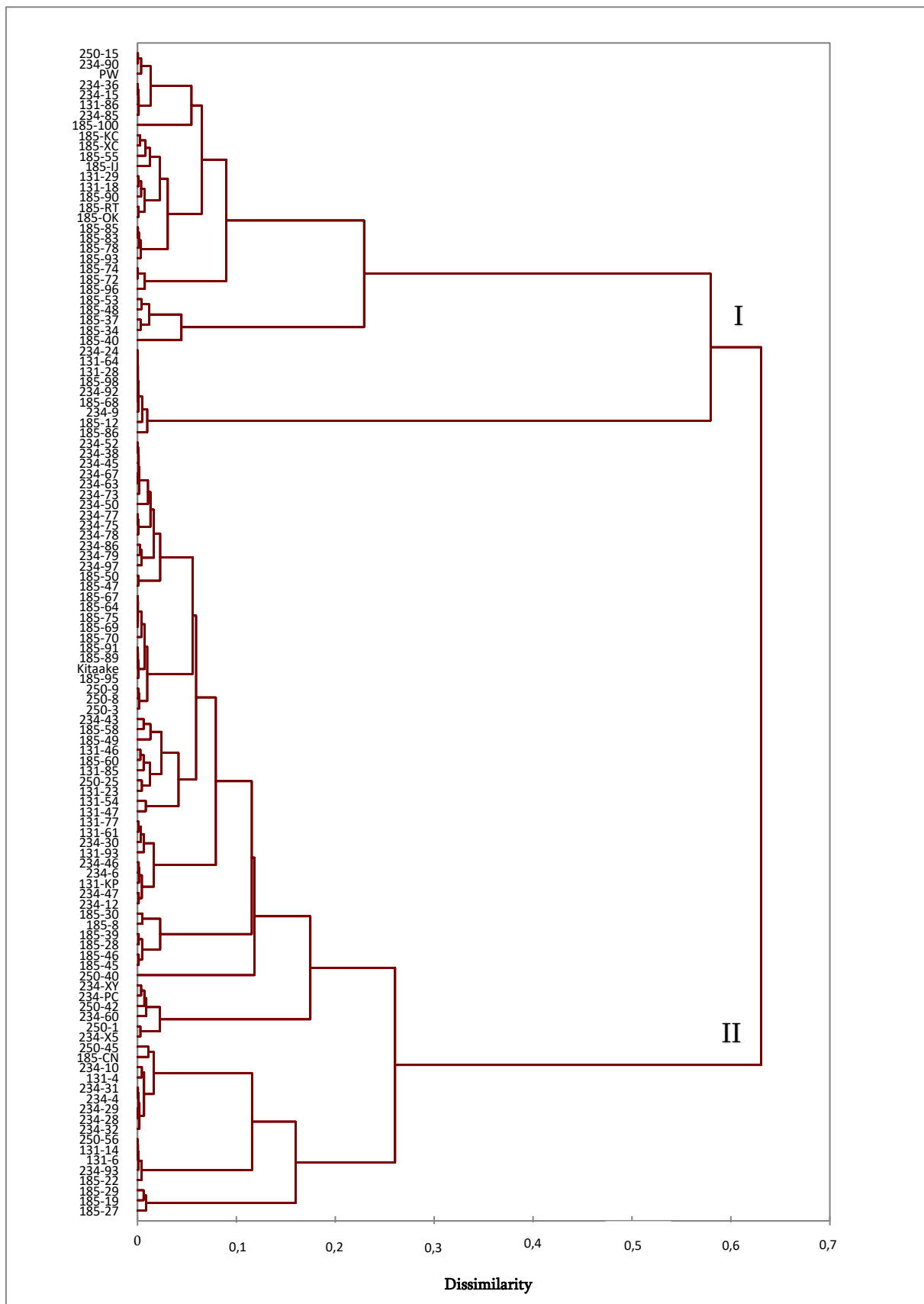
Genotipe hasil piramidisasi dari berbagai tetua yaitu PTB-33, Pandanwangi, Ciapus, dan KA pada penelitian ini memunculkan keragaman genetik yang lebih besar. Hal ini karena penggabungan karakter target yang berasal dari hasil persilangan beberapa tetua selama beberapa generasi akan menghasilkan populasi heterozigot yang sangat tinggi (Carsono *et al.*, 2021). Nilai jarak genetik berkisar 0 – 1, nilai 0 berarti memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat, sedangkan nilai 1 berarti memiliki hubungan kekerabatan yang sangat jauh (Wojcik, 2023).

Hasil analisis klaster dengan metoda UPGMA untuk pengelompokan 115 genotipe agar dapat memetakan hubungan genetik disajikan dalam bentuk dendrogram tersaji pada Gambar 8. Berdasarkan Gambar 8 terlihat bahwa tingkat ketidakmiripan antar tetua dan hasil piramidisasi berdasarkan marka molekuler yang diamati berkisar antara 0,00-0,64 dan terbentuk dua klaster utama pada tingkat ketidakmiripan 64%. Genotipe-genotipe berada pada masing-masing klaster utama dapat dilihat pada Tabel 11.

Perbedaan klaster yang terbentuk ditentukan oleh jarak genetik antar genotipe pada populasi tersebut, yang artinya genotipe yang terbentuk di dalam satu klaster memiliki jarak genetik yang sempit

(mirip). Somantri *et al.* (2002) menyatakan bahwa genotipe yang diklasifikasikan dalam satu kelompok memiliki kemiripan satu dengan lainnya, sedangkan genotipe yang berada pada kelompok yang berbeda memiliki jarak genetik yang lebih jauh dibandingkan genotipe dalam satu kelompok yang sama. Semakin banyak persamaan karakter yang dimiliki maka semakin besar nilai similaritasnya, yang menandakan hubungan kekerabatan yang semakin dekat. Sebaliknya, semakin banyak perbedaan karakter yang dimiliki maka semakin kecil nilai similaritasnya, yang menandakan semakin jauh hubungan kekerabatan antar genotipe yang dibandingkan.

Informasi keragaman genetik padi pada marka-marka yang terpaut dengan beragam karakter agronomis penting, seperti yang ditunjukkan dalam penelitian ini, akan sangat bermanfaat untuk program pemuliaan padi (Liu *et al.*, 2020). Selain itu, penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Park *et al.*, 2019; Sarif *et al.*, 2020; Al-Daej *et al.*, 2023; Kartahadimaja *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2011; Nachimuthu *et al.*, 2015; Gan *et al.*, 2022) juga mengelompokkan genotipe berdasarkan kemiripan karakteristik morfo-agronomi yang terkait dengan penanda SSR. Hasil riset ini menunjukkan bahwa marka molekuler SSR dapat diandalkan untuk menganalisis keragaman genetik secara molekuler.



Gambar 8. Dendrogram berdasarkan marka molekuler terkait karakter bobot bulir, jumlah malai, panjang malai, umur genjah, kandungan amilosa sedang, aromatik dan tahan wereng coklat berdasarkan ketidakmiripan genetik menggunakan software XLSTAT.

Tabel 11. Pengelompokkan genotipe hasil analisis *clustering*

| Klaster I   |        |        |        |         | Klaster II |        |        |        |
|-------------|--------|--------|--------|---------|------------|--------|--------|--------|
| 250-15      | 131-18 | 185-37 | 234-52 | 185-47  | 234-43     | 234-46 | 234-PC | 234-32 |
| 234-90      | 185-90 | 185-34 | 234-38 | 185-67  | 185-58     | 234-6  | 250-42 | 250-56 |
| Pandanwangi | 185-RT | 185-40 | 234-45 | 185-64  | 185-49     | 131-KP | 234-60 | 131-14 |
| 234-36      | 185-OK | 234-24 | 234-67 | 185-75  | 131-46     | 234-47 | 250-1  | 131-6  |
| 234-15      | 185-85 | 131-28 | 234-73 | 185-69  | 185-60     | 234-12 | 234-X5 | 234-93 |
| 234-85      | 185-83 | 185-98 | 234-50 | 185-70  | 131-85     | 185-30 | 250-45 | 185-22 |
| 131-86      | 185-78 | 234-92 | 234-77 | 185-91  | 250-25     | 185-8  | 185-CN | 185-29 |
| 185-100     | 185-93 | 185-68 | 234-75 | 185-89  | 131-23     | 185-39 | 234-10 | 185-19 |
| 185-KC      | 185-74 | 234-9  | 234-78 | Kitaake | 131-24     | 185-28 | 131-4  | 185-27 |
| 185-XC      | 185-72 | 185-12 | 234-86 | 185-95  | 131-47     | 185-46 | 234-31 |        |
| 185-55      | 185-96 | 185-86 | 234-79 | 250-9   | 131-77     | 185-45 | 234-4  |        |
| 185-IJ      | 185-53 |        | 234-97 | 250-8   | 234-30     | 250-40 | 234-29 |        |
| 131-29      | 185-48 |        | 185-50 | 250-3   | 131-93     | 234-XY | 234-28 |        |

SIMPULAN

Sebanyak 60 genotipe teridentifikasi memiliki marka molekuler yang diduga berasosiasi dengan beberapa karakter agronomi (daya hasil tinggi, tahan wereng coklat, umur genjah, aromatik, dan kandungan amilosa sedang).

Keragaman genetik padi hasil piramidisasi menunjukkan variasi genetik sebesar 36% di dalam genotipe, 63% antar genotipe dan 1% antar populasi. Hasil analisis hubungan kekerabatan padi hasil piramidisasi secara molekuler dengan menggunakan 10 SSR pada tingkat ketidakmiripan 64% (kemiripan 36%) mengelompokkan 115 genotipe hasil piramidisasi kedalam dua klaster utama.

Genotipe-genotipe hasil piramidisasi masih memperlihatkan adanya keragaman genetik yang masih luas walaupun telah dilakukan seleksi pada generasi sebelumnya,. Genotipe-genotipe yang terkonfirmasi memiliki 10 marka molekuler yang diuji akan dievaluasi lebih lanjut karena memiliki beragam karakter agronomi yang unggul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran yang telah menyediakan fasilitas dalam kegiatan penelitian di laboratorium dan di lapangan, serta Ibu Sulastri dan Kang Iman Lukmanul Hakim, S.P., M.Si. yang membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, N, H Xianyang. 2022. Genetic variation and population structure analysis of *Leymus*

*chinensis* (Trin.) Tzvelev from Eurasian steppes using SSR makers. Genet Resour Crop Evol 69, 2425–2436. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01381-y>.  
Al-Daej, MI, AA Rezk, MM El-Malky, TA Shalaby, and M Ismail. 2023. Comparative genetic diversity assessment and maker-trait association using two DNA marker systems in rice (*Oryza sativa* L.). Agronomy. 13: 329. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103944>.  
Appleby, N, D Edwards, and J Batley. 2009. New technologies for ultra-high throughput genotyping in plants. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 513, 19–39. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-427-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-427-8_2).  
Amiteye, S. 2021. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. Heliyon. 30: 7-10. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103944>.  
Asri, AP. 2016. Skrining ketahanan genotipe padi harapan tahan wereng coklat berdasarkan *Standard Seedbox Screening Test* (SSST) dan marka molekuler *Simple Sequence Repeats* (SSR). Thesis. Program Pascasarjana. Fakultas Pertanian. Universitas Padjadjaran. Bandung. Tidak dipublikasikan.  
Athaichindachote, WP, NP Anyawut, KS Ikaewtung, SP Atarapuwadol, and AM Uangprom. 2019. Genetic diversity and allelic frequency of selected Thai and exotic rice germplasm using SSR markers. Rice Science. 26: 393–403. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.11.002>.  
Bhandari H, AN Bhanu, K Srivastava, MN Singh, Shreya, and A Hemantaranjan. 2017. Assessment of genetic diversity in crop plants

- an overview. *Advances in Plants and Agriculture Research*, 7. <https://doi.org/10.15406/APAR.2017.07.00255>.
- Bennett, SJ. 1997. A phenetic analysis and literal key of the genus *Lolium* (Graminae). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 44: 63-72. <https://doi.org/10.1023/A:1008626504202>.
- Botstein, D, RL White, M Skolnick, and RW Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32(3): 314-331. PMID: [PMCID: PMC1686077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1686077/).
- Bradbury, LMT, TL Fitzgerald, RJ Henry, Q Jin, and DLE Waters. 2005. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal*. 3: 363 - 370. DOI: [10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x).
- Carsono, N, Y Saragih, S Sari, and M Rachmadi. 2021. Molecular and phenotypic evaluation for heading date and panicle length on F<sub>2</sub> selected aromatic rice progenies derived from gene pyramiding effort. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*. 759(1): 012070. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/759/1/012070>.
- Doğan, İ, and Doğan N. 2016. Genetic distance measures: Review. *Turkiye Klinikleri Journal of Biostatistics*, 8, 87-93. <https://doi.org/10.5336/BIOSTATIC.2015-49517>.
- Doyle, K. 1996. *The Source of Discovery : Protocols and Applications Guide*. Madison, Wis, USA. PROMEGA.
- Dualembang, E, Y Musa, dan M Azrai. 2011. Karakterisasi genetika koleksi plasma nutfah sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) berbasis marka SSR (*Simple sequence Repeats*). *Jurnal Balai Penelitian Serealila*. 25: 1-15. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6791677>.
- Dupanloup, I, S Schneider, and L Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of popilations. *Molecular Ecology*. 11(12): 2571-2581. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01650.x>.
- Eimer, S, H Sabouri, L Ahangar, and A Gholizadeh. 2019. Allelic diversity and association analysis for grain quality traits in exotic rice genotypes. *Journal of Plant Molecular Breeding*. 6: 19-26. <https://doi.org/10.22058/JPMB.2019.100495.1175>.
- El-Esawi, MA, MM Elasztokhy, SA Shamseldin, EM El-Ballat, EM Zaye, and YM Heikal. 2022. Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using phenological, molecular and DNA barcoding markers. *Genes*. 14: 34. <https://doi.org/10.3390/genes14010034>.
- Fan, CC, Yu XQ, Xing YZ, Xu CG, Luo LJ. The main effects epistatic effects and environmental interaction of QTLs on the cooking and eating quality of rice in doubled-haploid line population. *Theor. Appl. Genet*. 2005, 110, 1445-1452. Doi: [10.1007/s00122-005-1975-y](https://doi.org/10.1007/s00122-005-1975-y).
- Gan L, L Huang, H Wei, F Jiang, J Han, J Yu, Q Liu, K Yu, Q-Y Zhang, M Fan, and Z Zhao. 2022. Phenotypic variation and molecular marker network expression of some agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.) RILs of Gr 89-1xShuhui 527. *Agronomy*. 12(12): 2980. <https://doi.org/10.3390/agronomy12122980>.
- Guo, L, L Ma, H Jiang, D Zeng, J Hu, L Wu, and Z Gao. 2009. Genetic analysis and fine mapping of two genes for grain shape and weight in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51(1), 45-51. DOI: [10.1111/j.1744-7909.2008.00793.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00793.x).
- Hasan A, and M Whitlock. 2024. FST and genetic diversity in an island model with background selection. *PLOS Genetics*, 20(12): e1011225. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1011225>.
- Jairin, J, S Teangdeerith, P Leelagud, K Phengrat, A Vanavichit, and T Toojinda. 2007a. Detection of brown planthopper resistance genes from different rice mapping populations in the same genomic location. *Science Asia*. 33: 347-352. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.347>.
- Jairin, J, K Phengrat, S Teangdeerith, A Vanavichit, and T Toojinda. 2007b. Mapping of a broadspectrum brown planthopper resistance gene, Bph3, on rice chromosome 6. *Mol Breeding*. 19: 35-44. <https://doi.org/10.1007/s11032-006-9040-3>.
- Jakobsson, M, MD Edge, and NA Rosenberg. 2013. The relationship between FST and the frequency of the most frequent allele. *Genetics*. 193(2): 515-528. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.144758>.
- Jena, KK, and DJ Mackill. 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Sci*. 48: 1266-1276. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.02.0082>.

- Jin, L, Y Lu, Y Shao, G Zhang, P Xiao, S Shen, H Corke, and J Bao. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*. 51: 159-164. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.11.007>.
- Kartahadimaja J, S Utomo, E Yuliadi, A Salam, Warsono, and A Wahyudi. 2021. Agronomic characters, genetic and phenotypic diversity coefficients, and heritability of 12 genotypes of rice. *Biodiversitas*, 22(3): 1091-1097. <https://doi.org/10.13057/BIODIV/D220302>.
- Kumar, Y, S Sinha, S Kumar, S Tomar, M Kumar, A Kumar, and S Singh. 2022. Marker - trait association analysis for yield related traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Oryza-An International Journal on Rice*. 59(3): 269-280. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20220541691>.
- Kusmana, A, A Budiman, dan A Hidayat. 2017. Perkembangan Produksi dan Konsumsi Pangan di Indonesia. Munich Personal RePEc Archive. Tersedia online pada <https://mpira.ub.uni-muenchen.de/79976/>.
- Laurent, E, PE Smouse, and JM Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131(2): 479-91. <https://doi.org/10.1093/genetics/131.2.479>.
- Lestari, P, TH Ham, HH Lee, MO Woo, W Jiang, SH Chu, SW Kwon, K Ma, JH Lee, YC Cho, and HJ Koh. 2009. PCR markerbased evaluation of the eating quality of japonica rice (*Oryza sativa* L.). *J Agric Food Chem*. 57:2754-2762. <https://doi.org/10.1021/jf803804k>.
- Li, S, Q Qian, Z Fu, D Zeng, X Meng, J Kyojuka, and M Maekawa. 2009. Short panicle1 encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *Plant J*. 58(4): 592-605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2009.03799.x>.
- Liao Z, H Yu, J Duan, K Yuan, C Yu, X Meng, L Kou, M Chen, Y Jing, G Liu, SM Smith, and J Li. 2019. SLR1 inhibits MOC1 degradation to coordinate tiller number and plant height in rice. *Nature Communications*, 10, 2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10667-2>.
- Liu, E, Y Liu, G Wu, S Zeng, TG Tran Thi, L Liang, Y Liang, Z Dong, D She, H Wang, IU Zaid, and D Hong. 2016. Identification of a candidate gene for panicle length in rice (*Oryza sativa* L.) via association and linkage analysis. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00596>.
- Liu, S, H Zhong, X Meng, T Sun, Y Li, S Pinson, S Chang, and Z Peng. 2020. Genome-wide association studies of ionomic and agronomic traits in USDA mini core collection of rice and comparative analyses of different mapping methods. *BMC Plant Biology*. 20, 441. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02603-0>.
- Luo, J, SA Jobling, A Millar, MK Morell, and Z Li. 2015. Allelic effects on starch structure and properties of six starch biosynthetic genes in a rice recombinant inbred line population. *Rice*. 8: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12284-015-0046-5>.
- Maqbool, SB, S Riazuddin, NT Loc, AMR Gatehouse, JA Gatehouse, and P Christou. 2001. Expression of multiple insecticidal genes confers broad resistance against a range of different rice pests. *Molecular Breeding*. 7: 85-93. <https://doi.org/10.1023/A:1009644712157>.
- Meirmans, PG, and S Liu. 2018. Analysis of molecular variance (AMOVA) for autopolyploids. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 6: 1-10. doi: 10.3389/fevo.2018.00066.
- Michalakis Y, and L Excoffier. 1996. A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. *Genetics*. 142(2): 1061-1064. DOI: 10.1093/genetics/142.3.1061.
- Nachimuthu, VV, R Muthurajan, S Duraialaguraja, R Sivakami, BA Pandian, G Ponniah, K Gunasekaran, MKS Swaminathan, and R Sabariappan. 2015. Analysis of population structure and genetic diversity in rice germplasm using SSR markers: An initiative towards association mapping of agronomic traits in *Oryza sativa*. *Rice*. 8, 30. <https://doi.org/10.1186/s12284-015-0062-5>.
- Ngangkham U, S Dash, M Parida, and S Samantaray. 2019. The potentiality of rice microsatellite markers in assessment of cross - species transferability and genetic diversity of rice and its wild relatives. *3 Biotech*. 9, 217. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1757-x>.
- Park, J-R, W-T Yang, Y-S Kwon, H-N Kim, K-M Kim, and D-H Kim. 2019. Assessment of the genetic diversity of rice germplasms characterized by black-purple and red repeat markers. *Plants*.

- 8(11), 471.  
<https://doi.org/10.3390/plants8110471>.
- Peakall, ROD and PE Smouse. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6(1): 288-295. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
- Prasetyono J, S Moeljopawiro, Taslia, TS Silitonga dan Dadang. 2012. Observasi daya hasil galur-galur padi turunan Code dan Ciherang berumur genjah dan produksi tinggi hasil MAB. Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Prayoga, GI, D Dono, N Rostini, dan N Carsono. 2018. Analisis karakter penting dan skrining marka-marka SSR yang berasosiasi dengan gen ketahanan terhadap wereng coklat pada lima kultivar padi. Zuriat. 29(2): 95–103. <https://doi.org/10.24198/zuriat.v29i2.20716>.
- Rini, DS, Y Budiyaniti, M Valentine and R Permana. 2023. ISSR and SRAP for assessing genetic variability of Indonesian local rice genotypes (*Oryza sativa* L.). Crop Breeding & Applied Biotechnology. 23: e448923411. <https://doi.org/10.1590/1984-70332023v23n4a46>.
- Salgotra, RK, BB Gupta, JA Bhat and S Sharma. 2015. Genetic diversity and population structure of basmati rice (*Oryza sativa* L.) germplasm collected from North Western Himalayas using trait linked SSR markers. PLoS One. 10 (7): e0131858. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131858>.
- Santhanalakshmi, S, S Saikumar and S Rao. 2010. Mapping genetic locus linked to brown planthopper resistance in rice *Oryza sativa* L. Intl. J. Plant Breeding and Genetics. 4: 13- 22. <https://doi.org/10.3923/ijpb.2010.13.22>.
- Sarif, HM, MY Rafii, A Ramli, Y Oladosu, HM Musa, HA Rahim, ZM Zuki, and SC Chukwu. 2020. Genetic diversity and variability among pigmented rice germplasm using molecular marker and morphological traits. Biotechnol Equip. 34: 747-762. <https://doi.org/10.1080/131028.2020.1804451>.
- Scutari, M, I Mackay, and D Balding. 2015. Using genetic distance to infer the accuracy of genomic prediction. PLoS Genetics. 12 (9): e1006288. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006288>.
- Singh, N, DR Choudhury, AK Singh, S Kumar, Srinivasan K, RK Tyagi, NK Singh, and R Singh. 2013. Comparison of SSR and SNP markers in estimation of genetic diversity and population structure of Indian rice varieties. PLoS ONE. 8(12): 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084136>.
- Smith, S. 1998. Cultivar identification and varietal protection. In: Caetano-Anollés G, Gresshoff PM (eds) DNA markers: protocols, applications, and overviews. Wiley-VCH. New York. P. 283.
- Somantri, IH, TJ Santoso, dan AD Ambarwati. 2002. Karakterisasi molekuler plasma nutfah tanaman pangan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, 66–75.
- Sun, L, C Su, C Wang, H Zhai and J Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. Breeding Science. 55: 391- 396. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.55.391>.
- Supriyanti, A, Supriyanta dan Kristamitini. 2015. Karakterisasi dua puluh padi (*Oryza sativa* L.) lokal di daerah istimewa Yogyakarta. Vegetalika. Vol. 4 No. 3: 29-41. <https://doi.org/10.22146/veg.10475>.
- Thomas, HB, S Verulkar, T Agarwal, R Saxena, and SK Verma. 2024. Identifying genetic loci determining grain yield under drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Agronomy and Crop Science. 210(5), e12743. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jac.12743>.
- Wang, C.-L, P.-Q Luo, F.-Y Hu, Y Li, C.-L Sung, Y.-H Kuang, S.-C Lin, Z.-W Yang, C.-P Li, S.-H Huang, S Hechanova Lou, KK Jena, C.-H Hsieh, and W.-P Chuang. 2024. Pyramiding genes in rice maintains resistance against the brown planthopper under climate change. Pest Management Science. 80(4): 1740–1750. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ps.7902>.
- Weeden, NF and JF Wendel. 1989. Genetics of plant isozymes. Pp. 46-72 in Isozymes in Plant Biology (DE Soltis, PS Soltis, Eds.). Dioscorides Press. Portland. Oregon.
- Wojcik, G. (2023). Genetic distance informs polygenic score predictive accuracy. Trends in Genetics. 39(11): 813-815. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.07.002>.
- Xian-Zhi, X. 2012. Expression patterns of one tandem zinc finger protein gene OsDOS in rice. Shandong Agricultural Sciences. 44(6): 7-12.
- Xu, X, X Liu, S Ge, J Jensen, F Hu, X Li, Y Dong, R

- Gutenkunst, L Fang, L Huang, J Li, W He, G Zhang, X Zheng, F Zhang, Y Li, C Yu, K Kristiansen, X Zhang, and W Wang. 2011. Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifying agronomically important genes. *Nature Biotechnology*. 30, 105–111. <https://doi.org/10.1038/nbt.2050>.
- Yamaya, T, and M Kusano. 2014. Evidence supporting distinct functions of three cytosolic glutamine synthetases and two NADH-glutamate synthases in rice. *Journal Experimental Botany*. 65(19), 5519–5525. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru103>.
- Yang, G, H Nakamura, H Ichikawa, H Kitano, and S Komatsu. 2006. OsBLE3, a brassinolide-enhanced gene, is involved in the growth of rice. *Phytochemistry*. 67(14): 1442–1454. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2006.05.026>.
- Yap, A, P Kindgren, C Colas des Francs-Small, T Kazama, SK Tanz, K Toriyama, and I Small. 2015. AEF1/MPR25 is implicated in RNA editing of plastid atpF and mitochondrial nad5, and also promotes atpF splicing in Arabidopsis and rice. *The Plant Journal*. 81(5): 661–669. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/tpj.12756>.
- Yunus, M, A Dadang, Slamet, A Warsun, D Satyawan, and Chaerani. 2023. Segregation of molecular markers associated with Bph3 gene in BC<sub>5</sub>F<sub>2</sub> population derived from Ciherang rice variety as the recipient parent. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1255(1), 12044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1255/1/012044>.
- Yusuf MA, S Sundari, ID Purwanto, and RR Kurnia. 2024. Rice production, policies, and their implications on food security Indonesia - Thailand perspective. *Jurnal Multidisiplin Madani*. 4(1): 174–179.
- Zhang, Y, J Zhao, Y Hu, Y Zhang, Y Ying, F Xu, and J Bao. 2022. Combined effects of different alleles of *FLO2*, *Wx* and *SSIIa* on the cooking and eating quality of rice. *Plants*, 11(17), 2249. <https://doi.org/10.3390/plants11172249>.
- Zhao, H.-Y, J.-X Shan, W.-W Ye, N.-Q Dong, Y Kan, Y.-B Yang, H.-X Yu, Z.-Q Lu, S.-Q Guo, J.-J Lei, B Liao, and H.-X Lin. 2024. A QTL GN1.1, encoding FT-L1, regulates grain number and yield by modulating polar auxin transport in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*. 66(10): 2158–2174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jipb.13749>.
- Zhu, J, Y Zhou and Y Liu. 2011. Fine mapping of a major QTL controlling panicle number in rice. *Molecular Breeding*. 27: 171–180. <https://doi.org/10.1007/s11032-010-9420-6>.