



ISSN 0126-1754

Volume 10, Nomor 2, Agustus 2010

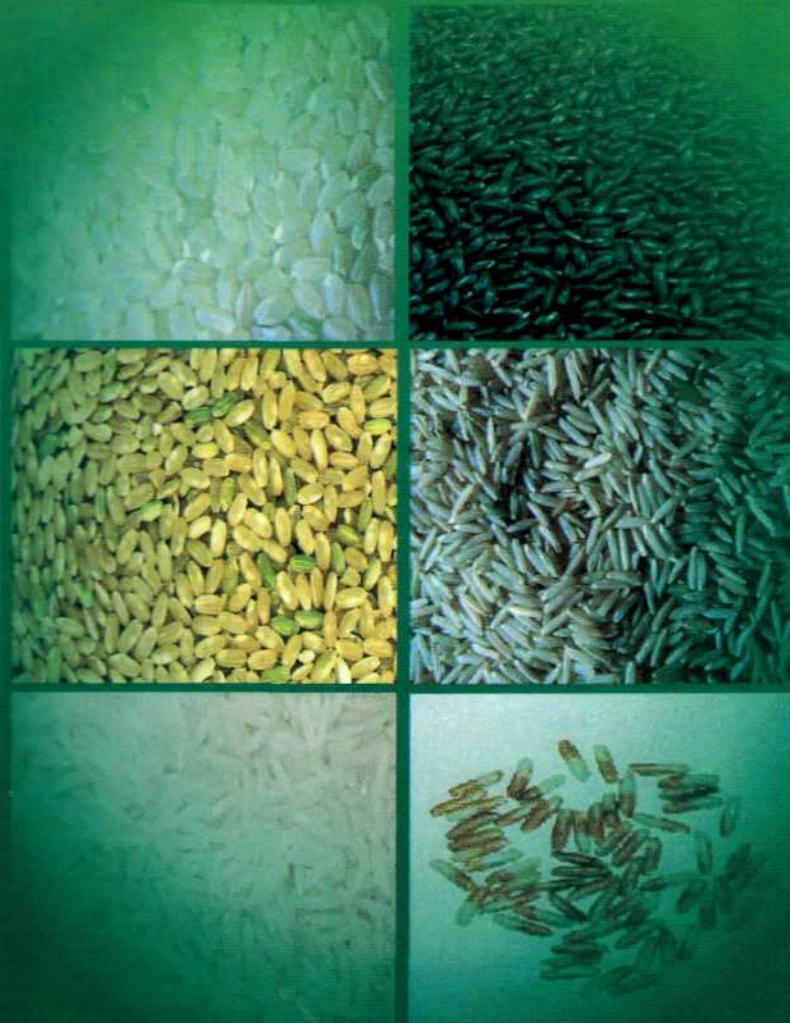
Terakreditasi Peringkat A

SK Kepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan beipedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Tukirin Partomihardjo

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarto

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksamajp2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depart: Keragaman genetik plasma nutfahpadi beras putih dan beras warna, sesuai makalah di halaman 143 Foto: Dwinita W Utami - Koleksi BB Biogen-Badan Pengembangan dan Penelitian Pertanian-Departemen Pertanian.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Uday and*)
Dr Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Moge (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Endang T Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryono (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adrian (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Ikiim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
10(2)-Agustus 2010

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Ary P. Keim - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. B Paul Naiola - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Endang Gati Lestari - *BB Litbang Bioteknologi dan
Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*
Dr. Endang Tri Margawati - *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Kusumadewi Sri Yulita - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Marlina Ardiyani - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Satya Nugroho - *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Drs. Edi Mirmanto, M.Sc. - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Herwasono Soedjito - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Joeni Setijo Rahajoe - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Rianta - *Pusat Penelitian Limnologi LIPI*
Dr. Syahroma H. Nasution - *Pusat Penelitian Limnologi*
Prof. (Ris.) Dr. Woro A. Noerdjito - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dra. Yuliasri Jamal, M.Sc. - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

PENINGKATAN KUALITAS NUTRISI TEPUNG DAUN LAMTORO SEBAGAI PAKAN IKAN DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK ENZIM CAIRAN RUMEN DOMBA (Improvement Nutrition Value of Leucaena Leaf Meal as Fish Feed with Addition of Sheep Rumen Fluid Enzyme) <i>Indira Fitriyani, Enang Harris, Ing Mokoginta, Nahrowi</i>	135
SIDIJARI DNA PLASMA NUTFAH PADI LOKAL MENGGUNAKAN MARKA MOLEKULER SPESIFIK UNTUK SIFAT PADI BERAS MERAH [DNA Fingerprinting of Local Rice Germplasm using The Specific Markers for Red Rice] <i>Dwinita W. Utami, Aderahma Ilhami, Ida Hanarida</i>	143
PENGUNAAN VAKSIN <i>Aeromonas hydrophila</i>: PENGARUHNYA TERHADAP SINTASAN DAN IMUNITAS LARVA IKAN PATIN (<i>Pangasionodon hypophthalmus</i>) (The Application of <i>Aeromonas hydrophila</i> Vaccine: The Effects on The Survival Rate and Immunity of Patin Seed (<i>Pangasionodon hypophthalmus</i>) <i>Angela M Lusiasuti dan Wartono Hadie</i>	151
KEANEKARAGAMAN LUMUT DI TAMAN NASIONAL BUKIT BARISAN SELATAN, PROVINSI LAMPUNG, SUMATERA [Mosses Diversity In Bukit Barisan Selatan National Park, Lampung Province, Sumatera] <i>Florentina Indah Windadri</i>	159
PRIMER-PRIMER BARU UNTUK MENGAMPLIFIKASI GEN PENGKODE PROTEIN AMPLOP VIRUS DENGUE STRAIN CH53489 [Novel Primers to Amplify The Gene Coding for Envelope Protein of Dengue Virus Strain CH53489] <i>Ira Djajanegara</i>	167
ANALISIS VEGETASI POHON DI HUTAN HUJAN TROPIS HARAPAN, JAMBI [Vegetation Analysis of Trees in Harapan Rainforest, Jambi] <i>Muhammad Mansur, Teguh Triono, Ismail, Setyawan Warsono Adi, Enu Wahyu, Gofar Ismail</i>	173
KEANEKARAGAMAN KUMBANG LUCANID (Coleoptera: <i>Lucanidae</i>) DI TAMAN NASIONAL BOGANI NANI WARTA BONE, SULAWESI UTARA [Lucanids Beetle Diversity (Coleoptera: <i>Lucanidae</i>) in the Bogani Nani Wartabone National Park, North Sulawesi] <i>Roni Koneri</i>	179
ANALISIS PREDIKSI SEBARAN ALAMI GAHARU MARGA <i>Aquilaria</i> DAN <i>Gyrinops</i> DI INDONESIA [Natural Distribution Prediction Analyses of Agarwood Genera of <i>Aquilaria</i> and <i>Gyrinops</i>) in Indonesia) <i>Roemantyo dan Tukirin Partomihardjo</i>	189
VIRULENCE OF <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> AND REACTION OF RICE GENOTYPES TO THE RACES OF THE PATHOGEN [Virulensi <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> dan Reaksi Genotipe Padi Terhadap Ras Patogen] <i>Y Suryadi and Triny S Kadir</i>	199

KEANEKARAGAMAN TUMBUHAN PULAU SEPANJANG JAWA TIMUR [Plant Diversity of Sepanjang Island, East Java] <i>Rugayah, Suhardjono, S Susiarti</i>	205
PENGARUH LAMA PENYIMPANAN, SUHU DAN LAMA PENGERINGAN KENTANG TERHADAP KUALITAS KERIPIK KENTANG PUTIH [Effect of Storage, Temperature and Drying Duration of Potato on Potato chip Quality] <i>AH Asgar, Asih Kartasih, Asep Supriadi dan Henna Trisdyani</i>	217
SELEKSIJAMUR TANAH PENGURAI LIGNIN DAN PAH DARI BEBERAPA LINGKUNGAN DI BALI [The Selection of Lignin and PAHs Degrading Fungi from Some Environment in Bali] <i>YB Subowo dan Corazon</i>	227
PENGARUH EKSTRAK AIR DAN ETANOL <i>Kaempferia</i> spp. TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG YANG DIINDUKSI BAKTERI <i>Staphylococcus epidermidis</i> [Influenced of Water and Ethanol Extracts of <i>Kaempferia</i> spp. to Phagocytosis Activity and Capacity Macrophage Cells Induce by <i>Staphylococcus epidermidis</i>] <i>Tri Murningsih</i>	235
KERAGAMAN BAKTERI ENDOFITIK PADA EMPAT JENIS VARIETAS PADI DENGAN METODA ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) [The Diversity of Endophytic Bacteria Within Four Different Rice Varieties by Using ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) Method] <i>Dwi N Susilowati, Nurul Hidayatun, Tasliah, dan KMulya</i>	241
RESPON TANAMAN PADI GOGO (<i>Oryza sativa</i> L.) TERHADAP STRESS AIR DAN INOKULASI MIKORISA [Response of Upland Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Under Water Stress and Mycorrhizae Inoculation] <i>Harmastini Sukiman, Syoflatin Syamsiyah dan Adiwirman</i>	249
KOMPOSISI JENIS KEPITING (Decapoda: <i>Brachyura</i>) DALAM EKOSISTEM MANGROVE DAN ESTUARI, TAMAN NASIONAL BALI BARAT [Crabs (Decapoda: <i>Brachyura</i>) Species Composition in Mangrove and Estuarine Ecosystem, West Bali National Park] <i>Dewi Citra Murniati</i>	259
<u>KOMUNIKASI PENDEK</u>	
CATATAN JENIS-JENIS TUMBUHAN ASING DAN INVASIF DI TAMAN NASIONAL GUNUNG CEDE PANGRANGO, JAWA BARAT [Recorded of Alien Invasive Species in Gunung Gede Pangrango National Park, West Java] <i>Sunaryo dan Eka F Tihurua</i>	265

SIDIKJARI DNA PLASMA NUTFAH PADI LOKAL MENGGUNAKAN MARKA MOLEKULER SPESIFIK UNTUK SIFAT PADI BERAS MERAH¹ [DNA Fingerprinting of Local Rice Germplasm Using The Specific Markers for Red Rice]

Dwinita W Utami^{2,*}, Aderahma Ilhami³ dan Ida Hanarida²
²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor
³Jurusan Biokimia, FMIPA, Institute Pertanian Bogor
*e-mail: dnitawu@windowslive.com

ABSTRACT

Red rice is one crop that has genetic variation both based upon phenotype and genotype evaluation using molecular markers for specific gene. A research objective is to identify genetic diversity using red rice specific molecular markers. Forty accessions of Indonesian local rice included 9 accessions of red rice germplasm were used as genetic materials for this research. Specific molecular markers (RC3, RC9 and RC12) for a pigment color found in rice seed were designed based on alignment sequence analysis to *rc-bHLH* gene, a transcription factor for prothocyanidine protein. Then these markers were used to analyze the genetic variation of red rice. Cluster analysis and association test between phenotype and genotype performances were analyzed by TASSEL 2.1 software program. Results showed that red rice accessions distributed into 2 cluster. One cluster is more closely related to white rice than the other. The association test showed RC12 is the most significant marker in association with the red rice trait: red pericarp and white aleuron. These phenotype variations were found in Cempo merah, one accession originated from Yogyakarta and Pulut mandoti, one accession from South of Sulawesi.

Keywords: DNA fingerprinting, local red rice germplasm, molecular markers

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa*) memiliki keragaman genetik yang tinggi. Sebagian besar padi yang dikonsumsi sebagai bahan pangan utama penduduk dunia, termasuk Indonesia adalah padi beras putih. Variasi genetik pada padi beras putih sendiri cukup tinggi, mulai dari variasi dalam bentuk butir gabah: kecil-bulat (Kelompok *Tropical Japonica-Javanica*) atau panjang-langsing (Kelompok *Indica*), sampai dengan variasi dalam warna putihnya, warna putih transparan (beras putih biasa) atau warna putih pekat (beras ketan). Keragaman genetik juga ditemukan pada plasma nutfah padi yang tidak berwarna putih. Terdapat banyak aksesori plasma nutfah padi dengan warna beras yang bermacam-macam, mulai dari merah putih, coklat-merah, kuning sampai hitam keunguan (Foto 1).

Diantara padi beras warna di atas, padi beras merah memiliki variasi yang tinggi dibandingkan padi beras warna yang lain. Terdapat beberapa aksesori plasma nutfah padi beras merah yang telah dikoleksi dari berbagai lokasi eksplorasi padi di Indonesia. Keragaman pada padi beras merah seperti padi lainnya merupakan bahan dasar untuk kegiatan pemuliaan dalam program perbaikan varietas.

Plasma nutfah padi beras merah memiliki kedekatan nenek moyang dengan spesies padi liar. Beberapa karakter spesies padi liar yang dimiliki beras merah, antara lain habitus tanaman yang bersifat serak, daun dan biji terdapat bulu, tanaman tinggi, biji mudah rontok dan memiliki dormansi, batang kecil dan mudah rebah (Nolding *et al.*, 1999). Karakter-karakter tersebutlah yang seringkali merupakan kendala dalam usaha budidaya padi beras merah. Untuk lebih dapat memahami karakter spesifik dari padi beras merah diperlukan penelitian yang berkesinambungan sehingga dapat membudidayakan segala potensi yang ada pada padi beras merah dengan mengeliminir karakter-karakter yang tidak diinginkan.

Identifikasi plasma nutfah padi lokal Indonesia berdasarkan marka molekuler masih belum banyak dilakukan (Septiningsih *et al.* 2004). Oleh karena itu, kegiatan ini menjadi perlu dalam upaya perlindungan varietas dan eksploitasi kekayaan plasma nutfah kita secara maksimal melalui studi keragaman genetik dan identifikasi alel yang bermanfaat untuk perbaikan genetik tanaman. Beberapa penelitian yang bertujuan untuk perlindungan varietas-varietas yang bernilai komersial tinggi melalui karakterisasi molekuler telah



Foto 1. Keragaman genetik plasma nutfah padi beras putih dan beras warna (merah-putih, coklat, merah, kuning, hitam dan ungu).

dilakukan. Sebagai contoh yaitu penelitian analisis sidik jari DNA padi aromatik seperti Basmati dan varietas-varietas unggul dengan kualitas tinggi (Aggarwal et al., 2004). Sedangkan Treuren (2000) telah menganalisis biodiversitas beberapa aksesori plasma nutfah padi menggunakan marka spesifik yang didesain berdasarkan urutan nukleotida terkonservasi di sekitar lokus mikrosatelit dalam genom padi.

Karakter spesifik yang dimiliki oleh padi beras merah dapat dianalisis dengan melihat urutan basa nukleotidanya menggunakan marka molekuler yang terpaut dengan gen penentu sifat terdapatnya pigmen warna pada bagian pericarp dari biji padi. Sweeney et al. 2006 telah mengidentifikasi gen *rc-bHLH* yang merupakan faktor transkripsi untuk protein pigmen warna *prothocyanidin* yang terdapat pada biji padi. Berdasarkan hasil penelitian Sweeney et al, 2006, penelitian ini dirancang untuk identifikasi keragaman genetik 40 aksesori plasma nutfah padi menggunakan marka molekuler spesifik untuk gen pigmen warna *prothocyanidin*, *rc-bHLH*, yaitu marka RC3, RC9 dan RC12.

BAHAN DAN METODA

Material genetik

Materi yang digunakan (Tabel 1) adalah 40 aksesori plasma nutfah, 9 diantaranya adalah plasma

nutfah padi beras merah (tercetak merah).

Isolasi DNA genom padi dan kuantifikasinya

Benih dari aksesori-aksesori plasma nutfah yang digunakan dikecambahkan pada cawan petri dengan media kertas saring. Benih-benih sampel tersebut dibiarkan berkecambah pada suhu ruang selama 3 minggu. Selanjutnya daun kecambah dari benih-benih sampel yang telah tumbuh tersebut dipanen untuk ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dari daun dilakukan sesuai metode Dellaporta et al., 1983 dan Sambrook et al., 1989. Setelah diperoleh DNA, tahapan selanjutnya adalah penentuan kuantitas DNA dan pengenceran hingga konsentrasi akhir 50 µg/ml untuk proses amplifikasi PCR.

Disain primer untuk gen *rc-bHLH*

Gen *rc-bHLH* terdapat di kromosom 7 pada posisi 6,061,189-6,067,617 pb, pada klon AP005098 atau LOC_Os07g11010.2 (*TIGR transcript ID*) dalam genom padi, seperti pada Gambar 1. Beberapa primer spesifik telah didesain berdasarkan analisis sekuensing basa nukleotida beras merah lokal Indonesia yang di *alignment* dengan sekuen gen *rc-bHLH* ini (Utami et al., 2009).

Marka-marka molekuler spesifik untuk gen *rc-bHLH* tersebut menandai bagian exon 7 dan exon 8 dari gen ini seperti pada ilustrasi skematik gen *rc-bHLH* pada Gambar 2.

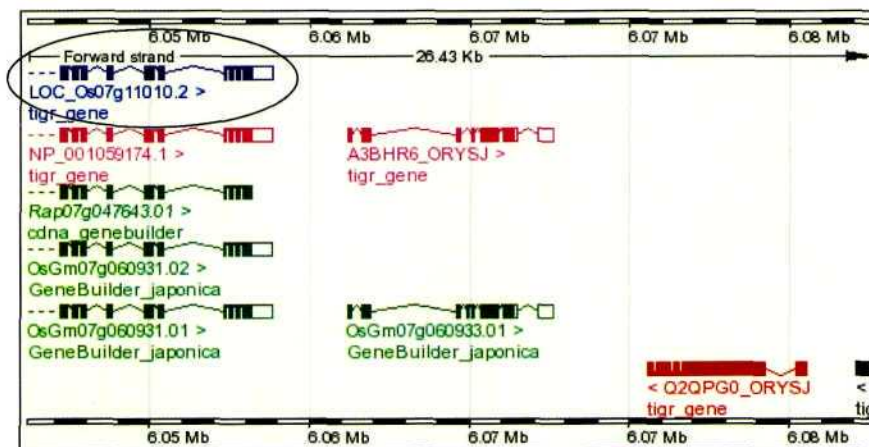
Tabel 1. Deskripsi aksesori plasma nutfah yang digunakan

No sampel	Var/Galur	Keterangan
1	Aeksibundong	Varietas unggul beras merah
2	Andel merah	Beras merah, padi sawah
3	Celebes	Varietas unggul aromatic
4	Cempo merah	Beras merah, padi qoqo
5	Cempo putih	Padi lokal, beras putih
6	Dodokan	Varietas unqqul genjah
7	Dupa	Padi lokal
8	Fatmawati	Varietas unqqul genjah
9	Gilirang	Varietas unggul aromatik
10	Gunung perak	Padi local aromatik
11	Hawarabunar	Beras merah, toleran AI
12	Inpari I	Varietas unqqul, genjah
13	IR 7114-6-407-2-1-2-1-1	Kultivar genjah
14	Kenanga	Padi lokal beras putih
15	Kinamaze	Galur introduksi, genjah
16	Lambau	Padi lokal, aromatik
17	Lestari	Padi lokal eras putih
18	Mandel	Padi lokal beras merah, padi sawah/qoqo
19	Mentik putih	Padi lokal, beras putih
20	Menur	Padi lokal, beras putih •
21	Pandan wangi	Padi beras putih, aromatik
22	Pare barri	Padi lokal aromatik
23	Pare Bau	Padi lokal, aromatik
24	Pare kombong	Padi lokal, aromatik
25	Pare lea	Padi lokal, aromatik
26	Pindjan	Padi lokal, aromatik
27	Pulut mandoti	Padi lokal, beras merah
28	RI_1	Padi lokal, beras merah-putih
29	Rodjolele	Padi beras putih, aromatik
30	Saodah Merah	Padi lokal, beras merah, padi sawah
31	Seqrenq	Padi lokal, beras merah, padi sawah/qoqo
32	Sibau	Padi lokal, aromatik
33	Silugongqo	Varietas unggul, genjah
34	Wase Oikoku	Galur introduksi, genjah
35	Ciganjur	Padi lokal, beras putih
36	KDM	Galur introduksi, aromatik
37	Nipponbare	Galur introduksi, genjah
38	Rodjolele Gepyok	Padi lokal, aromatik
39	Sintanur	Varietas unggul, aromatik
40	CT 13432	Galur introduksi, Beras putih, tahan bias

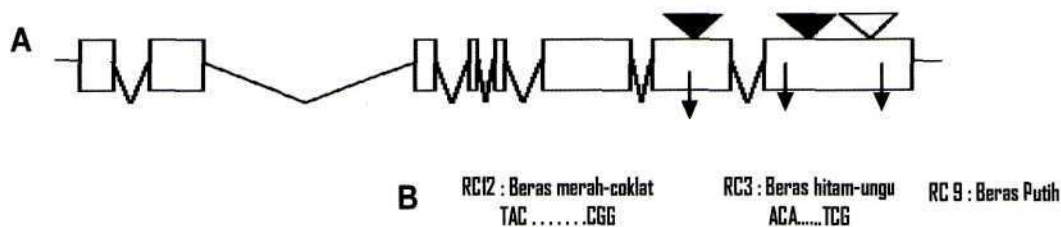
Analisis *alignment* sekuen basa nukleotida menunjukkan bahwa marka RC 12 menandai pada posisi exon ke-7 dari gen *rc-bHLH* dan sesuai untuk karakter padi beras merah. Berturut-turut marka RC3 dan RC9 menandai pada posisi exon ke-8 dan sesuai untuk karakter beras hitam-ungu dan beras putih (Utami *et al*, 2009). Sekuen ketiga marka RC12, RC3 dan RC9 seperti pada Tabel 2.

Amplifikasi DNA

Reaksi PCR dilakukan dengan total volume 20 μ l yang terdiri atas : 10 x buffer PCR (10 mM Tris-HCl (pH 8,3)+ $MgCl_2$ sebanyak 2 μ l, 2 μ l masing-masing dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2 mM, 2 μ l masing-masing primer yang digunakan (RC3, RCt9, RC 12), 0.2 μ l Taq DNA polimerase, template DNA 50 μ g/ml sebanyak 3 μ l, dan ditepatkan volumenya menjadi 20 μ l dengan ddH₂O sebanyak 10.8 μ l. Mesin PCR yang



Gambar 1. Peta fisik dan struktur *transcript* dari klon LOC_Os7g11010.2 (bertanda lingkaran) terhadap beberapa klon lain pada posisi 6,05-6,08 Mb dari kromosom 7.



Gambar 2. A. Hasil penelitian Sweeney *et al* (2006): Skematik struktur *transcript* klon LOC_Os7g11010.2. Exon dan intron digambarkan sebagai kotak dan garis. Segitiga hitam dan putih menunjukkan situs insersi dan delesi basa nukleotida yang aktif berperan dalam sintesis pigmen warna prothoantocyanidin. B. Hasil analisis *alignment* sekuen basa nukleotida sampel plasma nutfah padi warna dan padi putih, berturut-turut pada posisi ini didesain marka RC12, RC3 dan RC9.

Tabel 2. Sekuen basa nukleotida marka RC 12, RC3 dan RC9.

No	Nama Primer	Sekuen Primer (5'-3')
1	RC3	F: CTTATCCATTTGGAGCATAGG R:AGGATACAGCGCACCAGATTA
2	RC9	F: ATAAGGTTATTCCCCGCTTAC R:TAAGGGCACAGTAGGCGGGAA
3	RC12	F: TATGGCTACAGCCTACACG R: GAAGCGTGGGATGTTTGT

digunakan untuk amplifikasi DNA adalah PCR TETRAD sebanyak 36 siklus. Program PCR yang digunakan sebagai berikut: denaturasi permulaan selama 5 menit pada suhu 94 °C, dilanjutkan 35 siklus yang terdiri dari: denaturasi selama 1 menit pada suhu 94 °C, proses penempelan primer selama 1 menit pada suhu 55 °C, dan 2 menit pada suhu 72, pengulangan step 2-4 sebanyak 13 kali, dengan program *touchdown* (penurunan suhu secara teratur) dengan perbedaan

sebanyak 0.5 °C setiap siklusnya, kemudian diikuti dengan perpanjangan primer terakhir pada suhu 72 °C selama 7 menit. Tahap inkubasi pada suhu 4 °C selama 1 jam, dan tahap terakhir dilakukan inkubasi pada suhu 10 °C.

Elektroforesis DNA

Sebanyak 2 gr agarosa dilarutkan dengan 100 ml buffer TAE dan dipanaskan dengan *microwave*

selama lebih kurang 3 menit. Setelah gel agarosa memadat, gel dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis yang berisi lx bufer TAE. Sebanyak 4 µl produk PCR ditambahkan dengan 3 µl *loading dye* dan dicampur sempurna. kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel. Disertakan 1 kb ladder sebagai marker untuk melihat ukuran DNA. Tahap selanjutnya sampel DNA dialiri arus dengan voltase 80 volt selama 45 menit. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gel (*staining gel*) dengan larutan etidium bromida (10 mg/L) selama 5 menit. Kemudian dilanjutkan dengan proses penghilangan warna pada gel (*destaining gel*) dengan perendaman di dalam air selama lebih kurang 10 menit. Gel agarosa selanjutnya divisualisasi dengan *chemidoc sel system*.

HASIL

Hasil amplifikasi PCR dengan marka-marka untuk sifat beras merah (RC3, RC9 dan RC12) pada aksesi-aksesi plasma nutfah padi beras merah yang digunakan ditunjukkan pada Foto 2.

Data hasil amplifikasi PCR yang diperoleh, selanjutnya dianalisis dengan program TASSEL 2.1, untuk mendapatkan dendrogram keragaman keseluruhan aksesi-aksesi plasma nutfah padi yang dianalisis serta kedekatan hubungan kekerabatan antara aksesi yang satu dengan aksesi lainnya. Hasil analisis keragaman genotipe 40 aksesi plasma nutfah padi beras merah menggunakan primer-primer spesifik untuk gen *rc-bHLH* diperoleh dendrogram keragaman seperti pada Gambar 3.

Sedangkan keragaman fenotipe aksesi-aksesi plasma nutfah padi padi beras merah di atas, yaitu sebanyak 9 aksesi, seperti tergambar dalam keragaman fenotipe benih pada Tabel 3.

Fenotipe benih yang diamati meliputi karakter warna lapisan benih bagian luar (*outer layer*) yang dikenal sebagai bagian *pericarp* dan lapisan bagian dalam (*inner layer*) yang dikenal sebagai bagian *aleurone*. Secara kuantitatif karakter benih kedua lapisan tersebut dinyatakan dalam skor warna beras merah seperti pada Tabel 3 di atas.

Untuk menentukan signifikansi antara keragaman genotipe terhadap keragaman fenotipe yang teramati maka dilakukan uji gabungan (*association*

test) melalui uji GLM (*General Linked Model*), yaitu salah satu model pengujian yang ada dalam program Tassel 2.1 dan diperoleh hasil diantara ketiga marka spesifik untuk gen *rc-bHLH*, marka RC12 adalah marka yang signifikan ($P_{val}=0.000113$) untuk fenotipe : *pericarp* berwarna merah (skor 1) dan *aleurone* berwarna putih (skor 4).

PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi PCR dengan marka-marka spesifik untuk sifat beras merah pada Foto 2 menunjukkan bahwa diantara ketiga marka yang digunakan, marka RC9 dan menunjukkan hasil amplifikasi berupa 1 pita DNA yang berukuran 150 pb. Marka RC3 menunjukkan 2 pita hasil amplifikasi PCR yang berukuran 100 dan 170 pb. Sedangkan untuk RC 12 menunjukkan 3 pita DNA hasil amplifikasi yang berukuran 100 pb, 170 pb, dan 315 pb. Berdasarkan hal di atas diperoleh hasil bahwa dengan marka RC9, dari 9 aksesi plasma nutfah padi beras merah yang digunakan, yaitu : Cempo merah, Andel merah, RI1, Aeksibundong, Mandel, Segreng, Saodah merah, Hawarabunar dan Pulut mandoti, hanya 5 aksesi yang diperoleh hasil amplifikasinya yaitu pada plasma nutfah: Cempo merah, Aeksibundong, Hawarabunar, RI 1, dan Segreng. Marka RC9 mengamplifikasi posisi basa nukleotida pada bagian ujung (*downstream*) exon 8 dari gen *rc-bHLH*. Hasil analisis sekuensing menunjukkan bahwa pada bagian ini lebih banyak memiliki kecocokan basa nukleotida dengan padi beras putih. Diperolehnya pita DNA hasil amplifikasi pada 5 aksesi plasma nutfah padi beras merah dengan marka RC9 di atas mengindikasikan bahwa kelima aksesi tersebut memiliki kedekatan dengan padi beras putih meskipun secara fenotipe merupakan padi beras merah. Hasil pada 2 marka lainnya, yaitu RC3 dan RC12 menunjukkan diperolehnya hasil amplifikasi di ke-sembilan aksesi plasma nutfah padi beras merah yang digunakan.

Analisis keragaman genotipe aksesi-aksesi plasma nutfah menggunakan program Tassel2.1, memperlihatkan adanya 2 kluster utama pada (Gambar 3). Sembilan aksesi plasma nutfah padi beras merah yang digunakan ternyata terbagi dalam dua kluster yang berbeda. Satu kluster (berwarna merah) terdiri atas plasma nutfah: Pulut Mandoti, Mandel Aeksibundong,

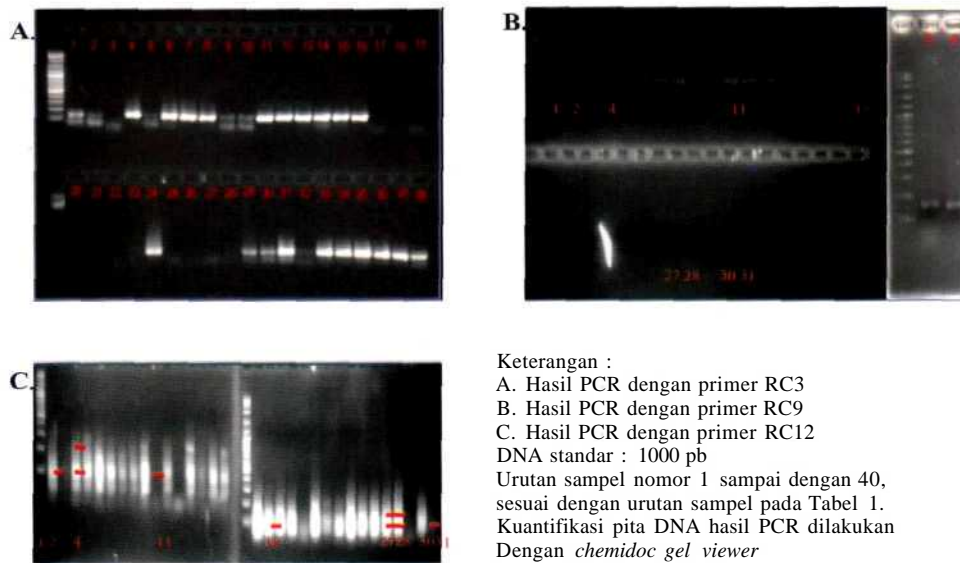
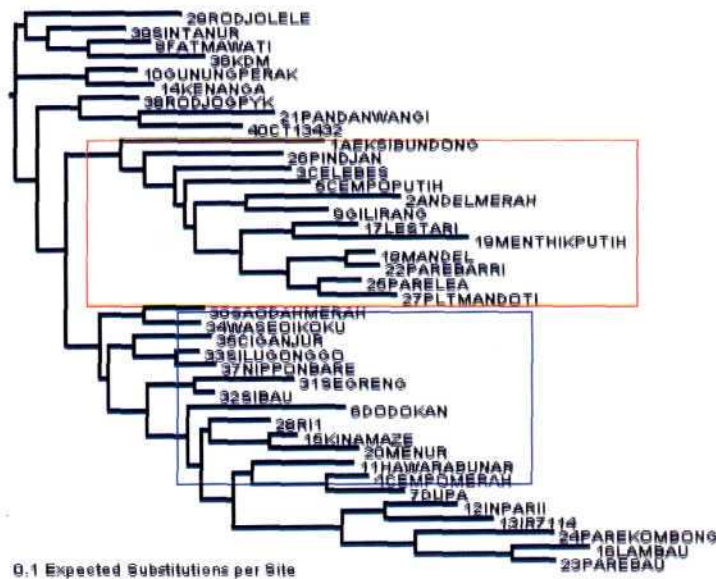


Foto 2. Hasil PCR menggunakan primer-primernya untuk sifat beras merah (RC3, RC9, RC12) pada aksesori plasma nutfah padi beras merah. Urutan *running* nomor 1,2,4, 18,27,28,30, dan 31 berturut-turut adalah Aeksibundong, Andel merah, Cempo merah, Hawara bunar, Mandel, Pulu mandoti, RI1, Saodah merah, dan Segreng.





















Gambar 3. Dendrogram keragaman ke-40 aksesori plasma nutfah padi. Aksesori-aksesori plasma nutfah padi beras merah mengelompok dalam 2 kluster yang berbeda (warna merah dan warna biru).

dan. Andel merah. Sedangkan kluster yang lain (berwarna biru) terdiri atas plasma nutfah : Saodah merah, Segreng, RI1, Hawarabunlar dan Cempo merah. Kluster yang kedua ini adalah aksesori-aksesori yang memiliki kedekatan dengan plasma nutfah padi beras putih, seperti yang telah disebutkan pada pembahasan

sebelumnya. Sedangkan Keragaman fenotipe 9 aksesori plasma nutfah padi beras merah seperti terlihat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa berdasarkan karakter warna *pericarp* hampir semua aksesori memiliki skor 1, kecuali untuk aksesori padi RI 1. Keragaman lebih terlihat berdasarkan karakter warna pada bagian *aleurone* yaitu

Tabel 3. Keragaman fenotipe dan kuantifikasinya dalam skor, plasma nutfah padi beras merah

No.	Sampel	Morfologi Benih		Skor	
		Pericarp	Aleuron	Pericarp	Aleuron
1.	Cempo merah			1	4
2.	Andel merah			1	2
3.	RI1			2	2
4.	Aeksibundong			1	3
5.	Mandel			1	3
6.	Segreng			1	2
7.	Saodah merah			1	1
8.	Hawara Bunar			1	3
9.	Pulut mandoti			1	4

Keterangan Skor :

Pericarp:

- 1 : Pericarp berwarna merah
- 2: Pericarp berwarna merah dengan kadar warna putih yang terbatas

Aleuron

- 1 : Aleuron berwarna merah
- 2 : Aleuron berwarna keputihan tanpa batas
- 3: Aleuron berwarna keputihan dengan batas jelas
- 4 : Aleuron berwarna putih

menyebarkan dari skor 1 sampai 4. Disamping karakter warna benih, karakter fenotipik yang lain dari masing-masing plasma nutfah, pada klaster biru yaitu : Saodah merah, Segreng, RI1, dan Cempo merah diketahui bahwa pada masing-masing aksesi tersebut terdapat beberapa kesamaan dalam hal terdapatnya bulu pada gabah cere, bulu gabah tidak berbulu, bentuk gabah ramping. Disamping itu keempat aksesi di atas merupakan aksesi padi beras merah merupakan aksesi padi lokal yang berasal dari lokasi yang sama, yaitu Daerah Istimewa

Yogyakarta (DIY). Satu aksesi yang termasuk klaster ini, Hawara bunar memiliki fenotipe gabah memiliki bulu pada bagian cere, bulu gabah memiliki bulu, dan bentuk gabah yang ramping panjang. Meskipun memiliki karakter fenotipe yang sedikit berbeda dan bukan berasal dari satu lokasi asal namun berdasarkan karakter spesifik untuk padi beras merah, plasma nutfah Hawara bunar memiliki kedekatan dengan beberapa plasma nutfah padi beras merah, yaitu: Saodah merah, Segreng, RI 1, dan Cempo merah.

Sedangkan pada klaster merah yang terdiri atas varietas Pulu mandoti, Mandel, Aeksibundong, dan Andel merah diketahui pada masing-masing varietas juga terdapat beberapa kesamaan ciri fenotipe, diantaranya memiliki bulu pada gabah cere, bulu gabah memiliki bulu, dan bentuk gabah yang panjang. Berdasarkan marka molekuler spesifik untuk sifat padi beras merah aksesori-aksesori tersebut juga memiliki kedekatan genetik dalam satu klaster.

Hasil analisis signifikansi antara keragaman genotipe terhadap keragaman fenotipe yang teramati maka dilakukan uji gabungan (*association test*) melalui uji GLM (*General Linked Model*), dengan program Tassel 2.1, diperoleh hasil diantara ketiga marka spesifik untuk gen *rc-bHLH*, marka RC12 adalah marka yang signifikan ($P_{\text{val}}=0.000113$) untuk fenotipe: pericarp berwarna merah (skor 1) dan aleuron berwarna putih (skor 4). Marka RC12 merupakan marka yang menandai pada posisi exon 7 dari gen *Rc* pengkode protein *basic helix-loop-helix* yang terdapat di kromosom 7 dalam genom padi. Gen ini berperan dalam peningkatan sintesis pigmen protosianidin yang bertanggung jawab dalam memproduksi pigmen warna pada bulir beras merah (Nagao et al, 1982; Sweeney et al, 2006). Aksesori plasma nutfah padi beras merah yang memiliki fenotipe seperti fenotipe yang signifikan untuk marka RC12 adalah Cempo merah dan Pulut mandoti. Plasma nutfah Cempo merah adalah salah satu aksesori padi beras merah yang dikoleksi dari Daerah Istimewa Yogyakarta, yang termasuk kelompok SubSpesies *Tropical Japonica / Javanica*. Sedangkan plasma nutfah Pulut mandoti adalah salah satu aksesori plasma nutfah padi beras merah yang dikoleksi dari Sulawesi Selatan, yang termasuk kelompok SubSpesies *Japonica*. Hasil di atas menunjukkan bahwa marka RC 12 secara signifikan dapat menandai sifat padi beras merah seperti pada aksesori plasma nutfah Cempo merah dan Pulut mandoti, sehingga marka RC12 dapat diaplikasikan untuk membantu seleksi dalam program perakitan varietas padi beras merah.

KESIMPULAN

Analisis keragaman sidik jari DNA menggunakan marka spesifik untuk sifat padi beras

merah, menunjukkan bahwa aksesori-aksesori plasma nutfah padi beras merah yang digunakan tersebar dalam dua klaster yang berbeda. Salah satu klaster tersebut lebih memiliki kedekatan dengan plasma nutfah padi beras putih. Diantara ketiga marka spesifik untuk sifat beras merah, marka RC12 merupakan marka paling signifikan ($P_{\text{val}}=0.000113$) untuk fenotipe: *pericarp* berwarna merah (skor 1) dan *aleurone* berwarna putih (skor 4). seperti pada aksesori plasma nutfah Cempo merah dan Pulut mandoti. Kedua aksesori plasma nutfah beras merah di atas beserta marka molekuler spesifik untuk sifat beras merah, RC12 dapat dimanfaatkan dalam program perakitan varietas baru unggul padi beras merah berbasis seleksi menggunakan marka molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal R, V Shenoy, J Ramadevi, R Rajkumar, and L Sing. 2002. Molecular characterization of some Indian Basmati and other elite rice genotypes using fluorescent-AFLP. *Theor. Appl. Genet.* 105, 680-690.
- Dellaporta SL, T Wood and TB Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol.* 1, 19-21.
- Edward B, P Bradbury, D Kroon, Y Ramdoss, AJ Fink, Z Zhang and T Casstevans. 2009. Trait Analysis by Association, Evolution and Linkage (TASEL), version 2.1. <http://www.maizegenetics.net/index.php/page=bioinformatic/tassel/>
- Manurung SO and Ismunadji M. 1999. *Padi: Buku Padi 1*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Nagao S, Takahashi M and Kinoshita T. 1982. Genetic studies on rice plant, XXVI. *J. Fac. Agr., Hokkaido Univ.* 52, 20-50.
- Noldin JA, JM Chandler and GN McCauley. 1999. Red rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. *Weed Technol.* 13, 12-18.
- Sambrook J. and DW Russell. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition. New York: Laboratory Pr.
- Septianingsih, TJ Santosa, DW Utami dan N Hidayatun. 2004. Analisis Sidik Jari DNA Varietas Tanaman Pangan [Laporan Hasil Penelitian]. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.
- Sweeney TM, MJ Thomson, BE Pfeil and SM Couch. 2006. Cough red-handed, *Re* encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. *The Plant Cell* 18, 283-294.
- Treuren R.V. 2000. Genetic Marker. <http://www.plant.wageningen-ur.nl/about/Biodiversity/cgn/research/molgen/>.
- Utami DW, Somantri IH. 2009. Karakter Spesifik Plasma Nutfah Padi Beras Warna. *Warta Biogen*. Vol. 5 Nol. 5(1), 11-12.