

Identifikasi Padi Lokal Jawa Timur Berdasarkan Gen *BADH2* yang Berpotensi sebagai Padi Beraroma

Kurniawan Setia Putra¹⁾, Dwi Listyorini^{1,3)*}, Suharti^{2,3)}

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

²⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

³⁾Laboratorium Sentral Mineral dan Material Maju, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

^{*)}Alamat korespondensi: listvorini.aljabari@um.ac.id

ABSTRAK

Padi lokal merupakan padi liar yang telah dibudidayakan oleh petani Indonesia. Potensi padi lokal dapat digunakan sebagai plasma nutfah yang memiliki berbagai gen dalam mengendalikan sifat tertentu. Beberapa beras di Indonesia memiliki potensi sebagai beras aromatik. Berbagai varietas padi aromatik berpotensi meningkatkan kualitas beras di Indonesia. Aroma beras dikendalikan oleh gen *betain aldehyd dehidrogenase (BADH)*. Gen ini terdiri dari dua alel yaitu *BADH1* dan *BADH2*, mengkodekan enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis sintesis senyawa *2-acetyl-1-pyrroline (2-AP)*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi potensi aroma varietas Berlian. Gen *BADH2* diisolasi dari daun pada ketiga varietas tersebut dan diamplifikasi menggunakan primer *forward 5'-TTGTTTGGCTCTTGCTGATG -3'* dan primer *reverse 5'-CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3'*. Fragmen gen *BADH2* berhasil diamplifikasi dengan ukuran 258 bp (varietas Berlian). Sekuen *BADH2* varietas Berlian menunjukkan kemiripan 100% dengan sekuen *BADH2* padi tidak beraroma dan tidak memiliki kemiripan dengan sekuen *BADH2* varietas padi beraroma. Analisis potensi padi beraroma menunjukkan bahwa varietas Berlian tidak berpotensi sebagai padi beraroma.

Kata kunci: padi Lokal, Jawa Timur, *BADH2*, varietas Berlian, padi beraroma

Identification of Local Rice from East Java Based on *BADH2* Gene with Potency as Aromatic Rice

Kurniawan Setia Putra¹⁾, Dwi Listyorini^{1,3)*}, Suharti^{2,3)}

¹⁾Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

²⁾Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

³⁾Central Laboratory of Mineral and Advanced Material, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Malang, Jl. Semarang 5 Malang, Indonesia

^{*)}Email: listvorini.aljabari@um.ac.id

ABSTRACT

Local rice is wild rice that has been cultivated by Indonesian farmers. Potential local rice can be used as germplasm with a variety of genes controlling certain properties. Some rice in Indonesia have the potency as aromatic rice. The variety of aromatic rice is potentially to improve the quality of rice in Indonesia. The aroma of rice is controlled by the *betain aldehyde dehydrogenase (BADH)* gene. This gene consists of two alleles i.e. *BADH1* and *BADH2*, which encode enzyme responsible for catalyzing the synthesis of *2-acetyl-1-pyrroline (2-AP)* compounds. This study aimed to identify the aromatic potential of Berlian varieties. Gene of *BADH2* was isolated from leaves of those three varieties and amplified using forward primer 5'-TTGTTTGGAGCTTGCTGATG -3' and reverse primer 5'-CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3'. The *BADH2* gene was successfully amplified with band size of 258 bp (Berlian variety). The *BADH2* sequence of Berlian variety showed the similarity of 100% with *BADH2* sequence of non-aromatic and did not similar

with the *BADH2* sequence of aromatic rice variety. The analysis of aromatic rice showed that the Berlian variety is not potential as aromatic rice.

Keywords: local rice, East Java, *BADH2*, Berlian varieties, aromatic rice

PENDAHULUAN

Padi beraroma merupakan padi yang memiliki aroma khas, teksturnya yang pulen dan memiliki harga yang tinggi di pasaran. Budidaya padi beraroma dapat memberikan keuntungan bagi petani karena harganya yang relatif tinggi daripada padi biasa [1], dan merupakan upaya untuk menjaga kelestarian padi lokal serta dapat digunakan sebagai sumber plasma nutfah [2]. Sifat aroma padi diatur oleh gen *fgr* (*fragrance*) yang terletak pada kromosom 8. Gen *fgr* (*fragrance*) memiliki tiga daerah gen pengkode protein, yaitu 3-metilcrotonil-KoA (*Mccc2*), karbonat anhidrase (*Cah*), dan betain aldehyd dehidrogenase (*BADH*) [3].

Betain aldehyd dehidrogenase (*BADH*) merupakan gen pengendali sifat aroma padi yang tereksresi pada seluruh bagian padi kecuali akar [4]. Gen ini memiliki dua homolog yaitu *BADH1* dan *BADH2*. Gen *BADH1* terletak pada kromosom 4 dan *BADH2* pada kromosom 8 [5]. Kedua gen tersebut memiliki 15 ekson dan menunjukkan 75% homologi urutan pada tingkat asam amino [6]. Gen *BADH1* memiliki fungsi biokimia yang serupa dengan *BADH2* sehingga gen *BADH1* dikaitkan dengan aroma padi. Padi aroma yang dikendalikan oleh *BADH1* terdapat pada varietas Kalanamak 3119, Kalanamak 3131 dan Pusa 1121 [7]. Padi aroma yang dikendalikan oleh *BADH2* terdapat pada varietas Basmati dan Jasmine [8]. Gen *BADH2* menghasilkan aroma karena adanya delesi urutan nukleotida [9].

Potensi padi aroma pada padi lokal merupakan potensi yang dapat dikembangkan dengan melalui transfer gen [10]. Penggunaan padi lokal untuk mengetahui potensi aroma sangat penting karena dapat menghasilkan bibit yang unggul dalam pemuliaan tanaman padi. Keanekaragaman genetik padi lokal dengan potensi aroma dapat digunakan sebagai data agar potensi aroma padi tidak mengalami kepunahan dan erosi genetik [11].

Pada penelitian ini dipilih padi lokal varietas Jawa, SOJ A3 dan Berlian. Pemilihan padi tersebut berdasarkan hasil observasi bahwa padi lokal varietas Jawa dan Berlian tidak beraroma sedangkan varietas SOJ A3 memiliki aroma. Padi lokal tersebut merupakan padi lokal Jawa Timur yang berasal dari daerah Malang dan Banyuwangi. Penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui potensi padi lokal beraroma berdasarkan gen *BADH2* serta menambah *database* padi lokal beraroma sebagai pendukung untuk penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Isolasi DNA total. Isolasi DNA total dilakukan dengan mengikuti protokol Macherey-Nagel. Gen *BADH2* diamplifikasi menggunakan primer *forward* 5'- TTG TTT GGA GCT TGC TGATG -3' dan *reverse* 5'- CAT AGG AGC AGC TGA AAT ATA TACC -3' [12].

Reaksi PCR adalah pra-denaturasi pada 94°C selama 2 menit, denaturasi DNA pada 94°C selama 40 detik, aneling pada 55°C selama 30 detik, kemudian ekstensinya pada 72°C selama 40 detik, pemanjangan akhir pada 72°C selama 5 menit dan terdiri dari 30 siklus [13].

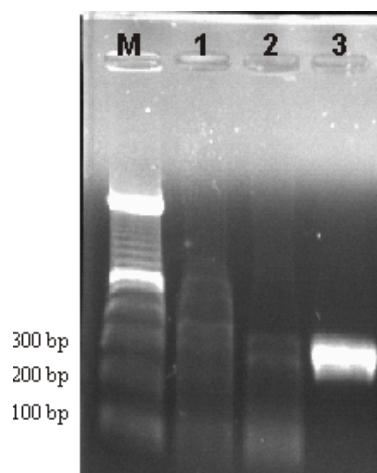
Analisis data sekuen. Target gen *BADH2* hasil sekuensing dibaca menggunakan perangkat lunak FinchTV dan Bioedit. Pembuatan sekuen konsensus dilakukan dengan menggabungkan *forward* dan *reverse* sampel menggunakan program DNAbaser. Analisis BLAST kemudian dilakukan untuk mengkonfirmasi apakah fragmen hasil isolasi adalah fragmen dari gen yang ditargetkan (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Selanjutnya analisis pensejajaran sekuen sampel dengan sekuen pembandingan yang diperoleh dari BLAST, menggunakan program ClustalX.

Analisis potensi padi beraroma. Analisis padi beraroma dilakukan dengan pensejajaran sekuen nukleotida gen *BADH2* padi lokal Jawa Timur dengan sekuen nukleotida *BADH2* padi tidak beraroma dan padi beraroma menggunakan program ClustalX. Analisis pensejajaran sekuen

nukleotida gen *BADH2* dilakukan untuk melihat komposisi dan perbedaan sekuen nukleotida gen *BADH2* padi tidak beraroma dengan padi beraroma gen *BADH2*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA total. Isolasi DNA total padi lokal Jawa Timur dilakukan untuk mengamplifikasi gen target *BADH2*. Hasil visualisasi produk PCR melalui elektroforesis menunjukkan adanya pita DNA gen *BADH2* pada sampel varietas Berlian (Br) berukuran 258 bp (Gambar 1).



Gambar 1. Elektrogram pita gen *BADH2* hasil PCR padi lokal Jawa Timur. M: Marker 100b plus DNA ladder; 1: Varietas Jawa; 2: Varietas SOJ A3; 3: Varietas Berlian.

Analisis data sekuen. Sekuen gen *BADH2* varietas Berlian kemudian di analisis

dengan BLAST menggunakan pembandingan padi tidak aroma dengan nomor aksesori KT877412, KT877416, KT987433, KT998665, dan KT998667 [13]. Nilai kesamaan yang terdapat pada BLAST merupakan nilai *max score* pasang basa yang identik antar sampel dengan spesies pembandingan di *GeneBank* yaitu Padi tidak aroma [14]. Hasil analisis BLAST menunjukkan nilai *max score* varietas Berlian sebesar 477 (Tabel 1). Semakin tinggi nilai skor, maka semakin tinggi tingkat homologi kedua urutan nukleotida [3].

Urutan nukleotida varietas Berlian dengan pembandingan padi beraroma memiliki nilai *query cover* sebesar 12 - 20% (Tabel 2). Hal tersebut membuktikan bahwa padi lokal varietas Berlian tidak memiliki kesamaan dengan padi beraroma nomor aksesori KT877417, KU131197, KU206395, KT998660, dan KT998663. Urutan nukleotida dikatakan identik apabila memiliki nilai minimal *query cover* sebesar 40% [15]. Nilai *max score* gen *BADH2* varietas Berlian dengan pembandingan padi beraroma sebesar 60-99.

Hasil dari pensejajaran dengan menggunakan ClustalX fragmen gen *BADH2* varietas Berlian memiliki kesamaan dengan referensi padi tidak beraroma nomor aksesori KT877412, KT877416, KT987433, KT998665, dan KT998667 (Gambar 2). Selanjutnya pensejajaran fragmen DNA gen *BADH2* varietas Berlian dengan padi aroma nomor aksesori KU131197, KT877417, KT998663 dan KT998660 (Gambar 3) yang menunjukkan perbedaan yang berupa delesi dan insersi. Terdapat delesi pada basa nomor 47-56 bp, 87-89 bp, 105-107 bp, 152 bp, 195 bp dan 266-267 bp. Sedangkan insersi terdapat pada basa nomor 130 bp dan 229 bp (Gambar 3) [13].

Tabel 1. Hasil analisis BLAST gen *BADH2* varietas Berlian dengan padi tidak beraroma

Kode aksesori	<i>Max score</i>	<i>Total score</i>	<i>Query coverage</i>	<i>E value</i>	<i>Ident.</i>
KT877412	477	477	100%	1e-139	100%
KT877416	477	477	100%	1e-139	100%
KT987433	477	477	100%	1e-139	100%
KT998665	477	477	100%	1e-139	100%
KT998667	477	477	100%	1e-139	100%

Tabel 2. Hasil analisis BLAST gen *BADH2* varietas Berlian dengan padi beraroma

Kode akses	Max score	Total score	Query coverage	E value	Ident.
KT877417	99,0	99,0	20%	1e-25	100%
KU131197	99,0	99,0	20%	1e-25	100%
KU206395	60,2	60,2	12%	5e-14	100%
KT998660	76,8	76,8	15%	4e-19	100%
KT998663	76,8	76,8	15%	4e-19	100%

Analisis potensi padi beraroma. Hasil pensejajaran nukleotida varietas Berlian dengan padi tidak beraroma dapat ditemukan persentase nukleotida baik A, C, T, dan G memiliki komposisi yang sama, yaitu 35,7% (T/U), 18,6% (C), 22,9% (A), dan 22,9% (G). Sebaliknya komposisi nukleotida varietas padi berlian dengan padi beraroma, ditemukan perbedaan komposisi nukleotida yaitu padi varietas Berlian memiliki komposisi nukleotida T/U paling sedikit sebesar 35,1%, komposisi nukleotida A paling banyak sebesar 23,4% dan komposisi G yang juga paling banyak sebesar 22,2% (Tabel 4).

Tabel 3. Persentase komposisi perbedaan nukleotida varietas Berlian dan padi tidak beraroma

Sampel	Nukleotida			
	T	C	A	G
Berlian	35,7	16,6	22,9	22,9
KT877412	35,7	16,6	22,9	22,9
KT877416	35,7	16,6	22,9	22,9
KT987433	35,7	16,6	22,9	22,9
KT998665	35,7	16,6	22,9	22,9
KT998667	35,7	16,6	22,9	22,9

Tabel 4. Persentase komposisi perbedaan nukleotida varietas Berlian dan padi beraroma

Sampel	Nukleotida			
	T	C	A	G
KU206395	44,7	19,1	20,6	15,6
KT877417	46,2	19,3	20,1	14,5
KT998660	46,2	19,3	19,7	14,9
Berlian	35,1	19,2	23,4	22,2
KU131197	46,2	19,3	19,7	14,9
KT998663	46,2	19,3	19,7	14,9

Matriks perbedaan nukleotida juga menunjukkan perbedaan komposisi (Tabel 5, 6, 7, dan 8). Perbedaan komposisi nukleotida varietas padi Berlian dengan padi beraroma untuk nukleotida T memiliki rentang 9,6-11,1%, A pada rentang 2,8-3,7%, dan G pada rentang 6,6-7,7%, untuk nukleotida C tidak bisa

membedakan perbedaan komposisi nukleotida. Sementara komposisi nukleotida antar sesama varietas padi pembandingan memiliki komposisi nukleotida yang sama, yaitu pada persentase 0-0,9%.

Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa fragmen gen *BADH2* yang teramplifikasi tidak bertanggung jawab pada sintesis aroma, karena gen *BADH2* yang bertanggung jawab pada sintesis aroma mengalami delesi pada ekson 8 [16]. Hasil BLAST primer *BADH2* membuktikan bahwa primer yang digunakan memiliki kecocokan urutan nukleotida dengan padi tidak beraroma. Primer *BADH2* tidak memiliki kecocokan dengan gen *BADH2* padi beraroma dibuktikan dengan tidak dapat teramplifikasi padi varietas SOJ A3 yang merupakan padi beraroma.

Tabel 5. Matrik perbedaan komposisi nukleotida T(U)

	A	B	C	D	E	F
A	-	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
B	1,5	-	0	0	0	0
C	1,5	0	-	0	0	0
D	9,6	11,1	11,1	-	11,1	11,1
E	1,5	0	0	11,1	-	0
F	1,5	0	0	11,1	0	-

Tabel 6. Matrik perbedaan komposisi nukleotida C

	A	B	C	D	E	F
A	-	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
B	0,2	-	0	0,1	0	0
C	0,2	0	-	0,1	0	0
D	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1
E	0,2	0	0	0,1	-	0
F	0,2	0	0	0,1	0	-

Tabel 7. Matrik perbedaan komposisi nukleotida A

	A	B	C	D	E	F
A	-	0,5	0,9	2,8	0,9	0,9
B	0,5	-	0,4	3,3	0,4	0,4
C	0,9	0,4	-	3,7	0	0
D	2,8	3,3	3,7	-	3,7	3,7
E	0,9	0,4	0	3,7	-	0
F	0,9	0,4	0	3,7	0	-

Tabel 8. Matrik perbedaan komposisi nukleotida G

	A	B	C	D	E	F
A	-	1,1	0,7	6,6	0,7	0,7
B	1,5	-	0,4	7,7	0,4	0,4
C	0,7	0	-	7,3	0	0
D	6,6	7,7	7,3	-	7,3	7,3
E	0,7	0,4	0	7,3	-	0
F	0,7	0,4	0	7,3	0	-

```

          10      20      30      40      50
...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
berlian  ---TTGTTTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
KT877412. ---TTGTTTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
KT877416. ---TTGTTTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
KT987433. --TTTGTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
KT998667. TGTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
KT998665. ---TTGTTTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAG
Clustal Consensus *****

```

```

          60      70      80      90     100
...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
berlian  GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
KT877412. GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
KT877416. GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
KT987433. GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
KT998667. GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
KT998665. GTGTGCTAAACATAGTGAAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTG
Clustal Consensus *****

```

```

          110     120     130     140     150
...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
berlian  TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
KT877412. TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
KT877416. TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
KT987433. TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
KT998667. TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
KT998665. TCATCACACCCCTGGTGTAGACAAGGTACAGCTATTCCCTCCTGTAATCATG
Clustal Consensus *****

```

```

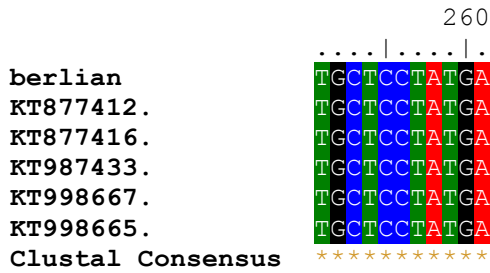
          160     170     180     190     200
...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
berlian  TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
KT877412. TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
KT877416. TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
KT987433. TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
KT998667. TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
KT998665. TATACCCCATCAATGGAAATGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTT
Clustal Consensus *****

```

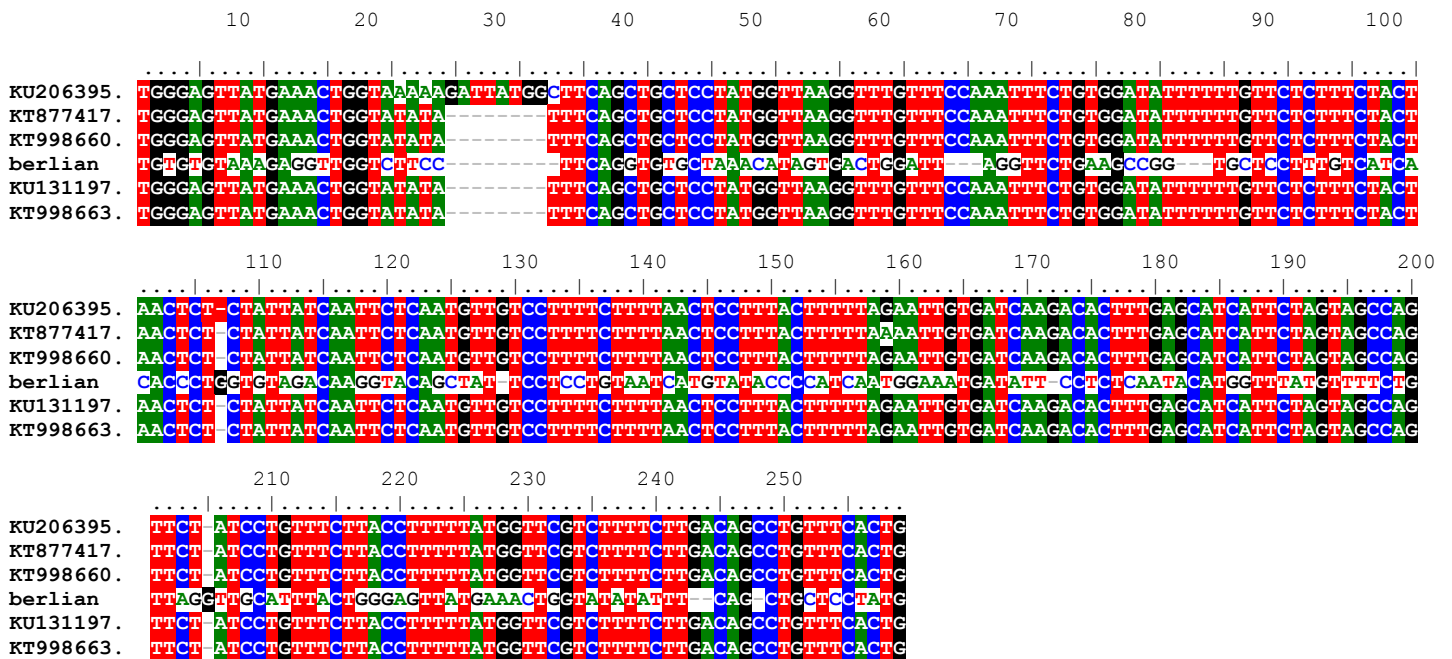
```

          210     220     230     240     250
...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
berlian  TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
KT877412. TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
KT877416. TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
KT987433. TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
KT998667. TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
KT998665. TCTGTTAGGTTGCATTTACTGGGAGTTATGAAACTGGTATATATTTTTCAGC
Clustal Consensus *****

```



Gambar 2. Pensejajaran sekuen nukleotida padi lokal varietas Berlian dengan sampel padi tidak beraroma.



Gambar 3. Pensejajaran sekuen nukleotida padi lokal varietas Berlian dengan sampel padi beraroma.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui padi varietas Berlian memiliki gen *BADH2* berukuran 258 bp. Sekuen gen *BADH2* varietas Berlian menunjukkan kemiripan 100% dengan sekuen *BADH2* varietas padi tidak beraroma dan tidak memiliki kemiripan dengan varietas padi beraroma. Analisis potensi padi beraroma menunjukkan bahwa varietas Berlian tidak berpotensi sebagai padi beraroma. Desain primer khusus perlu dilakukan untuk dapat mengamplifikasi fragmen *BADH2* padi beraroma.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Bpk. Mahrus Ismail dari Laboratorium Genetik Universitas Islam Negeri Maulana Malik

Ibrahim Malang atas pendampingan penelitian ini, Bapak Abdullah Fuad untuk menyediakan fasilitas laboratorium di Laboratorium Sentral Universitas Negeri Malang. Pekerjaan ini merupakan bagian dari proyek penelitian yang didanai oleh 4 in 1 Proyek Konsorsium Penelitian IDB dan Proyek Penelitian Dikti DRPM ke D.L dan S.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahn SN, Bollich CN, Tanksley SD, Breeding P, Hall E (1992) RFLP tagging of a gene for aroma in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 84: 825-828.
- [2] Sobrizal (2016) Potensi pemuliaan mutasi untuk perbaikan varietas padi lokal Indonesia. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 12(1): 23-36.

- [3] Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic Local Alignment Search Tool. *Molecular Biology* 215: 403-410.
- [4] Niu X, Tang W, Huang W, Ren G, Wang Q, Luo D, Xiao Y, Yang S, Wang F, Lu BR, Gao F, Lu T, Liu Y (2008) RNAi-directed downregulation of OsBADH2 results in aroma (2-acetyl-1-pyrroline) production in rice (*Oryza sativa* L.) *BMC Plant Biology* 8: 1-10.
- [5] Nakamura T, Yokota S, Muramoto Y, Tsutsui K, Oguri Y, Fukui K, Takabe T (1997) Expression of a betaine aldehyde dehydrogenase gene in rice, a glycinebetaine nonaccumulator, and possible localization of its protein in peroxisomes. *The Plant Journal* 11(5): 1115-1120.
- [6] Fitzgerald TL, Waters DLE, Brooks LO, Henry RJ (2010) Fragrance in rice (*Oryza sativa*) is associated with reduced yield under salt treatment. *Environmental and Experimental Botany* 68: 292-300.
- [7] Singh A, Singh PK, Singh R, Pandit A, Mahato AK, Gupta DK, Tyagi K, Singh AK, Singh NK, Sharma TR (2010) SNP haplotypes of the BADH1 gene and their association with aroma in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding* 26: 325–338.
- [8] Bradbury LMT, Fitzgerald TL, Henry RJ, Jin Q, Waters DLE (2005) The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal*. 3: 363–370.
- [9] Bradbury LMT, Henry RJ, Jin Q, Reinke RF, Waters DLE (2005b) A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding* 16:279-283.
- [10] Masniawati A, Baharudin, Joko T, Abdullah A (2015) Pemuliaan tanaman padi aromatik lokal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Jurnal Sainsmat* 4(2): 205-213.
- [11] Hendra M, Guhardja EDI, Setiadi D, Walujo EKOB, Purwanto Y (2009) Cultivation practices and knowledge of local rice varieties among benuaq farmers in Muara Lawa District West Kutai East. *Biodiversitas* 10(2): 98 -103.
- [12] Roy SC (2015) DNA barcoding for wild rice (*Oryza rufipogon* Griff) of NBU campus based on matK gene and assessment of genetic variation using DREB and BADH2 gene sequences. *Plant Gene and Trait* 6(5): 1-10.
- [13] Chakraborty D, Deb D, Ray A (2016) An analysis of variation of the aroma gene in rice (*Oryza sativa* L . subsp indica Kato) landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution* 10:1-8. doi: 10.1007/s10722-016-0414-z.
- [14] Nugraha F, Roslim DI, Ardilla, YP, Herman (2014) Analisis sebagian sekuen gen Ferritin2 pada padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau. *Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education* 6(2): 70–79. doi: 10.15294/biosaintifika.v6i2.3102.
- [15] Ge H, Sun L, Yu J (2017) Fast batch searching for protein homology based on compression and clustering. *BMC Bioinformatics* 18(1): 1–12.
- [16] Vanavichit A, Tragoonrung S, Toojinda T, Wanchana S, Kamolsukyonyong W (2008) Transgenic rice plants with reduced expression of Os2AP and elevated levels of 2-acetyl-1 pyrroline. USA patent No. 7319181.