

# Pemanfaatan Markah Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman Padi (Utilization of Molecular Markers for Rice Breeding)

Tasliah

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; \*E-mail: tasliah1@yahoo.co.id

Diajukan: 26 Januari 2021; Direvisi: 16 Juni 2021; Diterima: 30 Juni 2021

## ABSTRACT

Rice is the staple food for more than half of the world's population. Rice production in 2050 must increase by at least 50% to keep up with the population growth. Efforts to increase rice production continue using various strategies. Breeders apply multiple approaches including application of molecular markers in developing varieties better than the previous ones. Since the discovery of the restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers in 1980s and the development of polymerase chain reaction (PCR) method, many types of molecular markers have been developed and applied to various crops including rice. Various molecular approaches to map genetic loci associated with rice superior traits were conducted. The mapped loci are very useful for rice breeding purposes. This paper reports the results of mapping and breeding economically important traits in rice, mainly those related to abiotic stresses, agronomic traits, yield, and yield quality. These included characters of semidwarf stature, aromatic grain, high yield potential, eating quality, higher Zn and Fe grain, more tolerant to abiotic stresses, such as salinity, drought, phosphate deficiency, Al toxicity and Fe toxicity, submergence, as well as early maturity character. The mapped characters can be transferred using marker-assisted backcrossing (MABC) method into cultivated rice genotypes well-adopted by farmers. Several countries including Indonesia have benefited from this breeding method, and Indonesia have released several rice varieties developed through MABC. These include rice varieties such as Code, Angke, Inpari 30, Inpari Blas, Inpari HDB, Bio Patenggang Agritan, and Bioni 63 Cihorang Agritan.

**Keywords:** Rice, molecular marker, marker-assisted selection, breeding, high economic traits.

## ABSTRAK

Beras sampai saat ini masih menjadi makanan pokok bagi lebih dari setengah populasi manusia di dunia. Produksi padi pada tahun 2050 harus meningkat minimal 50% dari sekarang untuk mengimbangi pertumbuhan jumlah penduduk saat itu. Oleh karena itu, berbagai strategi diupayakan untuk meningkatkan produksi padi. Pemulia padi mengaplikasikan berbagai pendekatan untuk menghasilkan varietas unggul baru yang lebih baik dibanding dengan varietas sebelumnya. Salah satunya dengan memanfaatkan markah molekuler dalam proses seleksi. Sejak penemuan markah *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) tahun 1980-an dan metode *polymerase chain reaction* (PCR), berbagai jenis markah molekuler telah dihasilkan dan diaplikasikan pada pemuliaan berbagai tanaman, termasuk padi. Berbagai upaya memetakan karakter unggul bernilai ekonomi tinggi pada padi telah dilakukan dengan menggunakan markah molekuler ini. Lokus-lokus yang telah dipetakan tersebut sangat bermanfaat untuk pemuliaan padi. Tulisan ini melaporkan hasil-hasil pemetaan genetik dan pemuliaan molekuler tanaman padi, terutama pada karakter-karakter yang bernilai ekonomi tinggi. Karakter-karakter yang dibahas antara lain tinggi tanaman *semidwarf*, beras aromatik, potensi hasil tinggi, *eating quality*, nutrisi Zn dan Fe, karakter toleransi terhadap salinitas, kekeringan, defisiensi fosfat, keracunan Al, keracunan Fe, dan rendaman, serta karakter umur genjah. Berbagai karakter yang telah dipetakan ini dapat diintrogresikan dengan metode silang balik *marker-assisted backcrossing* (MABC) ke dalam genom tetua padi budi daya yang telah diterima baik oleh masyarakat (*mega variety*). Beberapa negara termasuk Indonesia telah merasakan manfaat penggunaan metode ini. Dengan menggunakan MABC, Indonesia telah melepas beberapa varietas padi, di antaranya Code, Angke, Inpari 30, Inpari Blas, Inpari HDB, Bio Patenggang Agritan, dan Bioni 63 Cihorang Agritan.

**Kata kunci:** Padi, markah molekuler, seleksi dengan bantuan markah molekuler, pemuliaan, karakter bernilai ekonomi tinggi.

## PENDAHULUAN

Kegiatan pemuliaan secara konvensional telah terbukti dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas hasil tanaman padi. Pemuliaan tanaman padi memberikan kontribusi yang besar pada produksi beras dan berperan penting untuk menjaga ketahanan pangan nasional Indonesia dari tahun ke tahun. Metode pemuliaan tanaman padi secara konvensional ini masih terus dilakukan dan merupakan proses yang harus selalu ada. Pada umumnya, para pemulia melakukan pemilihan genotipe secara tidak langsung melalui karakter fenotipe yang secara umum hanya efektif untuk sifat-sifat kualitatif, namun tidak efektif untuk sifat-sifat kuantitatif. Hal ini disebabkan karakter kuantitatif memiliki variasi yang dikendalikan oleh banyak gen dan dipengaruhi kuat oleh faktor lingkungan (Rao et al. 2014).

Program pemuliaan padi secara konvensional memerlukan waktu yang lama, juga memiliki beberapa kendala, seperti kendala ekologis, fisiologis, dan biologis. Selain itu, pemulia padi menghadapi banyak tantangan lain, seperti adanya fenomena pemanasan global dan perubahan iklim yang menyebabkan cekaman abiotik lebih sering terjadi dan munculnya biotipe hama dan penyakit baru yang lebih virulen, yang keduanya menyebabkan penurunan hasil (Rao et al. 2014; Hasan et al. 2015; Das et al. 2017; Shabir et al. 2017).

Untuk mengatasi kendala-kendala yang dihadapi pada pemuliaan konvensional, seperti keterbatasan lahan untuk menguji banyak galur, ekspresi karakter yang dipengaruhi kuat oleh faktor lingkungan, dan terbatasnya sumber daya pemuliaan, para ahli telah mengembangkan konsep pemuliaan non-konvensional yaitu teknik biologi molekuler menggunakan teknik seleksi dengan bantuan markah molekuler. Pada beberapa dekade terakhir terjadi kemajuan yang pesat pada metodologi dan sarana prasarana pemuliaan padi secara nonkonvensional dengan aplikasi teknologi pemuliaan molekuler. Pemuliaan molekuler mengacu pada pengembangan varietas padi dengan mengintegrasikan sarana bioteknologi ke dalam metode pemuliaan konvensional dengan mengintegrasikan metode seleksi dengan bantuan markah molekuler yang dikenal dengan *marker-assisted selection* (MAS) (Collard et al. 2005; Rao et al. 2014; Das et al. 2017). Pemuliaan molekuler secara potensial dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi dalam perbaikan tanaman untuk meningkatkan hasil panen, ketahanan terhadap hama dan pe-

nyakit, dan toleransi terhadap cekaman lingkungan/abiotik.

## MARKAH MOLEKULER UNTUK PEMULIAAN PADI

Dengan perkembangan teknologi biologi molekuler pada beberapa dekade terakhir, berbagai jenis markah molekuler telah dibuat dan dimanfaatkan untuk tujuan pemuliaan tanaman. Markah-markah molekuler yang telah digunakan pada pemuliaan padi, yaitu *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) (Jena et al. 1992), *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Bhuiyan et al. 2019), *sequence characterized amplification region* (SCAR) (Naqvi dan Cahattoo 1996), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) (Zhu et al. 1998), *sequence-tagged site* (STS) (Li et al. 2001), *simple sequence repeat* (SSR) (McCouch et al. 2002), *single nucleotide polymorphism* (SNP) (McCouch et al. 2010), *inter simple sequence repeat* (ISSR) (Kumbhar et al. 2013), *single nucleotide amplified polymorphism* (SNAP) (Lestari dan Koh 2013), *kompetitive allele-specific PCR* (KASP) (Cheon et al. 2019), *insertion-deletions* (indels) (Roy dan Lachagari 2017), *cleaved amplified polymorphic sequence* (CAPS/dCAPS) (Lestari dan Koh 2013), *allele-specific PCR* (ASP) (Bosamia et al. 2014), dan *microarray* (Chen et al. 2014a). Pada ulasan berikut disajikan berbagai jenis markah molekuler yang banyak digunakan pada program pemuliaan padi.

## RAPD DAN SCAR

Markah RAPD merupakan sekuens DNA sederhana (10 basa) dengan sekuens primer *forward* (F) dan *reverse* (R) yang sama. Sekuens ini dibuat secara acak tanpa mempertimbangkan ada tidaknya sekuens tersebut di dalam genom. Oleh karena itu, markah RAPD ini dapat diaplikasikan pada genom hewan dan tumbuhan. Markah RAPD telah banyak digunakan pada padi, dan sampai sekarang masih digunakan terutama untuk studi kekerabatan genetik berbagai genotipe padi.

Markah SCAR ialah fragmen DNA spesifik hasil amplifikasi PCR menggunakan markah RAPD yang disekuensing, kemudian dari data sekuens fragmen RAPD tersebut didesain primer F dan R baru berbasis ampikon RAPD tersebut. Markah SCAR menghasilkan pita utama tunggal dengan ukuran pita DNA yang sama dengan ukuran pita DNA fragmen RAPD dari asal markah SCAR tersebut didesain. Berbeda

dengan markah RAPD yang termasuk kelompok markah dominan, markah kodominan kadang-kadang dapat dihasilkan dari hasil amplifikasi markah SCAR. Keuntungan utama markah SCAR adalah uji markah dapat dilakukan dengan cepat dan markah ini mudah digunakan. Selain itu, SCAR memiliki tingkat keberulangan (reproduktivitas) yang tinggi dan bersifat lokus spesifik. Uji markah dilakukan dengan metode PCR sehingga hanya dibutuhkan sejumlah kecil sampel DNA. Markah SCAR telah digunakan pada studi genetik berbagai spesies tanaman, di antaranya untuk tujuan pemetaan gen (Paran dan Michelmore 1993).

### STS

STS ialah markah berbasis urutan unik di dalam genom yang dapat dideteksi dengan amplifikasi PCR. Markah STS ini merupakan turunan dari pita spesifik yang dihasilkan oleh markah lain dan telah diketahui peranannya. Produk PCR dari uji markah lain (RFLP, RAPD, dll.) didenaturasi menjadi utas tunggal, kemudian dipisahkan pada gel poliakrilamida. Pita-pita polimorfis diambil dari gel dengan cara memotong bagian gel yang memuat pita-pita tersebut, kemudian dilarutkan dengan 50 µl bufer TE untuk dilakukan amplifikasi PCR kembali. Produk PCR kemudian disekuensing untuk mengetahui urutan basanya. Setelah itu, dilakukan sintesis primer baru menggunakan program Primer3 berdasarkan urutan basa di kedua ujungnya.

Markah-markah yang diperoleh kemudian dapat diaplikasikan untuk kegiatan pemetaan. Urutan DNA pada markah STS dapat berupa elemen berulang, dan urutan tersebut dapat muncul di dalam genom, tetapi selama urutan di kedua ujung situs adalah unik, para peneliti dapat menggunakannya untuk mengidentifikasi bagian genom. Markah STS termasuk salah satu markah DNA berbasis PCR. Markah STS ini telah banyak diaplikasikan pada program pemuliaan molekuler berbagai tanaman, misalnya markah STS K20-1 yang telah digunakan untuk seleksi gen *Pup1* pada padi (Aluwihare et al. 2017), dan markah STS OsIRT1, OsIRT2, dan OsFRO2 yang telah digunakan pada program pemuliaan untuk perbaikan toleransi Fe pada padi (Chrisnawati et al. 2016).

### SSR

Markah SSR yang disebut juga mikrosatelit ialah markah dengan pengulangan nukleotida 1–6 basa yang ditemukan di dalam genom prokariotik dan eukariotik. Variasi pada mikrosatelit dianggap sebagai kesalahan replikasi, pengaturan ulang (*rearrangement*) terjadi karena insersi, delesi, atau mutasi substitusi. Markah SSR terletak pada daerah *coding* dan *noncoding* DNA, dengan jumlah yang banyak di dalam genom tanaman dan keragaan markah ini tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Agarwal et al. 2008).

Mikrosatelit dikelompokkan berdasarkan ukuran dan lokasinya di dalam genom yang meliputi nuSSR (nukleus/inti sel), cpSSR (kloroplas), dan mtSSR (mitokondria). Pada tahun 2002 telah dipublikasikan peta genetik padi secara komprehensif menggunakan markah SSR (McCouch et al. 2002). Secara keseluruhan, peta tersebut mengandung 2.414 markah SSR dengan pengulangan dinukleotida, trinukleotida, dan tetranukleotida yang dikembangkan dan divalidasikan pada genom tanaman padi. Pada perkembangan selanjutnya, lebih dari 20.000 markah SSR padi yang tersebar merata pada 12 kromosom padi telah dibuat (Borba et al. 2010; Yonemaru et al. 2010). SSR memiliki banyak keunggulan, di antaranya multiallel, kodominan, handal, terdistribusi merata di dalam genom, membutuhkan jumlah cetakan DNA sedikit, efisien, hemat biaya, dan bagus untuk teknologi terdepan (*high throughput*) (McCouch et al. 2002).

### SNP

Markah SNP yang telah terdeteksi dan tervalidasi pada genom padi jumlahnya sangat banyak dan markah yang jumlahnya melimpah ini dapat dimanfaatkan sebagai alat seleksi. Chen et al. (2014b) melaporkan identifikasi 10.000.000 SNP dari hasil penjajaran sekuens 801 varietas padi. Dari jumlah tersebut, kurang dari 10.000 SNP yang telah digunakan (Yu et al. 2014). Penggunaan markah ini sama dengan markah mikrosatelit, hanya cara aplikasi markah SNP lebih cepat, dan jumlah markahnya dapat sangat banyak, namun memerlukan alat dan biaya operasional yang lebih mahal. Karena jumlahnya yang berlimpah, markah SNP dapat disusun dalam *chip* yang mengandung ribuan, bahkan jutaan markah SNP dalam satu set *chip* SNP yang dapat digunakan pada *high throughput genotyping* berbagai genotipe padi. Dengan

demikian, markah SNP mempercepat pelabelan gen dan karakter kuantitatif unggul sehingga mempercepat program pemuliaan berbagai karakter penting pada padi.

Penelitian terkait dengan penggunaan markah SNP pada padi antara lain studi keragaman genetik padi lokal di India (Choudhury et al. 2014), perbedaan padi *japonica-indica* (Kim dan Tai 2013), dan pemetaan QTL (Kim et al. 2009; Lestari et al. 2016). Markah-markah SNP yang diketahui terkait dengan sifat-sifat penting pada padi dapat dikonversi menjadi markah sederhana yang dapat diamplifikasikan dengan PCR dan pita markah dapat dipisahkan pada gel agarosa atau poliakrilamida. Markah jenis ini dapat digunakan dengan mudah untuk program pemuliaan tanaman. Markah tersebut dikenal sebagai markah SNAP.

#### PEMULIAAN PADI UNTUK KARAKTER PENTING BERNILAI EKONOMI TINGGI

Perakitan berbagai varietas padi yang unggul pada berbagai karakter penting bernilai ekonomi tinggi, seperti arsitektur tanaman relatif pendek (*semidwarf*), tahan terhadap hama dan penyakit utama, toleran terhadap cekaman lingkungan (keracunan aluminium [Al], besi [Fe], salinitas, kekeringan, dan rendaman), dan kualitas nasi, telah dilakukan dengan bantuan markah molekuler. Pada ulasan ini diuraikan tentang pemanfaatan markah molekuler pada pemuliaan tanaman padi untuk karakter-karakter penting yang bernilai ekonomi tinggi seperti yang telah diuraikan sebelumnya.

##### Pemuliaan Padi *Semidwarf*

Keragaan tanaman padi pada masa sebelum revolusi hijau umumnya tinggi (160–170 cm) dan memiliki umur panjang (Khush 2001). Oleh karena itu, untuk mendukung revolusi hijau dirakitlah tanaman padi yang tidak terlalu tinggi, berumur sedang, dan responsif terhadap pupuk kimia. Tinggi tanaman padi tersebut berkisar 90–100 cm. Hal ini bertujuan agar tanaman mudah ditangani dan tidak mudah rebah saat memasuki fase generatif sehingga kehilangan hasil dapat ditekan. Pemuliaan untuk karakter tinggi tanaman ini disebut pemuliaan *semidwarf* dengan memanfaatkan gen *sd-1* pada kromosom 1. Pada tahun 1966 IRRI telah melepas varietas padi *semidwarf* yang dinamakan IR8 (Spielmeyer et al. 2002; Tomita dan Ishii 2018). IR8 merupakan hasil persilangan antara varietas Peta

yang memiliki postur tinggi (150–180 cm) dan donor *sd-1* dari Cina Dee-geo-woo-gen (DGWG). IR8 yang dihasilkan memiliki tinggi tanaman 90–100 cm. Penanaman padi IR8 *semidwarf* menyebabkan rekor peningkatan hasil di seluruh Asia pada tahun 1966. Terjadi peningkatan hasil dari 6 t/ha menjadi 10 t/ha di daerah tropis (Peng et al. 2008).

Pemanfaatan gen *sd-1* (Tabel 1) pada padi lokal Indonesia Siputeh yang berasal dari Aceh juga telah dilakukan (Luo et al. 2014). Varietas donor *sd-1* adalah WH421 dari Cina. Galur unggul hasil persilangan yang dinamakan TS4 diseleksi dengan menggunakan markah sdSTS (Tabel 1). Saat ditanam di Aceh pada musim penghujan 2011/2012, tinggi tanaman Siputeh  $208,3 \pm 3,9$  cm, sedangkan galur TS4  $123,7 \pm 2,1$  cm. Saat ditanam di daerah Lingshui, Cina pada tahun 2013, tinggi tanaman Siputeh  $214,6 \pm 4,4$  cm, sedangkan galur TS4  $106,7 \pm 1,1$  cm. Di India juga telah dilakukan penelitian introgresi gen *sd-1* dari galur CSR10 ke padi Kalanamak (Srivastava et al. 2019). Kalanamak merupakan padi aromatik penting di India, memiliki postur yang tinggi ( $154 \pm 0,57$  cm). Galur unggul hasil persilangan diseleksi dengan menggunakan markah SSR *sd-1* yang dikembangkan dari hasil sekuensing gen *GA 20-oxidase* pada daerah/lokus gen *sd-1* (Spielmeyer et al. 2002).

##### Pemuliaan Padi Aromatik

Seiring dengan peningkatan taraf hidup masyarakat, permintaan beras yang berkualitas tinggi semakin meningkat. Padi aromatik/aroma wangi merupakan salah satu jenis padi yang disukai oleh sebagian besar konsumen karena aromanya yang menyenangkan. Gen yang mengatur aroma pada padi adalah *fgr* (Tabel 1) yang bersifat resesif dan terletak pada kromosom 8 (Bradbury et al. 2005). Dari hasil pemetaan diketahui bahwa *fgr* berada di antara markah SSR RM223 dan RM342 (Wanchana et al. 2005) dan merupakan kandidat lokus yang bertanggung jawab terhadap sifat aroma pada padi.

Gen *fgr* juga telah diidentifikasi terdapat pada padi “Basmati” dan “Jasmine rice” (Karami et al. 2016). Dari hasil sekuensing lokus *fgr* pada kromosom 8 telah dikembangkan markah spesifik yang dapat membedakan padi aromatik KDML-105 dengan nonaromatik CT 9993 dari Thailand. Markah yang telah dikembangkan adalah B03-127.8 untuk gen aromatik pada padi KDML-105. Markah ini telah digunakan oleh Jairin et al. (2008) untuk menyeleksi

populasi persilangan KDML-105 dari Thailand dengan padi Rathu Heenati dari Sri Lanka.

Di Indonesia juga telah dilakukan penelitian dengan memasukkan gen aromatik dari padi lokal Pandanwangi ke dalam genom padi varietas Ciherang. Markah yang digunakan adalah markah SSR RM223. Hasil amplifikasi pada tanaman  $F_1$  menghasilkan pita kodominan dengan ukuran sekitar 160 bp dan 140 bp yang masing-masing berasal dari Ciherang dan Pandanwangi (Seno et al. 2011).

### Pemuliaan Padi Potensi Hasil Tinggi

Dalam upaya menjawab tantangan dalam konsep pengembangan padi tipe baru (*new plant type*), salah satu hal yang perlu ditingkatkan adalah indeks panen. Indeks panen didefinisikan sebagai perbandingan bobot gabah kering dengan bobot kering total (Peng et al. 1999). Potensi hasil tinggi pada padi sangat penting untuk mengamankan pasokan pangan masyarakat. Locus untuk sifat kuantitatif jumlah total spikelet per malai/*total spikelet number per panicle* (TSN) yaitu *qTSN4* (Tabel 1) yang terletak pada kromosom 4 telah dilaporkan dapat meningkatkan potensi hasil padi, melalui peningkatan jumlah spikelet (kumpulan bunga) (Fujita et al. 2009, 2010, 2012, 2018). Peningkatan jumlah spikelet akan meningkatkan jumlah bulir per malai, jumlah gabah per rumpun, dan bobot gabah per rumpun sehingga hasil per hektar meningkat. Dari hasil penelitian lapangan di IRRI, Filipina diketahui keberadaan alel *qTSN4* dari donor dapat meningkatkan hasil sampai 10% pada padi IR64. Alel *qTSN4* dapat dideteksi dengan menggunakan markah SSR RM17483 dan RM6909 (Tabel 1).

Sasaki et al. (2017) melaporkan telah mendeteksi lokus sifat kuantitatif (QTLs) untuk TSN pada galur introgresi yang berasal dari persilangan varietas *indica* IR64 dengan galur padi tipe baru. Dua QTL terdeteksi pada lengan panjang kromosom 12, yaitu *qTSN12.1* pada populasi  $BC_4F_2$  persilangan YTH63(YP3)/IR64 dan *qTSN12.2* pada populasi  $BC_4F_3$  persilangan YTH83(YP4)/IR64. TSN pada cabang malai utama secara signifikan lebih tinggi pada galur isogenik (NIL) untuk *qTSN12.1* (IR64-NIL1; 188,6) dan *qTSN12.2* (IR64-NIL12; 199,4) dibanding dengan IR64 (141,2). Peningkatan yang signifikan terjadi pada jumlah cabang utama (primer) dan sekunder pada malai. Hasil ini menunjukkan bahwa QTL ini berperan dalam peningkatan pembentukan percabangan utama pada tahap pembentukan malai.

Pemetaan halus (*fine mapping*) *qTSN12.2* mengungkapkan bahwa terdapat enam gen kandidat pada daerah 92 kb dari sekuens genom acuan Nipponbare antara penanda pengapit RM28746 dan RM28753. Fenotipe dari sifat agronomis IR64-NIL12 yang membawa *qTSN12.2* menunjukkan perubahan drastis pada arsitektur tanaman, yakni memiliki jumlah malai yang lebih rendah/sedikit dan daun yang lebih panjang dan lebih lebar dibanding dengan IR64. Persentase gabah isi dan bobot 1.000 butir menjadi lebih besar dan hasil gabah per  $m^2$  juga lebih tinggi. QTL yang baru diidentifikasi akan berguna untuk peningkatan potensi hasil varietas *indica*. Penanda yang terkait erat dengan *qTSN12.2* tersedia untuk pemuliaan dipandu markah molekuler. Sebagai catatan, tetua donor YP3 adalah Shen Nung 89-366, Genjah Wangkal, sedangkan tetua donor YP4 adalah NO 11, Bali Ontjer.

Di Indonesia, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Balitbangtan, Kementerian Pertanian telah melakukan penelitian introgresi *qTSN4* ke dalam genom padi varietas Conde (atau Code) (Gambar 1 dan 2). Donor yang digunakan didapatkan melalui kerja sama dengan IRRI, yaitu galur isogenik IR64-NILs-*qTSN4* (YP9 atau IR68522-10-2-2). Berdasarkan silsilahnya, YP9 adalah galur isogenik hasil persilangan tetua donor Moroberekan, Shen Nung-89-366, dengan Daringan (*tropical japonica* dari Indonesia) (Fujita et al. 2009). Galur-galur harapan persilangan Conde dengan YP9 telah diuji di rumah kaca dan lapangan. Dari pengujian-pengujian yang telah dilakukan telah diperoleh galur-galur yang memiliki potensi hasil melebihi varietas Conde, bahkan pada uji lapangan tahun 2017 di Sukamandi terjadi peningkatan hasil tertinggi sebesar 20,5% (Tasliyah et al. 2015, 2019, 2020; Prasetyono et al. 2018).

Selain lokus *qTSN4*, lokus *qSPP7* juga berperan dalam peningkatan hasil padi (Luong et al. 2019). Jumlah spikelet per malai/*number of spikelets per panicle* (SPP) pada kromosom 7 telah terdeteksi pada galur persilangan padi *japonica* Hwaseong dengan kerabat liar *Oryza minuta* dengan markah seleksi RM21596 dan RM418 yang terpaut dengan *qSPP7* (Tabel 1). Hasil penelitian lapangan di daerah Daejeon, Korea Selatan didapatkan galur unggul IL-102 dengan SPP meningkat dibanding dengan tetua Hwaseong. Pada penanaman tahun 2017 galur IL-102 memiliki SPP  $223 \pm 3,3$  bulir, sedangkan Hwaseong memiliki SPP  $154 \pm 1,4$  bulir.

**Tabel 1.** Beberapa contoh markah molekuler yang digunakan pada pemuliaan berbagai karakter penting bernilai ekonomi tinggi tanaman padi.

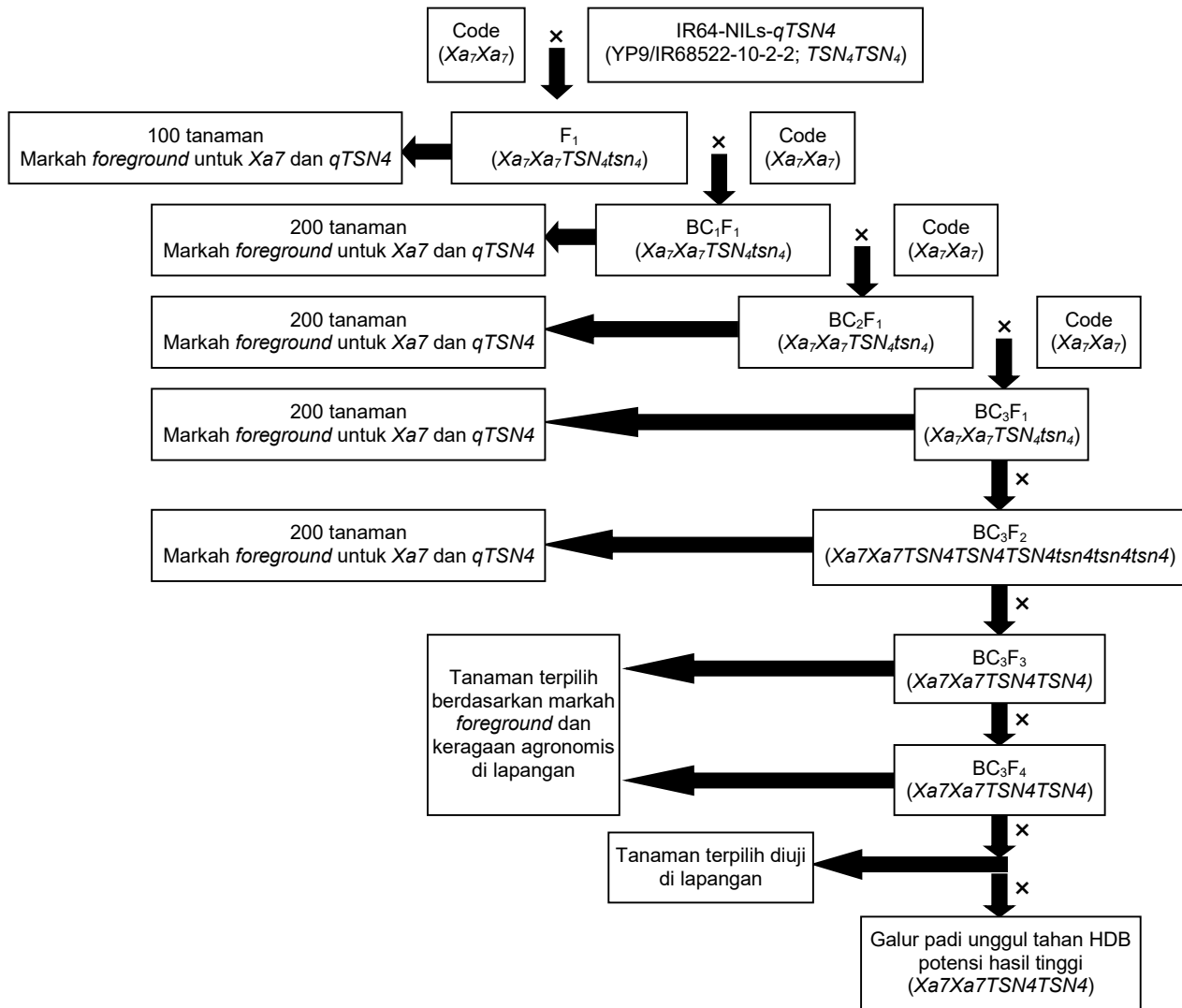
No.	Sifat	Gen/lokus	Nama markah	Sekuens	Jenis markah	Kromosom	Referensi
1	Semidwarf	<i>sd-1</i>	sd1STS	F: 5'-ACAAATACCCACCCCTCCTGCC-3' R: 5'-TAGTAGCCTCGCTCCACGCC-3'	STS, kodominan	1	Luo dan Yin (2013)
2	Aromatik	<i>fgf</i> (alel resesif) <i>Fgr</i> (alel dominan)	M265 M355	F: 5'-ACCAGGACTTGTGGAGCTTG-3' R: 5'-CCATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3' F: 5'-CTGGTAAAAAGATTATGGCTTCA-3' R: 5'-AGTGCTTTACAAAGTCCCGCAC-3'	STS, dominan	8	Luo dan Yin (2013)
3	Hasil tinggi	<i>qTSN4</i>	RM17483 RM6909	F: 5'-TAGCTTCGGTTCTTGATCGTTGG-3' R: 5'-AAACAGATTGCTCACCACCTTGG-3' F: 5'-AAGTACTCTCCGTTTCAAA-3' R: 5'-CCTCCATAAAAAATCTTGTC-3'	SSR	4	Fujita et al. (2012)
		<i>qSPP7</i>	RM 418	F: 5'-GAGCACATATGCCACGTACG-3' R: 5'-TCGCGTATCGTCATGCATAG-3' F: 5'-GCTTCACTTCTCTGCTTGTG-3' R: 5'-ATGATTTAACGAGAGTTGAA3'	SSR	7	Luong et al. (2019)
4	Kualitas memasak	<i>PCR-Accl b</i>	Wx	F: 5'-GCTTCACTTCTCTGCTTGTG-3' R: 5'-ATGATTTAACGAGAGTTGAA3'	CAPS, kodominan	6	Cai et al. (2002)
5	Nutrisi Fe	<i>qFe1.1</i>	RM562 RM11943	F: 5'-CACAAACCACAAACGACGAG-3' R: 5'-CTTCCCAAAGTTTTAGCC-3' F: 5'-CTTGTTGAGGACGAAGATAGGG-3' R: 5'-CCAGTTTACCAGGGTCGAAACC-3'	SSR	1	Dixit et al. (2019)
5	Nutrisi Zn	<i>qZn6.2</i>	RM400	F: 5'-ACACCAGGCTACCCAAACTC-3' R: 3'-CGGAGAGATCTGACATGTGG-3'	SSR	6	Dixit et al. (2019)
6	Salinitas	<i>Saltol</i>	G11A AP3206 RM3412b RM493	F: 5'-AGCTGGTAGGAAGGCTGAAAG-3' R: 5'-TGCCAGGCAGCTCAGTAGAAG-3' F: 5'-TTCTCATCGCACCATCTCTG-3' R: 5'-CGACGAGGAGAGGAAGAAG-3' F: 5'-AAAGCAGTTTTTCCCTCCTCC-3' R: 5'-CCCATGTGCAATGTGTCTTC-3' F: 5'-GTACGTAAACGCGGAAGGTGACG-3' R: 5'-CGACGTACGAGATGCCGATCC-3'	SSR	1	Krishnamurthy et al. (2020)
7	Kekeringan	<i>qLRS1.1</i> <i>qRPF2.1</i>	id1025983 id2009319	Tidak ada Tidak ada	SNP	1 2	Trijatmiko et al. (2014)
8	Pupuk P	<i>PSTOL1</i>	K46-1	F: 5'-TGAGATAGCCGTCAAGATGCT-3' R: 5'-AAGGACCACCATTCCATAGC-3'	Indel	12	Pariasca-Tanaka et al. (2014)
9	Keracunan Al	<i>qALRR-10</i>	EM169 G333	Tidak ada Tidak ada	RFLP	10 10	Nguyen et al. (2002)
10	Keracunan Fe	<i>qFETOX-4-1</i>	id4002852 id4002913 id4003259 id4003727	Tidak ada Tidak ada Tidak ada Tidak ada	SNP	4 4 4 4	Wu et al. (2014)
11	Rendaman	<i>Sub1</i>	Sub1A3 RM23887 RM7481	F: 5'-GTGCCGGTTGGAAATTGACC-3' R: 5'-CAACTGGAGTGCTGCTCGGA-3' F: 5'-TCGACCCAATATCTTTCTGC-3' R: 5'-CTGTCTGTTCACTTGTGTTACC-3' F: 5'-CGACCCAATATCTTTCTGCC-3' R: 5'-ATTGGTCGTGCTCAACAAG-3'	STS, dominan	9	Luo dan Yin (2013)
					SSR, kodominan	9	Neeraja et al. (2007)
					SSR	9	Azarin et al. (2018)
12	Umur genjah	<i>qDTH8</i>	RM5556 RM6838	F: 5'-ATCTCCCTCCCTCCTCAC-3' R: 5'-TCCACACCTTACAGTTGAC-3' F: 5'-ATTAATACCGTACCACGCG-3' R: 5'-TCCTCCTCCACCTCAATCAC-3'	SSR	8	Fujita et al. (2010)
					SSR	8	Fujita et al. (2018)

F = forward, R = reverse, STS = sequence-tagged site, SSR = simple sequence repeat, CAPS = competitive allele-specific PCR, SNP = single nucleotide polymorphism, Indel = insertion-deletions, RFLP = restriction fragment length polymorphism.

### Pemuliaan Padi untuk Peningkatan Kualitas Nasi

Permintaan akan kualitas beras/nasi yang unggul merupakan tantangan pada pemuliaan padi. Penanaman padi secara komersial meliputi beberapa tipe, di antaranya padi pera, pulen, aromatik, varian tipe panjang gabah (tipe gabah panjang, sedang, dan pendek), serta karakter kualitas lainnya.

Meskipun demikian, komponen beras paling penting yang menentukan *eating and cooking qualities* (ECQs) adalah kualitas beras yang dimasak. ECQ terdiri atas tiga karakteristik fisik dan kimia pati dalam endosperma yang meliputi kandungan amilosa (*amylose content/AC*), konsistensi gel (*gel*



**Gambar 1.** Contoh skema persilangan dengan teknik *marker-assisted backcrossing* menggunakan markah *foreground* pada program pemuliaan padi potensi hasil tinggi dan berumur genjah.

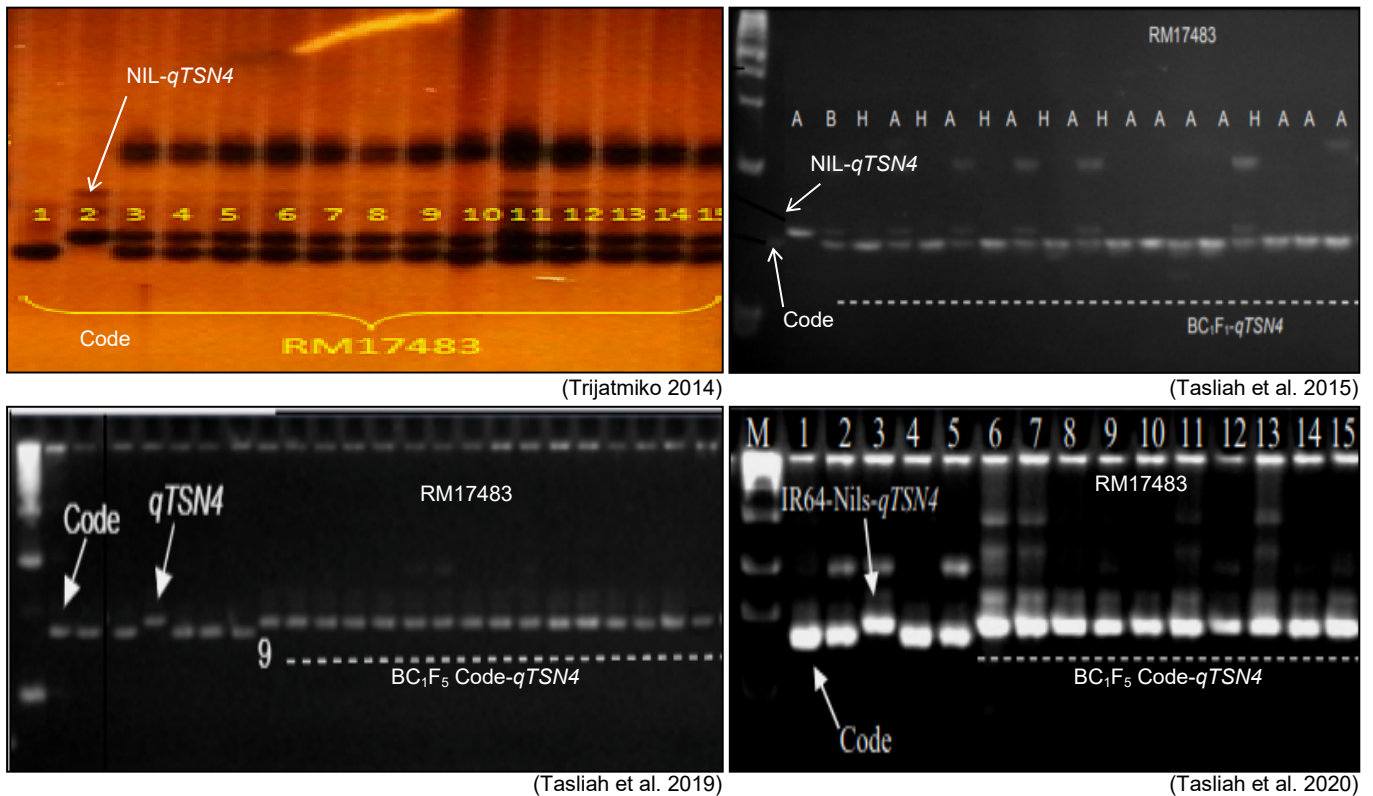
*consistency/GC*), dan suhu gelatinisasi (*gelatinization temperature/GT*).

Saat ini, para pemulia padi lebih fokus pada peningkatan kualitas beras untuk berbagai tujuan dan pasar. Misalnya, orang-orang di Timur Jauh lebih suka nasi ketan dan lunak, sedangkan di India jenis yang tidak lengket/pera lebih disukai. Konsumen dari negara maju umumnya menginginkan kualitas terkait dengan rasa, aroma wangi, dan pulen.

Kandungan amilosa berkorelasi langsung dengan ekspansi volume, penyerapan air, dan kenyalan akhir. Secara umum, kandungan amilosa beras giling dikategorikan ke dalam lima kelas, yaitu lilin (0–2%), sangat rendah (3–9%), rendah (10–19%), menengah (20–24%), dan tinggi (di atas 24%). Kandungan amilosa rendah dikaitkan dengan nasi

matang yang kohesif, empuk, dan mengilap (nasi pulen). Sebaliknya, kandungan amilosa tinggi dikaitkan dengan biji-bijian kering, keras, halus, dan terpisah dengan baik saat nasi matang (nasi pera). Beras dengan kandungan amilosa yang lebih rendah lebih disukai daripada beras dengan amilosa yang lebih tinggi (di atas 20%) (Cheng et al. 2012).

Penelitian tentang identifikasi lokus-lokus yang terkait dengan kualitas nasi (*cooking and eating quality*) juga telah dilakukan. Ponce et al. (2018) telah menggunakan 508 F<sub>6</sub> MAGIC *lines* (populasi dari IRRI) dan telah berhasil mengidentifikasi adanya 17 QTLs yang terkait dengan sifat tersebut. Zhang et al. (2020) telah menggunakan padi superior Liang-You-Pei-Jiu untuk mengidentifikasi QTL yang terpaut dengan karakter kualitas nasi dan menemukan 3



**Gambar 2.** Contoh profil pola alel pada tanaman  $F_1$ ,  $BC_1F_1$ ,  $BC_1F_6$ , dan  $BC_1F_7$  Code-*qTSN4* pada program pemuliaan molekuler padi potensi hasil tinggi dan berumur genjah. Tanaman  $F_1$  hanya memiliki 1 jenis alel (*TSN<sub>4</sub>tsn<sub>4</sub>*),  $BC_1F_1$  memiliki 2 jenis alel (*Xa<sub>7</sub>Xa<sub>7</sub>* dan *TSN<sub>4</sub>tsn<sub>4</sub>*), dan  $BC_1F_5$  memiliki 2 jenis alel (*Xa<sub>7</sub>Xa<sub>7</sub>* dan *TSN<sub>4</sub>TSN<sub>4</sub>*).

QTLs untuk AC, 3 QTLs untuk GT, dan 8 QTLs untuk GC pada kromosom 3, 4, 5, 6, 10, dan 12. Upaya perbaikan padi agar memiliki kadar amilosa yang rendah telah dilaporkan oleh Kim et al. (2021). Kadar amilosa yang rendah pada padi Milkyqueen telah diintrogresikan ke dalam genom padi Samgwang dengan menggunakan markah yang terkait dengan gen *SSIIIa* (markah KSAP) yang awalnya diperoleh dari pemetaan genetik menggunakan markah SNP. Beberapa galur  $BC_2F_2$  (Samgwang  $\times$  Milkyqueen) menunjukkan adanya penurunan kadar amilosa.

#### Pemuliaan untuk Perbaikan Nutrisi Zn dan Fe pada Beras

Padi dengan kadar nutrisi yang tinggi mulai dicari konsumen karena dapat mengatasi kekurangan gizi (mencegah *stunting*). Lokus-lokus yang mengatur kandungan beberapa mineral pada padi mulai dipetakan untuk memudahkan program pemuliaannya yang dimulai dari pembentukan populasi persilangan (Garcia-Oliveira et al. 2009; Descalsota-Empleo et al. 2019). Karakter yang menjadi target yaitu lokus yang mengendalikan kandungan mineral, seperti Ca, Mg, P, K, Mn, Mo, Na, Fe, Zn, Cu, B, Ca, dan Co. Dari

sekitar banyak mineral yang dieksplorasi, kandungan Zn dan Fe pada padi menjadi perhatian utama karena kedua mineral tersebut sangat diperlukan oleh tubuh dan mencegah malnutrisi. Pradhan et al. (2020) telah melakukan pemetaan berdasarkan studi asosiasi 485 aksesori padi menggunakan markah SSR dan diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa kadar Fe dikontrol oleh lokus yang terletak pada kromosom 3 dan 7, sedangkan kadar Zn dikendalikan oleh lokus pada kromosom 2, 8, dan 12. Dixit et al. (2019) telah melakukan pemetaan genetik untuk karakter tersebut dan melaporkan bahwa kadar Fe pada padi diatur oleh beberapa lokus, yakni *qFe1.1* (Tabel 1), *qFe1.2*, *qFe6.1*, dan *qFe6.2* yang terletak pada kromosom 1 dan 6, sedangkan kadar Zn diatur oleh lokus *qZn1.1* dan *qZn6.2* yang terletak pada kromosom yang sama. Markah-markah yang berpautan dengan karakter-karakter tersebut dapat digunakan sebagai markah seleksi pada program pemuliaan padi untuk perbaikan kandungan Zn dan Fe pada beras.



### **Pemuliaan Padi untuk Perbaikan Toleransi Salinitas**

Salinitas merupakan problem utama negara-negara yang kaya laut dan pertanian padinya berada dekat pantai. Air garam dari laut dapat mengintrusi tanah sampai beberapa kilometer dan mencemari tanah-tanah pertanian. Kondisi kadar garam untuk lahan jenis ini bergantung pada cuaca. Pada musim kemarau, kadar garam dapat mencapai 18 dS/m, sedangkan batas toleransi tanaman padi hanya sampai 4 dS/m. Oleh karena itu, eksplorasi tetua padi yang toleran salinitas sangat penting dilakukan. Aala dan Gregorio (2019) menyeleksi padi-padi asal Filipina dan Bangladesh untuk memperoleh tetua yang toleran salinitas. Berbagai pemetaan genetik padi toleran salinitas juga telah dilakukan, baik dengan markah SSR maupun SNP, menggunakan populasi hasil persilangan berbagai tetua padi. Lang et al. (2001) yang memetakan gen *Saltol* pada beberapa populasi padi asal Vietnam dengan markah SSR menemukan lokus yang mengatur toleransi padi terhadap salinitas pada kromosom 1 dan 8. Studi terbaru pemetaan menggunakan markah SNP telah menemukan lokus-lokus baru yang mengatur toleransi terhadap salinitas (Liu et al. 2019; Rana et al. 2019).

Linh et al. (2012) telah melakukan upaya perbaikan padi BT7 (padi elit Vietnam) dengan FL478 (IR66946-3R-178-1-1) sebagai donor lokus gen *Saltol* menggunakan markah RM493 dan RM3412b (Tabel 1). Turunan dari persilangan tersebut menunjukkan penampilan yang sama dengan BT7 dengan peningkatan toleransi terhadap salinitas. Perbaikan toleransi terhadap salinitas juga dapat diperoleh pada padi liar Dongxiang asal Cina (Quan et al. 2018). Hal ini membuka peluang lebih banyak perbaikan padi toleran salinitas melalui program pemuliaan dipandu markah molekuler.

### **Pemuliaan Padi Toleran Kekeringan**

Kekeringan merupakan problem utama di banyak negara dan pada berbagai jenis lahan pertanian, baik di ekosistem sawah maupun gogo. Dengan adanya peningkatan suhu global, lahan pertanian menjadi cepat kering karena banyak air yang menguap ke udara. Oleh karena itu, padi yang toleran kekeringan di daerah yang kurang air (tanpa irigasi) sangat diperlukan. Toleransi kekeringan merupakan karakter yang kompleks yang melibatkan beberapa mekanisme dan dikendalikan oleh banyak gen (Sahebi et al.

2018). Pemetaan genetik terkait dengan toleransi terhadap kekeringan telah banyak dilakukan. Trijatmiko et al. (2014) memetakan lokus-lokus pada kromosom 1, 2, 4, 8, dan 10 yang berperan mengendalikan toleransi kekeringan pada fase generatif pada populasi inbrida rekombinan yang diturunkan dari persilangan antara Cabacu dan IR64. Lin et al. (2007) telah memetakan lokus-lokus toleransi terhadap kekeringan pada kromosom 4, 8, 10, dan 12 pada Milyang 23 (padi *indica*). Peneliti lain juga melaporkan hasil penelitian sejenis.

Oleh karena lokus toleransi kekeringan terletak pada banyak kromosom, strategi yang dilakukan pada pemuliaan padi berbasis markah molekuler adalah memilih lokus-lokus yang dianggap sangat penting dalam meningkatkan toleransi terhadap kekeringan. Dixit et al. (2017) memilih dua lokus yang mengatur hasil gabah di bawah kondisi cekaman kekeringan untuk memperbaiki padi varietas Sabitri di Nepal dengan memanfaatkan tetua IR 77298-5-6-18 dan IR 74371-46-1-1 sebagai tetua donor. Shamsudin et al. (2016) juga berhasil memperbaiki padi MR219 (padi elit Malaysia) dengan memanfaatkan lokus toleransi terhadap kekeringan pada saat pengisian biji (*qDTY2.2*, *qDTY3.1*, dan *qDTY12.1*) dengan menggunakan tetua donor toleran kekeringan IR 77298-14-1-2-10, IR 81896-B-B-195, dan IR 84984-83-15-18-B. Lubba et al. (2020) juga berupaya meningkatkan toleransi kekeringan padi Inpari 30 (Indonesia) dengan memasukkan alel gen toleransi kekeringan dari Cabacu pada lokus *qRPF 2.1*, *qGPP 2.1*, dan *qSPP 4.1*.

### **Pemuliaan Padi Toleran Defisiensi Pupuk Fosfat**

Fosfor (P) merupakan salah satu unsur hara tanaman yang sangat diperlukan oleh padi. Kekurangan P dapat terjadi di seluruh jenis tanah, baik pada lahan sawah maupun gogo. Selain itu, bahan baku pupuk P yang hanya mengandalkan batuan alam menjadikan ketersediaan unsur ini di alam semakin lama akan semakin habis, menyebabkan harga yang akan terus naik. Oleh karena itu, padi yang memiliki toleransi pada kondisi P tanah yang rendah diperlukan untuk mengantisipasi hal tersebut. Beberapa peneliti telah berupaya memetakan lokus-lokus yang terkait dengan sifat tersebut. Wissuwa et al. (1998) memetakan QTL mayor pada kromosom 12 (lokus *Pup1*) menggunakan tetua Kasalath dan markah RFLP. Markah spesifik lokus *Pup1* telah didesain oleh Chin et al. (2010). Lang et al. (2006) juga telah melakukan pemetaan pada padi AS996 (turunan *O.*

*rufipogon*) menggunakan markah SSR dan memperoleh hasil yang sama, yakni adanya QTL mayor pada kromosom 12 yang terkait dengan karakter toleran defisiensi P tersebut.

Upaya perakitan padi yang toleran terhadap defisiensi P juga telah dilakukan, seperti introgresi lokus *Pup1* pada dua varietas padi sawah (IR64 dan IR74) (Chin et al. 2011) dan ke dalam genom tiga varietas padi gogo (Dodokan, Situ Bagendit, dan Batur) dengan markah-markah spesifik sebagai alat seleksi. Prasetyono et al. (2012) melaporkan adanya peningkatan bobot kering tajuk pada galur-galur introgresi *Pup1* yang melebihi tetuanya (10,50–74,82%), namun lokus ini tidak memberi pengaruh nyata terhadap bobot gabah isi per tanaman. Anila et al. (2018) memperbaiki MTU 1010 (padi elit India) dengan memasukkan lokus *Pup1* dari padi Swarna dengan menggunakan markah CAPS K20-2 dan dua markah pengapit (RM28011 dan RM28157). Galur-galur yang dihasilkan menunjukkan perubahan arsitektur akar dan penampilan tanaman yang lebih kekar.

#### Pemuliaan Padi Toleran Keracunan Al

Keracunan Al ( $Al^{3+}$ ) sering terjadi pada daerah submarginal berupa lahan kering, yakni pada jenis tanah Ultisol. Pada pH tanah di bawah 5, senyawa Al akan terlarut menghasilkan ion  $Al^{3+}$  yang sangat beracun. Indonesia sendiri memiliki hamparan tanah jenis Ultisol yang sangat luas. Identifikasi gen yang terkait dengan toleransi terhadap keracunan Al pada padi ini telah banyak dilakukan. Nguyen et al. (2002) menggunakan tetua CT9993-5-10-1-M untuk pembentukan populasi pemetaan genetik dan melaporkan bahwa hampir semua kromosom padi mengandung lokus yang terkait dengan karakter toleran Al tersebut yang menunjukkan bahwa karakter toleransi keracunan Al dikendalikan oleh banyak lokus. Fendiyanto et al. (2019) membatasi pemetaan pada sifat perakitan saja dan melaporkan bahwa karakter toleran Al dikendalikan oleh QTL pada kromosom 3 yang berpautan dengan markah SSR RM545 dan RM14543. Tetua toleran yang digunakan pada pembentukan populasi pemetaan adalah Hawara Bunar yang merupakan padi lokal Indonesia. Penelitian pemetaan QTL serupa juga telah dilakukan dengan menggunakan markah SNP (Famoso et al. 2011; Meng et al. 2017).

Oleh karena kompleksitas lokus-lokus yang mengatur toleransi keracunan Al pada padi, publikasi

yang terkait hal tersebut kebanyakan berupa identifikasi gen dan QTL. Sementara itu, aplikasi markah molekuler untuk aspek pemuliaan karakter toleran keracunan Al dengan metode MAS belum ditemukan.

#### Pemuliaan Padi Toleran Keracunan Fe

Fe ( $Fe^{2+}$ ) merupakan faktor pembatas pertumbuhan tanaman padi. Masalah keracunan Fe ini terjadi di banyak negara, seperti Cina, Thailand, Malaysia, Indonesia, dan banyak negara di Afrika (Mahender et al. 2019). Di Indonesia lahan-lahan submarginal, terutama lahan-lahan gambut, memiliki kadar  $Fe^{2+}$  mencapai 1.000 ppm, sedangkan batas toleransi tanaman padi hanya sampai 300 ppm. Oleh karena itu, padi yang toleran terhadap keracunan Fe mutlak diperlukan.

Beberapa markah molekuler yang terpaut dengan karakter toleran keracunan Fe telah dieksplorasi, misalnya pada tetua Pokkali diidentifikasi lokus *qFETOX* yang mengendalikan karakter tersebut terletak pada kromosom 1, 2, 4, 7, dan 12 (Wu et al. 2014). Zhang et al. (2017) melaporkan telah memetakan lokus untuk toleransi keracunan Fe pada padi yang terdapat pada kromosom 2, 5, dan 6 dengan menggunakan 222 varietas padi *indica* dan 700.000 SNP. Markah STS juga digunakan pada pemetaan yang menggunakan tetua Mahsuri (Chrisnawati et al. 2016).

Perbaikan padi elit untuk meningkatkan toleransinya terhadap keracunan Fe telah banyak dilakukan oleh para pemulia molekuler. Utami et al. (2017) menggunakan 30 galur hasil persilangan padi dan 19 markah SSR, STS, SNP, dan indel untuk mengeksplorasi gen-gen yang membantu meningkatkan toleransi keracunan Fe tersebut. Kegiatan tersebut ditujukan untuk memecahkan masalah keracunan Fe pada lahan pertanian Indonesia. Sikirou et al. (2015) juga berupaya memecahkan masalah lahan marginal di Afrika Barat dengan memanfaatkan padi liar *O. glaberrima* sebagai tetua donor dengan memanfaatkan lokus-lokus yang terpaut dengan sifat tersebut. Oleh karena kondisi tanah yang bervariasi kadar Fe-nya, pemuliaan padi untuk sifat ini perlu berhati-hati dalam pelaksanaannya. Semakin banyak jenis tanah dengan kadar Fe yang berbeda-beda yang digunakan dalam pengujian, semakin luas daya adaptasi varietas yang dihasilkan.

### Pemuliaan Padi Toleran Rendaman

Lima belas juta hektar atau lebih lahan sawah tadah hujan di Asia Selatan dan Asia Tenggara telah mengalami perendaman secara teratur sehingga menyebabkan kehilangan hasil panen padi. Salah satu solusi yang paling menjanjikan adalah mengembangkan varietas padi unggul yang toleran terhadap rendaman. Neeraja et al. (2007) melaporkan bahwa sebuah QTL utama *Sub1* (Tabel 1) telah dipetakan pada kromosom 9. Markah untuk QTL ini dapat digunakan untuk kegiatan seleksi MAB pada galur-galur persilangan menggunakan tetua FR13A sebagai donor gen *Sub1* untuk merakit kultivar padi yang toleran terhadap rendaman. Pada penelitian tersebut, penanda molekuler yang terkait erat dengan *Sub1*, yaitu RM464A dan SSR1, digunakan untuk seleksi *foreground*, markah RM316 dan RM219 sebagai markah rekombinan, dan banyak markah SSR universal digunakan untuk seleksi *background* galur-galur persilangan antara varietas Swarna sebagai tetua *recurrent* dan IR49830 sebagai tetua donor. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa mega varietas Swarna dapat diperbaiki secara efisien menjadi varietas toleran rendaman dalam tiga generasi silang balik, dalam kurun waktu 2–3 tahun. Penanda polimorfis untuk seleksi sifat tahan banjir/rendaman untuk kultivar elit lainnya dapat dikembangkan menjadi varietas toleran yang lebih luas untuk memenuhi kebutuhan petani di daerah rawan banjir. Pendekatan ini menunjukkan penggunaan seleksi dengan bantuan markah untuk QTL utama pada program pemuliaan molekuler sangat efektif. Dengan memanfaatkan tetua FR13A ini, telah juga dirakit varietas Inpari 30 Cihérang *Sub1* (Septiningsih et al. 2014) yang telah dilepas di Indonesia.

### Pemuliaan Padi Umur Genjah

Indeks panen padi tidak hanya ditentukan oleh komponen hasil, seperti bobot gabah dan jumlah gabah per malai, tetapi dipengaruhi juga oleh tinggi tanaman dan umur berbunga. Studi terbaru menunjukkan banyak kemajuan yang diperoleh terkait dengan mekanisme pengaturan potensi hasil, tinggi tanaman, dan umur berbunga pada tanaman padi (Wei et al. 2010). Beberapa gen yang mengendalikan karakter umur berbunga yang juga menentukan hasil pada padi telah diidentifikasi, di antaranya *Heading date 1 (Hd1)* (Doi et al. 2004), *Hd3a* (Kojima et al. 2002; Kim et al. 2005), *Hd2* (Matsubara et al. 2008), dan *Hd7* (Xue et al. 2008), serta *qDTH8* (Wei et al.

2010). Xiang et al. (2013) dan Du et al. (2017) melaporkan bahwa gen *qDTH8* (Tabel 1) diketahui menyandi protein HAP3 yang berfungsi sebagai faktor transkripsi. Lokus *qDTH8* ini mengatur proses ekspresi gen *florigen Hd3a* yang diduga memengaruhi proses pembungaan pada tanaman padi. Pada kondisi hari panjang (*long days*), gen *qDTH8* memainkan peran penting dalam memediasi regulasi transkripsi *Hd3a* oleh *Hd1* melalui modul *DTH8-Hd1* untuk membentuk modifikasi pengaruh epigenetik dalam pembungaan. Dengan demikian, selain memendekkan umur tanaman, ekspresi gen *qDTH8* juga meningkatkan hasil gabah per rumpunnya.

Kultivar yang digunakan dalam pembentukan galur yang membawa lokus *qDTH8* adalah Shen Nung 89-366 (*indica*) dan Ketan Lumbu (*tropical japonica* asal Indonesia). Galur isogeniknya adalah IR65600-87-2-2-3 (YP1) (Fujita et al. 2009). Berdasarkan analisis sekuens dan pola ekspresi gen oleh Wei et al. (2010), lokus *qDTH8* ternyata tidak hanya mengatur umur berbunga, tetapi juga mengatur tinggi tanaman dan menghasilkan protein yang menimbulkan efek pleiotropik yang menyebabkan terjadinya peningkatan potensi hasil.

Di Indonesia sendiri telah dilakukan program pemuliaan padi umur genjah, yaitu melakukan persilangan antara kultivar Code dan galur isogenik YP1 tersebut. Dari uji yang dimulai dari rumah kaca sampai ke lapangan pada musim tanam yang berbeda-beda, telah diperoleh beberapa galur yang berumur genjah dan berpotensi hasil tinggi dibanding dengan varietas Code (Tasliyah et al. 2015, 2019, 2020; Prasetyono et al. 2018). Untuk proses seleksi progeni digunakan markah SSR RM5556 (Fujita et al. 2012) dan RM6838 (Fujita et al. 2018; Tabel 1).

Beberapa markah molekuler yang telah digunakan pada kegiatan pemuliaan padi disajikan pada Tabel 1. Contoh skema persilangan menggunakan markah molekuler dapat dilihat pada Gambar 1. Sementara itu, pola alel pada tiap-tiap generasi persilangan ditampilkan pada Gambar 2.

Semakin banyak markah yang dieksplorasi untuk karakter penting padi, semakin banyak pilihan markah yang dapat digunakan untuk program pemuliaan. Namun, tidak semua karakter akan dengan mudah dipindahkan ke dalam genom tanaman yang belum memiliki karakter tersebut, misalnya karakter yang dikendalikan oleh banyak gen (poligenik). Sebagai contoh, memindahkan karakter toleran kekeringan yang dikendalikan oleh banyak gen akan

lebih sulit dibanding dengan memindahkan gen ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri yang dikendalikan gen tunggal (monogenik). Selain itu, pemilihan tetua penerima (*recurrent parent*) juga penting diperhatikan mengingat ketentuan pelepasan varietas padi di Indonesia telah mensyaratkan adanya hasil minimal 9 t/ha gabah kering giling (GKG) untuk padi sawah dan 7 t/ha GKG untuk padi gogo, selain syarat-syarat ketahanan terhadap hama penyakit dan sifat lainnya yang bukan merupakan karakter target utama.

Salah satu contoh sukses hasil program MAS padi di Indonesia yang telah terbukti bertahan sampai sekarang adalah varietas Inpari 30 Ciherang *Sub1*. Rasa nasi Ciherang yang disukai masyarakat barangkali menjadikan varietas tersebut ditanam lebih luas dibanding dengan padi hasil MAS lainnya. Data yang lebih detil mengenai luasan pertanaman padi hasil MAS masih belum diperoleh, namun karena petani menyukai varietas ini maka skala luasan pembudidayaannya masih cukup dominan dibanding dengan varietas padi sejenis lainnya.

### KESIMPULAN

Banyak jenis markah molekuler yang dapat digunakan pada program pemuliaan padi, di antaranya RFLP, RAPD, SCAR, AFLP, STS, SSR, dan SNP. Pemilihan jenis markah disesuaikan dengan kebutuhan, metode pemuliaan, dan ketersediaan fasilitas laboratorium. Markah molekuler terpaut dengan karakter penting bernilai ekonomi tinggi dapat digunakan pada pemuliaan padi dipandu markah molekuler. Pemanfaatan markah molekuler telah menjadi fenomena baru untuk memperbaiki karakter tinggi tanaman, umur genjah, toleran berbagai cekaman abiotik, berdaya hasil dan kualitas hasil tinggi, dan kandungan mineral Zn dan Fe cukup pada beras. Aplikasi markah molekuler tersebut mempercepat program pemuliaan padi untuk menghasilkan varietas padi dengan produktivitas dan kualitas hasil tinggi dan toleran terhadap berbagai cekaman lingkungan dalam rangka mendukung program swasembada beras nasional.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Joko Prasetyono, M.Si.; dan Dr. I Made Tasma, M.Sc. atas sumbang saran dan bimbingannya dalam

penulisan naskah, serta mitra bestari yang telah menelaah naskah ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aala, Jr., W.F. & Gregorio, G.B. (2019) Morphological and molecular characterization of novel salt-tolerant rice germplasms from the Philippines and Bangladesh. *Rice Science*. [Online] 26 (3), 178–188. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.09.001> [Diakses 3 Februari 2021].
- Agarwal, M., Shrivastava, N. & Padh, H. (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports*. [Online] 27, 617–631. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0507-z> [Diakses 12 Januari 2021].
- Aluwihare, Y.C., Chamikara, M.D.M., Dissanayake, D.R.R.P., Dissanayake, M.D.M.I.M., Karannagoda, N.N.H., Dayananda, A.G.M.L.K., Sirisena, D.N., Samarasinghe, W.L.G., Rajapakse, R.G.S.C. & Sooriyapathirana, S.D.S.S. (2017) DNA sequence polymorphism of *Pup1* linked K20-1 STS region can be effectively used in molecular breeding of rice for phosphorus deficiency tolerance. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. [Online] 45 (4), 413–425. Tersedia pada: <https://doi.org/10.4038/jnsfr.v45i4.8235> [Diakses 27 Januari 2021].
- Anila, M., Mahadeva Swamy, H.K., Kale, R.R., Bhadana, V.P., Anantha, M.S., Brajendra, Hajira, S.K., Balachiranjeevi, C.H., Dass, M.A., Bhaskar, S., Dilip, T., Pranathi, K., Kousik, M.B.V.N., Harika, G., Swapnil, K., Chaitra, K., Prasanna, B.L., Punniakotti, E., Sinha, P., Rekha, G., Kumar, V.A., Balachandran, S.M., Madhav, M.S., Giri, A., Viraktamath, B.C. & Sundaram, R.M. (2018) Breeding lines of the Indian mega-rice variety, MTU 1010, possessing protein kinase *OsPSTOL (Pup1)*, show better root system architecture and higher yield in soils with low phosphorus. *Molecular Breeding*. [Online] 38, 147. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0903-1> [Diakses 27 Januari 2021].
- Azarin, K.V., Usatov, A.V., Alabulshv, A.V., Kostylev, P.I., Makarenko, M.S. & Kovalebich, A.A. (2018) Validation of SSR markers associated with submergence tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. [Online] 11 (4), 142–147. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2016.142.147> [Diakses 12 Januari 2021].
- Bhuiyan, Md.A.H., Malek, M.A., Bhuiyan, S.H., Islam, M. & Hassan, A.Bt.A. (2019) Mutation determination of rice by using RAPD. *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology*. [Online] 9 (1), 1–7. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3329/ijarit.v9i1> [Diakses 3 Februari 2021].
- Borba, T.C.O., Brondani, R.P.V., Bressegello, F., Coelho, A.S.G., Mendonça, J.A., Paulo Rangel, H.N. & Brondani, C. (2010) Association mapping for yield and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*

- and *Molecular Biology*. [Online] 33 (3), 515–524. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000065> [Diakses 12 Januari 2021].
- Bosamia, T.C., Bhalani, H.N., Patel, S.V., Singh, P. & Kumar, A. (2014) Designing allele specific primers: a bioinformatics approach. *Agrobios*, XIII (05), 31–32.
- Bradbury, L.M.T., Fitzgerald, T.L., Henry, R.J., Jin, Q. & Waters, D.L.E. (2005) The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal*. [Online] 3 (3), 363–370. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x> [Diakses 27 Januari 2021].
- Cai, X.L., Liu, Q.Q., Tang, S.Z., Cu, M.H. & Wang, Z.Y. (2002) Development of molecular marker for screening the rice cultivars with intermediate amylose content in *Oryza sativa* subsp. *indica*. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 28, 137–144.
- Chen, J.S., Lin, S.C., Chen, C.Y., Hsieh, Y.T., Pai, P.H., Chen, L.K. & Lee, S. (2014a) Development of a microarray for two rice subspecies: characterization and validation of gene expression in rice tissues. *BMC Research Notes*, 7, 15.
- Chen, H., Xie, W., He, H., Yu, H., Chen, W., Li, J., Yu, R., Yao, Y., Zhang, W., He, Y., Tang, X., Zhou, F., Deng, X.W. & Zhang, Q. (2014b) A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Molecular Plant*, 7 (3), 541–553.
- Cheng, A., Ismail, I., Osman, M. & Hashim, H. (2012) Simple and rapid molecular techniques for identification of amylose levels in rice varieties. *International Journal of Molecular Sciences*. [Online] 13 (5), 6156–6166. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/ijms13056156> [Diakses 12 Januari 2021].
- Cheon, K.S., Jeong, Y.M., Lee, Y.Y., Oh, J., Kang, D.Y., Oh, H., Kim, S.L., Kim, N., Lee, E., Baek, J., Choi, I., Kim, K.H., Won, Y.J., Yoon, I.S., Cho, Y.I., Han, J.H. & Ji, H. (2019) Kompetitive allele-specific PCR marker development and quantitative trait locus mapping for bakanae disease resistance in Korean *japonica* rice varieties. *Plant Breeding and Biotechnology*. [Online] 7 (3), 208–219. Tersedia pada: <https://doi.org/10.9787/PBB.2019.7.3.208> [Diakses 12 Januari 2021].
- Chin, J.H., Lu, X., Stephan, M., Haefele, S.M., Gamuyao, R., Ismail, A., Wissuwa, M. & Heuer, S. (2010) Development and application of gene-based markers for the major rice QTL *Phosphorus uptake 1*. *Theoretical and Applied Genetics*. [Online] 120, 1073–1086. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1235-7> [Diakses 3 Februari 2021].
- Chin, J.H., Gamuyao, R., Dalid, C., Bustamam, M., Prasetiyono, J., Moeljopawiro, S., Wissuwa, M. & Heuer, S. (2011) Developing rice with high yield under phosphorus deficiency: *Pup1* sequence to application. *Plant Physiology*, 156, 1202–1216.
- Chrisnawati, L., Miftahudin & Utami, D.W. (2016) STS marker associated with iron toxicity tolerance in rice. *The Journal of Tropical Life Science*, 6 (1), 59–64.
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B. & Pang, E.C.K. (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*. [Online] 142, 169–196. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5> [Diakses 3 Februari 2021].
- Das, G., Patra, J.K. & Baek, K.H. (2017) Insight into MAS: a molecular tool for development of stress resistant and quality of rice through gene stacking. *Frontiers in Plant Science*. [Online] 8, 985. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00985> [Diakses 27 Januari 2021].
- Descalsota-Empleoa, G.I., Amparadoa, A., Inabangan-Asilao, M.A., Tesoroa, F., Stangoulisc, J., Reinkea, R. & Swamy, B.P.M. (2019) Genetic mapping of QTL for agronomic traits and grain mineral elements in rice. *The Crop Journal*, 7 (4), 560–572.
- Dixit, S., Yadaw, R.B., Mishra, K.K., Kumar, A. (2017) Marker-assisted breeding to develop the drought-tolerant version of Sabitri, a popular variety from Nepal. *Euphytica*. [Online] 213, 184. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1976-3> [Diakses 27 Januari 2021].
- Dixit, S., Singh, U.M., Abbai, R., Ram, T., Singh, V.K., Paul, A., Virk, P.S. & Kumar, A. (2019) Identification of genomic region(s) responsible for high iron and zinc content in rice. *Scientific Reports*. [Online] 9, 8136. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43888-y> [Diakses 3 Februari 2021].
- Doi, K., Izawa, T., Fuse, T., Yamanouchi, U., Kubo, T., Shimatani, Z., Yano, M. & Yoshimura, A. (2004) *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of *Hd1*. *Genes & Development*. [Online] 18, 926–936. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1101/gad.1189604> [Diakses 12 Januari 2021].
- Du, X.C., Xia, M.Y., Li, J.B., Wan, B.L., Zha, Z.P. & Qi, H.X. (2009) Molecular marker-assisted selection for breeding of restoring lines in aroma rice. *Journal of Huazhong Agricultural University*. [Online] 28, 651–654. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-2421.2009.06.002> [Diakses 27 Januari 2021].
- Du, A., Tian, W., Wei, M., Yan, W., He, H., Zhou, D., Huang, X., Li, S. & Ouyang, X. (2017) The *DTH8-Hd1* module mediates day-length-dependent regulation of rice flowering. *Molecular Plant*. [Online] 10 (7), 948–961. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.05.006> [Diakses 3 Februari 2021].
- Famoso, A.N., Zhao, K., Clark, R.T., Tung, C.W., Wright, M.H., Bustamante, C., Kochian, L.V. & McCouch, S.R. (2011) Genetic architecture of aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through genome-wide association analysis and QTL mapping. *PLoS Genetics*. [Online] 7 (8), e1002221. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002221> [Diakses 27 Januari 2021].

- Fendiyanto, M.H., Satrio, R.D., Suharsono, S., Tjahjoleksono, A., Hanarida, I. & Miftahudin, M. (2019) QTL for aluminum tolerance on rice chromosome 3 based on root length characters. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 51 (4), 451–469.
- Fujita, D., Santos, R.E., Ebron, L.A., Teleanco-Yanoria, M.J., Kato, H., Kobayashi, S., Uga, Y., Araki, E., Takai, T., Tsunematsu, H., Imbe, T., Kush, G.S., Brar, D.S., Fukuta, Y. & Kobayashi, N. (2009) Development of introgression lines of an *indica*-type rice variety, IR64, for unique agronomic traits and detection of the responsible chromosomal regions. *Field Crops Research*. [Online] 114 (2), 244–254. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.08.004> [Diakses 3 Februari 2021].
- Fujita, D., Santos, R.E.M., Ebron, L.A., Teleanco-Yanoria, M.J., Kato, H., Kobayashi, S., Uga, Y., Araki, E., Takai, T., Tsunematsu, H., Imbe, T., Kush, G.S., Brar, D.S., Fukuta, Y. & Kobayashi, N. (2010) Characterization of introgression lines for yield-related traits with *indica*-type rice variety IR64 genetic background. *Japan Agricultural Research Quarterly*. [Online] 44 (1), 277–290. Tersedia pada: <https://doi.org/10.6090/jarq.44.277> [Diakses 12 Januari 2021].
- Fujita, D., Tagle, A.G., Ebron, L.A., Fukuta, Y. & Kobayashi, N. (2012) Characterization of near-isogenic lines carrying QTL for high spikelet number with the genetic background of an *indica* rice variety IR64 (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science*. [Online] 62 (1), 18–26. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.62.18> [Diakses 3 Februari 2021].
- Fujita, D., Koide, Y. & Kobayashi, N. (2018) Genetic dissection of agronomic traits in introgression lines and improvement of an elite *indica* rice variety. *Japan Agricultural Research Quarterly*. [Online] 55 (2), 91–103. Tersedia pada: <https://doi.org/10.6090/jarq.52.91> [Diakses 3 Februari 2021].
- Garcia-Oliveira, A.L., Tan, L., Fu, Y. & Sun, C. (2009) Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain. *Journal of Integrative Plant Biology*. [Online] 51 (1), 84–92. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00730.x> [Diakses 12 Januari 2021].
- Hami-Seno, D.S., Zainal Hasan, A.E., Santoso, T.J., Kusbiantoro, B. & Mas'ud, Z.A. (2011) Identifikasi gen aroma pada progeni-progeni *backcross* antara varietas Ciherang dengan Pandanwangi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 16 (2), 136–141.
- Hasan, M.M., Rafii, M.Y., Ismail, M.R., Mahmood, M., Rahim, H.A., Alam, Md.A., Ashkani, S., Malek, Md.A. & Latif, M.A. (2015) Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. [Online] 29 (2), 237–254. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.995920> [Diakses 12 Januari 2021].
- Jairin, J., Teangdeerith, S., Leelagud, P., Kothcharerk, J., Sansen, K., Yi, M., Vanavichit, A. & Toojinda, T. (2008) Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML105 grain quality characteristic through marker-assisted selection. *Field Crops Research*. [Online] 110 (3), 263–271. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.09.00> [Diakses 12 Januari 2021].
- Jena, K.K., Khush, G.S. & Koehert, G. (1992) RFLP analysis of rice (*Oryza sativa* L.) introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 84, 608–616.
- Karami, N., Aalamib, A., Lahijic, H.S., Rabieid, B. & Alahgholipoure, M. (2016) Analysis and comparison of fragrant gene sequence in some rice cultivars. *Genetika*. [Online] 48 (2), 597–607. Tersedia pada: <https://doi.org/10.2298/GENSR1602597K> [Diakses 3 Februari 2021].
- Khush, G.S. (2001) Green revolution: the way forward. *Nature Reviews Genetics*. [Online] 2, 815–822. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/35093585> [Diakses 12 Januari 2021].
- Kim, S.I. & Tai, T.H. (2013) Identification of SNPs in closely related temperate *japonica* rice cultivars using restriction enzyme-phased sequencing. *PLoS One*, 8 (3), e60176.
- Kim, W.Y., Hicks, K.A. & Somers, D.A. (2005) Independent roles for *EARLY FLOWERING 3* and *ZEITLUPE* in the control of circadian timing, hypocotyl length, and flowering time. *Plant Physiology*. [Online] 139, 1557–1569. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1104/pp.105.067173> [Diakses 12 Januari 2021].
- Kim, C.K., Yoon, U.H., Lee, G.S., Lee, H.K., Kim, Y.H. & Hahn, J.H. (2009) Rice genetic marker database: an identification of single nucleotide polymorphism (SNP) and quantitative trait loci (QTL) markers. *African Journal of Biotechnology*, 8 (13), 2963–2967.
- Kim, M.S., Yang, J.Y., Yu, J.K., Lee, Y., Park, Y.J. & Kang, K.K. (2021) Breeding of high cooking and eating quality in rice by marker-assisted backcrossing (MABC) using KASP markers. *Plants*. [Online] 10, 804. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/plants10040804> [Diakses 3 Februari 2021].
- Kojima, S., Takahashi, Y., Kobayashi, Y., Monna, L., Sasaki, T., Araki, T. & Yano, M. (2002). *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiology*. [Online] 43, 1096–1105. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcf156> [Diakses 12 Januari 2021].
- Krishnamurthy, S.L., Pundir, P., Warraich, A.S., Rathor, S., Lokeshkumar, B.M., Singh, N.K. & Sharma, P.C. (2020) Introgressed *Saltol* QTL lines improves the salinity tolerance in rice at seedling stage. *Frontiers in Plant Science*. [Online] 11, 833. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00833> [Diakses 3 Februari 2021].

- Kumbhar, S.D., Patil, J.V., Kulwal, P.L. & Chimote, V.P. (2013) Molecular diversity in rice (*Oryza sativa* L.) using ISSR markers. *International Journal of Integrative Sciences, Innovation and Technology*, 2 (2), 17–23.
- Lang, N.T. & Buu, B.C. (2006) Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omonrice*, 14, 1–9.
- Lang, N.T., Li, Z. & Buu, B.C. (2001) Microsatellite markers linked to salt tolerance in rice. *Omonrice*, 9, 9–21.
- Lestari, P & Koh, J. (2013) Development of new CAPS/dCAPS and SNAP markers for rice eating quality. *Hayati*. [Online] 20 (1), 15–23. Tersedia pada: <https://doi.org/10.4308/hjb.20.1.15> [Diakses 27 Januari 2021].
- Lestari, P., Utami, D.W., Rosdianti, I. & Sabran, M. (2016) Morphological variability of Indonesian rice germplasm and the associated SNP markers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. [Online] 28 (9), 660–670. Tersedia pada: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-03-319> [Diakses 27 Januari 2021].
- Li, X., Wang, R.R., Larson, S.R. & Chatterton, N.J. (2001) Development of a STS marker assay for detecting loss of heterozygosity in rice hybrids. *Genome*. [Online] 44 (1), 23–26. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1139/gen-44-1-23> [Diakses 12 Januari 2021].
- Lin, M.H., Lin, C.W., Chen, J.C., 2, Lin, Y.C., Cheng, S.Y., Liu, T.H., Jan, F.J., Wu, S.T., Thseng, F.S. & Ku, H.M. (2007) Tagging rice drought-related QTL with SSR DNA markers. *Crop, Environment & Bioinformatics*, 4, 65–76.
- Linh, L.H., Linh, T.H., Xuan, T.D., Ham, L.H., Ismail, A.M. & Khanh, T.D. (2012) Molecular breeding to improve salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) in the Red River Delta of Vietnam. *International Journal of Plant Genomics*. [Online] 2012, 949038. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1155/2012/949038> [Diakses 12 Januari 2021].
- Liu, C., Chen, K., Zhao, X., Wang, X., Shen, C., Zhu, Y., Dai, M., Qiu, X., Yang, R., Xing, D., Pang, Y. & Xu, J. (2019) Identification of genes for salt tolerance and yield-related traits in rice plants grown hydroponically and under saline field conditions by genome-wide association study. *Rice*. [Online] 12, 88. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0349-z> [Diakses 27 Januari 2021].
- Lubba, K.M., Fatimah, J. Prasetyono & D. Saptadi (2020) Agronomic characterization and background selection of BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> Inpari 30 × Cabacu rice lines using SSR markers for drought and submergence tolerance. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 52 (1), 17–29.
- Luo, Y. & Yin, Z. (2013) Marker-assisted breeding of Thai fragrance rice for semi-dwarf phenotype, submergence tolerance and disease resistance to rice blast and bacterial blight. *Molecular Breeding*, 32, 709–721.
- Luo, Y., Zakaria, S., Basyah, B., Ma, T., Li, Z., Yang, J. & Yin, Z. (2014) Marker-assisted breeding of Indonesia local rice variety Siputeh for semi-dwarf phenotype good grain quality and disease resistance to bacterial blight. *Rice*. [Online] 7, 33. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12284-014-0033-2> [Diakses 3 Februari 2021].
- Luong, N.H., Jeon, Y.A., Shim, K.C., Kim, S., Lee, H.S., Adeva, C., Thi, V.A.D. & Ahn, S.N. (2019) Characterization of the spikelet number per panicle QTL *qSPP7* using a nearly isogenic line derived from an interspecific cross in rice. *Plant Breeding and Biotechnology*. [Online] 7 (3), 245–256. Tersedia pada: <https://doi.org/10.9787/PBB.2019.7.3.245> [Diakses 12 Januari 2021].
- Mahender, A., Swamy, B.P.M., Anandan, A. & Ali, J. (2019) Tolerance of iron-deficient and-toxic soil conditions in rice. *Plants*. [Online] 8 (2), 31. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/plants8020031> [Diakses 3 Februari 2021].
- Matsubara, K., Kono, I., Hori, K., Nonoue, Y., Ono, N. & Shomura, A. (2008) Novel QTLs for photoperiodic flowering revealed by using reciprocal backcross inbred lines from crosses between *japonica* rice cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. [Online] 117, 935–945. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0833-0> [Diakses 12 Januari 2021].
- McCouch, S.R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K.B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D. & Stein, L. (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*. [Online] 9, 199–207. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/dnares/9.6.199> [Diakses 27 Januari 2021].
- McCouch, S.R., Zhao, K., Wright, M., Tung, C.W., Ebana, K., Thomson, M., Reynolds, A., Wang, D., DeClerck, G., Ali, Md.L., McClung, A., Eizenga, G. & Bustamante, C. (2010) Review development of genome-wide SNP assays for rice. *Breeding Science*. [Online] 60, 524–535. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.60.524> [Diakses 12 Januari 2021].
- Meng, L., Wang, B., Zhao, X., Kimberly, P., Qian, Q. & Ye, G. (2017) Association mapping of ferrous, zinc, and aluminum tolerance at the seedling stage in *indica* rice using MAGIC populations. *Frontiers in Plant Science*. [Online] 8, 1822. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01822> [Diakses 27 Januari 2021].
- Naqvi, N.I. & Cahattoo, B.B. (1996) Development of a sequence characterized amplified region (SCAR) based indirect selection method for a dominant blast-resistance gene in rice. *Genome*. [Online] 39 (1), 26–30. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1139/g96-004> [Diakses 12 Januari 2021].
- Neeraja, C.N, Rodriguez, R.M., Pamona, A., Heuer, S., Collard, B.C.Y., Septiningsih, E.M., Vergara, G., Sanches, D., Xu, K., Ismail, A.M. & Mackill, D.J. (2007) A marker-assisted backcross approach for developing

- submergence-tolerant rice cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. [Online] 115, 767–776. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0607-0> [Diakses 12 Januari 2021].
- Nguyen, V.T., Nguyen, B.D., Sarkarung, S., Martinez, C., Paterson, A.H. & Nguyen, H.T. (2002) Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: comparison of different genetic backgrounds. *Molecular Genetics and Genomics*. [Online] 267, 772–780. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00438-002-0686-1> [Diakses 12 Januari 2021].
- Paran, I. & Michelmore, R.W. (1993) Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and Applied Genetics*. [Online] 85, 985–993. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/BF00215038> [Diakses 12 Januari 2021].
- Pariasca-Tanaka, J., Chin, J.H., Dramé, K.N., Dalid, C., Heuer, S. & Wissuwa, M. (2014) A novel allele of the P-starvation tolerance gene *OsPSTOL1* from African rice (*Oryza glaberrima* Steud) and its distribution in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*. [Online] 127, 1387–1398. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2306-y> [Diakses 27 Januari 2021].
- Peng, S., Cassman, K.G., Virmani, S.S., Sheehy, J. & Khush, G.S. (1999) Yield potential trends of tropical rice since the release of IR8 and the challenge of increasing rice yield potential. *Crop Science*, 39, 1552–1559.
- Peng, S., Khush, G.S., Virk, P., Tang, Q. & Zou, Y. (2008) Progress in ideotype breeding to increase rice yield potential. *Field Crops Research*. [Online] 108 (1), 32–38. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.04.001> [Diakses 12 Januari 2021].
- Ponce, K.S., Ye, G. & Zhao, Q. (2018) QTL identification for cooking and eating quality in *indica* rice using multi-parent advanced generation intercross (MAGIC) population. *Frontiers in Plant Science*. [Online] 9, 868. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00342> [Diakses 3 Februari 2021].
- Pradhan, S.K., Pandit, E., Pawar, S., Naveenkumar, R., Barik, S.R., Mohanty, S.P., Nayak, D.K., Ghritlahre, S.K., Rao, D.S., Reddy, J.N. & Patnaik, S.S.C. (2020) Linkage disequilibrium mapping for grain Fe and Zn enhancing QTLs useful for nutrient dense rice breeding. *BMC Plant Biology*. [Online] 20, 57. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2262-4> [Diakses 2 Februari 2021].
- Prasetyono, J., Suhartini, T., Soemantri, I.H., Tasliah, Moeljopawiro, S., Aswidinnoor, H., Sopandie, D. & Bustamam, M. (2012) Evaluasi beberapa galur-*Pup1* tanaman padi (*Oryza sativa* L.) pada larutan hara dan lapangan. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 40 (2), 83–90.
- Prasetyono, J., Tasliah, Ma'sumah & Trijatmiko, K.R. (2018) Ekspresi di lapang galur-galur BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub> dan BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> persilangan Code × Nil-*qTSN4* dan Nil-*qDTH8* untuk perbaikan potensi hasil. Dalam: Zarwazi et al. (editor) *Prosiding Seminar Nasional 2017 (Buku 1)*. Sukamandi, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, hlm. 521–524.
- Rana, Md.M., Takamatsu, T., Baslam, M., Kaneko, K., Itoh, K., Harada, N., Sugiyama, T., Ohnishi, T., Kinoshita, T., Takagi, H. & Mitsui, T. (2019) Salt tolerance improvement in rice through efficient SNP marker-assisted selection coupled with speed-breeding. *International Journal of Molecular Science*. [Online] 20, 2585. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/ijms20102585> [Diakses 3 Februari 2021].
- Rao, Y., Yuanyuan L. & Qian, Q. (2014) Recent progress on molecular breeding of rice in China. *Plant Cell Reports*. [Online] 33 (4), 551–564. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1551-x> [Diakses 12 Januari 2021].
- Roy, S.C. & Lachagari, V.B.R. (2017) Assessment of SNP and InDel variations among rice lines of Tulaipanji × Ranjit. *Rice Science*. [Online] 24 (6), 336–348. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2017.01.003> [Diakses 27 Januari 2021].
- Sahebi, M., Hanafi, M.M., Rafii, M.Y., Mahmud, T.M.M., Azizi, P., Osman, M., Abiri, R., Taheri, S., Kalhori, N., Shabanimofrad, M., Miah, G. & Atabaki, N. (2018) Improvement of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.): Genetics, genomic tools, and the *WRKY* gene family. *BioMed Research International*. [Online] 2018, 3158474. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1155/2018/3158474> [Diakses 27 Januari 2021].
- Sasaki, K., Fujita, D., Koide, Y., Lumanglas, P.D., Gannaban, R.B., Tagle, A.G., Obara, M., Fukuta, Y., Kobayashi, N. & Ishimaru, T. (2017) Fine mapping of a quantitative trait locus for spikelet number per panicle in a new plant type rice and evaluation of a near-isogenic line for grain productivity. *Journal of Experimental Botany*. [Online] 68 (11), 2693–2702. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/jxb/erx128> [Diakses 12 Januari 2021].
- Seno, D.S.H., Padmadi, B., Praptiwi, D., Sugihartati, Taufiq, Fatahajudin, M.T., Al Anshary, H.R., Santoso, T.J. & Mas'ud, Z.A. (2011) Transfer gen *Badh2* termutasi varietas aromatik Mentik Wangi ke varietas nonaromatik Ciherang. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 16 (1), 65–70.
- Septiningsih, E.M., Hidayatun, N., Sanchez, D.L., Nugraha, Y., Carandang, J., Pamplona, A.M., Collard, B.C.Y., Ismail, A.M. & Mackill, D.J. (2014) Accelerating the development of new submergence tolerant rice varieties: the case of Ciherang-*Sub1* and PSB Rc18-*Sub1*. *Euphytica*. [Online] 202, 259–268. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1287-x> [Diakses 12 Januari 2021].
- Shabir, G., Aslam, K., Khan, A.R., Shahid, M., Manzoor, H., Noreen, S., Khan, M.A., Baber, M., Sabar, M., Shah, S.M. & Arif, M. (2017) Rice molecular markers and genetic mapping: current status and prospects. *Journal of Integrative Agriculture*. [Online] 16 (9), 1879–1891.



- Tersedia pada: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61591-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61591-5) [Diakses 27 Januari 2021].
- Shamsudin, N.A.A., Swamy, B.P.M., Ratnam, W., Cruz, M.T.S., Raman, A. & Kumar, A. (2016) Marker assisted pyramiding of drought yield QTLs into a popular Malaysian rice cultivar, MR219. *BMC Genetics*. [Online] 17, 30. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0334-0> [Diakses 12 Januari 2021].
- Sikirou, M., Saito, K., Achigan-Dako, E.G., Dramé, K.N., Adam, A. & Venuprasad, R. (2015) Genetic improvement of iron toxicity tolerance in rice progress, challenges and prospects in West Africa. *Plant Production Science*. [Online] 18 (4), 423–434. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1626/pp.s.18.423> [Diakses 12 Januari 2021].
- Spielmeyer, W., Ellis, M.H. & Chandler, P.M. (2002) Semidwarf (*sd-1*), "green revolution" rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. [Online] 99 (13), 9043–9048. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1073/pnas.132266399> [Diakses 12 Januari 2021].
- Srivastava, D., Shamim, Md., Mishra, A., Yadav, P., Kumar, D., Pandey, P., Khan, N.A. & Singh, K.N. (2019) Introgression of semi-dwarf gene in Kalanamak rice using marker-assisted selection breeding. *Current Science*. [Online] 116 (4), 597–603. Tersedia pada: <https://doi.org/10.18520/cs/v116/i4/597-603> [Diakses 12 Januari 2021].
- 
- Tasliah (2019) *Perbaikan potensi hasil varietas Code melalui silang balik dengan bantuan marka molekuler: uji multilokasi (UML)*. Laporan Akhir ROPP TA 2018. Bogor, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Tasliah, Ma'sumah, Trijatmiko, K.R. & Prasetyono, J. (2015) Analisis molekuler dan keragaan agronomis galur-galur padi BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> persilangan Code × *qTSN4* dan Code × *qDTH8*. *Jurnal AgroBiogen*. [Online] 1 (1), 17–24. Tersedia pada: <https://doi.org/10.21082/jbio.v11n1.2015.p17-24> [Diakses 12 Januari 2021].
- Tasliah, Ma'sumah & Prasetyono, J. (2019) Analisis molekuler dan uji adaptasi galur-galur padi Code-*qTSN4* dan Code-*qDTH8*. *Jurnal AgroBiogen*. [Online] 15 (1), 11–22. Tersedia pada: <https://doi.org/10.21082/jbio.v15n1.2019.p11-22> [Diakses 12 Januari 2021].
- Tasliah, Ma'sumah & Prasetyono, J. (2020) Uji daya hasil lanjutan dua puluh tujuh galur padi Code-*qTSN4* dan Code-*qDTH8*. *Jurnal Biologi Indonesia*. [Online] 16 (1), 67–79. Tersedia pada: <https://doi.org/10.14203/jbi.v16i1.3884> [Diakses 12 Januari 2021].
- Tomita, M. & Ishii, K. (2018) Genetic performance of the semidwarfing allele *sd1* derived from a *japonica* rice cultivar and minimum requirements to detect its single-nucleotide polymorphism by MiSeq whole-genome sequencing. *Hindawi BioMed Research International*. [Online] 2018, 4241725. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1155/2018/4241725> [Diakses 3 Februari 2021].
- Trijatmiko, K.R. (2014) *Aplikasi marka molekuler untuk pencarian lokasi gen pengendali komponen hasil dan perbaikan potensi hasil tanaman padi*. Laporan RPTP TA 2013. Bogor, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Trijatmiko, K.R., Supriyanta, Prasetyono, J., Thomson, M.J., Cruz, C.M.V., Moeljopawiro, S. & Pereira, A. (2014) Meta-analysis of quantitative trait loci for grain yield and component traits under reproductive-stage drought stress in an upland rice population. *Molecular Breeding*. [Online] 34, 283–295. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s11032-013-0012-0> [Diakses 12 Januari 2021].
- Utami, S., Widyastuti, U., Utami, D.W., Rosdianti, I. & Lestari, P. (2017) Molecular marker-assisted selection of rice grain quality on rice (*Oryza sativa* L.) lines tolerant to Fe toxicity stress. *The Journal of Tropical Life Science*. [Online] 7 (3), 268–276. Tersedia pada: <https://doi.org/10.11594/jtls.07.03.13> [Diakses 27 Januari 2021].
- Wanchana, S., Kamolsukyunyong, W., Ruengphayak, S., Toojinda, T., Tragoonrung, S. & Vanavichit, A. (2005) A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. *ScienceAsia*. [Online] 31, 299–306. Tersedia pada: <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2005.31.299> [Diakses 12 Januari 2021].
- Wei, X., Xu, J., Guo, H., Jiang, L., Chen, S., Yu, C., Zhou, Z., Hu, P., Zhai, H. & Wan, J. (2010) *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiology*. [Online] 153 (4), 1747–1758. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1104/pp.110.156943> [Diakses 27 Januari 2021].
- Wissuwa, M., Yano, M. & Ae, N. (1998) Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 777–783.
- Wu, L.B., Shhadi, Md.S., Gregorio, G., Matthus, E., Becker, M. & Frei, M. (2014) Genetic and physiological analysis of tolerance to acute iron toxicity in rice. *Rice*. [Online] 7, 8. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12284-014-0008-3> [Diakses 3 Februari 2021].
- Xiang, C., Qu, L.J., Gao, Y.M. & Shi, Y.Y. (2013) Flower development and photoperiodic control of flowering in rice. *Rice Science*, 20 (2), 79–87.
- Xue, W., Xing, Y., Weng, X., Zhao, Y., Tang, W., Wang, L., Zhou, H., Yu, S., Xu, C., Li, X. & Zhang, Q. (2008) Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nature Genetics*. [Online] 40, 761–767. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/ng.143> [Diakses 12 Januari 2021].

- Yonemaru, J., Yamamoto, T., Fukuoka, S., Uga, Y., Hori, K. & Yano, M. (2010) Q-TARO: QTL annotation rice online database. *Rice*, 3, 194–203.
- Yu, H., Xie, W., Li, J., Zhou, F. & Zhang, Q. (2014) A whole-genome SNP array (RICE 6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnology Journal*. [Online] 12 (1), 28–37. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1111/pbi.12113> [Diakses 3 Februari 2021].
- Zhang, J., Chen, K., Pang, Y., Naveed, S.A., Zhao, X., Wang, X., Wang, Y., Dingkuhn, M., Pasuquin, J., Li, Z. & Xu, J. (2017) QTL mapping and candidate gene analysis of ferrous iron and zinc toxicity tolerance at seedling stage in rice by genome-wide association study. *BMC Genomics*. [Online] 18, 828. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4221-5> [Diakses 3 Februari 2021].
- Zhang, A., Gao, Y., Li, Y., Ruan, B., Yang, S., Liu, C., Zhang, B., Jiang, H., Fang, G., Ding, S., Jahan, N., Xie, L., Dong, G., Xu, Z., Gao, Z., Guo, L. & Qian, Q. (2020) Genetic analysis for cooking and eating quality of super rice and fine mapping of a novel locus *qGC10* for gel consistency. *Frontiers in Plant Science*. [Online] 11, 342. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00342> [Diakses 3 Februari 2021].
- Zhu, J., Gale, M.D., Quarrie, S., Jackson, M.T. & Bryan, G.J. (1998) AFLP markers for the study of rice biodiversity. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 602–611.
-