

Verifikasi Lokus *Aluminum Tolerance* (*Alt*) pada Tiga Populasi BC_3F_1 Padi

Verification of Aluminum Tolerance Loci (Alt) in Three BC_3F_1 Rice Populations

Muhammad Raiful Mizan¹, Desta Wirnas^{2*}, dan Joko Prasetyono³

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor, 16680, Indonesia

³Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
Jl. Tentara Pelajar, No. 3A, Cimanggung, Bogor 16111, Indonesia

Diterima 8 November 2017/Disetujui 25 Februari 2019

ABSTRACT

Most of marginal lands in Indonesia are in the form of acid dry land with low available P and high Al concentrations. Development of tolerant rice varieties to P deficiency and Al toxicity is one way to increase rice production. This study aimed to select BC_3F_1 -Pup1+Alt genotypes from three crosses based on foreground and background markers. This research was conducted at the Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development, Bogor, from August to December 2015. The materials used were 300 genotypes of BC_3F_1 Dodokan-Pup1+Alt, BC_3F_1 Situ Bagendit-Pup1+Alt, BC_3F_1 Batur-Pup1+Alt, and the parents. The research included selection in modified Yoshida's nutrient solutions (0.5 ppm P dan 60 ppm Al) followed by foreground selection and background selection. Selection using Yoshida's nutrient solution resulted in 150 genotypes with longer root than the recipient parent in each of the BC_3F_1 populations. Selection with foreground markers using markers RM1361 and RM12031 produced 85 genotypes of BC_3F_1 Dodokan-Pup1+Alt (56.6%), 105 genotypes of BC_3F_1 Situ Bagendit-Pup1+Alt (70%), and 77 genotypes of BC_3F_1 Batur-Pup1+Alt (51.33%). Selection using background markers revealed that genotype number 116 (BC_3F_1 Dodokan-Pup1+Alt), number 2 (BC_3F_1 Situ Bagendit-Pup1+Alt), and number 129 (BC_3F_1 Batur-Pup1+Alt) were the best genotypes with percentage of parent recovery of 95%, 90%, and 90.5%, respectively. These three genotypes were verified to have Alt loci and had the largest genetic proportion of restoring parents.

Keywords: Alt, background markers, foreground markers, Pup1, upland rice

ABSTRAK

Sebagian besar lahan marjinal di Indonesia adalah berupa lahan masam, yaitu lahan dengan ketersediaan hara P yang rendah dan konsentrasi Al yang tinggi. Perakitan varietas padi yang toleran terhadap kahat P dan keracunan Al merupakan salah satu solusi untuk mengatasi kendala budidaya padi gogo di lahan kering masam. Penelitian ini bertujuan menyeleksi genotipe BC_3F_1 -Pup1+Alt berdasarkan marka foreground dan marka background. Penelitian ini dilakukan Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik, Bogor dari bulan Agustus hingga Desember 2015. Materi yang digunakan adalah masing-masing 300 genotipe BC_3F_1 Dodokan-Pup1+Alt, BC_3F_1 Situ Bagendit-Pup1+Alt, BC_3F_1 Batur-Pup1+Alt, dan tetua-tetuanya. Penelitian meliputi seleksi di larutan hara Yoshida yang dimodifikasi (0.5 ppm P dan 60 ppm Al), dilanjutkan dengan seleksi foreground dan seleksi background. Seleksi menggunakan larutan hara Yoshida menghasilkan 150 genotipe dengan akar lebih panjang dibandingkan tetua pemulihnya pada masing-masing populasi BC_3F_1 . Seleksi dengan marka foreground menggunakan marka RM1361 dan RM12031 menghasilkan sebanyak 85 genotipe Dodokan-Pup1+Alt, 105 genotipe Situ Bagendit-Pup1+Alt, dan 77 genotipe Batur-Pup1+Alt. Seleksi dengan marka background menunjukkan bahwa genotipe nomor 116 (BC_3F_1 Dodokan-Pup1+Alt), nomor 2 (BC_3F_1 Situ Bagendit-Pup1+Alt), dan nomor 129 (BC_3F_1 Batur-Pup1+Alt) adalah genotipe yang memiliki lokus Alt dengan persentase pemulihan tetua berturut-turut sebesar 95%, 90%, dan 90.5%. Ketiga genotipe tersebut telah diverifikasi memiliki lokus Alt dan memiliki proporsi genetik tetua pemulih terbesar.

Kata kunci: Alt, larutan hara Yoshida, marka background, marka foreground, padi gogo, Pup1

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: desta.wirnas@yahoo.com

PENDAHULUAN

Padi merupakan tanaman monokotil dari famili Poaceae yang memiliki dua belas pasang kromosom. Padi dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan budidayanya, yaitu padi yang ditanam di lahan tergenang (sawah) dan padi yang ditanam di lahan kering (gogo). Padi sawah merupakan andalan utama pemerintah Indonesia untuk mencapai pangan, namun dengan semakin meningkatnya jumlah penduduk menyebabkan meningkatnya kebutuhan beras nasional.

Budidaya padi gogo merupakan salah satu cara untuk meningkatkan produksi beras dalam negeri, namun masih terdapat kendala, seperti rendahnya kesuburan tanah, tingginya tingkat kemasaman tanah, keracunan aluminium (Al), dan kahat fosfor (P) (Apriliani *et al.*, 2017; Prasetyono, 2010). Terbentuknya ikatan antara Al dan P menyebabkan tidak tersedianya unsur P sehingga pemupukan tidak efisien (Suhartini, 2010; Lestari *et al.*, 2017). Fosfor merupakan unsur penting yang dibutuhkan selama fase pertumbuhan vegetatif dan generatif pada padi (Tasliyah *et al.*, 2016). Hingga saat ini banyak peneliti yang mencoba mengembangkan padi gogo agar memiliki sifat toleransi terhadap keracunan Al dan kahat P sehingga tetap mampu tumbuh dan berproduksi dengan baik pada kondisi lahan dengan keracunan Al dan kahat P (Suhartini *et al.*, 2009).

Pengembangan varietas melalui piramida genetik untuk padi toleran Al di Indonesia dimulai dengan mengintrogresikan sifat toleransi kahat P (lokus *Pup1*) dari Kasalath dan NIL-C433 ke dalam tiga varietas gogo lokal Indonesia (Dodokan, Situ Bagendit, dan Batur) hingga didapatkan galur-galur yang memiliki tambahan segmen toleransi terhadap kahat P (lokus *Pup1*) pada ketiga varietas dan masing-masing disebut dengan Dodokan-*Pup1*, Situ Bagendit-*Pup1*, dan Batur-*Pup1* (Prasetyono, 2010; Chin *et al.*, 2011). Genotipe Dodokan-*Pup1*, Situ Bagendit-*Pup1* dan Batur-*Pup1* kembali dikembangkan dengan mengintroduksi sifat toleransi terhadap keracunan Al (lokus *Alt*) yang berasal dari genotipe Dupa melalui metode *marker-assisted backcrossing*. Melalui pengembangan ini berhasil didapatkan tiga genotipe padi gogo yang memiliki lokus *Pup1* dan *Alt* (Dodokan-*Pup1+Alt*, Situ Bagendit-*Pup1+Alt*, dan Batur-*Pup1+Alt*). Hingga saat ini proses piramida genetik antara lokus *Pup1* dengan lokus *Alt* sudah mencapai generasi BC₃F₁ yang diseleksi menggunakan marka molekuler untuk mendapatkan varietas padi dengan sifat toleran kahat P dan keracunan Al. Penelitian ini bertujuan menyeleksi genotipe BC₃F₁-*Pup1+Alt* dari tiga persilangan berdasarkan marka *foreground* dan marka *background*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Rumah Kaca, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB BIOGEN), Bogor, Jawa Barat. Waktu pelaksanaan dimulai pada bulan Agustus sampai Desember 2015.

Materi Genetik Tanaman

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 300 genotipe dari masing-masing BC₃F₁ Dodokan-*Pup1+Alt*, Situ Bagendit-*Pup1+Alt*, dan Batur-*Pup1+Alt*; tetua pemulih yang terdiri dari Dodokan-*Pup1*, Situ Bagendit-*Pup1*, dan Batur-*Pup1* (ketiga tetua tersebut merupakan varietas Dodokan, Situ Bagendit, dan Batur yang memiliki lokus *Pup1*); Dupa sebagai tetua donor lokus *Alt* sekaligus sebagai genotipe cek toleran Al dalam uji larutan hara Yoshida; varietas lokal Kasalath (tetua donor lokus *Pup1* sekaligus sebagai genotipe cek sensitif Al). Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap seleksi, yaitu (1) seleksi dalam larutan hara Yoshida berdasarkan panjang akar, dilanjutkan (2) seleksi berdasarkan marka *foreground* dan jumlah anakan, dan (3) seleksi berdasarkan marka *background*.

Seleksi Larutan Hara Yoshida

Sebanyak 300 genotipe dari masing-masing persilangan BC₃F₁ Dodokan-*Pup1+Alt*, BC₃F₁ Situ Bagendit-*Pup1+Alt*, dan BC₃F₁ Batur-*Pup1+Alt* beserta tetua-tetua cek ditumbuhkan dalam cawan petri selama tiga hari lalu diletakkan di atas larutan hara Yoshida (Yoshida *et al.*, 1976) yang dimodifikasi dengan pengurangan unsur hara P menjadi 0.5 ppm (normalnya adalah 10 ppm) dan penambahan unsur Al sebesar 60 ppm. Dalam larutan hara bibit padi diletakkan pada lubang yang dibuat pada *styrofoam* yang bagian bawahnya sudah diberi kain kasa nyamuk. Satu bak plastik berukuran 10 L diisi seluruh genotipe dalam satu persilangan.

Kadar keasaman (pH) larutan hara diukur setiap dua hari dan dijaga agar tetap pada pH 4 dengan menambahkan NaOH atau HCl serta dilakukan penambahan air (d_4H_2O) apabila terjadi penurunan air dalam bak plastik akibat penguapan. Tanaman dipelihara sampai berumur dua minggu. Aerator dipasang untuk menjaga homogenitas larutan. Seleksi di larutan hara dilakukan berdasarkan panjang akar, yaitu dengan memilih ± 150 genotipe pada masing-masing populasi dengan kriteria memiliki akar lebih panjang dibandingkan tetua pemulihnya.

Seleksi Berdasarkan Marka *Foreground* Lokus *Alt* dan Jumlah Anakan

Sebanyak 150 genotipe untuk masing-masing persilangan yang telah terpilih berdasarkan seleksi larutan hara dipindahkan ke dalam ember dengan media tanah (kondisi disawahkan), dipelihara di rumah kaca hingga panen. Data yang dicatat adalah data jumlah anakan pada fase vegetatif. Data ini dipergunakan untuk bahan pertimbangan pemilihan genotipe untuk seleksi *background*.

Seleksi dengan marka *foreground* dilakukan menggunakan marka RM12031 dan RM1361 berdasarkan posisi QTL lokus *Alt* (Hidayatun, 2014) (Tabel 1). Seleksi ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu isolasi DNA, amplifikasi DNA, dan elektroforesis. Isolasi DNA mengacu pada metoda Dellaporta *et al.* (1983) yang dimodifikasi. Program PCR yang digunakan adalah untuk pemisahan awal

Tabel 1. Marka-marka yang digunakan untuk mendeteksi lokus *Alt* pada seleksi *foreground*

Nama primer		Rantai basa (‘5-’3)	Ukuran pita (bp)
RM12031	(forward)	ATGCTTGCAGACAATCGATGC	295
	(reverse)	CTCTCCGCCTAAACAACCTTGTGC	
RM1361	(forward)	TCCCTAGCTAGCTCTCCATCTCC	214
	(reverse)	AGTACTACCGCTACATGTCTTCTTGG	

untai DNA pada suhu 94 °C selama 5 menit, dilanjutkan 35 siklus, yakni pemisahan untai DNA pada suhu 94 °C selama 60 detik, penempelan marka pada suhu 55 °C selama 60 detik, dan perpanjangan marka pada suhu 72 °C selama 2 menit. Perpanjangan marka terakhir dilakukan pada suhu 72 °C selama 7 menit. Selanjutnya, produk PCR tersebut dielektroforesis pada gel poliakrilamida 8% selama 2 jam pada 80 V. DNA diwarnai dengan merendam di dalam larutan EtBr dan didokumentasi menggunakan ChemiDocTM.

Genotipe yang dipilih adalah genotipe yang memiliki pita heterozigot untuk kedua marka *foreground*. Data molekuler dan data jumlah anakan inilah yang menjadi dasar pemilihan genotipe untuk seleksi menggunakan marka *background*. Sebanyak 20 genotipe untuk masing-masing populasi yang memiliki pita heterozigot untuk kedua marka *foreground* dengan jumlah anakan terbanyak dipilih untuk keperluan tersebut.

Seleksi Berdasarkan Marka *Background*

Dua puluh genotipe BC₃F₁ terpilih dari masing-masing populasi BC₃F₁ diseleksi kembali dengan marka *background*. Marka yang digunakan adalah marka SSR yang bersifat polimorfik untuk tiap lengan kromosom. Hasil skoring pita yang muncul dari hasil seleksi *background* BC₃F₁ pada kegiatan ini diakumulasikan dengan hasil yang diperoleh pada penelitian generasi BC₂F₁ sebelumnya (Amdela, 2016). Proses analisis molekuler di laboratorium mengikuti pada saat seleksi menggunakan marka *foreground*.

Pola pita yang dihasilkan dicatat sebagai “A” yang mengikuti tetua pemulih, “B” yang mengikuti tetua donor (Dupa), “H” yang mengikuti kedua tetua (heterozigot). Visualisasi proporsi genetik dilakukan menggunakan perangkat lunak *graphical genotypes 2.0* (GGT 2.0). Hanya satu genotipe yang memiliki proporsi genetik tetua pemulih tertinggi dari masing-masing populasi yang dipilih dilanjutkan ke tahap seleksi lebih lanjut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Larutan Hara Yoshida

Beberapa genotipe BC₃F₁ dari masing-masing populasi memiliki akar yang lebih panjang dibandingkan dengan tetua pemulihnya (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa ketiga populasi BC₃F₁ memiliki kemampuan mengembangkan akarnya pada kondisi kahat P dan keracunan Al. Genotipe tersebut diduga memiliki lokus *Pup1* dan *Alt*. Genotipe

yang memiliki lokus *Pup1* umumnya memiliki penampilan akar yang normal sehingga efisien dalam penyerapan hara P pada kondisi kahat hara (0 µM dan 100 µM KH₂PO₄) (Kottearachchi dan Wijesekara, 2013). Sementara itu, Al yang meracuni tudung akar menyebabkan kerusakan pada sel-sel meristematik sehingga penampilan akar lebih pendek, oleh karena itu, karakter panjang akar sering digunakan sebagai kriteria utama untuk seleksi toleransi genotipe terhadap keracunan Al (Suhartini, 2010; Prasetyono *et al.*, 2012).

Varietas lokal Dupa memiliki akar yang lebih panjang dibandingkan seluruh genotipe yang diuji (Tabel 2). Hal ini menunjukkan kalau Dupa merupakan jenis padi yang toleran terhadap keracunan Al. Penelitian ini sejalan dengan Purnamaningsih dan Mariska (2008) yang menunjukkan Dupa memiliki nilai panjang akar relatif (PAR) yang lebih besar ketika diuji pada berbagai konsentrasi cekaman Al. Berbeda dengan Dupa, Kasalath merupakan varietas yang sensitif terhadap Al sehingga varietas Dupa dan Kasalath sering digunakan sebagai tetua kontrol positif maupun negatif terhadap cekaman Al.

Seleksi Berdasarkan Marka *Foreground* Lokus *Alt* dan Jumlah Anakan

Setelah pengujian dengan dua marka RM12031 dan RM1361, diperoleh 85 genotipe BC₃F₁ Dodokan-*Pup1+Alt* (56.6%), 105 genotipe BC₃F₁ Situ Bagendit-*Pup1+Alt* (70%), dan 77 genotipe BC₃F₁ Batur-*Pup1+Alt* (51.33%)

Tabel 2. Rata-rata perhitungan panjang akar hasil seleksi hara Yoshida (60 ppm Al dan 0.5 ppm P) populasi BC₃F₁

Genotipe	Rata-rata panjang akar (cm)	Rentang panjang (cm)
Dupa	9.4	7.6-11
Kasalath	0.2	0.1-0.3
Dodokan- <i>Pup1</i>	2.6	1.0-3.3
BC ₃ F ₁ Dodokan- <i>Pup1+Alt</i>	3.6	1.5-7.5
Situ Bagendit- <i>Pup1</i>	2.0	1.0-2.3
BC ₃ F ₁ Situ Bagendit- <i>Pup1+Alt</i>	4.1	2.0-8.0
Batur- <i>Pup1</i>	1.0	0.1-2.0
BC ₃ F ₁ Batur- <i>Pup1+Alt</i>	2.6	1.0-7.0

yang memunculkan pita heterozigot pada dua marka uji (Tabel 3). Hal ini menunjukkan peluang untuk mendapatkan genotipe yang memiliki lokus *Alt* dalam populasi BC₃F₁ Situ Bagendit paling besar. Hal ini memberikan banyak peluang untuk memilih 20 genotipe terbaik berdasarkan jumlah anakan terbanyak. Contoh amplifikasi menggunakan marka *foreground* untuk lokus *Alt* disajikan dalam Gambar 1.

Marka *foreground* (RM12031 dan RM1361) ini merupakan konversi posisi marka SNP yang diperoleh Hidayatun (2014) pada lokasi lokus *Alt* ke dalam marka mikrosatelit. Marka SNP terkait dengan lokus *Alt* berada pada posisi sekitar 158.8 cM dengan LOD 3.482. Posisi tersebut selanjutnya digunakan sebagai dasar pemilihan marka mikrosatelit. Marka RM12031 dan RM1361 tersebut dipilih dari sekian banyak marka mikrosatelit yang digunakan dalam studi polimorfisme antar tetua (data tidak ditampilkan). Marka yang polimorfik antara Dodokan-*Pup1*, Situ Bagendit-*Pup1*, Batur-*Pup1* dengan Dupa digunakan sebagai marka *foreground*, demikian pula metode yang sama

digunakan untuk menyeleksi marka-marka mikrosatelit yang tersebar di seluruh kromosom padi.

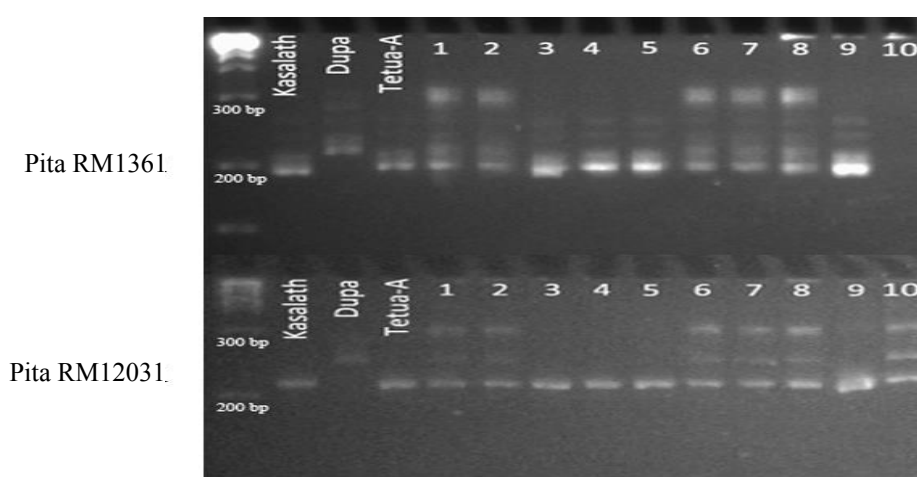
Kombinasi antar kedua kriteria seleksi (*foreground* dan jumlah anakan terbanyak) dijadikan acuan untuk memilih 20 genotipe BC₃F₁ untuk seleksi *background*. Prasetyono (2010) menyatakan bahwa marka *foreground* merupakan marka yang terputus erat dengan gen atau lokus yang diinginkan (dibawa tetua donor) sehingga dengan munculnya pita yang posisinya sama dengan tetua donor dapat dipastikan genotipe tersebut memiliki gen atau lokus yang dimaksud. Untuk lokus *Pup1* sendiri telah diidentifikasi sebanyak 35 marka *foreground* yang dapat digunakan sebagai alat seleksi (Prasetyono dan Tasliah, 2012).

Marka *foreground* yang digunakan pada generasi BC₃F₁ hanya untuk lokus *Alt* saja, sedangkan untuk lokus *Pup1* tidak dilakukan dengan asumsi tidak hilang karena proses silang balik dari BC₁ sampai BC₃ selalu menggunakan tetua yang sudah memiliki lokus *Pup1* dalam kondisi homozigot sehingga setiap proses silang balik dipastikan selalu membawa lokus *Pup1*.

Tabel 3. Hasil tabulasi seleksi marka *foreground* (RM12031 dan RM1361) pada genotipe BC₃F₁ terpilih

Primer	Populasi	Skoring pita					Pita heterozigot kedua primer*
		A	B	C	H	0	
RM12031	BC ₃ F ₁ Dodokan- <i>Pup1</i> + <i>Alt</i>	53	0	0	91	6	85
RM1361		57	0	0	90	3	
RM12031	BC ₃ F ₁ Situ Bagendit- <i>Pup1</i> + <i>Alt</i>	45	0	0	105	0	105
RM1361		45	0	0	105	0	
RM12031	BC ₃ F ₁ Batur- <i>Pup1</i> + <i>Alt</i>	62	0	0	82	6	77
RM1361		56	0	0	87	7	

Keterangan: A = homozigot tetua pemulih; B = homozigot tetua donor; C = tidak mengikuti keduanya; H = heterozigot; 0 = tidak ada pita DNA yang muncul; * = pita heterozigot pada dua marka di genotipe yang sama



Gambar 1. Dokumentasi pita sebagian nomor hasil seleksi *foreground* pada populasi BC₃F₁ Dodokan-*Pup1*+*Alt* menggunakan marka RM1361 dan RM12031; Tetua-A = tetua pemulih Dodokan-*Pup1*

Seleksi Berdasarkan Marka Background

Seleksi molekuler *background* dilakukan pada 20 genotipe masing-masing populasi persilangan terpilih hasil seleksi marka *foreground* dan jumlah anakan terbanyak (Tabel 4). Jumlah marka *background* berhasil dianalisis adalah 52 marka pada populasi BC₃F₁ Dodokan-*Pup1+Alt* (rata-rata 4.33 marka per kromosom), 52 marka untuk BC₃F₁ Situ Bagendit-*Pup1+Alt* (4.33 marka per kromosom), dan 54 pasang marka pada BC₃F₁ Batur-*Pup1+Alt* (4.5 marka per kromosom). Seleksi berdasarkan marka *background* ini biasanya dilakukan sejak genotipe BC₁F₁, dilanjutkan BC₂F₁, BC₃F₁, dan BC₃F₂. Penghitungan jumlah marka *background* adalah bersifat kumulatif, artinya hasil yang telah diperoleh dari generasi sebelumnya akan digunakan pada perhitungan berikutnya, begitu seterusnya sampai generasi BC₃F₂. Pada generasi BC₃F₂ inilah diharapkan setiap kromosom akan berisi marka untuk setiap 10 *cM* (umumnya 10-15 marka/kromosom) yang bisa memberikan informasi tentang status marka apakah homozigot atau heterozigot.

Prasetyono (2010) telah melakukan seleksi menggunakan marka *background* ini sejak genotipe BC₁F₁ sampai dengan BC₂F₂ dan diperoleh informasi marka-

marka setiap 10 *cM* setiap kromosomnya. Keberhasilan seleksi *background* ini tergantung tingkat polimorfisme antar tetua yang digunakan. Jumlah marka yang diperoleh umumnya lebih banyak pada padi tipe *indica vs japonica* dibandingkan *indica vs indica* atau *japonica vs japonica* (Prasetyono *et al.*, 2008). Bahkan, seleksi *background* ini tidak bisa dilakukan bila marka mikrosatelit yang digunakan tidak ada yang menunjukkan polimorfis. Hal ini terjadi pada persilangan Code dengan IR64-NIL-*qTSN4* atau IR64-NIL-*qDTH8*, yaitu kedua tetua tersebut sama-sama memiliki *background* IR64 (Tasliyah *et al.*, 2015).

Rata-rata pemulihan genotipe tetua pada populasi BC₃F₁ Dodokan-*Pup1+Alt* sudah mencapai 84.4%. Genotipe dengan perolehan pita A terendah adalah genotipe nomor 12, 42, dan 76 yang sama-sama memiliki jumlah pita homozigot A sebanyak 41 marka atau dengan persentase pemulihan sebesar 77.5%, sedangkan genotipe nomor 116 merupakan genotipe yang paling banyak menunjukkan pita yang sama dengan tetua pemulih, yaitu sebanyak 48 marka atau sebesar 95% pemulihan tetua. Populasi BC₃F₁ Situ Bagendit-*Pup1+Alt*, rata-rata persentase pemulihan tetua sebesar 78%. Genotipe nomor 100 merupakan genotipe yang memiliki persentase pemulihan terendah, yaitu sebesar

Tabel 4. Dua puluh genotipe BC₃F₁ terpilih berdasarkan seleksi marka (*foreground*) dan jumlah anakan pada masing-masing persilangan

No	Dodokan- <i>Pup1+Alt</i>		Situ Bagendit- <i>Pup1+Alt</i>		Batur- <i>Pup1+Alt</i>	
	Kode individu	Jumlah anakan	Kode individu	Jumlah anakan	Kode individu	Jumlah anakan
1	17	17	150	25	2	14
2	29	17	148	22	12	13
3	104	16	145	20	28	12
4	13	15	85	18	35	12
5	62	15	93	18	40	12
6	117	15	136	18	61	12
7	140	15	141	18	132	12
8	8	14	2	17	18	11
9	12	14	48	17	52	11
10	14	14	59	17	54	11
11	20	14	100	17	64	11
12	24	14	146	17	78	11
13	26	14	6	16	82	11
14	35	14	38	16	87	11
15	37	14	52	16	89	11
16	49	14	65	16	98	11
17	76	14	87	16	124	11
18	81	14	92	16	129	11
19	116	14	143	16	13	10
20	42	13	53	15	19	10
Rata-rata		14.6		17.6		11.4

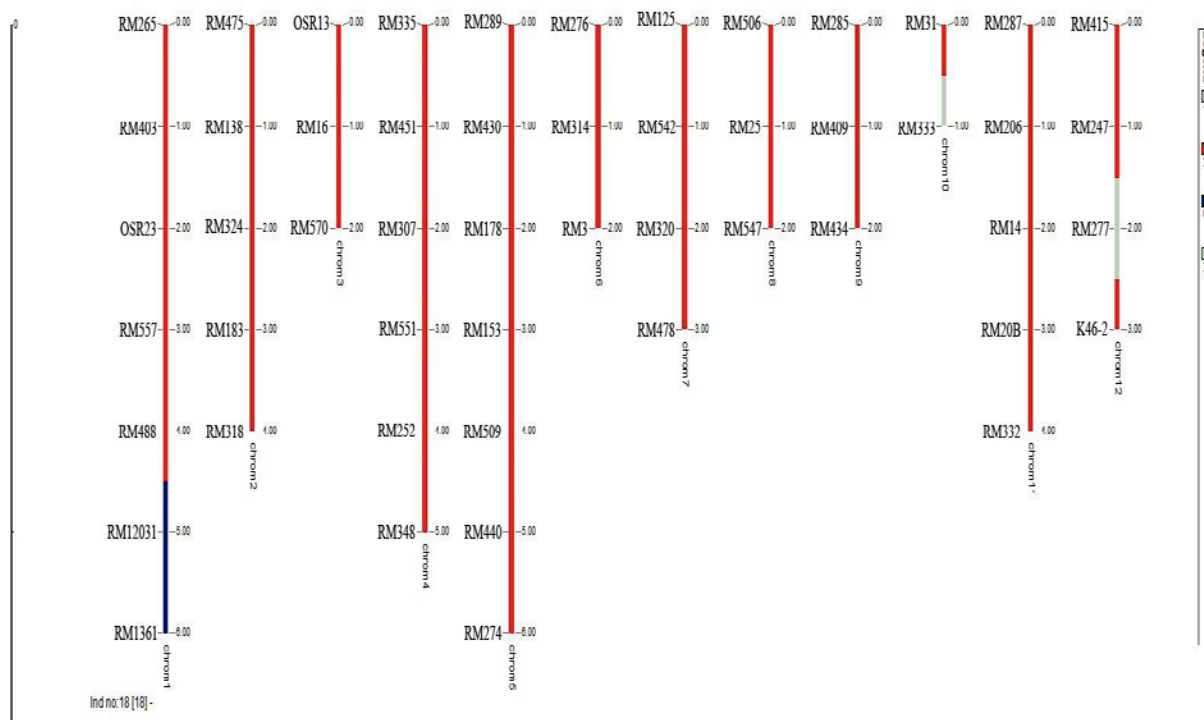
70%, sedangkan genotipe nomor 2 merupakan genotipe yang paling banyak menunjukkan pita A sebanyak 47 marka dengan persentase pemulihan tetua sebesar 90% (Tabel 5). Rata-rata pemulihan genotipe pada populasi BC₃F₁ Batur-Pupl+Alt adalah 81.68%, dengan genotipe nomor 98 yang memiliki persentase pemulihan tetua terendah sebesar 73.8%, sedangkan genotipe nomor 129 memiliki persentase pemulihan tetua tertinggi, yaitu sebesar 90.5% (Tabel 5). Genotipe yang memiliki persentase pengembalian genetik tertinggi ternyata tidak selalu memiliki jumlah anakan terbanyak (Tabel 4). Hal ini menunjukkan seleksi di rumah kaca/lapang tetap harus dilakukan untuk mengetahui hasil yang diperoleh. Seleksi menggunakan marka molekuler membantu pemulia dalam memilih genotipe yang mengandung lokus atau gen yang diinginkan, sedangkan seleksi di rumah kaca atau lapang bisa memilih genotipe terbaik dari genotipe yang memiliki lokus atau gen yang diinginkan.

Visualisasi proporsi genetik 12 kromosom dari tanaman yang memiliki persentase pemulihan tetua tertinggi ditampilkan pada Gambar 2, 3, dan 4. Rata-rata keseluruhan kromosom terdapat warna merah (A) yang menunjukkan bahwa bagian tersebut sudah sama dengan masing-masing tetua pemulihnya (Dodokan-Pupl, Situ Bagendit-Pupl, dan Batur-Pupl). Beberapa bagian juga terlihat adanya warna hijau (H) yang menandakan masih adanya segmen heterozigot, dan warna biru (B) (kromosom 1) yang menunjukkan bahwa genotipe tersebut membawa lokus *Alt* dari tetua donor (Dupa) (berdasarkan seleksi marka *foreground*). Seleksi marka *background* yang didasarkan pada besarnya persentase proporsi tetua pemulih pada genotipe merupakan kriteria penting untuk mempersingkat proses pemuliaan karena mampu secara cepat mengurangi proporsi genom tetua donor dengan mengeliminir genotipe-genotipe yang masih membawa segmen tetua donor melalui hasil pita polimorfik yang muncul.

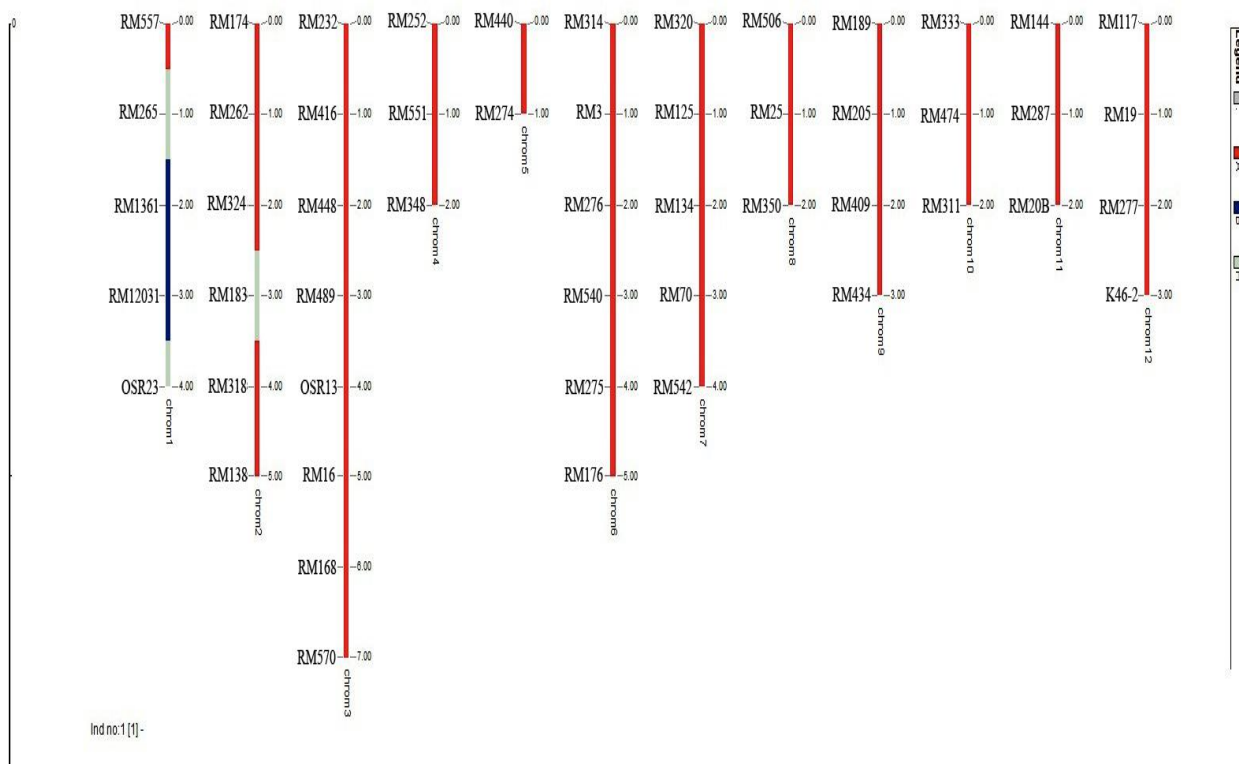
Tabel 5. Persentase proporsi genetik dari genotipe padi terpilih masing-masing persilangan

No	BC ₃ F ₁ Dodokan-Pupl+Alt			No	BC ₃ F ₁ Situ Bagendit-Pupl+Alt			No	BC ₃ F ₁ Batur-Pupl+Alt		
	Proporsi gen (%)				Proporsi gen (%)				Proporsi gen (%)		
	A	B	H		A	B	H		A	B	H
8	80.0	5.0	15.0	2	90.0	5.0	5.0	2	81.0	4.8	14.2
12	77.5	5.0	17.5	6	77.5	5.0	17.5	12	78.6	4.8	16.6
13	87.5	2.5	10.0	38	85.0	5.0	10.0	13	81.0	4.8	14.2
14	85.0	5.0	10.0	48	75.0	7.5	17.5	18	81.0	4.8	14.2
17	87.5	5.0	7.5	52	75.0	7.5	17.5	19	81.0	4.8	14.2
20	90.0	2.5	7.5	53	75.0	5.0	20.0	28	81.0	2.4	16.6
24	87.5	2.5	10.0	59	85.0	5.0	10.0	35	81.0	4.8	14.2
26	87.5	5.0	7.5	65	85.0	5.0	10.0	40	83.3	2.4	14.3
29	82.5	5.0	12.5	85	77.5	7.5	15.0	52	83.3	2.4	14.3
35	82.5	5.0	12.5	87	67.5	7.5	25.0	54	78.6	2.4	19.0
37	80.0	5.0	15.0	92	75.0	7.5	17.5	61	85.7	2.4	11.9
42	77.5	5.0	17.5	93	72.5	10.0	17.5	64	76.2	4.8	19.0
49	82.5	2.5	15.0	100	70.0	7.5	22.5	78	81.0	4.8	14.2
62	90.0	2.5	7.5	136	80.0	10.0	10.0	82	81.0	2.4	16.6
76	77.5	2.5	20.0	141	77.5	10.0	12.5	87	83.3	2.4	14.3
81	85.0	5.0	10.0	143	85.0	10.0	5.0	89	81.0	2.4	16.6
104	87.5	5.0	7.5	145	75.0	10.0	15.0	98	73.8	2.4	23.8
116	95.0	2.5	2.5	146	77.5	12.5	10.0	124	83.3	2.4	14.3
117	87.5	2.5	10.0	148	72.5	12.5	15.0	129	90.5	2.4	7.1
140	85.0	2.5	12.5	150	82.5	7.5	10.0	132	88.1	2.4	9.5
Rata-rata	84.8	3.9	11.4	Rata-rata	78.0	7.9	14.1	Rata-rata	81.7	3.4	15.0

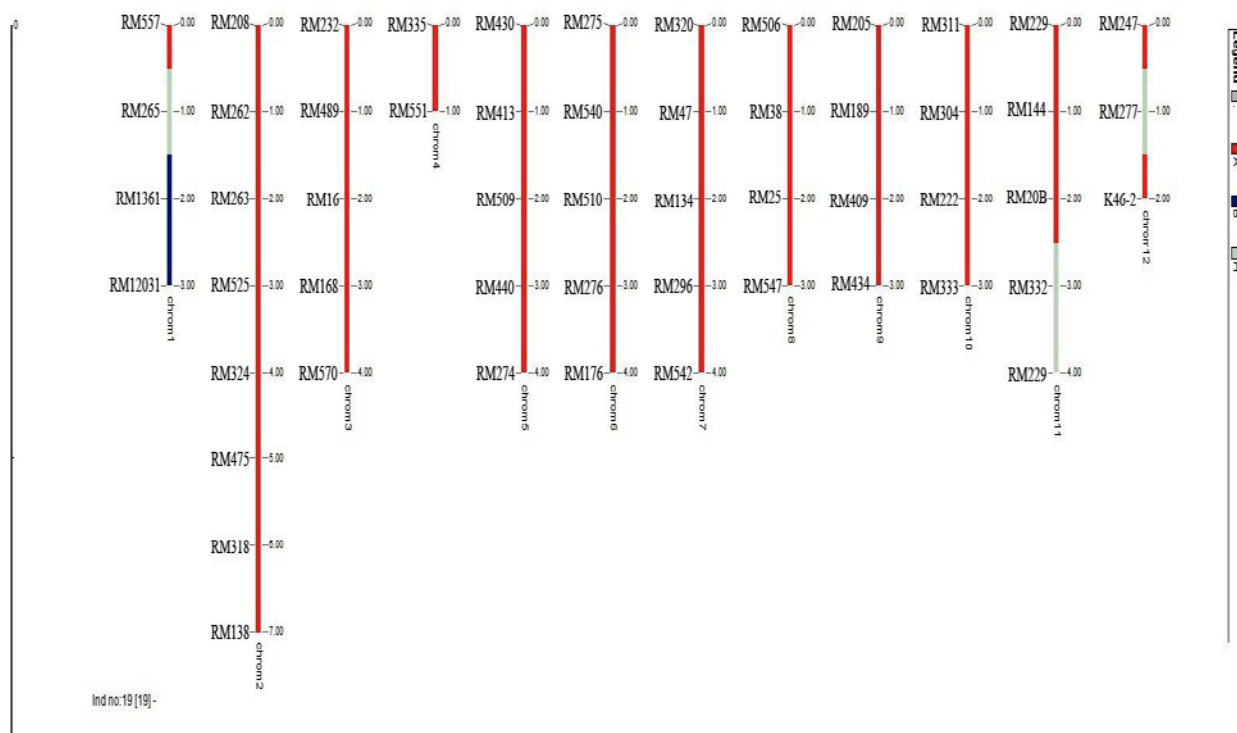
Keterangan: A = homozigot tetua pemulih; B = homozigot tetua donor; H = heterozigot; No. 116, 2, dan 129 menunjukkan galur yang memiliki proporsi genetik tertinggi di dalam satu populasi



Gambar 2. Hasil analisis proporsi genetik tetua pemulih pada genotipe nomor 116 BC₃F₁ Dodokan-Pup1+Alt



Gambar 3. Hasil analisis proporsi genetik tetua pemulih pada genotipe nomor 2 BC₃F₁ Situ Bagendit-Pup1+Alt



Gambar 4. Hasil analisis proporsi genetik tetua pemulih pada genotipe nomor 129 BC₃F₁ Batur-*Pup1*+*Alt*

KESIMPULAN

Peubah panjang akar pada pengujian toleransi keracunan Al menggunakan larutan hara Yoshida sangat praktis dan memberikan hasil yang valid. Seleksi menggunakan marka *foreground* dan *background* memberikan hasil genotipe BC₃F₁ terpilih dari masing-masing persilangan adalah nomor 116 untuk BC₃F₁ Dodokan-*Pup1*+*Alt*, nomor 2 untuk BC₃F₁ Situ Bagendit-*Pup1*+*Alt*, dan nomor 129 untuk BC₃F₁ Batur-*Pup1*+*Alt*. Ketiga genotipe tersebut terverifikasi memiliki lokus *Alt* (*Aluminum tolerance*) dan memiliki proporsi genetik tetua pemulih terbesar dibandingkan genotipe lainnya. Genotipe terbaik berdasarkan analisis molekuler tidak selalu memiliki jumlah anakan terbanyak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA BB Biogen yang berjudul MAS padi efisien Fosfor (*Pup1*) dan toleran Aluminium (*Alt*) dengan nomor register 1798.011.003.011.

DAFTAR PUSTAKA

Amdela, E.P. 2016. Deteksi introgresi lokus *aluminium tolerance* (*Alt*) dan *phosphorus uptake 1* (*Pup1*) pada tiga populasi BC₂F₁ tanaman padi (*Oryza sativa* L.) dengan bantuan marka molekuler. Skripsi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Apriliani, S., Suwarno, F.C. Yullianida. 2017. Uji cepat toleransi genotipe padi gogo terhadap cekaman aluminium (Al) pada fase perkecambahan. *Bul. Agrohorti* 5:126-136.

Chin, J.H., R. Gamuyao, C. Dalid, M. Bustaman, J. Prasetyono, S. Moeljepawiro, M. Wissuwa, S. Heuer. 2011. Developing rice with high yield under phosphorus deficiency: *Pup1* sequence to application. *Plant Physiol.* 156:1202-1216.

Dellaporta, S.L., J. Wood, J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1:19-21.

Hidayatun, N. 2014. Genetics and physiological responses of selected Indonesian rice (*Oryza Sativa* Linn.) genotypes of aluminium toxicity and phosphorus deficiency experienced in acid soil condition. Dissertation. University of the Philippines Los Baños.

Kottearachchi, N.S., U.A.D.S.L. Wijesekara. 2013. Implementation of *Pup1* gene based markers for screening of donor varieties for phosphorus deficiency tolerance in rice. *Ind. J. Plant Sci.* 2:76-83.

Lestari, T., Trikoesoemaningtyas, S.W. Ardie, D. Sopandie. 2017. Peran fosfor dalam meningkatkan toleransi tanaman sorgum terhadap cekaman aluminium. *J. Agron. Indonesia* 45:43-48.

- Prasetyono, J. 2010. Studi efek introgresi *Pup1* (*P Uptake1*) untuk meningkatkan toleransi padi terhadap defisiensi P. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Prasetyono, J., H. Aswidinnoor, S. Moeljopawiro, D. Sopandie, M. Bustaman. 2008. Identifikasi marka polimorfisme untuk pemuliaan padi toleran defisiensi fosfor. *J. AgroBiogen* 4:51-58.
- Prasetyono, J., Tasliah. 2012. Pemetaan, karakterisasi dan pengembangan primer-primer lokus *Pup1* (*P uptake 1*) pada padi untuk peningkatan toleransi terhadap defisiensi fosfor. *J. AgroBiogen* 8:120-129.
- Prasetyono, J., T. Suhartini, I.H. Soemantri, Tasliah, S. Moeljopawiro, H. Aswidinnoor, D. Sopandie, M. Bustaman. 2012. Evaluasi beberapa galur-*Pup1* tanaman padi (*Oryza sativa* L.) pada larutan hara dan lapangan. *J. Agron. Indonesia* 40:83-90.
- Purnamaningsih, R., I. Mariska. 2008. Pengujian nomor-nomor harapan padi tahan Al dan pH rendah hasil seleksi *in vitro* dengan kultur hara. *J. AgroBiogen* 4:18-23.
- Suhartini, T., J. Prasetyono, M. Bustaman, I.H. Soemantri. 2009. Penampilan padi gogo toleran kahat fosfor pada tanah ultisol. *J. Penelitian Tanaman Pangan* 28:109-117.
- Suhartini, T. 2010. Pertumbuhan akar duapuluh genotipe padi gogo pada kahat fosfor dan cekaman aluminium. *Berita Biologi* 10:375-383.
- Tasliah, Ma'sumah, Kurniawan Rudi Trijatmiko, Joko Prasetyono. 2015. Analisis Molekuler dan Keragaan Agronomis Galur-Galur Padi BC₁F₁ Persilangan Code x qTSN4 dan Code x qDTH8. *J. AgroBiogen* 11:17-24.
- Tasliah, Ma'sumah, J. Prasetyono. 2016. Eksplorasi lokus *Pup1* pada 55 genotipe padi berdasarkan analisis marka molekuler dan sekuensing. *J. AgroBiogen* 12:63-72.
- Yoshida, S., D.A. Forno, J. Cock, K.A. Gomez. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. IRRI, Los Baños, PH.