

ANALISIS KERAGAMAN GENETIK SEMBILAN VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.) MENGGUNAKAN PENANDA MOLEKULER ISSR

GENETIC DIVERSITY ANALYSIS OF NINE RICE (*Oryza sativa* L.) VARIETIES USING ISSR MOLECULAR MARKERS

Mukhammad Su'udi*, Layli Nazilatur Rohmah, Dwi Setyati, dan Waki'atil Rosida

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember, Jember, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: msuud.fmipa@unej.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Received: 26 January 2024
Peer Review: 17 February 2024
Accepted: 15 October 2025

KATA KUNCI:

Keragaman genetik, ISSR, molekuler, padi, polimorfisme

KEYWORDS:

Genetic diversity, ISSR, molecular, paddy, polymorphism

ABSTRAK

Peningkatan kualitas padi melalui pemuliaan menjadi aspek penting untuk mendapatkan padi produktivitas tinggi sehingga dapat memenuhi kebutuhan beras yang terus meningkat. Penggunaan penanda molekuler yang tepat sebagai alat bantu seleksi secara genetik dalam program pemuliaan menjadi lebih efisien karena sifat genetik tidak terpengaruh lingkungan. Salah satu penanda molekuler yang banyak digunakan untuk identifikasi keragaman genetik adalah ISSR. Penelitian yang dilakukan meliputi isolasi DNA sembilan varietas padi, amplifikasi DNA menggunakan primer ISSR 15, ISSR 12, UBC 825, UBC 826 dan UBC 880 dan dilakukan PCR. Analisis data dilakukan dengan skoring pita DNA dan analisis persentase polimorfis. Hasil menunjukkan ISSR 15 dan UBC 825 dapat mengamplifikasi pita dalam jumlah banyak, jelas, dan polimorfik. ISSR 15 mengamplifikasi 37 pita pada ukuran 341 – 1117 bp, sedangkan UBC 825 mengamplifikasi 40 pita pada ukuran 292 – 1349 bp. ISSR 15 dan UBC 825 keduanya memiliki persentase polimorfisme sebesar 100%. Analisis kluster dengan dendrogram juga dilakukan sehingga diketahui hubungan kekerabatan dari 9 varietas padi yang digunakan. Primer UBC 825 mampu menunjukkan hubungan kekerabatan secara genetik yang lebih sesuai, salah satunya yaitu INPARI 32, IR 64, dan Mekongga terdapat pada satu kluster yang sama dan terkonfirmasi ketiganya memiliki kesamaan pada tetua sebelumnya. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa tanaman padi yang akan dijadikan induk dalam pemuliaan dapat dipilih melalui teknik ini.

ABSTRACT

Improving the quality of rice through breeding is an important aspect to obtain high-yielding rice varieties so that it can meet the increasing demand for rice. The use of appropriate molecular markers as a genetic selection tool in breeding programs can improve breeding efficiency because genetic traits are relatively unaffected by environmental conditions. One of the widely used molecular markers for the identification of genetic diversity is ISSR. This study included DNA isolation from nine rice varieties, DNA amplification using ISSR 15, ISSR 12, UBC 825, UBC 826 and UBC 880 primers and PCR was performed. Data analysis was carried out by DNA band scoring and polymorphic percentage analysis. Results showed that ISSR 15 and UBC 825 produced numerous, clear, and polymorphic DNA bands. ISSR 15 amplified 37 bands at a size of 341 – 1117 bp, while the UBC 825 amplifies 40 bands at a size of 292 – 1349 bp. ISSR 15 and UBC 825 both have a polymorphism percentage of 100%. Cluster analysis with dendrograms was also carried out so that the genetic relationship of the 9 rice varieties used was known. The UBC 825 primer was able to show a more suitable genetic kinship, one of which was INPARI 32, IR 64, and Mekongga found in the same cluster and it was confirmed that all three had similar parental backgrounds. Thus, it can be concluded that rice plants that will be used as parents in breeding can be selected through this technique.

1. PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penghasil beras yang berperan sebagai salah satu sumber pangan utama bagi sebagian besar penduduk Indonesia (Hidayatulloh *et al.*, 2012). Kebutuhan beras yang semakin meningkat perlu diimbangi dengan peningkatan produksi padi. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS), produksi padi di Indonesia sering kali mengalami fluktuasi, sedangkan kebutuhan beras terus meningkat setiap tahun (BPS, 2022; BPS, 2023). Data terakhir pada tahun 2022 menunjukkan adanya peningkatan sebesar 0,61% dari produksi tahun 2021, meskipun demikian tetap diperlukan adanya perhatian dan pembenahan karena tidak menutup kemungkinan akan terjadi penurunan tingkat produksi padi di tahun-tahun berikutnya. Selain lingkungan dan cuaca, produktivitas padi juga dipengaruhi oleh faktor internal, seperti faktor genetik yang dapat menentukan karakter masing-masing varietas padi sehingga berpengaruh pada kualitas dan daya hasil varietas (Yulina *et al.*, 2021).

Salah satu upaya untuk mengatasi permasalahan produktivitas padi adalah melalui pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman memerlukan plasma nutfah sebagai sumber keragaman untuk materi pemuliaan (Afza, 2016). Plasma nutfah yang unggul bisa didapatkan melalui seleksi gen pengendali karakter yaitu melalui identifikasi genetik dengan penggunaan penanda molekuler untuk memperoleh hasil yang akurat (Nuraida, 2012). Penanda molekuler merupakan bagian DNA tertentu yang dapat mewakili perbedaan pada tingkat genom (Zulfahmi, 2013). Kelebihan lain penggunaan penanda molekuler adalah bersifat stabil, tidak terpengaruh lingkungan, dan terdapat di seluruh bagian tanaman (Sulistiyorini *et al.*, 2018). Penanda molekuler adalah karakter yang dapat diwariskan pada keturunannya, dan mampu berasosiasi dengan genotip tertentu (Carsono, 2008). Penggunaan penanda molekuler adalah contoh penerapan identifikasi yang pada dasarnya digunakan untuk monitoring variasi susunan DNA suatu spesies. Identifikasi molekuler dapat memberikan informasi dalam program pemuliaan seperti pembentukan segregasi baru, varietas hibrida baru serta penentuan tetua yang akan digunakan untuk pasangan persilangan baru (Al-Samarai & Al-Kazaz, 2015; Basundari, 2016). Penanda molekuler sangat beragam dan masing-masing memiliki fungsi tertentu. Salah satu contoh penanda molekuler yang banyak digunakan untuk seleksi molekuler dengan teknik PCR (PCR based technique) yaitu ISSR (Inter-simple sequence repeats) (Yulita *et al.*, 2014).

ISSR merupakan salah satu jenis penanda molekuler yang pada umumnya memiliki ukuran 16-25 pasang basa (bp), kebanyakan terdiri dari pola DNA berulang dengan tujuan untuk melengkapi daerah mikrosatelit dalam genom (Ng dan Tan, 2015). ISSR banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik dan hubungan filogenetik pada kelompok tanaman sereal (Rif'atunidaudina *et al.*, 2019). ISSR sesuai untuk program pemuliaan tanaman karena kemampuannya dalam mendeteksi variasi genetik pada tumbuhan (Alam *et al.*, 2016). Pemilihan penanda molekuler yang tepat dengan organisme dan bagian DNA yang akan diteliti menjadi hal yang penting agar proses identifikasi menjadi lebih efektif dan efisien. Penelitian sebelumnya telah berhasil mengidentifikasi tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan penanda molekuler RAPD (Dewi *et al.*, 2023). Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi penanda molekuler ISSR pada sembilan varietas padi sawah untuk mendapatkan penanda ISSR yang paling sesuai dalam mengidentifikasi keragaman genetik sembilan varietas padi yang digunakan.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September sampai Desember 2023 di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Bahan berupa sembilan varietas padi yang didapatkan dari toko pertanian di sekitar kota Jember, terdiri atas padi

varietas Cakrabuana, Ciherang, Digdaya, INPARI 32, IR 64, Mekongga, Memberamo, Padjajaran, dan Siliwangi. Primer-primer yang digunakan yaitu ISSR 15 ((AC)8G), ISSR 812 ((GA)8A), UBC 825 ((AC)8T), UBC 826 ((AC)8A), dan UBC 880 (GGA(AGA)2AGG AGA). Penelitian dilakukan dengan tahapan yaitu pengamatan morfologi bulir padi, koleksi sampel daun dari penanaman padi secara aseptis, isolasi DNA dengan metode CTAB, purifikasi DNA genom menggunakan Kit, amplifikasi DNA dengan PCR, visualisasi pada gel agarosa 1,25% dengan elektroforesis dan UV transilluminator, serta analisis data.

2.2 Karakterisasi Morfologi Bulir Padi

Bulir sembilan varietas padi diamati karakter morfologinya yang berupa berat 1000 butir gabah dan beras ditimbang menggunakan timbangan analitik. Morfologi bulir beras dan gabah diamati menggunakan mikroskop dengan kamera Optilab yang meliputi bentuk, ukuran, dan warna pada masing-masing varietas.

2.3 Koleksi Sampel Daun

Benih padi disterilisasi menggunakan larutan Clorox 100% kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Benih ditanam pada media MS0 (Murashige and Skoog) secara aseptis, ditumbuhkan dalam media kultur pada kondisi terang hingga daun terbentuk dan didapatkan sampel dengan ciri-ciri daun sudah dapat dibedakan dengan batang semu dan berwarna hijau. Sampel daun diperoleh kurang lebih pada umur 3-4 MST (minggu setelah tanam).

2.4 Isolasi dan Purifikasi DNA Genom

Isolasi DNA genom dilakukan dengan metode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) untuk mendapatkan genom sampel (Doyle dan Doyle, 1990). Isolasi dilakukan dengan penggerusan 0,2 g sampel daun segar menggunakan bantuan buffer CTAB dan nitrogen cair yang bertujuan untuk melisiskan dinding sel daun sehingga DNA dapat keluar, kemudian tahapan isolasi DNA genom dilanjutkan sampai didapatkan pelet berwarna putih. Pelet dilarutkan dalam 44 µl TE buffer. Tahapan isolasi DNA ini sesuai prosedur yang dilakukan oleh Rohimah et al., 2020. DNA genom yang didapatkan kemudian dipurifikasi dengan KIT *Wizard SV Gel and PCR Clean Up System* (Promega).

2.5 Amplifikasi DNA dan Visualisasi

Amplifikasi DNA target dilakukan dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*), disiapkan 20 µl cocktail yang terdiri atas 10 µl PCR master mix, 2 µl primer, 2 µl DNA genom, dan 6 µl air bebas nuklease (*nuclease free water*). Amplifikasi dilakukan dengan kondisi PCR yaitu pre-denaturation (95°C; 5 menit), denaturation (95°C; 30 detik), annealing (50°C; 30 detik), extension (72°C; 60 detik), dan final extension (72°C; 5 menit). Amplifikasi dilakukan sebanyak 45 siklus. Hasil amplifikasi DNA selanjutnya dikonfirmasi menggunakan elektroforesis dengan memasukkan sampel pada gel agarosa 1,25% yang mengandung etidium bromida. Kemudian mesin elektroforesis diatur dengan tegangan 100 volt selama 45 menit dan visualisasi UV Transilluminator mengikuti tahapan yang telah dilaporkan oleh Rohimah et al., 2020. DNA marker yang digunakan adalah DNA marker 100 bp Ladder H3 RTU (Ready To Use) GeneDireX, Inc. dengan rentang ukuran 100-3000 bp.

2.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan skoring manual pita DNA yaitu membandingkan pita yang muncul dengan marker ladder 100 bp. Pita DNA yang terbentuk diubah menjadi bilangan biner yaitu 1 untuk pita yang muncul dan 0 untuk pita yang tidak muncul. Data kemudian diinput pada microsoft

excel. Data biner dipindahkan dan diolah dengan program NTSYS untuk mengetahui indeks kemiripan dan informasi dendrogram menggunakan program analisis UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages) dengan metode SHAN. Ukuran pita DNA lebih spesifik diukur dengan software GelAnalyzer. Persentase pita polimorfis didapatkan melalui perhitungan dengan rumus sebagai berikut (Sitepu *et al.*, 2019) :

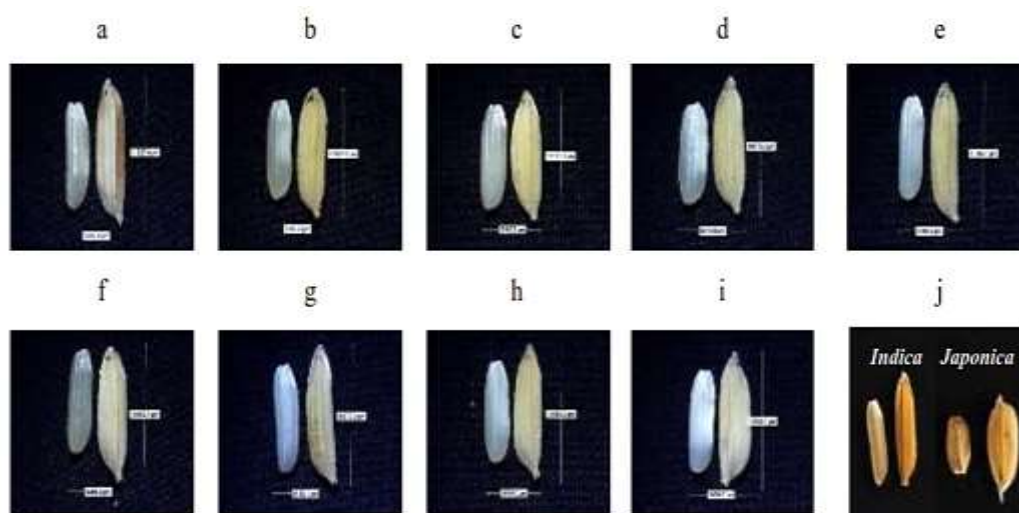
$$\% = \frac{\Sigma \text{lokus polimorfis}}{\Sigma \text{lokus yang muncul}} \times 100 \quad (1)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakter Morfologi Gabah dan Beras *Oryza sativa* L.

Informasi terkait karakter padi menjadi hal yang penting dalam upaya pelestarian sumber daya genetik. Salah satu karakter penting pada tanaman padi adalah pada bagian buah atau bijinya (gabah). Gabah merupakan salah satu komponen hasil terpenting yang dapat berpengaruh pada tingkat produktivitas (Asis *et al.*, 2021). Morfologi yang diamati berupa warna bulir gabah dan beras, bentuk, ukuran, dan berat 1000 butir. Berat 1000 butir dapat menjadi indikator kuantitas dan kualitas padi karena karakter berat 1000 butir dapat memberikan gambaran terkait potensi hasil panen secara keseluruhan (Muyassir, 2012; Supriatna *et al.*, 2023). Hasil menunjukkan warna bulir gabah dan beras sembilan varietas padi bervariasi yaitu kuning cerah sampai kuning tua. Warna bulir beras dari sembilan varietas padi terlihat putih transparan, namun terdapat sedikit perbedaan tingkat transparansi dari 9 (sembilan) varietas (Gambar 1).

Tingkatan warna gabah dan beras dapat dilihat pada Tabel 1. Warna beras yang bervariasi disebabkan adanya perbedaan gen yang mengatur warna aleuron, warna endosperma, dan komposisi pati pada endosperma. Beras umumnya memiliki warna putih agak transparan karena hanya memiliki sedikit aleuron, dan kandungan amilosa sekitar 20% (Irawan dan Purbayanti, 2008). Kadar amilosa dari sembilan varietas padi yang digunakan secara berturut-turut yaitu INPARI 32 sebesar 23,46%, Ciherang dan Mekongga sebesar 23%, IR64 sebesar 22,37%, Cakrabuana sebesar 22%, Siliwangi sebesar 21,2%, Padjajaran sebesar 20,6%, Memberamo sebesar 19%, dan Digdaya sebesar 14,01%. Kadar amilosa dari sembilan varietas padi tersebut termasuk rendah (< 20%) dan sedang (20-24%) (Badan Litbang Pertanian, 2014; Dewi, 2023).



Gambar 1. Morfologi bulir beras dan gabah padi : (a) Cakrabuana; (b) Ciherang; (c) Digdaya; (d) INPARI 32; (e) IR 64; (f) Mekongga; (g) Memberamo; (h) Padjajaran; (i) Siliwangi; dan (j) Padi Subsp. Indica dan Japonica (Chimthai *et al.*, 2021).

Tabel 1. Morfologi Sembilan Varietas Padi (*Oryza sativa* L.)

Varietas	PG (mm)	LG (mm)	PPLG	Bentuk gabah	Ukuran gabah	Warna gabah	Transparansi beras
Cakrabuana	9,6	2,6	3,69	Ramping	Sangat panjang	+++	++
Ciherang	9,5	2,6	3,65	Ramping	Sangat panjang	+	+++
Digdaya	8,3	2,8	2,96	Sedang	Sangat panjang	+++	+
INPARI 32	8,9	2,7	3,30	Ramping	Sangat panjang	+	++
IR 64	8,9	2,5	3,56	Ramping	Sangat panjang	+	++
Mekongga	8,7	2,6	3,35	Ramping	Sangat panjang	++	+++
Memberamo	9,6	2,3	4,17	Ramping	Sangat panjang	+++	+
Padjajaran	8,6	2,5	3,44	Ramping	Sangat panjang	+	++
Siliwangi	8,6	2,8	3,07	Sedang	Sangat panjang	+	+

Keterangan : PG = Panjang Gabah; LG = Lebar Gabah; PPLG = Perbandingan Panjang dan Lebar Gabah. Warna gabah : + = kuning cerah; ++ = kuning; +++ = kuning tua. Transparansi beras : + = transparansi rendah; ++ = transparansi sedang; +++ = transparansi tinggi.

Hasil pengukuran bentuk dan ukuran gabah disajikan pada Tabel 1. Bentuk gabah berdasarkan nilai perbandingan panjang dan lebar gabah menunjukkan bahwa sembilan varietas padi yang digunakan memiliki bentuk yang termasuk ke dalam kriteria ramping sampai dengan sedang (2,96 – 3,69 mm) (Tabel 1). Karakter bentuk berdasarkan perbandingan panjang dan lebar gabah dapat dibedakan menjadi beberapa kriteria, diantaranya ramping (>3,0 mm), medium (2,1 – 3,0 mm), lonjong (1,1 – 2,0 mm), dan bulat (<1,1 mm). Ukuran gabah berdasarkan panjang menunjukkan gabah dari sembilan varietas memiliki ukuran yang termasuk ke dalam kriteria sangat panjang (8,3 – 9,6 mm) (Tabel 1). Ukuran gabah dapat dibedakan menjadi beberapa kriteria berdasarkan karakter panjang gabahnya, yaitu sangat panjang (>7,5 mm), panjang (6,61 – 7,5 mm), medium (5,51– 6,60 mm), dan pendek (<5,51 mm) (Supriatna *et al.*, 2023).

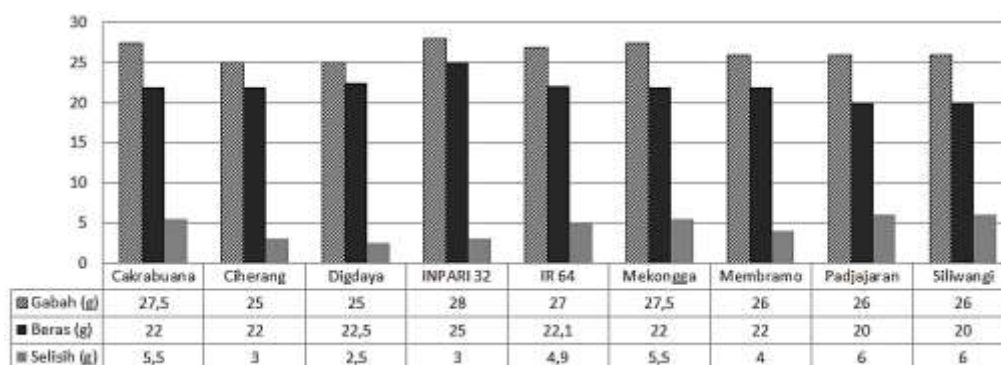
Spesies padi (*Oryza sativa* L.) selanjutnya dapat dikelompokkan menjadi 2 subspecies yaitu padi Indica dan Japonica. Berdasarkan bentuk dan ukuran gabah, hasil yang didapat menunjukkan sembilan varietas padi yang digunakan termasuk ke dalam padi kelompok Indica. Padi Indica memiliki bentuk ramping hingga sedang dan berukuran panjang, sedangkan padi Japonica memiliki bentuk sedang – bulat dan berukuran pendek (Gambar 1 j). Padi Indica memiliki ukuran gabah lebih panjang (10.65 - 10.44 mm) dibandingkan dengan padi Japonica (7.20 - 7.85 mm) (Irawan dan Purbayanti, 2008; Chimthai *et al.*, 2021).

Hasil pengukuran berat 1000 butir yang didapatkan bervariasi. Perbedaan berat yang terjadi kemungkinan akibat adanya pengaruh lingkungan terhadap produktivitas sehingga berpengaruh pada berat yang dihasilkan. Selisih berat antara 1000 butir gabah dengan 1000 butir beras juga diamati, hasil yang didapat menunjukkan adanya perbedaan berat antara gabah dengan beras (Gambar 2). Berdasarkan grafik pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa varietas padi yang mampu menghasilkan gabah dengan bobot paling tinggi berturut-turut adalah INPARI 32 (28 gram) serta Cakrabuana dan Mekongga (27,5 gram). Padi dengan selisih berat paling rendah antara gabah dan beras adalah Padi varietas Digdaya (2,5 gram), serta Ciherang dan INPARI 32 (3 gram), sedangkan padi dengan selisih berat paling tinggi berturut-turut adalah Padjajaran dan Siliwangi (6 gram), serta Cakrabuana dan Mekongga (5,5 gram). Selisih yang didapatkan merupakan berat kulit gabah, hal tersebut apabila dikaitkan dengan morfologi gabah (Gambar 1) dapat dilihat bahwa padi varietas Padjajaran, Siliwangi, Cakrabuana, dan Mekongga menunjukkan ukuran gabah terlihat jauh lebih besar dibandingkan dengan ukuran berasnya, hal ini kemungkinan dikarenakan adanya perbedaan tebal dan tipisnya kulit gabah yang bervariasi. Selain itu, tinggi rendahnya berat 1000 butir gabah dipengaruhi oleh bahan kering dalam gabah yang dihasilkan dari asimilat hasil proses fotosintesis pada saat pengisian bulir (Supriatna *et al.*, 2023).

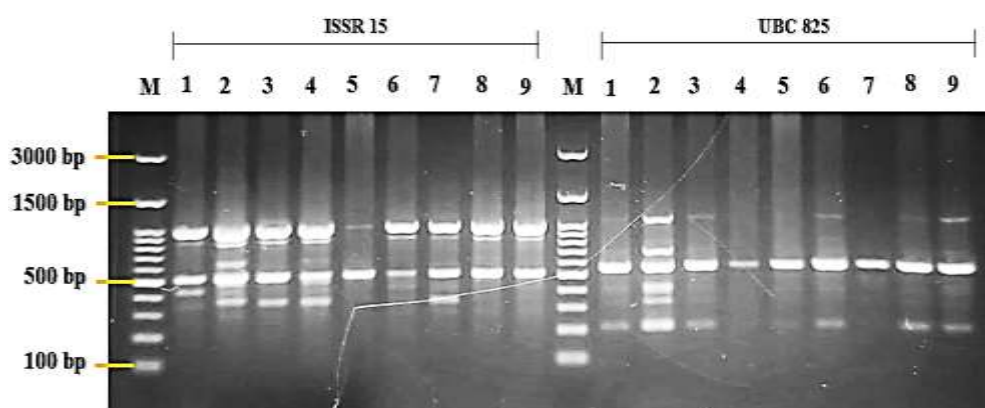
3.2 Amplifikasi DNA Target

Dari lima primer ISSR yang digunakan, dua primer yaitu Primer ISSR 15 ((AC)₈G) dan primer UBC 825 ((AC)₈T) mampu menghasilkan pita dalam jumlah yang banyak dan jelas (Gambar 3). Pita DNA yang dihasilkan cukup jelas, berjumlah banyak dan polimorfik (Gambar 3). Keberhasilan amplifikasi dan kejelasan pita bergantung pada optimalisasi kondisi PCR (Ng dan Tan, 2015). Variasi ketebalan pita DNA dapat dipengaruhi oleh perbedaan kualitas DNA sehingga mempengaruhi proses PCR (Gusmiaty *et al.*, 2017). Produk amplifikasi yang dihasilkan oleh primer ISSR 15 dan UBC 825 memiliki ukuran yang berbeda. Ukuran spesifik dari pita yang muncul dianalisis dengan menggunakan software GelAnalyzer. Primer ISSR 15 dapat mengamplifikasi 37 pita DNA dengan kisaran ukuran yaitu antara 341 – 1117 bp sedangkan primer UBC 825 mengamplifikasi 40 pita DNA berkisar antara 292 – 1349 bp. Kedua primer menghasilkan 77 pita yang dapat diskoring dengan rata-rata 4 pita pada masing-masing varietas (Tabel 2). Pola pita DNA hasil amplifikasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi DNA template, konsentrasi primer, jumlah siklus termal, serta suhu siklus PCR berupa denaturation dan annealing (Arsyad *et al.*, 2022).

Primer ISSR 15 dan UBC 825 mampu menghasilkan pita polimorfik pada semua sampel padi yang digunakan dan memiliki nilai polimorfisme 100%. Faktor yang dapat mempengaruhi tingkat polimorfisme yang dihasilkan dari penanda ISSR kemungkinan adanya pengaruh perbedaan frekuensi *microsatellite-rich region* pada berbagai spesies dan amplifikasi daerah genom yang berbeda oleh masing-masing sistem penanda (Kiani dan Katalani, 2018).



Gambar 2. Berat 1000 butir gabah dan beras sembilan varietas padi (*Oryza sativa* L.)



Gambar 3. Profil pita DNA padi hasil amplifikasi menggunakan primer ISSR 15 (Kiri) dan UBC 825 (Kanan); M : marker ladder 100 bp; 1 : Cakrabuana; 2 : Ciherang; 3 : Digdaya; 4 : INPARI 32; 5 : IR 64; 6 : Mekongga; 7 : Membramo; 8 : Padjajaran; 9 : Siliwangi.

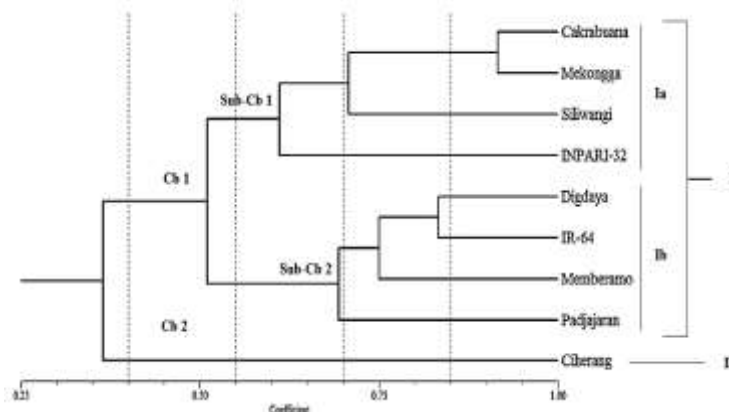
Tabel 2. Persentase pita polimorfis pada primer ISSR 15 (atas) dan UBC 825 (bawah)

Varietas	Ukuran pita (bp)	Σ Pita	Σ Pita Po	Σ Pita Mo	% Poli-morfism
Cakrabuana	341 - 1015	5	5	0	100%
Ciherang	308 - 944	6	6	0	100%
Digdaya	378 - 998	4	4	0	100%
INPARI 32	375 - 987	6	6	0	100%
IR 64	553 - 1105	2	2	0	100%
Mekongga	478 - 1072	4	4	0	100%
Membramo	410 - 1138	5	5	0	100%
Padjajaran	609 - 1108	2	2	0	100%
Siliwangi	617 - 1117	3	3	0	100%
Jumlah		37	37	0	900%
Rata-rata		4,1	4,1	0	100%
Cakrabuana	231 - 1180	6	6	0	100%
Ciherang	236 - 1159	6	6	0	100%
Digdaya	246 - 1274	6	6	0	100%
INPARI 32	632	1	1	0	100%
IR 64	258 - 627	2	2	0	100%
Mekongga	261 - 1251	5	5	0	100%
Membramo	543 - 668	2	2	0	100%
Padjajaran	292 - 1349	6	6	0	100%
Siliwangi	292 - 1297	6	6	0	100%
Jumlah		40	40	0	900%
Rata-rata		4,4	4,4	0	100%

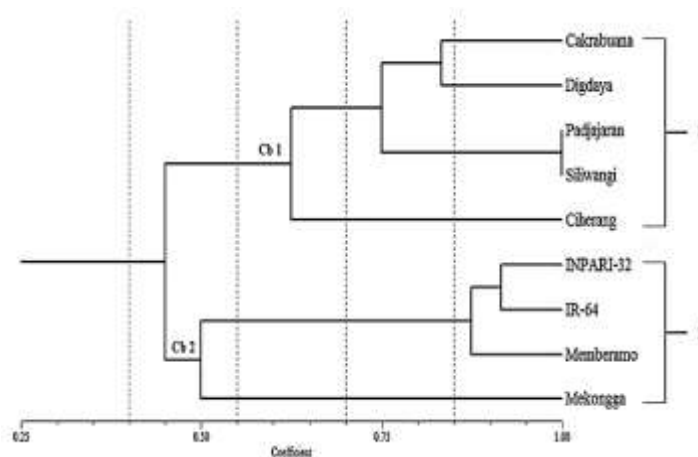
Hasil yang diperoleh menunjukkan primer ISSR 15 dan UBC 825 sangat baik untuk amplifikasi pita polimorfik. Keunggulan penanda ISSR salah satunya adalah mampu mengamplifikasi pita yang polimorfik sehingga banyak digunakan dalam identifikasi DNA fingerprint. Secara umum, primer yang baik untuk proses DNA fingerprint memiliki oligonukleotida yang mampu mengamplifikasi pita yang polimorfik, dalam hal ini primer UBC 825 dan ISSR 15 merupakan primer yang sesuai (Carvalho *et al.*, 2005).

3.3 Analisis Klaster

Dendrogram dengan penggunaan primer ISSR 15 menunjukkan pada indeks kemiripan 0,33, sembilan varietas padi dikelompokkan ke dalam 2 klaster, klaster I terdiri atas Cakrabuana, Mekongga, Siliwangi, INPARI 32, Digdaya, IR 64, Memberamo dan Padjajaran yang kemudian terbagi ke dalam 2 sub-klaster Ia dan Ib. Sub-klaster Ia terdiri atas Cakrabuana, Mekongga, Siliwangi, dan INPARI 32. Sub-klaster Ib terdiri atas Digdaya, IR 64, Memberamo dan Padjajaran. Padi kelompok sub-klaster Ia dan Ib memiliki indeks kemiripan sebesar 0,58, artinya secara genetik padi kelompok sub-klaster Ia memiliki kemiripan sebesar 58% dengan padi pada kelompok sub-klaster Ib. Pada sub-klaster Ia Cakrabuana dan Mekongga memiliki indeks kemiripan paling tinggi (0,91), artinya secara genetik Cakrabuana dan Mekongga memiliki kemiripan sebesar 91%. Padi varietas Ciherang terletak pada klaster yang berbeda yaitu klaster II yang berarti bahwa secara genetik padi varietas Ciherang memiliki hubungan kekerabatan genetik yang jauh dengan delapan varietas lainnya. Padi varietas Ciherang hanya memiliki indeks kemiripan sebesar 0,33, artinya secara genetik, padi Ciherang hanya memiliki kemiripan sebesar 33% dengan varietas lainnya (Gambar 4).



Gambar 4. Dendrogram sembilan varietas padi (*Oryza sativa*) berdasarkan penggunaan primer ISSR 15 menggunakan analisis UPGMA.



Gambar 5. Dendrogram sembilan varietas padi (*Oryza sativa*) berdasarkan dengan primer UBC 825 menggunakan analisis UPGMA.

Dendrogram berdasarkan primer UBC 825 menunjukkan pola pengelompokan yang berbeda. Sembilan varietas padi terbagi ke dalam 2 kluster besar yaitu pada indeks kemiripan 0,66 terbentuk Kluster I yang terdiri atas Cakrabuana, Digdaya, Padjajaran, Siliwangi, dan Ciherang. Varietas Padjajaran dan Siliwangi terletak dalam satu kelompok yang sama dengan indeks kemiripan sebesar 1, artinya secara genetik Padjajaran dan Siliwangi memiliki kemiripan sebesar 100%. Kedua varietas ini memiliki pola pita yang mirip dengan rentang ukuran DNA yang juga hampir sama, bahkan keduanya memiliki pita yang teramplifikasi dengan ukuran yang sama yaitu pada 292 bp (Tabel 2). Kluster II yang terdiri atas INPARI 32, IR 64, Memberamo, dan Mekongga terbentuk pada indeks kemiripan 0,50 (Gambar 5).

Hubungan kekerabatan berkorelasi pada besar atau kecilnya indeks kemiripan. Nilai indeks kemiripan pada dendrogram merupakan koefisien yang bernilai antara 0 – 1. Nilai indeks kemiripan yang mendekati 1 menunjukkan kekerabatan yang dekat, sedangkan indeks kemiripan yang mendekati 0 menunjukkan kekerabatan yang jauh. Nilai kemiripan dikatakan rendah apabila kurang dari 0,6 yang artinya kemiripan antar individu kurang dari 60% (Fauza *et al.*, 2015).

Nilai indeks kemiripan beberapa varietas menunjukkan kekerabatan yang sangat dekat, keragaman genetik dapat dikatakan cukup rendah yang kemungkinan dikarenakan beberapa varietas diperoleh dari persilangan varietas asli Indonesia. Beberapa varietas padi di Indonesia berasal dari tetua persilangan jenis IR yang dikembangkan dari International Rice Research Institute,

sebagai contoh, asal persilangan Ciherang adalah IR 18349-53-1-3-1-3/IRI-19661-131-3-1///IR 64///IR-64; Mekongga dari A2790/2/IR 64; dan INPARI 32 dari IR 18349-53-1-3-1-3/IRI 19661-131-3-1///IR 64///IR 64. Berdasarkan silsilah persilangannya, ketiga varietas ini seharusnya memiliki kekerabatan yang dekat. Berdasarkan dendrogram yang terbentuk, primer UBC 825 lebih sesuai dalam menggambarkan kekerabatan karena dapat dilihat INPARI 32, IR 64, dan Mekongga terdapat pada 1 klaster yang sama (Gambar 5).

4. KESIMPULAN

Sembilan varietas padi (*Oryza sativa*) yaitu Cakrabuana, Ciherang, Digdaya, INPARI 32, IR 64, Mekongga, Memberamo, Padjajaran dan Siliwangi dapat teramplifikasi dengan menggunakan 2 primer ISSR yaitu primer ISSR 15 dan UBC 825 dengan total 77 pita polimorfik dan persentase polimorfisme sebesar 100%. Primer UBC 825 mampu memberikan gambaran hubungan kekerabatan genetik secara lebih, ditunjukkan oleh INPARI 32, IR64, dan Mekongga yang terdapat pada satu klaster yang sama yang menunjukkan ketiganya memiliki hubungan yang dekat.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Afza, H. 2016. Peran konservasi dan karakterisasi plasma nutfah padi beras merah dalam pemuliaan tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. 35(3): 143–153.
- Al-Samarai, F.R., & A.A. Al-Kazaz. 2015. Molecular markers: an introduction and applications. *European J. of Molecular Biotechnology*. 9(3):118–130.
- Alam, S.M.M., S. Siddika, M.E. Haque, M.A. Islam, A. Mukherjee, & B. Sikdar. 2016. Genetic diversity of some upland and lowland rice cultivars in Bangladesh using RAPD, ISSR and SSR markers. *Nucleus*. 59(1):15–23.
- Arsyad, M.A., Irwan, D. Boer, Y.F. Cahyaningsih, S.H. Larekang, & Iswanto. 2022. Polimorfisme primer RAPD pada tanaman jambu mete asal tiga kabupaten di Sulawesi Tenggara. *Galung Tropika*. 11(2):124–131.
- Asis, R. Ardiansyah, & R. Jaya. 2021. Respon pertumbuhan dan produktivitas dua varietas padi (*Oryza sativa* L.) pada sistem tanam mekanis dan manual. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 49(2): 147–153.
- Badan Litbang Pertanian. 2014. *Kumpulan Deskripsi Varietas Padi*. Balitbangtan. Jawa Tengah.
- Basundari, F.R.A. 2016. Tinjauan penggunaan marka DNA untuk seleksi ketahanan penyakit tanaman. *Agro-Infotek*. 2(1):43–50.
- BPS. 2022. *Luas panen dan produksi padi di indonesia 2021*. BPS. Indonesia.
- BPS. 2023. *Ringkasan eksekutif luas panen dan produksi padi di indonesia 2022*. Badan Pusat Statistik. Indonesia .
- Carsono, N. 2008. Peran pemuliaan tanaman dalam meningkatkan produksi pertanian di Indonesia. *Agricultural Sciences*. pp. 1–8.
- Carvalho, A.M. Matos, J. Lima-Brito, H. Guedes-Pinto, & C. Benito. 2005. DNA fingerprint of f1 interspecific hybrids from the Triticeae tribe using ISSRs. *Euphytica*. 143(1–2): 93–99.
- Chimthai, S., P. Na Chiangmai, & S. Brooks. 2021. Genetic classification of upland rice (*Oryza sativa* L.) collected from minor farmers in Thailand using InDel marker. *Agricultural Tech*. 17(1): 33–46.
- Dewi, T.K. 2023. Penetapan kadar amilosa pada beberapa beras hitam (*Oryza sativa* L.) lokal JAWA BARAT. *Teknologi Pangan Dan Ilmu Pertanian*. 1(2): 1–5.
- Dewi, N.A.H., S. Pancaningtyas, & M. Su'udi. 2023. Identification of cocoa (*Theobroma cacao* L.) genetic uniformity through RAPD molecular markers. *Pelita Perkebunan*. 39(3): 173–183.
- Doyle, J.J., & J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.

- Fang, G., S. Hammar, & R. Grumet. 1992. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. *BioTechniques*. 13: 52-57.
- Fauza, H., I. Ferita, N.E. Putri, N. Nelly, & B. Rusman. 2015. Studi awal penampilan fenotipik plasma nutfah jengkol (*P. jiringa*) di Padang, Sumatera barat. *Biodiv Indonesia*. 1(1): 23-30.
- Gusmiaty, G., M. Restu, A. Asrianny, & S.H. Larekeng. 2017. Polimorfisme RAPD untuk analisis keragaman genetik Pinus merkusii di hutan pendidikan unhas. *Natur Indonesia*. 16(2): 47.
- Hidayatulloh, W.A., S. Supardi, & L.A. Sasongko. 2012. Tingkat ketepatan adopsi petani terhadap sistem tanam jajar legowo pada tanaman padi sawah. *MEDIAGRO*. 8(2): 71-82.
- Irawan, B., & K. Purbayanti. 2008. Karakterisasi dan kekerabatan kultivar padi lokal di Desa Rancakalong, Kec. Rancakalong, Kab. Sumedang. *Seminar Nasional PTTI*. pp. 1-31.
- Kiani, G., & K. Katalani. 2018. Divergence in hybrid rice parental lines detected by rapd and issr markers. *Acta Agriculturae Slovenica*. 111(2): 369-376.
- Muyassir. 2012. Efek jarak tanam, umur dan jumlah bibit terhadap hasil padi sawah (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Manajemen Sumberdaya Lahan*. 1 (2): 207-212.
- Ng, W.L., & S.G. Tan. 2015. ISSR markers: are we doing it right?. *ASM Science Journal*. 9(1): 30-39.
- Nuraida, D. 2012. Pemuliaan tanaman cepat dan tepat melalui pendekatan marka molekuler. *El-Hayah*. 2(2): 97-103.
- Rif'atunidaudina, R., Sobir, & A. Maharijaya. 2019. Keanekaragaman sumberdaya genetik sayuran polong potensial di Indonesia berdasarkan penanda molekuler ISSR comparative analysis of genetic diversity among pod vegetables genetic resources. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 10(3): 161-172.
- Rohimah, S., T. Ratnasari, & M. Su'udi. 2020. Characteristics of DNA barcodes from 3 thrixspermum orchids based ITS2 regions. *Biosaintifika*. 12(3): 446-452.
- Sitepu, A.F., E. Sartini Bayu, L. Aziz, & M. Siregar. 2019. Analisis pola pita beberapa genotipe kurma (*Phoenix dactylifera* L.) menggunakan primer rapd. *Agroekoteknologi*. 7(3): 502-507.
- Sulistiyorini, I., Rubiyo, & Sudarsono. 2018. Evaluation of clonal uniformity in six superior cacao clones based on ssr marker. *J. TIDP*. 5(3): 135-144.
- Supriatna, J., R. Kurnia, A.G. Nur Azizah, & K.O. Mardhayanti. 2023. Eksplorasi dan karakterisasi penampilan biji padi lokal asal dataran medium kabupaten garut. *JAGROS*. 7: 70-78.
- Yulina, N., C. Eward, & A. Haitami. 2021. Karakter tinggi tanaman, umur panen, jumlah anakan dan bobot panen pada 14 genotipe padi lokal. *Agrosains Dan Teknologi*. 6(1):15.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk analisis genetik tanaman (DNA markers for plants genetic analysis). *Jurnal Agroteknologi*. 3(2): 41-52.