



Sidik Jari Dna Pada 30 Genotipe Padi (*Oryza Sativa* L) Berdasarkan Marka Ssr Yang Terpaut Dengan Kandungan Zn

Kinasih sekar pamungkas^{1*}, Muharram², Rommy Andhika Laksono³,
Untung Susanto⁴

¹Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas
Singaperbangsa Karawang

^{2,3,4}Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas
Singaperbangsa Karawang

³Balai Besar Penelitian Padi Sukamandi

Received: 22 Juni 2022
Revised: 27 Juni 2022
Accepted: 29 Juni 2022

Abstract

This study to determine the PIC (polymorphic information content), gene diversity, and rice genotype groupings tested based on SSR markers reported to be associated with high Zn content traits in 30 genotypes. used the SSR Marking Application (Simple Sequence Repeats The research was carried out from May 2021 to September 2021 at the Center for Rice Research in Sukamandijaya Village, Ciasem District, Subang Regency, West Java Province. The study used descriptive analysis by observing the DNA banding pattern using 9 SSR primers. The results showed that 50 alleles were detected in 30 rice genotypes with an average number of marker alleles of 5.55 and a range of 3-10 alleles per locus, the average frequency of major alleles was 0.46 with the lowest value of 0.20 at the RM234 marker and the highest value of 0.67 at the RM8226 mark. Heterozygosity values ranged from 0.0 at RM137 to 0.73 at the RM234 rice SSR marker with a mean of about 0.29. The value of diversity is between 0.50 (RM 8226) to 0.86 (RM 234, RM223) with an average of 0.67. The PIC (polymorphic information content I) value ranged from 0.44 (RM 152) to 0.85 (RM337) with an average of 0.62. Phylogenetic analysis showed that 30 rice genotypes were divided into 6 main groups with a coefficient of 0.45. The first cluster consists of 8 genotypes of rice, the second cluster has 1 genotype of rice, the third cluster has 13 genotypes of rice, the fourth cluster has 3 genotypes of rice, the fifth cluster has 1 genotype and the sixth cluster consists of 4 genotypes of rice.

Keywords: rice, SSRs markers, Zinc.

(*) Corresponding Author: 1710631090080@student.unsika.ac.id

How to Cite: Pamungkas, K., Muharram, M., Laksono, R., & Susanto, U. (2022). DNA fingerprint on 30 genotypes of rice (*oryza sativa* L) based on SSR markers linked on Zn content. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(10), 73-79. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6791677>

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditi yang penting dalam ketahanan pangan di Indonesia. Kebutuhan yang terus meningkat sebanding dengan pertumbuhan penduduk. Dilaporkan bahwa terjadi peningkatan Produksi padi pada tahun 2020 sebesar 556,51 ribu ton atau 1,02 persen dari tahun sebelumnya. (BPS,2020)

Beras sebagai makan pokok berfungsi sebagai penyedia nutrisi bagi manusia. Salah satu nutrisi esensial yang dibutuhkan manusia adalah zink. Asupan zink tergantung pada banyaknya kadar zink pada makanan yang dikonsumsi. Beras tidak hanya sebagai sumber energi, namun juga sebagai sumber vitamin, mineral, asam amino bagi tubuh. beras berpotensi sebagai penyedia unsur zink. Tetapi



kandungan unsur mikro pada beras belum mampu memenuhi kebutuhan yang dianjurkan. Kekurangan zink dapat mengakibatkan berbagai masalah kesehatan bagi tubuh manusia seperti menurunnya sistem kekebalan tubuh. Kekurangan zink sering terjadi pada anak dimana sekitar 38,1% anak di Indonesia mengalami kekurangan Zink.

Maka dari itu diperlukan perakitan varietas unggul untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Dalam perakitan varietas unggul, seleksi merupakan bagian penting dari program pemuliaan tanaman untuk memperbesar peluang mendapatkan genotipe yang unggul. Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi molekuler berbasis DNA, dapat membantu mengatasi kesulitan seleksi secara konvensional. Marka molekuler dapat mengkarakterisasi galur-galur secara langsung dan tepat pada level DNA untuk menyeleksi secara cepat, efisien dan akurat dibandingkan dengan karakterisasi berdasarkan ciri-ciri morfologi, karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Perlu diketahui bahwa, teknologi molekuler tidak berdiri sendiri, tetapi membantu teknik pemuliaan konvensional agar menjadi lebih efisien (DuaLembang, et. al., 2010)

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan bulan Agustus 2021 di di Rumah Kaca dan di Laboratorium DNA Benih Balai Besar Penelitian Tanaman padi (BB Padi) yang berlokasi di Sukamandijaya, Kecamatan Ciasem, Kabupaten Subang. Bahan yang digunakan adalah benih 30 genotipe padi sawah, nitrogen cair, buffer ekstraksi komersil DNazol, buffer TAE, buffer TBE 10x, chloroform isoamilakohol (CIA) dengan perbandingan 24 : 1 chloroform 48 ml dan isoamyl alcohol 2 ml, 70% isopropanol dingin, β -mercaptoetanol dingin 2%, red PCR Master mix (Thermo Scientific), gelred (pewarna), akrilamid, bisacrylamide, APS, TEMED, PCR BIO Ladder III 50 up to 1500 bp parafilm, aluminium foil, etanol, aquades, aquabidest (ddH₂O), kertas tissue, serta 9 primer marka mikrosatelit yaitu: RM234, RM248, RM501, RM1132, RM137, RM152, RM223, RM337, RM8226.

Adapun Alat yang digunakan dalam penelitian di Rumah Kaca adalah cawan petri, pot, oven. Sedangkan di Laboratorium adalah mikro tube, rak tube, vortex, oven, centrifuge, freezer, kulkas, spektrofotometer nanodrop, elektroforesis (Polyacrylamide), PCR (Therma Cycler), UV - transilluminator (UV Doc-its), Gel-Doc (U Doc-its), chambell well (bak elektroforesis), power supply, autochlaf, pengaduk magnetik, tabung eppendorf 2.0 ml, 1.5 ml, dan 50 ul, mikropipet ukuran 1-50 μ l, 100-500 μ l, dan 200-1000 μ l, tip pipet (warna putih, kuning, dan biru), alat-alat gelas (gelas ukur, baker glass, erlenmeyer, dll).

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan marka molekuler SSR (Simpel Sequence Repeats) dengan prinsip PCR (Polymerase Chain Reaction) menggunakan 9 primer SSR..

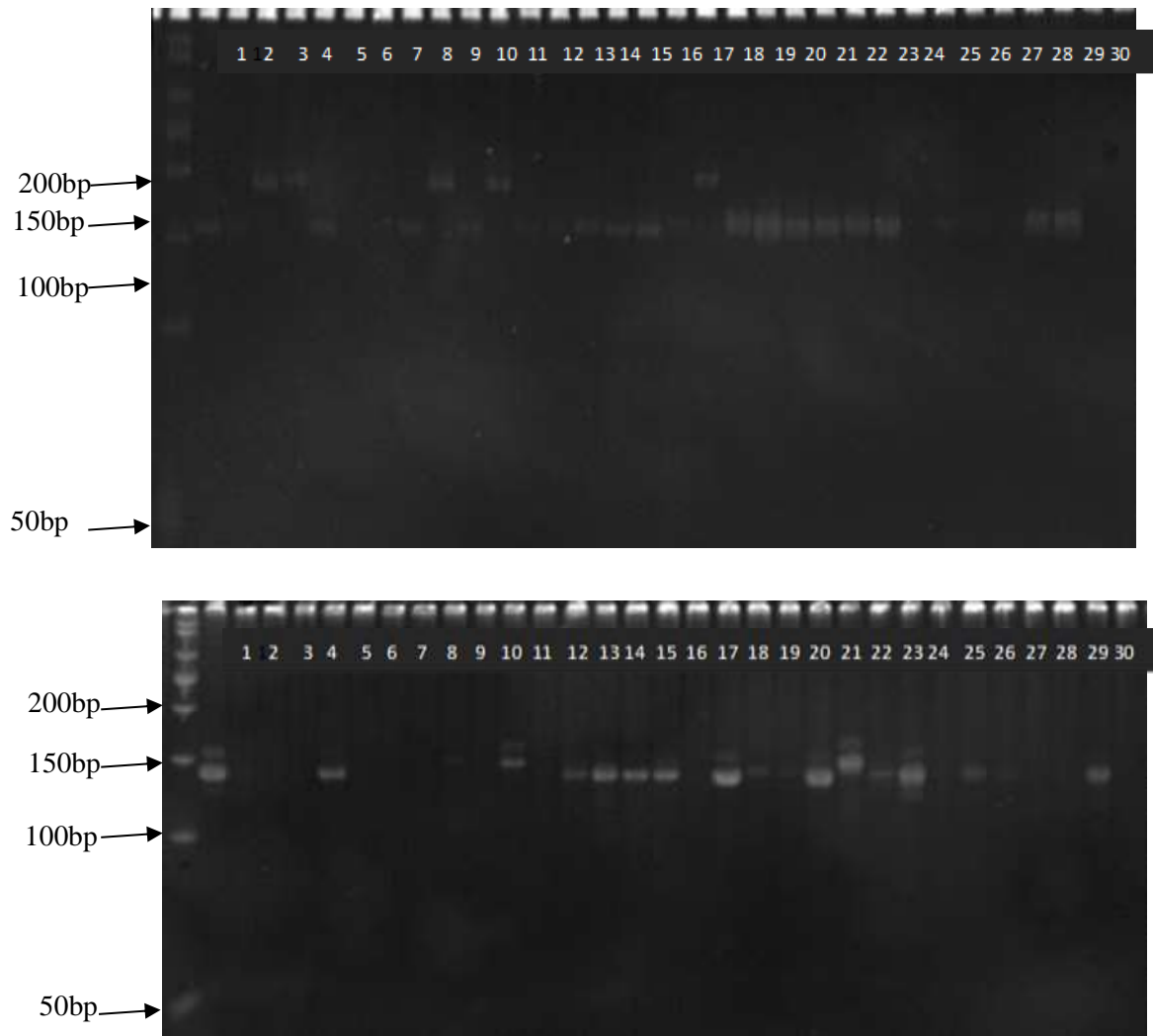
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Visualisasi DNA

Amplifikasi DNA genotipe padi menggunakan 9 primer spesifik terpaut kandungan Zn tinggi menunjukkan kesembilan primer tersebut dapat mengamplifikasi DNA. Pada primer menghasilkan pola pita polimorfik dengan

ukuran pita 100-321 bp, dan persentase polimorfisnya yaitu sebesar 100%. Pada semua primer mampu mengamplifikasi seluruh DNA sampel yang diuji, lalu primer RM7488 hanya mampu mengamplifikasi empat pita DNA

Berdasarkan hasil penelitian, tiap primer menghasilkan jumlah pita DNA yang berbeda, pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas pita yang bervariasi.



Gambar 1. Contoh pola pita yang divisualisasikan pada elektroforesis gel akrilamid 8% dengan menggunakan marka (A) RM247 dan (B) RM17

Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. Banyaknya pita yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog pada genom (William et al., 1990 dalam Mutia, 2021). Adanya perbedaan pola pita yaitu berdasarkan jumlah dan ukuran pita menggambarkan adanya genom tanaman yang sangat kompleks.

Profil 9 Marka SSRs pada 30 Genotipe Padi yang Diidentifikasi

Total 9 marka SSR menghasilkan 100% pita polimorfik. Analisis sebanyak 50 alel dimana rata-rata jumlah alel per marka sebesar 5,55 dengan kisara 3-10 alel

perlokus pada 30 genotipe padi. Ke-9 lokus marka SSR tersebut menyebar pada 3 kromosom padi yaitu 1 lokus pada kromosom 6, 4 lokus pada kromosom 7 dan 4 lokus pada kromosom 8.

Setiap marka yang digunakan menghasilkan frekuensi alel yang bervariasi dengan frekuensi yang berbeda untuk setiap genotipe. Frekuensi alel per marka SSR per 30 genotipe ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1. jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen dan PIC (*polymorphic information content*) yang dihasilkan dari 30 genotipe padi yang diuji pada penelitian ini

Primer	Jumlah Alel	Frekuensi alel utama	Diversitas gen	PIC
RM234	9	0,20	0,86	0,84
RM248	6	0,40	0,73	0,69
RM501	4	0,47	0,66	0,60
RM1132	5	0,45	0,70	0,65
RM137	3	0,60	0,54	0,47
RM152	4	0,53	0,54	0,44
RM223	10	0,27	0,86	0,85
RM337	6	0,55	0,61	0,56
RM8226	3	0,67	0,50	0,45
jumlah	50	4,14	6,03	5,58
Rata-rata	5,55	0,46	0,67	0,62

Hasil frekuensi alel diketahui bahwa marka RM137 dengan frekuensi terendah dengan nilai 0,20. sedangkan pada marka RM 8226 merupakan frekuensi alel yang tertinggi dengan dengan nilai 0,67. Dengan rata-rata frekuensi alel sebesar 0,46

Hasil diversitas pada **tabel 1** diketahui bahwa marka RM8226 dengan diversitas genetik terendah bernilai 0,50 sedangkan pada marka RM234 dan RM223 merupakan diversitas genetik yang tertinggi dengan nilai 0,86. Proporsi lokus polimorfik pada suatu populasi merupakan salah satu indeks keanekaragaman genetik. Dapat dilihat pada **Tabel 1** bahwa, nilai polimorfis tidak jauh berbeda dengan nilai keragaman genetik (diversitas gen).

Nilai PIC tergolong rendah apabila nilai yang ada lebih rendah dari 0,25, tergolong sedang apabila nilai berkisar 0,25 – 0,50, dan tergolong tinggi bila nilai yang diperoleh lebih dari 0,50 (botstein et al, 1980). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa kesembilan primer mempunyai nilai rata-rata PIC > 0,5 (tergolong tinggi) dengan nilai rata-rata PIC 0,6. Indrawan et al. (2007) menyatakan bahwa jumlah keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh banyaknya gen yang dimiliki lebih dari satu alel (gen polimorfik) dan banyaknya alel disetiap gen

Heterozigositas

Heterozigositas adalah salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi yang didasarkan dari frekuensi alel pada setiap lokus (Anggraeni *et al.*, 2009). Nilai heterozigositas

berkisar antara 0,0 pada RM137 hingga 0,73 pada marka SSR padi RM234 dengan rerata sekitar 0,29. sebanyak 3 marka memiliki heterozigositas lebih tinggi dari nilai rerata (> 0,29) dan 6 marka memiliki nilai heterozigositas lebih rendah dari nilai rerata (> 0,29).

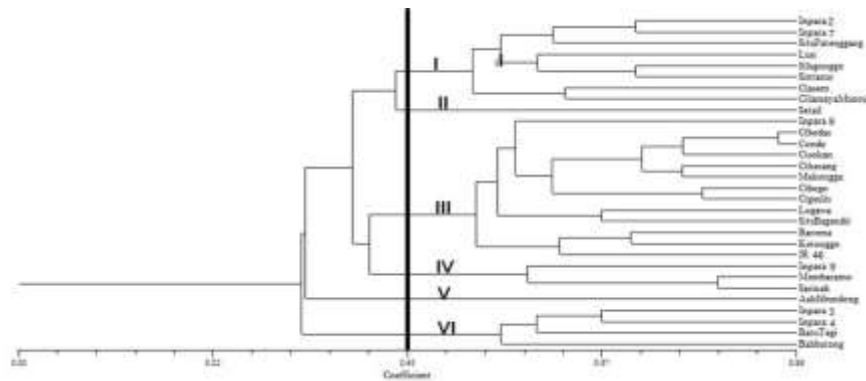
Table 2. nilai heterozigositas pada 30 genotipe padi yang diuji

Primer	Heterozigositas
RM234	0,73
RM248	0,57
RM501	0,27
RM1132	0,23
RM137	0,00
RM152	0,03
RM223	0,70
RM337	0,03
RM8226	0,03
Jumlah	2,61
Rata-rata	0,29

Kriswiyanti (2014) menyatakan bahwa nilai heterozigositas dipengaruhi banyaknya ragam alel dan frekuensi masing-masing alel dalam setiap lokus. Lokus yang polimorfik menggambarkan adanya heterozigositas dalam suatu individu. Setiap individu hetezigot masing-masing membawa dua macam alel atau lebih. Adanya perbedaan heterozigositas ini memungkinkan terjadi karena lokus yang diamati berbeda (Maslikha et al., 2012).

Dendrogram Pada 30 Genotipe Padi

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa dari 30 genotipe padi mesisah menjadi 6 kluster utama pada koefisien 0,45. Kluster I terdiri dari 8 genotipe, dua diantaranya adalah jenis padi rawa kluster II terdiri dari 1 genotipe yang merupakan jenis padi sawah, kluster III terdiri dari 13 genotipe satu diantaranya merupakan padi jenis rawa dan 12 genotipe lainnya berjenis padi sawah, kluster IV terdiri dari 3 genotipe, satu diantaranya merupakan padi jenis rawa dan dua genotipe lainnya berjenis padi sawah kluster V terdiri dari 1 genotipe seluruhnya merupakan padi jenis sawah, kluster VI terdiri dari 4 genotipe dua diantaranya merupakan padi jenis rawa dan dua genotipe lainnya berjenis padi sawah. Marka primer SSR yang digunakan pada penelitian ini dapat membedakan antara jenis padi yang diduga memiliki keragaman kandungan Zn.



Gambar. 2. Dendrogram UPGMA 30 genotipe padi berdasarkan 9 marka SSR yang diuji menggunakan perangkat lunak NTSYS

Pada **Gambar 2** dapat dilihat terdapat 6 kluster yaitu kluster I terdapat genotipe padi dengan kekerabatan yang dekat yaitu inpara 2 dan inpara 7. Sedangkan genotipe padi dengan kekerabatan paling jauh pada kluster VI yaitu bahbotongtinggi tingkat kepercayaan pengelompokan berarti semakin kuat kemiripan genetik dari galur dalam kelompok tersebut sehingga apabila persilangan dilakukan antar individu dalam kelompok yang sama (dengan tingkat kepercayaan pengelompokan yang tinggi) yang berarti bahwa individu-individu tersebut secara genetik memiliki kemiripan yang kuat, maka peluang terjadinya inbreeding akan semakin tinggi (Dualembang et.al., 2011). Begitupun Nugroho et.al, (2017), menyatakan varietas-varietas dengan jarak genetik yang dekat tersebut tidak potensial untuk dijadikan tetua persilangan karena memperbesar peluang terjadinya inbreeding.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan 50 alel terdeteksi pada 30 genotipe padi dengan rata-rata jumlah alel marka 5,55 dan kisaran 3-10 alel per lokus, frekuensi rata-rata alel mayor 0,46 dengan nilai terendah 0,20 pada marka RM234 dan nilai tertinggi 0,67 pada tanda RM8226. Nilai heterozigositas berkisar dari 0,0 pada RM137 hingga 0,73 pada penanda SSR beras RM234 dengan rata-rata sekitar 0,29. Nilai keanekaragamannya antara 0,50 (RM 8226) hingga 0,86 (RM 234, RM223) dengan rata-rata 0,67. Nilai PIC (polymorphic information content I) berkisar dari 0,44 (RM 152) hingga 0,85 (RM337) dengan rata-rata 0,62. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa 30 genotipe padi terbagi menjadi 6 kelompok utama dengan koefisien 0,45. Cluster pertama terdiri dari 8 genotipe padi, cluster kedua memiliki 1 genotipe padi, cluster ketiga memiliki 13 genotipe padi, cluster keempat memiliki 3 genotipe padi, cluster kelima memiliki 1 genotipe dan cluster keenam terdiri dari 4 genotipe padi. genotipe padi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Balai Besar Penelitian Tanaman Padi yang telah berkenan untuk melangsungkan penelitian. Dan kepada Dr. Untung Susanto, SP., MP, Muharram Ir., MP, Rommy Andhika Laksono, SP., MP atas bimbingan dan saran selama proses penyusunan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistika. 2020. Luas Panen dan Produksi Padi Pada Tahun 2020 Mengalami Kenaikan dibandingkan tahun 2019 Masing-masing Sebesar 1,02 dan 1,02 persen diakses: <https://www.bps.go.id/pressrelease/2020/10/15/1757/luas-panen-dan-produksi-pada-padi-tahun-2020-mengalami-kenaikan-dibandingkan-tahun-2019-masing-masing-sebesar-1-02-dan-1-02-persen-.html> [7 juli 2021]
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in a man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(1): 314-331.
- Dualembang E., Yunus M dan Azrai. 2010. Karakterisasi genetik koleksi plasma nutfah sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) berdasarkan marka SSR (simple sequence repeats). *Jurnal penelitian* 1: 1-14.
- Dualembang, E., Musa, Y., Azra, M. 2011. Karakterisasi Genetika Koleksi Plasma Nutfah Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Berbasis Marka SSR (Simple sequence Repeats). *Jurnal Balai Penelitian Serealia*, 25: 1-15
- Indrawan, M., Primack, R.B., Supriatna, J. 2007. *Biologi Konservasi*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Iza, N. 2017. Frekuensi Alel, Heterozigositas dan Migrasi Alel pada Populasi Etnis Jawa dan Madura di Malang dan Madura, Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1): 43-50
- Kriswiyanti, E. 2014. *Karakteristik Ragam Kelapa (Cocos nucifera L.) di Bali Berdasarkan Morfologi, Anatomi dan Molekuler*. [disertasi], Bali: Pascasarjana Universitas Udayana.
- Lamadji M.J., L. Hakim dan Rustudja. 2009. Akselesasi pertanian tangguh melalui pemuliaan nonkonvensional. *Prosiding simposium V pemuliaan tanaman. PERIPI Komda Jawa Timur* . 28-32
- Maslikha, S., Amin, M., Winaya, A. 2012. Identifikasi Variasi Genetik Kerbau Lokal Tanan Toraja dan Nusa Tenggara Barat Berbasis Mikrosatelit: Upaya Konservasi Plasma Nutfah dan Penyediaan Bibit Unggul Kerbau di Wilayah Indonesia Timur. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Mutia, D. 2021. Identifikasi dan Karakterisasi Genetik Galur Mutan Kedelai (*Glycine max* L. Merril) Generasi M5 Berdasarkan Kandungan Asam Lemak Menggunakan Marka Simple Sequence Repeats (SSR). [Skripsi], Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Nugroho, K., Rerryana, R.T., Reflinur., Asadi., Lestari, P. 2017. Analisis Keragaman Genetik Kedelai Introduksi Menggunakan Marka Mikrosatelit. *Informatika Pertanian* 23(2): 121-132
- Rell, F., S.K. Widyastuti dan I.N. Windia. 2013. Polimorfisme Locus Mikrosatelit D10S1432 pada Populasi Monyet Ekor Panjang di Sangeh. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*, 1 (1) : 16-21