

Evaluasi Keragaman Genetik Jagung Inbrida Berdasarkan Sepuluh Marka *Simple Sequence Repeat*

(Evaluation of Genetic Diversity of Maize Inbred Lines Based on Ten Simple Sequence Repeat Markers)

Sutoro^{1*}, Puji Lestari¹, Andari Risliawati¹, Kristianto Nugroho¹, dan R. Neni Iriany²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8622833; Faks. (0251) 8622833; *E-mail: storo8@gmail.com

²Balai Penelitian Tanaman Sereal, Jl. Dr. Ratulangi No. 274, Allepolea, Lau, Kabupaten Maros 90512 Indonesia

Diajukan: 16 Mei 2017; Direvisi: 7 Juli 2017; Diterima: 14 September 2017

ABSTRACT

Genetic diversity of maize inbred lines is required for high yield potential of maize hybrid. Inbred lines diversity could be evaluated by molecular analysis using simple sequence repeat (SSR) markers. This study aimed to evaluate genetic diversity of maize inbred lines using SSR markers and classify them as a guide for developing hybrid maize. Total of ten SSR markers were used to evaluate 32 types of maize inbred lines with different genetic backgrounds. The SSR analysis was done in the Laboratory of Molecular Biology, Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development, in March 2017. The analysis revealed that the differences among inbred lines could be detected, including inbred lines generated from open-pollinated maize varieties. Ten SSR markers used were able to differentiate homozygote and heterozygote alleles among inbred lines. Grouping of these maize inbred lines at genetic similarity of 68% generated two groups. The first group consisted of thirty inbred lines and only two inbred lines (Al-46 and 22-9-5-4-17-5) were in the second group. Two inbred lines with greatest genetic distance were 22-9-5-4-17-5 and 23-4-9-7-2-9, and CML161/Nei 9008 and 22-9-5-4-17-5. Those inbreds could be considered as potential parental pairs for producing hybrid because of their relatively far distance.

Keywords: Maize, SSR, genetic diversity, inbred.

ABSTRAK

Keragaman genetik jagung inbrida diperlukan untuk mendapatkan jagung hibrida yang berpotensi hasil tinggi. Keragaman inbrida dapat dievaluasi melalui analisis molekuler dengan marka *simple sequence repeat* (SSR). Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi keragaman genetik jagung inbrida yang berlatar belakang genetik berbeda dengan marka SSR dan mengelompokkannya sebagai panduan untuk pembentukan jagung hibrida. Sebanyak sepuluh marka SSR digunakan untuk mengelompokkan 32 jagung inbrida yang memiliki latar belakang genetik yang berbeda. Analisis dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, pada bulan Maret 2017. Data polimorfisme SSR pada jagung inbrida dianalisis secara statistik dan filogeninya menggunakan perangkat lunak NTSYS. Hasil analisis keragaman genetik menunjukkan adanya perbedaan antarinbrida, termasuk inbrida yang dihasilkan dari satu populasi jagung bersari bebas. Total sepuluh marka SSR mampu membedakan alel homozigot dan heterozigot jagung inbrida. Dari hasil pengelompokan jagung inbrida pada tingkat kesamaan 68% diperoleh dua kluster. Kluster pertama terdiri atas 30 inbrida, sedangkan kluster kedua hanya terdiri atas inbrida Al-46 dan 22-9-5-4-17-5. Pasangan inbrida dengan jarak genetik terjauh adalah inbrida 22-9-5-4-17-5 dan 23-4-9-7-2-9, dan inbrida CML161/Nei 9008 dan 22-9-5-4-17-5. Inbrida tersebut potensial untuk dijadikan sebagai tetua dalam menghasilkan hibrida karena jarak genetiknya yang relatif jauh.

Kata kunci: Jagung, SSR, keragaman genetik, inbrida.

PENDAHULUAN

Pertanaman jagung hibrida dari waktu ke waktu semakin luas karena produktivitasnya lebih tinggi daripada varietas jagung bersari bebas. Untuk mendapatkan jagung hibrida diperlukan inbrida sebagai tetua. Pemilihan inbrida yang digunakan sebagai tetua didasarkan pada sifat heterosis. Sifat ini dimanifestasikan oleh kemampuan hibrida yang dihasilkan melebihi tetua inbridanya yang umumnya memiliki daya gabung khusus (*specific combining ability/SCA*) yang tinggi pada karakter tanaman yang menjadi target (Pavan et al. 2011). Kemampuan daya gabung antarinbrida dapat diketahui melalui pengujian kombinasi persilangan antar tetua-tetua inbrida. Semakin banyak inbrida yang dimiliki, semakin banyak hibrida yang dihasilkan sehingga memerlukan biaya, waktu, dan tenaga yang lebih banyak.

Efisiensi pembentukan hibrida dapat dilakukan dengan mengelompokkan inbrida ke dalam kelompok heterotik (*heterotic group*). Kelompok inbrida yang disilangkan dengan inbrida lain dan memberikan heterosis yang sama sering disebut sebagai kelompok heterotik. Keragaman inbrida penting untuk pengembangan hibrida, perbedaan genotipe antartetua inbrida dapat diketahui melalui analisis molekuler (Reif et al. 2002; Tandzi et al. 2015). Sampai saat ini, karakter morfologis tanaman kurang menunjukkan hasil yang baik dalam memprediksi hasil hibrida dan SCA (Wegary et al. 2013). Pemilihan tetua inbrida dapat dilakukan dengan memilih inbrida dalam satu kelompok heterotik dan disilangkan dengan inbrida yang lain. Dengan demikian, pembentukan hibrida menjadi lebih efisien karena tidak perlu menyilangkan semua kemungkinan pasangan inbrida.

Simple sequence repeat (SSR) telah banyak digunakan dalam studi keragaman genetik secara molekuler untuk tanaman jagung. SSR efektif untuk mengidentifikasi perbedaan karakter kuantitatif (de Souza et al. 2008) dan mengelompokkan plasma nutfah (Reif et al. 2002). Berdasarkan jarak genetik, marka SSR juga dapat mengelompokkan karakter kualitatif. Sebagai contoh, kelompok jagung dengan warna biji yang sama memiliki jarak genetik lebih rendah daripada yang warna bijinya berbeda (Yu et al. 2012). Jarak genetik berdasarkan marka SSR berkorelasi positif dengan hasil biji dan berkorelasi negatif dengan umur pembungaan jagung, bunga jantan (*tasseling*), dan betina (*silking*). Korelasi marka SSR dengan heterosis tidak terlalu tinggi, kecuali untuk tinggi tanaman (Wegary et al. 2013).

Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi keragaman genetik jagung inbrida yang berlatar belakang genetik berbeda dengan marka SSR dan mengelom-

pokkannya sebagai panduan untuk pembentukan jagung hibrida.

BAHAN DAN METODE

Materi Tanaman

Sebanyak 32 jagung inbrida digunakan dalam analisis molekuler pada penelitian ini (Tabel 1). Jagung inbrida nomor 1–11 merupakan tetua dari jagung hibrida unggul yang telah dilepas (berasal dari populasi Suwan 3 dan introduksi); nomor 12–22 dan 28–32 dibentuk dari populasi varietas bersari bebas Bisma yang memiliki perakaran baik (daya penetrasi, panjang, dan jumlah akar banyak); nomor 23 dan 24 berasal dari varietas bersari bebas Arjuna; nomor 25–27 berasal dari populasi jagung Pool 4 (rekombinasi jagung lokal dengan introduksi berbiji kuning dan berumur sedang).

Ekstraksi DNA Genomik

DNA genomik semua jagung inbrida diekstraksi menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sebanyak dua butir benih jagung digerus sampai halus pada cawan porselen dan mortar

Tabel 1. Daftar 32 jagung inbrida yang digunakan pada penelitian ini.

No.	Inbrida
1.	MR15
2.	MR14
3.	G180
4.	B11-209
5.	G193
6.	Nei 9008
7.	CML161/Nei 9008
8.	N153
9.	N51
10.	B11.126
11.	Al-46
12.	23-4-10-2-23-5
13.	23-4-10-2-23-10
14.	22-9-5-4-17-5
15.	7-2-2-3-9-7
16.	22-9-5-4-7-10
17.	29-8-1-4-2-3
18.	23-4-9-7-2-1
19.	23-4-9-7-2-2
20.	23-4-9-7-2-3
21.	23-4-9-7-2-5
22.	23-4-9-7-2-9
23.	Arc178-1-3-1-1-4-1-xb3
24.	Arc27-3-6-6-1-2-3-xb3
25.	P4G12-19-2-2-3-xb3
26.	P4G19(S)C2-59-3-3-1-3
27.	P4S3-29-4-4-1
28.	23-4-10-2-12-1
29.	23-4-10-2-12-5
30.	23-4-10-2-12-6
31.	23-4-10-2-12-8
32.	23-4-10-2-12-3

yang telah disterilkan terlebih dahulu, tanpa penggunaan nitrogen cair. Bubuk hasil penggerusan kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro 2 ml steril diikuti dengan penambahan 800 μ l bufer ekstraksi (Tris-HCl 100 mM [pH 8,0], NaCl 1,4 M, EDTA 20 mM [pH 8,0], *cetyltrimethylammonium bromide* [CTAB] 2% [w/v], *polyvinylpyrrolidone* [PHP] 2% [w/v], dan Natrium disulfid 0,38% [w/v]). Selanjutnya, campuran tersebut diinkubasi pada 65°C selama 20 menit dan dihomogenkan dengan cara dibolak-balik dengan tangan setiap 5 menit. Selanjutnya, campuran diekstrak menggunakan 800 μ l larutan kloroform : isoamil alkohol (24 : 1) diikuti dengan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm pada 20°C selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro 1,5 ml steril yang baru. Selanjutnya, dilakukan penambahan Natrium asetat 3 M (pH 5,2) sebanyak 1/10 kali volume supernatan diikuti dengan penambahan isopropanol dingin sebanyak satu kali volume supernatan. Campuran dibolak-balik secara perlahan, lalu diinkubasi pada -20°C selama satu jam. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm pada 20°C selama 10 menit. Pelet yang terbentuk dicuci dengan larutan etanol 70% sebanyak 500 μ l dan didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Selanjutnya, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 12.000 rpm pada 20°C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang terbentuk dikeringanginkan untuk menghilangkan sisa-sisa etanol. Pelet yang telah kering dilarutkan dalam 100 μ l bufer TE (Tris 10 mM [pH 8,0] dan EDTA 1 mM) dan ditambah RNase A 10 mg/ml. Larutan tersebut diinkubasi pada 37°C selama 1 jam dan disimpan pada -20°C hingga siap digunakan.

Amplifikasi PCR

Sebanyak sepuluh pasang marka SSR digunakan pada penelitian ini (Tabel 2) dan dipilih berdasarkan kemampuannya dalam mendeteksi keragaman genetik dan keragaan varietas jagung yang telah dilaporkan sebelumnya (Al-Badeiry et al. 2014; Ferreira et

al. 2010). Reaksi PCR disiapkan dalam volume total 10 μ l yang terdiri atas DNA cetakan (*template* DNA) dengan konsentrasi 10 ng/ μ l sebanyak 2 μ l, *KAPA2G Fast ReadyMix* (Kapa Biosystems, AS) sebanyak 5 μ l, marka *forward* dan *reverse* 10 μ M masing-masing sebanyak 0,5 μ l, dan ddH_2O steril. Reaksi PCR dilakukan di dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Jerman) dengan profil PCR sebagai berikut: pradena-turasi pada 95°C selama 5 menit, diikuti sebanyak 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 30 detik, penempelan marka (*annealing*) pada 55°C selama 1 menit, dan perpanjangan basa (*elongation*) pada 72°C selama 1 menit. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa (*final extension*) pada 60°C selama 15 menit. Hasil PCR selanjutnya dielektroforesis pada gel poliakrilamida 8%. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan Etbr dan divisualisasi pada alat *UV Transilluminator* (Bio-Rad, AS).

Analisis Data

Data hasil visualisasi berupa pita ampikon diberi skor dengan perangkat lunak *GelAnalyzer* (Lazar 2010). Setiap pita yang terlihat pada gel dianggap sebagai satu alel. Pita-pita DNA dengan laju pergerakan yang sama dianggap sebagai lokus yang sama. Pada laju yang sama, setiap pita yang terlihat sesuai ukuran target diberi skor 1, sedangkan pita yang tidak terlihat diberi skor 0 sehingga hasil dari penskoran berupa data biner. Data hasil penskoran selanjutnya dianalisis dengan perangkat lunak *Sequential Agglomerative, Hierarchical, and Nested-Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic* (SAHN-UPGMA) berdasarkan indeks kesamaan genetik *Jaccard* pada perangkat lunak NTSYS 2.1. Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram dan matriks kesamaan genetik (Rohl 2000). Data hasil penskoran dianalisis dengan perangkat lunak *PowerMarker* 3.25 (Liu dan Muse 2005) untuk mengetahui nilai frekuensi alel utama, keragaman genetik, *polymorphic information content* (PIC), dan heterozigositas yang dihasilkan

Tabel 2. Daftar marka SSR dan sekuennya yang digunakan pada penelitian ini.

Nama marka	Forward (5' → 3')	Reverse (5' → 3')
umc1946	GAAACGACCAGCACAGCACAT	GCACCACACCATCAGATCCAG
umc1641	CTCCCTTCGTCTCCCGACTC	CAGATCGGCTCAGCCACAAC
bnlg1189	CGTTACCCATTCCCTGCTACG	CTTGCTCGTTTCCATTCCAT
umc2013	GGGACGAGAGTCTGTTGTTGTTG	GTTGATGCATGTGACTCTGGAAAC
umc1653	GAGACATGGCAGACTCACTGACA	GCCGCCACGTACATCTATC
umc1069	AGAGAATCCCCAAGCAAACAAAC	CTTCATCGGAGCCATGGTGT
bnlg1810	ATGCTCCTCCTCTCCTCCAT	GCGATGATGAGCTGCAAGTA
umc1038	CGTCACACTCCTCTGCCACTT	GAGGATTCAGAACTCGACTCGG
umc1630	CAGACCTTCGAGGGCAAGAACT	AGTTTTGGCTTCTTCCCAAGTC
bnlg1017	ATTGGAAGGATCTGCCTGAC	CAGCTGGTGGACTGCATCTA

Sumber: http://www.phi.maizegdb.org/gene_center/gene.

oleh marka SSR yang digunakan.

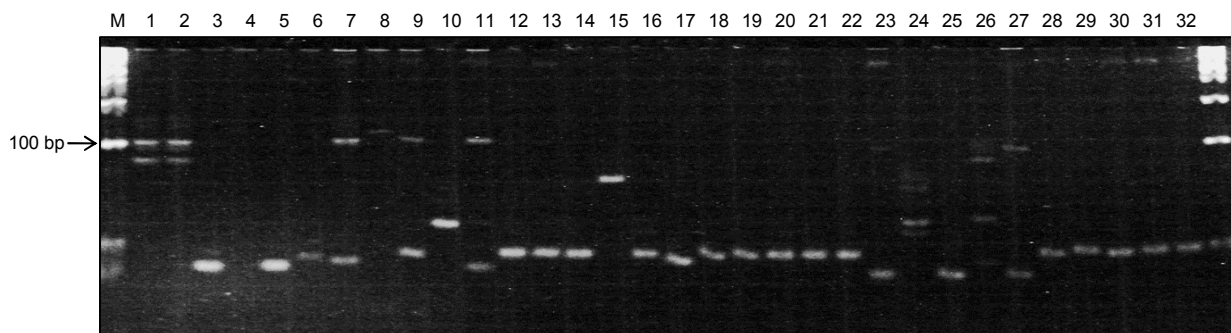
HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Alel Berdasarkan Sepuluh Marka SSR

Sebanyak 73 alel berhasil dideteksi pada 32 jagung inbrida berdasarkan 10 marka SSR. Contoh pola pita SSR ditampilkan pada Gambar 1. Rerata jumlah alel adalah 7,30 alel dengan 3–11 alel per lokus SSR, lebih tinggi daripada hasil Legesse et al. (2007) yang reratanya hanya 3,85 alel dari 56 jagung inbrida yang dianalisis, walaupun menggunakan 30 lokus SSR. Dengan demikian, jumlah dan tipe inbrida berpengaruh terhadap alel yang diidentifikasi. Rerata jumlah alel dalam studi ini juga lebih tinggi daripada hasil Bantte dan Prasanna (2003) dan Pinto et al. (2003) yang masing-masing sebesar 3,25 alel dan 4,16 alel. Dalam studi ini, rerata frekuensi alel utama yang diperoleh sebesar 38% dengan nilai terendah (16%) pada lokus umc1946 dan nilai tertinggi (93%) pada lokus umc1038. Seluruh marka SSR yang digunakan mampu membedakan genotipe heterozigot dan homozigot dengan nilai heterozigositas sebesar 0,09 (umc1946) hingga 0,75 (umc1630) dengan rerata 0,40. Alel heterozigot merupakan dua alel yang ber-

beda ukuran yang menunjukkan pemisahan alel secara genetik (Shehata et al. 2009). Inbrida yang mengandung alel heterozigot ditunjukkan oleh inbrida MR14, MR15, CML161/Nei 9008, A146, P4G19(S)C2-59-3-3-1-3, dan P4S3-29-4-4-1. Rentang nilai keragaman genetiknya sebesar 0,13 (umc1038) hingga 0,88 (umc1946) dengan rerata 0,71. Keragaman genetik yang semakin tinggi menunjukkan keragaman genetik antarinbrida yang dianalisis semakin tinggi. Heterozigositas menunjukkan adanya alel hasil *outcrossing*.

Sementara itu, nilai PIC yang mencerminkan tinggi rendahnya tingkat polimorfisme didapatkan antara 0,13 (umc1038) dan 0,87 (umc1946) dengan rerata 0,69. Marka dengan nilai PIC lebih dari 0,7 menunjukkan marka informatif (Hildebrand et al. 1992) dan memiliki kemampuan yang tinggi dalam membedakan antarinbrida (Legesse et al. 2007). Dengan demikian, pada penelitian ini telah diidentifikasi delapan marka informatif yang bermanfaat untuk membedakan jagung-jagung inbrida, yakni bnlgl1189, bnlgl1810, bnlgl1017, umc1630, umc2013, umc1641, umc1946, dan umc1653, seperti ditampilkan pada Tabel 3. Selain itu, tipe ulangan motif SSR berpengaruh terhadap perbedaan alel. Nilai rerata PIC ini



Gambar 1. Pola pita hasil amplifikasi jagung inbrida dengan marka umc1653 yang dielektroforesis pada gel poliakrilamida 8%. Urutan sampel 1–32 seperti tercantum pada Tabel 1. Sumur paling kiri dan kanan berisi DNA *Ladder*.

Tabel 3. Jumlah alel, frekuensi alel utama, keragaman genetik, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme yang dihasilkan 32 jagung inbrida pada penelitian ini.

Nama marka	Jumlah alel	Frekuensi alel utama	Keragaman genetik	Heterozigositas	PIC
bnlg1189	8	0,25	0,82	0,47	0,80
bnlg1810	7	0,39	0,75	0,69	0,72
bnlg1017	7	0,27	0,80	0,70	0,78
umc1630	6	0,31	0,81	0,75	0,78
umc1069	4	0,71	0,46	0,10	0,43
umc2013	10	0,18	0,87	0,73	0,86
umc1641	9	0,28	0,81	0,19	0,79
umc1946	11	0,16	0,88	0,09	0,87
umc1038	3	0,93	0,13	0,10	0,13
umc1653	8	0,37	0,77	0,19	0,74
Jumlah	73				
Rerata	7,30	0,38	0,71	0,40	0,69

lebih tinggi daripada jagung inbrida hasil Shiri (2011), yaitu 0,53, tetapi sebanding dengan hasil Pineda-Hidalgo et al. (2013), yaitu 0,68, dan Pandit et al. (2016), yaitu 0,65. Studi ini menunjukkan adanya multialel dan variasi genetik yang cukup tinggi (lebih dari tujuh alel), bahkan lebih tinggi daripada keragaman genetik jagung inbrida dataran tinggi yang juga dianalisis dengan marka SSR (Vaz Patto et al. 2004). Hal ini mungkin disebabkan oleh heterozigot residu atau mutasi lokus SSR spesifik atau amplifikasi sekuen mirip di daerah genom karena duplikasi di dalam genom (Legesse et al. 2007). Jadi, keragaman genetik merupakan faktor penting yang membatasi jumlah alel pada tiap lokus SSR dalam skrining inbrida.

Kesamaan Genetik AntarJagung Inbrida

Analisis jarak genetik antarjagung inbrida merefleksikan kekerabatan *pedigree* untuk meyakinkan kecukupan evaluasi menggunakan data marka molekuler (Vas Patto et al. 2004). Hasil analisis menunjukkan bahwa kesamaan genetik antarinbrida tetua dari pembentuk hibrida Bima bervariasi. Kesamaan genetik paling dekat dihasilkan antara inbrida G180 dan

MR14 dan paling jauh antara inbrida Nei 9008 dan MR14 (Tabel 4).

Inbrida-inbrida yang dihasilkan dari populasi varietas Bisma memiliki kesamaan genetik sebesar 0,62–0,93 (Tabel 5). Hal ini dapat dipahami karena varietas Bisma dibentuk dari rekombinasi berbagai varietas lokal dan introduksi sehingga setiap individu tanaman dimungkinkan memiliki genotipe yang berbeda dengan individu tanaman yang lain. Dengan demikian, akan diperoleh hibrida hasil persilangan antarinbrida yang berasal dari populasi bersari bebas yang sama. Inbrida nomor 14 (22-9-5-4-17-5) dan nomor 22 (23-4-9-7-2-9) memiliki jarak terjauh (kesamaan genetik paling rendah) di antara pasangan inbrida yang lain.

Hasil penelitian Reif et al. (2002) dan Choukan dan Warburton (2006) mendapatkan korelasi positif yang rendah antara jarak genetik berdasarkan SSR dengan hibrida F₁, SCA, dan *mid-parent heterosis* (MPH). Namun, pendugaan untuk mendapatkan hasil persilangan terbaik melalui jarak genetik tidak konsisten (Choukan dan Warburton 2006) dan korelasi positif yang rendah antara jarak genetik dengan hasil, heterosis, dan SCA (Singh 2015). Tidak ada korelasi

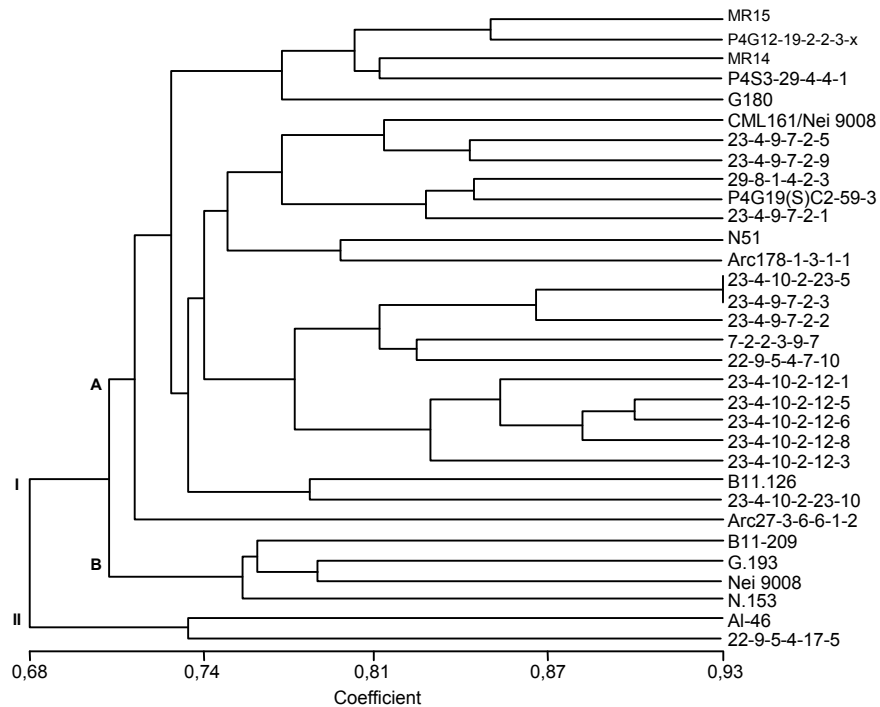
Tabel 4. Jarak genetik antarjagung inbrida menurut Rohlf (2000) pembentuk hibrida varietas Bima.

Inbrida tetua betina	Tetua jantan	Hibrida	Kesamaan genetik
G180	MR14	Bima-4	0,80
B11-209	MR14	Bima-2	0,69
G193	MR14	Bima-5	0,73
Nei 9008	MR14	Bima-3	0,68
CML 161/Nei 9008	MR15	Bima-9	0,77
N153	MR15	Bima-10	0,73
N51	MR15	Bima-14	0,78
B11-126	MR15	Bima-11	0,70
AI-46	MR15	Bima-15	0,71

Tabel 5. Matrik kesamaan genetik antarjagung inbrida menurut Rohlf (2000) yang berasal dari populasi varietas Bisma.

Inbrida no.*	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	28	29	30	31	32
12	1,00															
13	0,80	1,00														
14	0,71	0,75	1,00													
15	0,81	0,69	0,66	1,00												
16	0,82	0,73	0,73	0,82	1,00											
17	0,71	0,75	0,70	0,69	0,73	1,00										
18	0,80	0,78	0,70	0,77	0,78	0,84	1,00									
19	0,90	0,83	0,77	0,79	0,83	0,71	0,83	1,00								
20	0,93	0,78	0,70	0,82	0,78	0,73	0,78	0,83	1,00							
21	0,81	0,76	0,64	0,71	0,76	0,78	0,79	0,79	0,76	1,00						
22	0,70	0,80	0,62	0,67	0,71	0,76	0,80	0,79	0,71	0,84	1,00					
28	0,81	0,77	0,66	0,70	0,80	0,77	0,77	0,79	0,74	0,83	0,74	1,00				
29	0,81	0,71	0,69	0,73	0,74	0,80	0,74	0,74	0,77	0,79	0,73	0,84	1,00			
30	0,92	0,77	0,69	0,78	0,80	0,77	0,80	0,81	0,88	0,81	0,70	0,84	0,90	1,00		
31	0,82	0,75	0,67	0,69	0,75	0,78	0,75	0,74	0,78	0,86	0,74	0,88	0,89	0,88	1,00	
32	0,80	0,75	0,64	0,71	0,78	0,75	0,81	0,77	0,78	0,81	0,76	0,85	0,80	0,82	0,84	1,00

*Nomor pada tabel ini mengacu nama inbrida yang tercantum pada Tabel 1.



Gambar 2. Dendrogram 32 jagung inbrida berdasarkan metode UPGMA dengan perangkat lunak NTSYS.

antara jarak genetik dengan hasil biji, MPH, dan heterobeltiosis atau *high-parent heterosis* (HPH), bila jarak genetik lebih dari 0,77. Korelasi yang tinggi antara jarak genetik dengan hasil biji F_1 dan SCA, seperti terlihat pada subset persilangan spesifik pada rentang jarak genetik yang sempit dapat digunakan sebagai pertimbangan praktis untuk menduga hasil hibrida (George et al. 2011). Semakin jauh jarak genetik, semakin kuat heterosis dan SCA. Oleh karena itu, jarak genetik dapat dipertimbangkan sebagai acuan dalam pemuliaan (Pavlov et al. 2016; Yi et al. 2017), termasuk pada penelitian ini yang menganalisis jagung inbrida Indonesia.

Analisis Filogenetik 32 Jagung Inbrida

Analisis filogenetik berdasarkan perangkat lunak NTSYS menunjukkan bahwa 32 jagung inbrida yang diuji mengelompok menjadi dua klaster utama pada koefisien kemiripan 0,68 (Gambar 2). Klaster pertama terdiri atas 30 inbrida, sedangkan klaster kedua hanya terdiri atas inbrida Al-46 dan 22-9-5-4-17-5. Selanjutnya, klaster pertama terbagi lagi menjadi dua subklaster, yaitu subklaster IA yang terdiri atas 26 inbrida dan subklaster IB yang terdiri atas empat inbrida tetua dari hibrida yang dilepas (B11-209, G193, Nei 9008, dan N.153). Demikian halnya dengan inbrida MR15, MR14, dan G180 yang berada dalam kelompok yang sama di subklaster IA dan dekat dengan dua inbrida dari populasi jagung Pool4. Hasil ini menunjukkan terdapat

kecenderungan inbrida penghasil hibrida tertentu mengelompok pada satu subklaster. Lima inbrida yang dibentuk dari varietas Bisma menunjukkan kedekatannya secara genetik seperti ditunjukkan dalam salah satu kelompok di subklaster IA. Hasil pengelompokan ini menunjukkan bukti asosiasi berdasarkan catatan *pedigree*-nya, sesuai dengan hasil yang didapatkan oleh Reif et al. (2003). Namun, tidak semua inbrida berada dalam satu kelompok berdasarkan *pedigree*-nya seperti yang ditunjukkan pada inbrida dari varietas Bisma yang terpisah kelompoknya. Perbedaan ini dapat terjadi karena pengaruh seleksi dan mutasi SSR (Warburton et al. 2002).

Berdasarkan jarak genetik, terdapat dua inbrida dengan nilai kesamaan genetik paling tinggi, yaitu inbrida 23-4-10-2-23-5 dan 23-4-9-7-2-3. Keduanya memiliki nilai kesamaan genetik sebesar 93,2%. Dalam pemilihan tetua persilangan, inbrida-inbrida dengan jarak genetik dekat sebaiknya dihindari untuk mencegah terjadinya *inbreeding*. Inbrida dengan kesamaan genetik rendah sebesar 0,62, yaitu inbrida 22-9-5-4-17-5 dan 23-4-9-7-2-9, dan sebesar 0,60, yaitu inbrida CML161/Nei 9008 dan 22-9-5-4-17-5. Keduanya potensial untuk dijadikan sebagai tetua karena jarak genetik yang relatif jauh. Hasil analisis molekuler ini dapat digunakan untuk mendukung pembentukan hibrida dalam pemilihan inbrida tetua persilangannya.

KESIMPULAN

Analisis keragaman genetik dengan sepuluh marka SSR yang telah digunakan dapat menunjukkan adanya perbedaan antarjagung inbrida. Dari hasil penelitian diketahui terdapat perbedaan genetik antar-inbrida yang dihasilkan dari populasi jagung bersari bebas. Pada pengelompokan 32 jagung inbrida pada tingkat kesamaan 68%, diperoleh sebanyak dua klaster. Untuk pembentukan jagung hibrida, dapat dipertimbangkan untuk menyilangkan jagung-jagung inbrida yang berada dalam kelompok yang berbeda, seperti antara inbrida 22-9-5-4-17-5 dan 23-4-9-7-2-9, dan inbrida CML161/Nei 9008 dan 22-9-5-4-17-5 yang memiliki jarak genetik relatif jauh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dibiayai melalui anggaran rutin APBN BB Biogen, Balitbangtan, Kementan TA 2017. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Meddy Saputra yang membantu dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Badeiry, N.A.H., Al-Saadi, A.H. & Merza, T.K. (2014) Analysis of genetic diversity in maize (*Zea mays* L.) varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences*, 22 (6), 1768–1774.
- Bantte, K. & Prasanna, B.M. (2003) Simple sequence repeat polymorphism in quality protein maize (QPM) lines. *Euphytica*, 12 (3), 337–344.
- Choukan, R. & Warburton, M.L. (2006) Genetic distance based on SSR markers and test cross performance of maize inbred lines. *Iranian Journal of Biotechnology*, 4 (4), 254–259.
- de Souza, S.G.H., Carpentieri-Pípolo, V., de Fátima Ruas, C., de Paula Carvalho, V., Ruas, M.M. & Gerage, A.C. (2008) Comparative analysis of genetic diversity among the maize inbred lines (*Zea mays* L.) obtained by RAPD and SSR markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51 (1), 183–192.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Ferreira, D.V., Von Pinho, R.G., Balestre, M. & Oliveira, R.L. (2010) Prediction of maize hybrid performance using similarity in state and similarity by descent information. *Genetics and Molecular Research*, 9 (4), 2381–2394.
- George M.L.C., Salazar, F. Warburton, M.L., Narro, L. & Vallejo, F.A. (2011) Genetic distance and hybrid value in tropical maize under P stress and nonstress conditions in acid soils. *Euphytica*, 178 (1), 99–109.
- Hildebrand, C.E., Torney, D.C. & Wagner, R.P. (1992) Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science*, 30, 100–102.
- Lazar, I. (2010) *Gel Analyzer 2010, user's manual*. [Online] Available from: http://www.gelanalyzer.com/downloads/users_manual_2010.pdf [Accessed 10 February 2017].
- Legesse, B.W., Myburg, A.A., Pixley, K.V. & Botha, A.M. (2007) Genetic diversity of African maize inbred lines revealed by SSR markers. *Hereditas*, 144 (1), 10–17.
- Liu, K. & Muse, S.V. (2005) PowerMaker: An integrated analysis environment for genetic maker analysis. *Bioinformatics*, 21 (9), 2128–2129.
- Pandit, M., Chakraborty, M., Haider, Z.A., Pande, A., Sah, R.P. & Sourav, K. (2016) Genetic diversity assay of maize (*Zea mays* L.) inbreds based on morphometric traits and SSR markers. *African Journal of Agricultural Research*, 11 (24), 2118–2128.
- Pavan, R., Prakash, G. & Mallikarjuna, N.M. (2011) General and specific combining ability studies in single cross hybrids of maize (*Zea mays* L.). *Current Biotica*, 5 (2), 196–208.
- Pavlov, J., DeliĆ, N., Živanovic, T., Ristić, D., Čamdžija, Z., Stevanović, M. & Tolimir, M. (2016) Relationship between genetic distance, specific combining abilities, and heterosis in maize (*Zea mays* L.). *Genetika*, 48 (1), 165–172.
- Pineda-Hidalgo K.V., Méndez-Marroquín K.P., Alvarez EV, Chávez-Ontiveros, J., Sánchez-Peña, P., Garzón-Tiznado, J.A., Vega-García, M.O. & López-Valenzuela J.A. (2013) Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in México. *Hereditas*, 150 (4), 53–59.
- Pinto, L.R., Vieira, M.L.C., de Souza Jr., C.L. & de Souza, A.P. (2003) Genetic diversity assessed by microsatellites in tropical maize population submitted to high-density reciprocal recurrent selection. *Euphytica*, 134, 277–286.
- Reif, J.C., Melchinger, A.E., Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Vasal, S.K., Beck, D., Bohn, M. & Frisch, M. (2003) Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (5), 947–957.
- Reif, J.C., Melchinger, A.E., Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Vasal, S.K., Srinivasan, G., Bohn, M. & Frisch, M. (2002) Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. *Crop Science*, 43 (4), 1275–1282.
- Rohlf, F. (2000) *NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis sistem. Version: 2.1*. New York, Exeter Software.
- Shehata, A.I., Al-Ghethar, H.A. & Al-Homaidan, A.A. (2009) Application of simple sequence repeat (SSR) markers for molecular diversity and heterozygosity analysis in maize inbred lines. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 16 (2), 57–62.

- Shiri, M. (2011) Identification of informative simple sequence repeat (SSR) markers for drought tolerance in maize. *African Journal of Biotechnology*, 10 (73), 16414–16420.
- Singh, P. (2015) Genetic distance, heterosis, and combining ability studies in maize for predicting F₁ hybrid performance. *Sabrao Journal of Breeding and Genetics*, 47 (1), 21–28.
- Tandzi, L.N. & Ngonkeu, E.L. (2015) Molecular characterization of selected maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Maize Genomics and Genetics*, 6 (2), 1–5.
- Vaz Patto, M.C., Satovic, Z., Pêgo, S. & Fevereiro, P. (2004) Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica*, 137 (1), 63–72.
- Warburton, M.L., Xianchun, X., Crossa, J., Franco, J., Melchinger, A.E., Frisch, M., Bohn, M. & Hoisington, D. (2002) Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open-pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Science*, 42, 1832–1840.
- Wegary, D., Vivek, B. & Labuschagne, M. (2013) Association of parental genetic distance with heterosis and specific combining ability in quality protein maize. *Euphytica*, 191 (2), 205–216.
- Yi, Z., Jiao, R., Xu, Y., Dai, X., Hou, Z. & Liu, X. (2017) An analysis on the relationship between maize heterosis and genetic distance. *Asian Agricultural Research*, 9 (3), 77–79.
- Yu, R.H., Wang, Y.L., Sun, Y. & Liu, B. (2012) Analysis of genetic distance by SSR in waxy maize. *Genetics and Molecular Research*, 11 (1), 254–260.
-