

Skrining Primer SSR Terkait Ketahanan Tungro Pada Tetua Persilangan Padi Adaptif Lahan Rawa

Rini Ismayanti*, Effi Alfiani Siddik, Firmansyah, Surianto Sipi
Pusat Riset Tanaman Pangan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, BRIN
*Email korespondensi: rini018@brin.go.id

Abstrak

Perakitan varietas padi yang adaptif terhadap cekaman biotik dan abiotik merupakan strategi utama dalam optimalisasi pemanfaatan lahan rawa. Penggunaan marka molekuler dalam program pemuliaan padi dapat meningkatkan efisiensi seleksi dan verifikasi hasil persilangan secara lebih cepat dan akurat. Simple Sequence Repeat (SSR) merupakan salah satu marka molekuler yang banyak digunakan karena bersifat kodominan, multialelik, dan memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi primer SSR tungro yang polimorfik yang mampu membedakan alel tetua pada persilangan padi tahan tungro adaptif lahan rawa. Penelitian menggunakan empat varietas padi yang terdiri atas satu varietas adaptif lahan rawa (Inpara 2) dan tiga varietas tahan tungro (Utri Merah 16680, Utri Merah 16682, dan Tukad Petanu) yang digunakan dalam tiga kombinasi persilangan. Sebanyak 14 primer SSR diuji terhadap seluruh tetua melalui amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR), kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarose 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh primer berhasil diamplifikasi, namun hanya 7 primer yang menunjukkan polimorfisme dan mampu membedakan pola pita DNA antar tetua persilangan. Primer-primer polimorfik tersebut berpotensi digunakan sebagai marka informatif dalam identifikasi hasil persilangan dan mendukung seleksi berbasis marka pada program perakitan varietas padi tahan tungro yang adaptif terhadap lahan rawa. Penelitian ini memberikan informasi awal mengenai primer SSR efektif yang dapat dimanfaatkan dalam tahapan seleksi generasi segregasi pada program pemuliaan padi.

Kata kunci: Marka molekuler, Padi, Polimorfisme, Rawa, SSR, Tungro

Abstract

Development of rice varieties adaptable to biotic and abiotic stresses is a key strategy for optimizing swamp land utilization. The application of molecular markers in rice breeding programs can enhance selection efficiency and enable faster, more accurate verification of crossbreeding results. Simple Sequence Repeat (SSR) is a widely used molecular marker due to its co-dominant nature, multi-allelic properties, and high level of polymorphism. This study aimed to identify polymorphic tungro SSR primers capable of differentiating parental alleles in crosses of tungro-resistant rice adapted to swamp land. The study utilized four rice varieties consisting of one swamp-adaptive variety (Inpara 2) and three tungro-resistant varieties (Utri Merah 16680, Utri Merah 16682, and Tukad Petanu), which were evaluated across three cross combinations. A total of 14 SSR primers were tested on all parents through Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification, followed by visualization using 2% agarose gel electrophoresis. The results showed that all primers were successfully amplified; however, only 7 primers exhibited polymorphism and were capable of distinguishing DNA banding patterns among the crossbreeding parents. These polymorphic primers have the potential to be used as informative markers for identifying crosses and supporting marker-assisted selection in breeding programs for tungro-resistant rice varieties adapted to swamp lands. This study provides baseline information regarding effective SSR primers that can be utilized in the selection stage of segregating generations within rice breeding programs.

Keywords: Molecular marker, Polimorfisme, Rice, SSR, Swamp, Tungro

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditas pangan utama yang memiliki peranan strategis dalam mendukung ketahanan pangan nasional maupun global. Peningkatan jumlah penduduk dan alih fungsi lahan pertanian produktif menyebabkan kebutuhan terhadap pengembangan areal tanam baru semakin meningkat. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah pemanfaatan lahan marginal (rawa) secara optimal untuk budidaya padi. Indonesia memiliki luas lahan rawa mencapai 33.4 hingga 34.93 juta hektar yang tersebar di Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, dan Papua dengan luas 4.92 juta hektar telah digunakan untuk budidaya tanaman padi (Sumardi *et al.*, 2021). Optimasi pemanfaatan lahan rawa untuk budidaya padi masih menghadapi berbagai kendala, baik dari sisi abiotik dan biotik. Sifat fisik dan kimia tanah lahan rawa yang kurang mendukung pertumbuhan optimum tanaman padi seperti fluktuasi genangan, kemasaman tanah, kandungan unsur hara yang rendah, merupakan kondisi lingkungan yang kurang optimal bagi pertumbuhan tanaman. Selain itu, cekaman biotik berupa serangan organisme pengganggu tanaman juga menjadi faktor pembatas dalam peningkatan produktivitas padi di lahan rawa.

Penyakit tungro dilaporkan oleh Ibrahim *et al.* (2026) terjadi di lahan rawa Kalimantan Selatan. Tungro merupakan salah satu penyakit penting pada padi yang dapat menyebabkan kehilangan hasil cukup besar. Penyakit ini disebabkan oleh kompleks dua virus, yaitu *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) dan *Rice tungro spherical virus* (RTSV), yang ditularkan oleh wereng hijau sebagai vektor utama. Infeksi tungro dapat menghambat pertumbuhan tanaman, menyebabkan perubahan warna daun menjadi kuning hingga jingga, mengurangi jumlah anakan produktif, dan menurunkan hasil panen secara signifikan. Pengendalian penyakit tungro melalui budidaya dan penggunaan pestisida dianggap kurang efektif serta berpotensi meningkatkan biaya produksi dan memberikan dampak terhadap lingkungan. Oleh karena itu, penggunaan varietas tahan tungro menjadi salah satu strategi pengendalian yang lebih efektif, ekonomis, dan ramah lingkungan (Ismayanti *et al.*, 2020). Dalam konteks pengembangan padi di lahan rawa, diperlukan varietas yang tidak hanya memiliki ketahanan terhadap tungro, tetapi juga mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan rawa yang spesifik.

Sifat tahan tungro pada padi dapat diperbaiki melalui program pemuliaan tanaman. Seleksi pada kondisi tercekaman dapat dilakukan berdasarkan fenotipe, marka molekuler, dan gabungan antara keduanya. Pemanfaatan marka molekuler dalam seleksi materi pemuliaan tanaman disebut *molecular marker assisted selection* (MAS). Marka molekuler

memungkinkan identifikasi gen atau alel tertentu secara lebih cepat, akurat, dan tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, serta dapat diujikan pada tanaman muda, yang dapat ditanam di lahan atau di rumah kaca tanpa terpengaruh musim. Marka SSR merupakan marka genetik yang bersifat kodominan, multialelik, dan tingkat polimorfismenya tinggi. Marka SSR merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, seleksi genotipe untuk karakter yang diinginkan, studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik (Manalu *et al.*, 2023). Beberapa penanda SSR didesain pada kromosom tertentu dan memiliki keterpautan terhadap karakter penting tertentu. SSR dengan motif ulangan (AT)_n merupakan motif yang paling banyak ditemukan pada padi. Daerah pada genom padi dengan banyak gen-gen yang terekspresi, merupakan daerah yang kaya akan SSR, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan marka genetik (Andarini & Nugroho, 2023).

Keberhasilan seleksi berbasis marka sangat dipengaruhi oleh kemampuan primer SSR dalam mendeteksi perbedaan alel antar tetua yang digunakan dalam persilangan. Primer yang bersifat polimorfik akan menghasilkan pola pita yang berbeda sehingga dapat digunakan untuk membedakan genotipe dan menelusuri pewarisan sifat pada populasi hasil persilangan. Oleh karena itu, identifikasi primer SSR tungro yang polimorfik menjadi tahap penting dalam mendukung program pemuliaan padi tahan tungro adaptif lahan rawa. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi primer SSR terkait ketahanan tungro yang mampu membedakan alel antar tetua pada persilangan padi tahan tungro adaptif lahan rawa. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam penerapan seleksi berbasis marka molekuler untuk mempercepat perakitan varietas padi unggul yang adaptif terhadap lahan rawa dan tahan terhadap penyakit tungro.

METODE

Bahan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah empat varietas tetua persilangan, yaitu Utri Merah 16680, Utri Merah 16682, Tukad Petanu dan Inpara 2. Masing-masing varietas ditanam sebanyak sepuluh biji, lalu ditumbuhkan hingga dua minggu.

Isoalsi DNA

Isolasi DNA menggunakan metode CTAB, prosedur Zhang *et al.* (2012) dengan modifikasi. Daun dari sepuluh tanaman digunting dengan cara bulking kemudian ditimbang 0.1 gram setiap varietas. Daun digerus dengan buffer CTAB sebanyak 750 µl. hasil gerusan

dimasukkan ke dalam tube yang telah di beri 7,5 µl 2-merkaptotanol. Suspensi hasil ekstraksi diinkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik. Selanjutnya ditambahkan campuran kloroform:isoamil alkohol (24:1) dan dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 500 µl supernatan yang mengandung DNA dipresipitasi menggunakan 375 µl isopropanol dan 50 µl natrium asetat,

Suspensi hasil ekstraksi diinkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik. Selanjutnya ditambahkan campuran kloroform:isoamil alkohol (24:1) dan dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 500 µl supernatan yang mengandung DNA dipresipitasi menggunakan 375 µl isopropanol dan 50 µl natrium asetat, lalu disimpan semalam dalam freezer. Setelah itu, sampel disentrifugasi untuk memperoleh pelet DNA. Pelet yang terbentuk dicuci menggunakan etanol 70% dan selanjutnya dilarutkan dalam 30 µl buffer TE untuk digunakan sebagai stok DNA.

PCR

Stok DNA yang diperoleh dicek konsentrasinya dengan nanospektrometer, lalu diencerkan hingga 100 ng/µL. Sebanyak 14 primer SSR (Tabel 1.) digunakan dalam penelitian ini untuk mengamplifikasi DNA keempat tetua. Primer yang digunakan mengamplifikasi fragmen gen *tsv1* berdasarkan studi literatur (Lee *et al.*, 2010; Waing *et al.*, 2016). PCR dilakukan dalam total volume reaksi 12.5 µL (1 µl DNA template, 0,5 µl masing-masing primer (F dan R), 6.25 µl DreamTaq Green PCR Master mix, 4 µl ddH₂O, dan 0,25 mM Mg₂Cl). PCR menggunakan BIORAD T-100 Thermal Cyclers dengan program berikut, denaturasi awal 94°C selama 5 menit, dilanjutkan 35 siklus denaturasi pada 94°C selama 60 detik, annealing sesuai primer selama 60 detik, ekstensi pada 72°C selama 60 detik, dan ekstensi akhir selama 10 menit. Hasil amplifikasi divisualisasi menggunakan elektroforesis di gel agarosa 2% (Nurdianawati *et al.*, 2016) dalam TBE 0.5X dan menggunakan penanda Ladder 100 bp dengan tegangan 75volt selama 90 menit. Gel Red digunakan sebanyak 2.5 µL per 100 ml larutan agar sebagai pengganti Ethidium Bromida. Hasil visualisasi DNA di bawah transiluminasi UV kemudian direkam menggunakan BIORAD Gel Doc EZ Gel Documentation System.

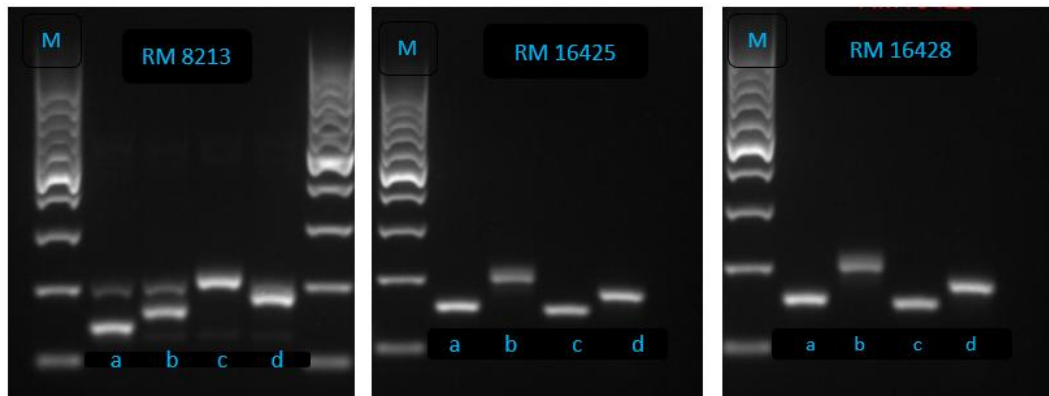
Tabel 1. Deskripsi Primer SSR yang Digunakan Dalam Amplifikasi DNA Tetua

No	PRIMER	Sekuens Primer	Repeat motif	Chr.
1	RM 8213	F: AGCCAGTGATACAAAGATG	(TC)10	4

		R: GCGAGGAGATACCAAGAAAG		
2	RM 6152	F: GAATTCACCGCTCTCCAGTC	(CTT)8	10
		R: AGGAAGGATCTCCTCCAGGAG		
3	RM 21822	F: AGTGATGAGCTCAAGAACAAGC	(GA)12	7
		R: GTCTCAACTCATCTCATCTTCTTC		
4	RM 21800	F: GTGAAATTTGCCTCGCTGTAACG	(AT)15	7
		R: CATCTAACCCTGCTTTGGACTGG		
		F: GCTGACACAGCACTCCTATCTGC		
5	RM 21797	R:	(ATCC)6	7
		CTCCATCGATCATCAACTCAAACC		
6	RM 335	F: GTACACACCCACATCGAGAAG	(CTT)25	4
		R: GCTCTATGCGAGTATCCATGG		
7	RM 20	F: ATCTTGTCCCTGCAGGTCAT	(ATT)12	11
		R: GAAACAGAGGCACATTTTCATTG		
8	RM 16425	F: AATCAAAACAGGAGGACATGC	(AATT)6	4
		R: GTGGACATGGTGTCTACGC		
9	RM 3471	F: AGATCCCGACAGATGGTGAC	(AG)17	3
		R: AACAGAGGGAGGGAGCAGAG		
10	RM 336	F: CTTACAGAGAAACGGCATCG	(CTT)18	7
		R: GCTGGTTTGTTCAGGTTTCG		
11	RM 455	F: AACAACCCACCACCTGTCTC	(CT)11	7
		R: AGAAGGAAAAGGGCTCGATC		
		F: TCCGATCGCTCCAGTATTTCAGTGC		
12	RM 21808	R:	(CA)11	7
		ACAGCTGCGCATGCATGCAACAACG		
13	RM 16428	F: AAAGGAAGCGCTCGATGATCC	(AAT)8	4
		R: CCGGCCATTATCTTTCTTCAGC		
14	RM 16427	F: CTCCTCATGTCGCTGATTCTTGG	(CGG)9	4
		R: CCGAGATCTACCTCTTGCTGTCC		

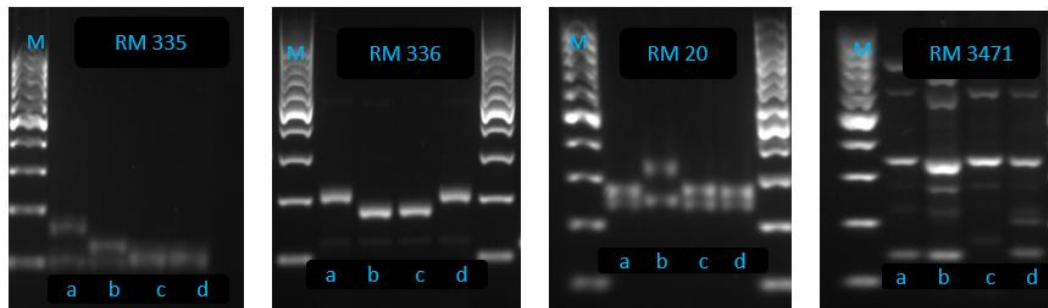
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 14 primer SSR diuji terhadap empat varietas padi yang dijadikan tetua, yaitu Utri Merah 16680, Utri Merah 16682, Tukad Petanu, dan Inpara 2 untuk mengidentifikasi marka yang mampu membedakan masing-masing genotipe tetua. Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa primer yang digunakan memiliki tingkat polimorfisme yang bervariasi. Jumlah alel berkisar 1 hingga 4. Terdapat tiga primer yang polimorfik terhadap keempat tetua (Gambar 1.), yaitu RM8213, RM16425, dan RM336.



Gambar 1. Visualisasi pola pita DNA menggunakan primer RM8213, RM16425, dan RM16428 yang menunjukkan polimorfisme pada empat tetua. a= Utri Merah 16680, b=Utri Merah 16682, c= Tukad Petanu, d=Inpara 2, M= Ladder 100bp.

Sebanyak empat primer lainnya juga bersifat polimorfik, namun hanya dapat diaplikasikan di persilangan tertentu yaitu RM335, RM336, RM20, dan RM3471, (Gambar 2). Sedangkan delapan primer lainnya, yaitu RM6152, RM21822, RM21800, RM21797, RM455, RM21808, RM16428, dan RM16427, menunjukkan sifat monomorfik. Primer yang bersifat polimorfik menghasilkan dua hingga empat alel, sedangkan primer monomorfik hanya menghasilkan satu alel sehingga tidak mampu membedakan genotipe antar tetua. Profil primer tersebut dapat dilihat di Tabel 2.



Gambar 2. Visualisasi pola pita DNA menggunakan primer RM335, RM336, RM20, dan RM3471 yang menunjukkan polimorfisme pada tetua tertentu. a= Utri Merah 16680, b=Utri Merah 16682, c= Tukad Petanu, d=Inpara 2, M= Ladder 100bp.

Pengujian 14 primer SSR menghasilkan 42.9% primer yang polimorfik dan 57.1% monomorfik. Hal tersebut menunjukkan adanya variasi genetik pada lokus yang diamplifikasi oleh primer tertentu, sehingga menghasilkan fragmen DNA dengan panjang yang berbeda (Sari & Ferdiansyah, 2017). Variasi genetic terjadi karena adanya perbedaan susunan basa pada fragmen yang diamplifikasi. Sebaliknya, primer monomorfik

mengamplifikasi daerah genom yang relatif konservatif sehingga menghasilkan ukuran fragmen yang sama pada seluruh tetua.

Tabel 2. Profil Primer Hasil Amplifikasi pada Empat Tetua

NO	PRIMER	Ta (°C)	Target basa (bp)	Hasil	Alel	Rekomendasi
1	RM 8213	49	177	Polimorfik	4	semua persilangan
2	RM 6152	50	158	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
3	RM 21822	51	100	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
4	RM 21800	53	300	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
5	RM 21797	54	200	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
6	RM 335	55	104	Polimorfik	3	AxB dan AxC
7	RM 20	55	140	Polimorfik	3	AxB
8	RM 16425	55	309	Polimorfik	4	semua persilangan
9	RM 3471	52	147	Polimorfik	2	AxB
10	RM 336	55	154	Polimorfik	2	AxB dn AxD
11	RM 455	55	131	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
12	RM 21808	56	100	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi
13	RM 16428	57	155	Polimorfik	4	semua persilangan
14	RM 16427	63	251	Monomorfik	1	Tidak direkomendasi

Catatan: Inpara 2 (a), Utri Merah 16682 (b), Utri Merah 16680 (c), Tukad Petanu (d)

Jumlah alel yang dihasilkan setiap primer berkisar antara satu hingga empat alel. Primer RM8213, RM16428 dan RM16425 menghasilkan empat alel sehingga mampu membedakan seluruh tetua. Semakin banyak alel yang dihasilkan suatu primer, semakin tinggi kemampuan primer tersebut dalam mendeteksi keragaman genetik. Oleh karena itu primer dengan jumlah alel yang tinggi lebih informatif untuk analisis genotipe dibandingkan primer yang hanya menghasilkan satu alel. Jumlah alel yang tinggi mengindikasikan tingkat informatif primer yang lebih baik. Namun, meskipun di tulisan ini primer-primer tersebut dinyatakan monomorfik atau polimorfik, belum tentu hal yang sama ditemukan pada kombinasi tetua yang berbeda, karena polimorfisme sangat dipengaruhi oleh hubungan genetik antar tetua.

Identifikasi primer polimorfik merupakan tahap awal yang penting dalam penelitian berbasis marka molekuler, karena primer yang mampu membedakan tetua

diperlukan untuk mengidentifikasi segregasi alel pada populasi F1 dan F2 nantinya sehingga dapat digunakan dalam seleksi individu yang membawa alel target.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengujian terhadap empat tetua, diperoleh tujuh primer SSR polimorfik, yaitu RM8213, RM335, RM20, RM16425, RM3471, RM336, dan RM16428. Terdapat tiga primer direkomendasikan untuk seluruh kombinasi persilangan, yaitu RM8213, RM16425, dan RM16428.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarini, Y. N., & Nugroho, K. (2023). Review Pemanfaatan Marka Simple Sequence Repeat (SSR) dalam Kegiatan Analisis Keragaman Genetik Plasma Nutfah Padi Lokal di Indonesia. *Jurnal Vegetalika*, 12(1), 47-63.
- Ibrahim, E., Mugiasih, A., Rosida, N., Ismayanti, R., Alfiani, E., & Irmadamayanti, A. (2026). Agroecosystem Engineering As An Alternatif to Controlling Tungro Disease in Tidal Swamp Land at South Kalimantan, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 1584 (2026) 012028 .
- Ismayanti, R., Isnaini, R. N. L., & Firmansyah. (2020). Respon ketahanan beberapa varietas tahan tungro terhadap inoculum kabupaten Pinrang. In: Herlinda S *et al.* (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-8 Tahun 2020, Palembang 20 Oktober 2020. pp. 851-857. Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).
- Lee, J. H., Muhsin, M., Atienza, G. A., Kwak, D. Y., Kim, S. M., Leon, T. B. D., Angeles, E. R., Coloquio, E., Kondoh, H., Satoh, K., Cabunagan, R. C., Cabauatan, P. Q., Kikuchi, S., Leung, H., & Choi, I. R. (2010). Single Nucleotide Polymorphisms in a Gene for Translation Initiation Factor (eIF4G) of Rice (*Oryza sativa*) Associated with Resistance to Rice Tungro Spherical Virus MPMI, 23(1), 29-38.
- Manalu, V. M. P., Wirnas, D., & Sudarsono, S. (2023). Seleksi Marka SSR untuk Toleransi Terhadap Cekaman Suhu Tinggi pada Populasi F2 Padi. *Jurnal Zuriat*, 34(2), 33-45.
- Nurdianawati, S., Wicaksana, N., & Anas. (2016). Analisis Kesesuaian Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*) untuk Identifikasi Keragaman Genetik pada Kacang Bambara Asal Jawa Barat. *Jurnal Agrikultura*, 27(2), 120-123.
- Sari, D. P. & Ferdiansyah, F. (2017). Variasi Frekuensi Alel Terkait Polimorfisme CYP4F2 dan CYP2C9 (*2, *3) pada Berbagai Etnis di Dunia: Review. *IJAS*, 7(3), 73-76.
- Sumardi, Chozin, M., & Sudjatmiko, S. (2021). Penampilan Agronomis dan Produktivitas Galur-Galur Padi Rawa di Lahan Lebak Bengkulu. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 49(1), 1-6.
- Waing, F. P., Pocsedio, A. E., Fernando, T. C., Alberto, R. T., Waing, K. G. D., Romero, G. O., & Tabanao, D. A. (2016). Characterization of the QTL linked to tungro and

green leafhopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.) using advance backcross population. *Philipp. J. Crop Sci*, 41, 20-30.

Zhang, L., Pan, Y., Fu, J., & Peng, J. (2012). Season, Environment Stress and Refrigerated Storage Affect Genomic DNA Isolation of Tung Tree. *American Journal of Plant Science*, 3, v1562-1567.