

Prospek Penggunaan Markah Molekuler dalam Program Pemuliaan Jagung

Marcia B. Pabendon¹, M. Azrai¹, F. Kasim², dan Made J. Mejaya¹

¹Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros

²Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang

PENDAHULUAN

Pemuliaan tanaman merupakan suatu metode eksploitasi potensi genetik tanaman untuk mendapatkan kultivar atau varietas unggul baru yang berdaya hasil dan berkualitas tinggi pada kondisi lingkungan tertentu (Guzhov 1989, Stoskopf *et al.* 1993, Shivanna and Sawhney 1997, Mayo 1980). Eksploitasi potensi genetik tanaman semakin gencar setelah dicetuskannya revolusi hijau. Sejak itu, pemulia tanaman telah berhasil memperbaiki tanaman untuk sifat kualitatif maupun kuantitatif yang mempengaruhi penampilan agronomis maupun preferensi konsumen menggunakan pengamatan fenotipik yang dibantu dengan metode statistik yang tepat.

Beberapa masalah yang sering muncul melalui pendekatan tersebut seperti yang disarikan oleh Lamadji *et al.* (1999) di antaranya adalah (i) memerlukan waktu yang cukup lama; (ii) kesulitan memilih dengan tepat gen-gen yang menjadi target seleksi untuk diekspresikan pada sifat-sifat morfologi atau agronomi karena penampilan fenotipe tanaman bukan hanya ditentukan oleh komposisi genetik, tetapi juga oleh lingkungan tumbuh tanaman; (iii) rendahnya frekuensi individu yang diinginkan yang berada dalam populasi seleksi yang besar untuk mendapat hasil yang valid secara statistik; (iv) fenomena pautan gen antara sifat yang diinginkan dengan sifat tidak diinginkan sulit dipisahkan saat melakukan persilangan.

Dengan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi molekuler pada awal tahun 80an, telah ditemukan teknologi molekuler berbasis DNA. Markah molekuler merupakan alat yang sangat baik bagi pemulia dan ahli genetik untuk menganalisis genom tanaman. Sistem ini telah merevolusi bidang pemetaan genetik, antara lain dapat digunakan untuk menjawab pertanyaan yang berhubungan dengan keragaman genetik, klasifikasi dan filogeni yang berhubungan dengan pengelolaan plasma nutfah, dan alat bantu dalam pemuliaan dan seleksi melalui penandaan gen. Pada akhirnya dapat digunakan sebagai suatu cara untuk pengklonan gen yang difasilitasi oleh peta markah molekuler.

Tulisan ini membahas beberapa strategi pemanfaatan markah molekuler dalam pemuliaan jagung.

MARKAH MOLEKULER

Estimasi kekerabatan genetik antara tanaman bermanfaat dalam studi evolusi populasi atau spesies dan perencanaan persilangan untuk hibrida atau pengembangan kultivar homosigot (Cox *et al.* 1985). Pada jagung, prediksi penampilan hibrida merupakan salah satu pertimbangan penting dan telah menarik banyak perhatian selama bertahun-tahun. Informasi hubungan kekerabatan di antara materi pemuliaan berperan penting dalam pemilihan tetua secara efisien melalui program pemuliaan tanaman. Keragaman genetik merupakan hal penting yang perlu diketahui dalam perencanaan pemuliaan, identifikasi hibrida dan plasma nutfah. Khusus dalam pemuliaan hibrida, pengenalan dan eksploitasi pola heterotik sangat penting untuk memaksimalkan heterosis. Untuk menghasilkan kultivar baru dibutuhkan waktu tiga sampai empat tahun di daerah tropis, itupun belum menjamin pelepasan sebagai kultivar baru. Oleh karena itu, para pemulia tertarik pada teknologi markah molekuler yang menawarkan suatu peluang dengan mengadopsi teknologi dalam skala luas untuk meningkatkan efisiensi seleksi, terutama dalam pemuliaan tanaman sereal.

Markah molekuler adalah suatu penanda pada level DNA yang menawarkan keleluasaan dalam meningkatkan efisiensi pemuliaan konvensional dengan melakukan seleksi tidak langsung pada karakter yang diinginkan, yaitu pada markah yang terkait dengan karakter tersebut. Markah molekuler tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan dapat terdeteksi pada semua fase pertumbuhan tanaman. Oleh karena markah molekuler dapat mengkarakterisasi galur-galur secara langsung dan tepat pada level DNA sehingga dapat dibentuk kelompok heterotik dan pola heterotik, yang dapat memandu para pemulia dalam menyeleksi kandidat tetua hibrida secara cepat, tepat, dan efisien. Selain itu, markah-markah tersebut dapat bermanfaat dalam mengidentifikasi perbedaan tanaman secara individu melalui profil-profil unik secara alelik yang diaplikasikan dalam perlindungan kultivar tanaman.

Kemiripan genetik dari dua genotipe dapat diperkirakan secara tidak langsung dari data pedigree dan melalui markah molekuler (isozim, protein dan markah DNA). Markah DNA dapat digunakan pula sebagai alat bantu seleksi (*MAS = Marker-Assisted Selection*), di mana seleksi hanya didasarkan pada sifat genetik tanaman, tanpa intervensi faktor lingkungan. Dengan demikian, pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, cepat dan relatif lebih hemat biaya dan waktu.

Teknologi markah molekuler pada tanaman jagung semakin berkembang yang ditandai oleh semakin banyaknya pilihan markah DNA yaitu: (1) markah berdasarkan hibridisasi DNA seperti RFLP (*Restriction Fragment Length*

Polymorphism); (2) markah yang berdasarkan reaksi rantai polimerase (*PCR* = *Polymerase Chain Reaction*) dengan menggunakan sekuen-sekuen nukleotida sebagai primer, seperti *RAPD* (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) dan *AFLP* (*Amplified Fragment Length Polymorphism*); (3) markah yang berdasarkan *PCR* dengan menggunakan primer yang menggabungkan sekuen komplementer spesifik dalam DNA target, seperti *STS* (*Sequence Tagged Sites*), *SCARs* (*Sequence Characterized Amplified Regions*), *SSRs* (*Simple Sequence Repeats*) atau biasa juga disebut mikrosatelit, dan *SNPs* (*Single Nucleotida Polymorphism*). Markah-markah tersebut telah dikembangkan dan diaplikasikan pada sejumlah spesies tanaman, termasuk jagung.

Pemilihan markah dalam analisis genetik perlu mempertimbangkan tujuan analisis, sumber dana yang dimiliki, fasilitas yang tersedia, kelebihan dan kekurangan dari masing-masing tipe markah. Keberhasilan suatu markah penyeleksi dalam kegiatan pemuliaan bergantung pada tiga syarat utama yang harus dipenuhi: (i) peta genetik dengan jumlah markah polimorfik yang cukup memadai sehingga dapat mengidentifikasi *QTL* (*Quantitative Trait Loci*) atau gen-gen mayor target secara akurat; (ii) markah terkait erat antara *QTL* atau gen mayor target pada peta genetik yang sudah dikonstruksi, dan (iii) kemampuan menganalisis sejumlah besar tanaman secara efektif.

Pada Table 1 disajikan karakteristik dari beberapa tipe markah untuk analisis genetik. Markah DNA paling banyak digunakan di sejumlah laboratorium dan markah yang lain pada umumnya merupakan varian dari markah yang dipilih. Pada Tabel 1 terlihat bahwa kemampuan deteksi dari markah isozyme dan DNA dibagi atas dua kategori, yaitu markah yang memiliki kemampuan untuk mendeteksi keragaman di tingkat alel (isozyme, *RFLP* dan mikrosatelit), dan markah yang mampu mendeteksi keragaman di tingkat lokus (*RAPD* dan *AFLPs*). *AFLPs* merupakan markah DNA dengan prinsip kerja menggabungkan kelebihan dari *RFLP* dan *RAPD*, sehingga sangat baik digunakan dalam studi genetik maupun keragaman genetik. Namun demikian, penggunaan markah *AFLPs* di Indonesia belum meluas karena memerlukan biaya yang sangat besar dan keterampilan khusus. Markah yang informatif merupakan elemen penting yang perlu dipertimbangkan dalam membandingkan metode yang berbeda, namun faktor-faktor lain seperti biaya, tingkat keterampilan, tingkat ketelitian dan perbanyakan markah molekuler juga perlu dipertimbangkan (Karp and Edward 1998).

Tabel 1. Karakteristik dan kegunaan beberapa tipe markah untuk aplikasi genetika molekuler.

Uraian	Isozyme	RFLPs	RAPDs	SSRs	AFLPs
Sidik jari	+	++	-/+	++	+++
Keragaman genetik	+	++	-	+	+
Gen tagging	-	++	++	+	++
Pemetaan QTL	-	++	-/+	+	++
MAS	-	++	-	++	+ / ++
Prinsip kerja	Alat bantu enzim	Pemotong anendonuclease hybridisasi southern blot	Amplifikasi DNA dengan primer acak	PCR dengan ulangan sekuen pendek	Pemotongan endonuclease menggunakan adaptor dan primer khusus
Tipe folimorfis	Perubahan beban elektroforesis	Perubahan basa tunggal insersi dan delesi	Perubahan basa tunggal Insersi dan delesi	Perubahan pada panjang ulang	Perubahan basa tunggal insersi dan delesi
Kelimpahan genom	Rendah	Tinggi	Sangat tinggi	Sedang/ tinggi	Sangat tinggi
Tingkat folimorfis	Sedang/ rendah	Sedang	Sedang	Tinggi	Tinggi
Pewarisan	Ko-dominan	Ko-dominan	Dominan	Ko-dominan	Dominan/ ko-dominan
Deteksi varians alelik	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Jumlah lokus terdeteksi	1-5	1-5	1-10	1	30-100
Kebutuhan untuk informasi sekuen	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
Tingkat kesulitan	Sedang	Sedang	Rendah	Rendah	Sedang/ tinggi
Reliabilitas	Tinggi	Tinggi	Sedang	Tinggi	Tinggi
Jumlah DNA diperlukan	-	2-15 mg	10-50 ng	50-100 ng	1 mg
Penggunaan radio isotop	Tidak	Ya/tidak	Tidak	Ya/tidak	Ya/tidak
Tipe probe/primer	-	gDNA/ cDNA	Random 9- atau 10-meroligo-nucleotida	Primer khusus 16-30 mer	Adapter dan primer khusus
Biaya awal	Rendah	Sedang	Rendah	Sedang	Tinggi
Biaya pengembangan	Rendah	Sedang	Rendah	Tinggi	Sedang/ tinggi

Sumber: AMBIONET (1998)

Markah Molekuler sebagai Alat Bantu Identifikasi dan Studi Keragaman Genetik Inbrida Jagung

Dalam program pemuliaan tanaman, tersedianya materi genetik dengan keragaman yang luas sangat diperlukan untuk menghasilkan kultivar baru yang berdaya hasil tinggi dan tahan terhadap faktor biotik dan abiotik. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk memprediksi genotipe superior dari suatu persilangan dengan mengukur similaritas genetik (GS = *Genetic Similarity*) atau jarak genetik (GD = *Genetic Distance*) antara tetua, yang kemudian digunakan untuk mengestimasi perkiraan varians genetik pada set-set yang berbeda, dan berasal dari turunan-turunan segregasi dari hasil persilangan yang berbeda. Kultivar-kultivar baru yang akan dihasilkan atau kultivar yang telah menyebar luas perlu dipelihara kemurniannya untuk mempertahankan kualitas. Selain itu, tetua-tetua hibrida perlu mendapat perlindungan. Untuk merealisasikan hal tersebut maka markah molekuler merupakan alat bantu yang akurat.

Genotyping Galur-galur Elit Jagung

Untuk menentukan kekerabatan di antara galur-galur secara tidak langsung adalah melalui informasi pedigree. Akurasi data pedigree merupakan salah satu kunci untuk penentuan ketelitian. Namun, penggunaan informasi pedigree untuk menentukan kekerabatan galur-galur inbrida jagung kurang memadai, karena hanya beberapa generasi yang bisa dirunut ke belakang, sementara ada sejumlah galur inbrida yang berasal dari populasi bersari bebas. Smith *et al.* (1990, 1992) melaporkan, terdapat korelasi yang tinggi antara metode markah molekuler dan pedigree.

Profil dan similaritas genetik setiap genotipe dapat dilakukan secara langsung melalui analisis DNA (Smith *et al.* 1990). Pada saat teknologi DNA profiling digunakan pertama kali, RFLP menjadi perhatian utama, kemudian disusul oleh RAPD, AFLP, dan yang banyak dilakukan akhir-akhir ini adalah SSRs. Keuntungan dari SSR adalah: (i) metodenya relatif simpel; (ii) hampir semua marker adalah monolokus, dan sesuai dengan pewarisan Mendel; (iii) SSRs marker sifatnya informatif; (iv) SSR marker tersedia dalam jumlah yang banyak; dan (v) biayanya lebih efisien per genotipe dan per primer (sama dengan RADP).

Sejumlah koleksi inbrida jagung di Balai Penelitian Tanaman Serealia (Balitsereal) telah digenotyping dalam tiga dataset yang berbeda. Selain itu, ada enam inbrida dari CIMMYT sebagai referensi dan juga menggunakan alel standar sehingga bisa digabungkan ke dalam *public data base* (George *et al.* 2004). Inbrida referensi dan alel standar diperoleh dari laboratorium servis *Asian Maize Biotechnology Network* (AMBIONET) di IRRI, Filipina. Tabel 2 menyajikan hasil karakterisasi markah SSR dari ketiga dataset. Jumlah

Tabel 2. Hasil karakterisasi molekuler dataset-1, -2, dan -3 menggunakan markah SSR.

	Dataset-1	Dataset-2	Dataset-3
Jumlah inbrida	41*	32*	59*
Jumlah lokus SSRs	42	27	25
Total alel	180	94	101
Jumlah alel rata-rata	4,3	3,5	4,0
Kisaran jumlah alel	28	28	28
Tingkat polimorfisme	0,57	0,53	0,51
Kisaran nilai polimorfisme	0,16-0,85	0,17-0,83	0,09-0,73
Jarak genetik rata-rata	0,71	0,70	0,68
Kisaran nilai jarak genetik	0,17-0,89	0,33-0,96	0,55-0,91

*termasuk inbrida standar.

alel yang diidentifikasi pada semua dataset 2-8 alel per lokus SSRs. Nilai jarak genetik rata-rata menunjukkan dataset-1 lebih tinggi dari dataset-2 dan -3, masing-masing 0,71, 0,70, dan 0,68. Data tersebut menunjukkan bahwa kekerabatan di antara inbred cukup jauh. Dengan demikian, peluang untuk memperoleh pola heterotik yang baik akan lebih besar. Vaz Patto *et al.* (2004) melakukan studi yang sama dan memperoleh nilai jarak genetik 0,63 di antara 104 inbrida jagung yang dikarakterisasi.

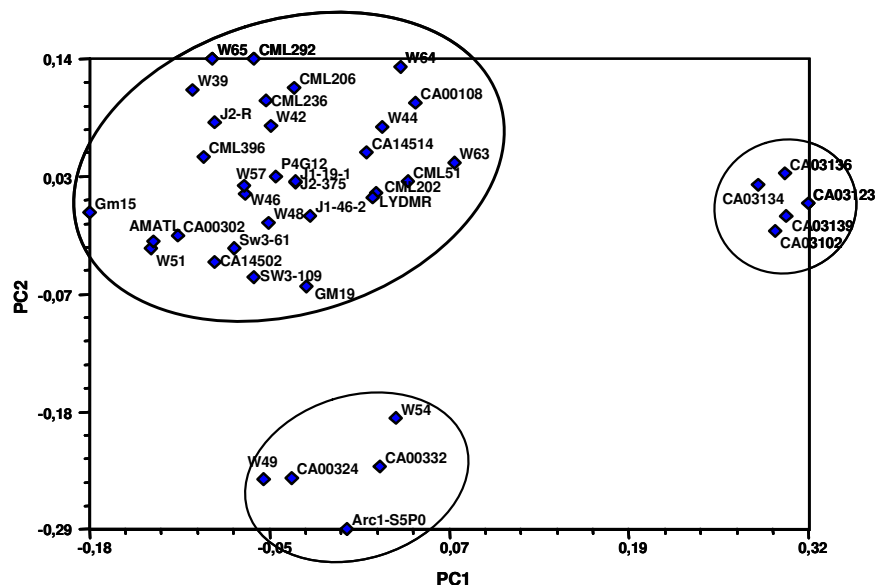
Karakterisasi Galur-galur Elit untuk Pembentukan Kelompok Heterotik

Perhatian utama dalam pogram pemuliaan jagung hibrida adalah identifikasi galur-galur murni yang mampu menghasilkan heterosis tinggi dalam persilangan (Lee *et al.* 1989). Pola heterotik merupakan faktor kunci dalam pemanfaatan plasma nutfah untuk memaksimalkan penampilan populasi persilangan dan perolehan hibrida (Eberhart *et al.* 1995). Walaupun pola heterotik seperti *Lancaster Sure Crop* dan *Reid Yellow Dent* telah diakui paling populer di Amerika Serikat, namun materi pasangan-pasangan heterotik tersebut tidak bisa digunakan di Indonesia karena kondisi lingkungan yang berbeda. Eksploitasi secara komersial dari fenomena heterosis merupakan salah satu kontribusi yang sangat penting dalam pemanfaatan hubungan genetik dalam pemuliaan tanaman (Barbosa-Neto *et al.* 1996). Tetua dengan uji daya gabung umum (DGU) tinggi dan mempunyai jarak genetik yang luas menghasilkan hibrida dengan penampilan hasil yang lebih baik dari kedua tetuanya (Cox and Murphy 1990, Diers *et al.* 1996). Kemajuan dalam penelitian genom telah menarik banyak perhatian untuk memprediksi penampilan hibrida menggunakan markah molekuler dalam program pemuliaan tanaman.

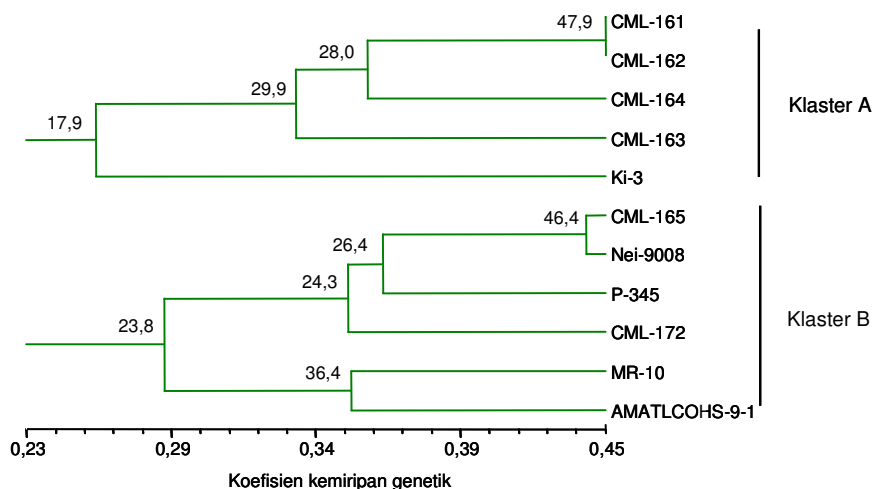
Berdasarkan informasi daya gabung pada sejumlah galur elit Balitsereal, terdapat lima inbrida yang mempunyai daya gabung yang baik di pertanaman yaitu J2-R-144, SW3-61, J1-46-2 dan J1-19-1. Hasil uji

pendahuluan menggunakan markah SSR (Pabendon *et al.* 2004), nilai jarak genetik rata-rata dikombinasikan dengan inbrida lain berturut-turut adalah 0,72, 0,77, 0,73, dan 0.74. Nilai tersebut lebih besar dari nilai rata-rata jarak genetik total yaitu 0,71. Sebagai informasi, J1-46-2 adalah Mr4 yang terpilih sebagai tester pada dataset-2 karena mempunyai daya gabung yang baik. GM19 dan GM15 juga sering dijadikan sebagai tetua hibrida karena mempunyai jarak genetik yang jauh dengan inbrida lainnya. Nilai jarak genetik yang tinggi mencerminkan calon pasangan heterotik yang baik. Penggunaan markah molekuler akan lebih akurat dalam memilih pasangan-pasangan heterotik. Selain itu,

jumlah pasangan persilangan yang akan diuji di lapangan akan jauh berkurang. Dengan demikian akan mengirit biaya, waktu, dan tenaga. Uji pendahuluan ini merupakan konfirmasi penampilan fenotipik. Hasil analisis PCoA (*Principal Coordinate Analisis*) dapat terlihat dengan jelas tiga klaster yang menunjukkan kelompok heterotik (Gambar 1). Menurut Warburton *et al.* (2005), klaster yang mengandung banyak inbrida (>5 inbrida) dan menunjukkan keragaman genetik yang rendah di dalam klaster dapat dipertimbangkan sebagai kelompok heterotik potensial, dan kemungkinan akan mempunyai peluang sebagai mid-parent heterosis yang baik pada saat disilangkan dengan inbrida pada kelompok heterotik yang lain.



Gambar 1. Posisi relatif 35 inbrida jagung dengan enam inbrida referensi menggunakan 42 markah SSR berdasarkan analisis PCoA.



Gambar 2. Dendrogram enam inbrida QPM dan lima inbrida normal berdasarkan 24 markah SSR dan dikonstruksi berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard.

Selain itu, ada enam inbrida donor QPM (qq) dari CIMMYT dan lima inbrida normal (*recurrent non QPM-DMR*) (QQ) tahan bulai juga telah dikarakterisasi menggunakan 24 markah SSR. Dendrogram (Gambar 2) menunjukkan semua inbrida dapat dibedakan dengan jelas antara yang satu dengan yang lain. Tingkat kemiripan genetik berkisar antara 0,23-0,45. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kekerabatan antara satu inbrida dengan inbrida yang lain cukup jauh. Ada dua klaster yang terbentuk, yaitu klaster A dan klaster B. Klaster A terdiri atas lima inbrida, empat di antaranya adalah inbrida QPM, yaitu CML161, CML162, CML163 dan CML164, sedangkan sisanya adalah inbrida normal Ki3. Klaster B terdiri atas enam inbrida, empat di antaranya adalah inbrida normal, yaitu Nei-9008, P-345, Mr10, dan AMATLCOH9-1, sedangkan dua lainnya adalah inbrida QPM masing-masing CML165 dan CML172. Dengan demikian keempat inbrida QPM pada klaster A punya peluang menghasilkan heterosis jika disilangkan dengan empat inbrida normal pada klaster B, karena berada pada kelompok heterotik yang berbeda.

Nilai jarak genetik dari semua pasangan persilangan memungkinkan, berkisar antara 0,55-0,91, dengan rata-rata 0,72; klaster A berkisar antara 0,55-0,87 dengan rata-rata 0,69; klaster B berkisar antara 0,56-0,80 dengan rata-rata 0,68 (Tabel 3). Menurut El-Maghraby *et al.* (2005), metode yang digunakan akan lebih simpel, efisien, dan tidak mahal jika dapat memprediksi heterosis lebih dahulu sebelum percobaan di lapangan, dalam kaitannya dengan pengurangan sejumlah persilangan, evaluasi lapangan, dan percepatan program pemuliaan hibrida. Namun, pencapaian heterosis tinggi

Tabel 3. Matriks genetik enam inbrida QPM dan lima inbrida normal.

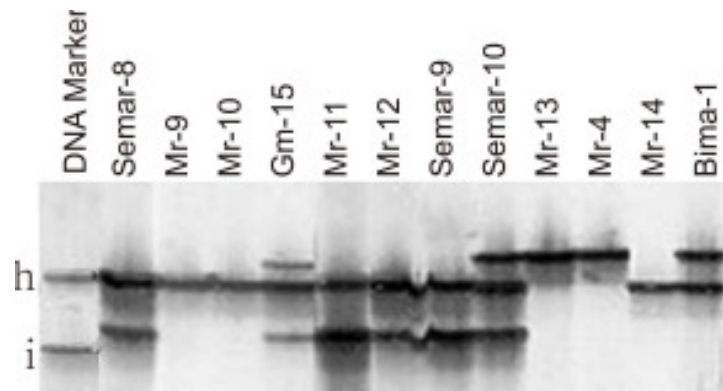
	CML-161	CML-162	CML-163	CML-164	CML-165	CML-172	Nei-9008	Ki-3	P-345	MR-10	AMATL
CML-161	0,00										
CML-162	0,55	0,00									
CML-163	0,69	0,60	0,00								
CML-164	0,65	0,64	0,72	0,00							
CML-165	0,68	0,69	0,82	0,77	0,00						
CML-172	0,67	0,73	0,73	0,70	0,61	0,00					
Nei-9008	0,81	0,82	0,87	0,76	0,56	0,68	0,00				
Ki-3	0,71	0,73	0,87	0,67	0,75	0,72	0,71	0,00			
P-345	0,75	0,77	0,80	0,78	0,62	0,66	0,65	0,84	0,00		
MR-10	0,71	0,82	0,91	0,79	0,74	0,74	0,80	0,74	0,75	0,00	
AMATL	0,68	0,78	0,83	0,78	0,62	0,66	0,72	0,85	0,70	0,65	0,00

bukan hanya berdasarkan nilai jarak genetik tetapi masih ada faktor-faktor lain yang ikut berperan, seperti potensi genetik dari inbrida itu sendiri.

Sidik Jari Kultivar dan Tetua Pembentuk Hibrida

Ada kecenderungan kultivar hibrida dalam pemuliaan tanaman mengarah pada peningkatan hasil, adaptasi, penampilan, dan kualitas. Oleh karena itu, dirasa perlu kepastian kemurnian genetik sehingga semua kultivar baru diharapkan mampu menampilkan perbedaan, keseragaman, dan stabilitas (*distinctness, uniformity, and stability=DUS*). Penentuan dan pemeliharaan kemurnian genetik galur-galur tetua dan hibrida merupakan hal yang krusial untuk keberhasilan adopsi teknologi hibrida. Markah molekuler mempunyai potensi untuk memperoleh hal tersebut (Jena and Pandey 1999, Yashitola *et al.* 2002).

Sidik jari DNA untuk spesies sereal mempunyai sejarah yang panjang. Pada saat teknologi profil DNA digunakan untuk pertama kali, RFLP menjadi model yang dipertimbangkan. Teknologi RFLP kemudian diikuti oleh RAPD, disusul oleh AFLP dan kemudian SSR atau disebut markah mikrosatelit, yang akhir-akhir ini cukup banyak digunakan karena mempunyai beberapa kelebihan dibanding markah sebelumnya, antara lain: metodenya relatif simpel dan otomatis, hampir semua markernya monolokus dan mengikuti pewarisan Mendel, mempunyai polimorfisme yang tinggi, primer SSR telah tersedia banyak, dan biaya per primer per genotipe relatif murah. Zawko (2003) melakukan identifikasi kultivar gandum berbasis protein (MALDI-TOF) dan DNA (mikrosatelit) yang bertujuan mengembangkan metode pengujian untuk identifikasi kultivar dan mencari metode yang cepat untuk kultivar yang bersegregasi dalam mengetahui kualitas dan kemurniannya.



Gambar 3. Salah satu tampilan pita DNA untuk cek kemurnian genetik kultivar dan inbrida pembentuknya menggunakan markah SSR phi072.

Dari hasil identifikasi diketahui tingkat keseragaman kultivar. Dilaporkan pula bahwa sidik jari menggunakan mikrosatelit membutuhkan waktu lebih banyak dibanding jika sidik jari berbasis protein, tetapi akurasinya lebih tinggi.

Empat kultivar komersial di Indonesia (Semar-8, Semar-9, Semar-10 dan Bima-1) bersama dengan inbrida pembentuknya (Mr-4, Mr-9, Mr-10, Mr-11, Mr-12, Mr-13, Mr-14, and GM-15), telah dikarakterisasi menggunakan 26 markah SSR (Pabendon *et al.* 2005). Semar-8, -9, dan -10 merupakan hibrida silang tiga jalur sedangkan Bima-1 adalah hibrida silang tunggal. Karena silang tiga jalur melalui dua tahapan persilangan maka akan lebih sulit mempertahankan kemurniannya dibandingkan dengan silang tunggal. Karakterisasi bertujuan untuk mengetahui kemurnian genetik dari kultivar hibrida yang telah dilepas. Hasil analisis klaster berdasarkan koefisien kemiripan Jaccard mengelompokkan hibrida dan masing-masing tetuanya ke dalam dua kelompok. Selanjutnya, diidentifikasi tiga tetua inbrida yaitu Mr9, Mr12, dan Mr13 mempunyai tingkat heterosigositas >20% dan selebihnya <20%.

Dari 26 markah SSR yang digunakan, diidentifikasi 10 markah SSR yang dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam sidik jari hibrida dan tetua pembentuknya, yaitu phi109275, phi96100, phi374118, phi072, phi109188, phi299852, phi328175, phi233376, phi065, dan umc1196. Semua tetua yang dikarakterisasi dapat dibedakan dengan menggunakan ke-10 markah tersebut karena menghasilkan alel-alel unik pada masing-masing marker. Hal tersebut menunjukkan bahwa markah SSR dapat diandalkan untuk mendeteksi kemurnian genetik dan tingkat heterosigositas jagung hibrida beserta tetua pembentuknya.

Markah Molekuler sebagai Alat Bantu Seleksi

Dalam konteks markah DNA sebagai alat bantu seleksi (Marker-Assisted Selection = MAS), pemanfaatan markah tersebut dapat menjadi lebih efektif digunakan untuk tiga tujuan dasar: (i) identifikasi galur-galur tetua dengan tepat untuk perbaikan suatu karakter untuk tujuan khusus; (ii) penelusuran alel-alel *favorable* (dominan atau resesif) pada tiap generasi persilangan; (iii) identifikasi individu-individu target sesuai dengan karakter yang dituju di antara turunan yang bersegregasi, berdasarkan komposisi alelik persilangan sebagian atau seluruh genom.

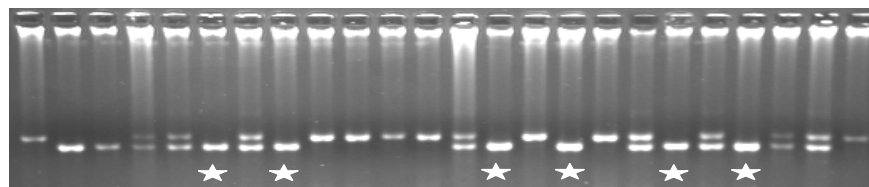
Identifikasi Galur-Galur Tetua untuk Tujuan Khusus

Markah DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi plasma nutfah yang memiliki karakter khusus yang diperlukan dalam program pemuliaan

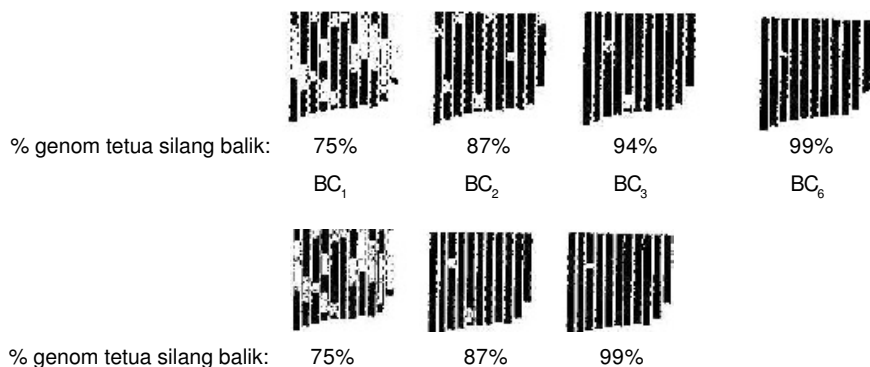
sepanjang markah DNA tersebut berasosiasi dengan gen yang mengendalikan karakter yang diinginkan. Misalnya resistensi penyakit bulai pada tanaman jagung dapat dikarakterisasi secara molekuler pada alel tertentu dengan markah RFLP dan SSR (George *et al.* 2003). Dengan pendekatan ini, maka tetua yang memiliki komposisi alel yang dikehendaki pada alel yang mengatur karakter penting dapat dengan mudah diidentifikasi. Analisis sidik jari (*fingerprinting*) pada galur-galur jagung elit akan memberikan informasi dalam merencanakan program pemuliaan untuk membuat segregasi baru, kultivar hibrida, dan sintetik unggul baru atau juga dapat digunakan oleh pemulia tanaman dalam menentukan persilangan baru. Walaupun informasi dari kelompok heterotik tidak selalu mampu menghasilkan kombinasi persilangan terbaik, namun dengan pendekatan ini dapat membantu mengurangi jumlah persilangan maupun keturunan bersegregasi yang diperlukan untuk dievaluasi lebih lanjut. Dengan demikian, efisiensi pemuliaan dapat ditingkatkan melalui seleksi terarah berdasarkan data fenotipik dan molekuler.

Menelusuri Alel yang Diinginkan

Markah DNA dapat digunakan untuk menelusuri keberadaan gen target (*foreground selection*) dan mempercepat pemulihan genom tetua *recurrent* (*background selection*) pada program pemuliaan silang balik. Keberhasilan metode MAB (*Marker assisted backcrossing*) dalam meningkatkan efisiensi pemuliaan konvensional dapat dijelaskan sebagai berikut: (i) bila fenotipe tetua yang mengandung gen target tidak mudah diamati, maka progeni BC (*Back Cross*) yang mengandung gen dari tetua donor dapat diseleksi menggunakan markah yang berlokasi dekat dan berasosiasi kuat dengan gen target. Misalnya pembentukan jagung berkualitas protein tinggi (QPM = *Quality Protein Maize*) dengan cara mentransfer alel resesif mutan opaque-2 ke jagung normal dengan menggunakan markah SSR (Gambar 4, Babu *et al.* 2005); (ii) markah dapat digunakan untuk mempercepat dan meng-efisienkan seleksi progeni silang balik yang memiliki porsi genom dari tetua



Gambar 4. Identifikasi individu tanaman resesif homosigot untuk alel *o-2* pada populasi tanaman generasi BC_2S_2 dengan menggunakan markah umc 1066. Pita DNA pertama adalah galur tetua non QPM (P1), pita DNA ke-2 adalah galur tetua QPM (P2), individu tanaman bertanda * adalah homosigot untuk alel mutan *opaque2* recessive (Babu *et al.* 2005).



Gambar 5. Perbandingan penerapan metode seleksi secara konvensional (bagian atas) dan metode yang menggunakan markah RFLP sebagai alat bantu seleksi (bagian bawah) dalam metode pemuliaan silang balik (Young and Tanksley 1989).



Gambar 6. Perbandingan kekuatan seleksi untuk introgresi gen dari kerabat liar ke plasma nutfah komersial dengan metode seleksi silang balik secara konvensional (bagian atas) dan metode yang menggunakan markah RFLP sebagai alat bantu seleksi (bagian bawah) (Young and Tanksley 1989).

silang balik yang memiliki porsi terbesar (99%) dan juga telah memiliki gen target (1%) (Gambar 5); (iii) markah dapat digunakan untuk menghindari transfer gen yang tidak diinginkan meskipun terpaut dengan gen target (*linkage drag*) (Gambar 6).

Penggunaan markah sebagai alat bantu seleksi dalam metode pemuliaan silang balik seperti disajikan pada Gambar 5 dapat meningkatkan efisiensi seleksi dan mengurangi jumlah generasi silang balik menjadi separuh waktu, dibandingkan dengan seleksi konvensional murni. Untuk menghindari *linkage drag* pada metode seleksi secara konvensional, diperlukan 10 kali generasi silang balik, sedangkan penggunaan markah sebagai alat bantu seleksi hanya membutuhkan dua kali generasi silang balik. Penggunaan markah DNA seperti yang diilustrasikan pada poin (ii) dan (iii) sudah berkembang luas, terutama dalam menyeleksi galur-galur jagung transgenik yang memiliki ketahanan terhadap herbisida dan resisten terhadap hama (Ragot *et al.* 1995).

MAS untuk Pengembangan Karakter Kualitatif

Selama ini pemuliaan tanaman untuk karakter kualitatif berhasil dikembangkan melalui pemuliaan konvensional dengan metode silang balik. Seperti dijelaskan sebelumnya, metode ini ternyata mengandung beberapa kelemahan, di antaranya selain butuh waktu yang lama juga besarnya *linkage drag* pada saat dilakukan introgresi gen donor dari plasma nutfah liar ke plasma nutfah komersial. Young dan Tanksley (1989) melaporkan adanya *linkage drag* pada saat mengintrogresikan gen ketahanan *Tm2* yang berasal dari *Lycopersicon peruvianum* pada kultivar tomat komersial melalui pemuliaan silang balik. Mereka menemukan bahwa kultivar yang dikembangkan melalui 20 generasi silang balik yang memiliki segmen yang diintrogresikan sebesar 4cM dan kultivar yang dikembangkan melalui 11 generasi silang balik masih mengandung seluruh lengan kromosom yang membawa gen dari tetua donor.

Pemuliaan silang balik dengan memanfaatkan markah DNA dapat memfasilitasi introgresi gen pengendali karakter kualitatif menjadi lebih efektif dan efisien. Salah satu contoh keberhasilan MAS untuk pengembangan karakter kualitatif adalah pemanfaatan SSR markah sat309 untuk menyeleksi genotipe yang memiliki gen *rhg1* yang mengendalikan ketahanan terhadap SCN (*soybean cyst nematode*) yang disebabkan oleh *Heterodera glycinae* (Cregan *et al.* 1999). Markah DNA SSR sat309 diketahui berlokasi 1-2 cM dari *rhg1* dan dapat memprediksi dengan tingkat akurasi 99% genotipe rentan SCN.

Keberhasilan yang sama juga ditemukan dalam pemuliaan QPM. Pemuliaan yang bertujuan untuk perbaikan mutu protein jagung telah dilakukan secara intensif setelah Mertz *et al.* (1964) menemukan mutan jagung pada biji opak yang mengandung lisin tinggi, gen opaque-2. Gen opaque-2 (*o-2*) mampu meningkatkan kadar lisin dan triptofan pada endosperm jagung. Namun pada awal kegiatan pemuliaan tersebut, jagung yang mengandung gen opaque-2 memiliki endosperm yang lunak sehingga menyulitkan dalam proses pengeringan dan peka penyakit. Setelah melalui serangkaian penelitian yang cukup panjang, pemuliaan dengan metode silang balik secara konvensional telah berhasil mengkonversi gen opaque-2 ke dalam jagung biasa dengan kandungan lisin dan triptofan meningkat lebih dua kali lipat dengan endosperm berfenotipik keras (Vasal 2001).

Meskipun prosedur pemuliaan secara konvensional telah berhasil mengubah kultivar-kultivar komersial ke dalam bentuk kultivar QPM sintetik, namun introgresi opaque-2 bersama dengan modifiers endosperm ke dalam galur-galur elit dengan pemuliaan secara konvensional cukup rumit karena adanya tiga faktor pembatas utama: (i) pada setiap generasi persilangan memerlukan enam generasi silang balik dan setiap generasi

silang balik memerlukan silang diri untuk mengidentifikasi gen resesif opaque-2; (ii) selain memerlukan pemeliharaan gen opaque-2 homosisot, jumlah modifiers yang harus diseleksi cukup banyak; (iii) pengujian secara biokimia secara tepat diperlukan untuk memastikan kadar lisin dan tiptofan dalam materi-materi yang terseleksi pada setiap generasi pemuliaan.

Untuk mengatasi kendala tersebut, peneliti CIMMYT telah berhasil mengembangkan kombinasi teknologi yang inovatif berdasarkan markah SSR terhadap alel o-2, sehingga terjadi efisiensi waktu dan biaya dalam mengkonversikan galur-galur jagung normal ke dalam QPM. Ada tiga markah SSR yang telah diidentifikasi pada kromosom tujuh, bin 7,01 yang memiliki hubungan erat dengan gen opaque-2, yaitu phi057, phi 112, dan umc1066 (CIMMYT 2002). Dengan pemanfaatan markah SSR tersebut, waktu yang diperlukan untuk memulihkan tingkat genom tetua silang balik hanya tiga generasi secara berturut-turut, setara dengan enam generasi silang balik pada seleksi konvensional. Selain itu, tingkat kesalahan dalam merekombinasikan antargen target dan pautan markah berkurang selama markah SSR dapat mendeteksi gen target itu sendiri. Pengujian biokimia yang secara rutin dilakukan untuk mendeteksi keberadaan gen opaque-2 pada setiap generasi pada pemuliaan secara konvensional murni tidak diperlukan lagi. Oleh karena itu, MAS yang berdasarkan markah SSR untuk mengkonversi galur jagung normal ke dalam QPM cukup sederhana, cepat, akurat, dan efisien dari segi biaya dan waktu (Dreher *et al.* 2000).

Pengembangan karakter kualitatif dengan MAS juga dapat berupa gen *tagging* dan *pyramiding*. Gen *tagging* merupakan cara cepat dan tepat untuk menyeleksi individu tanaman yang digunakan dengan menggunakan markah yang terpaut kuat untuk suatu karakter, seperti gen resisten terhadap penyakit blas dan *bacterial blight* pada padi dan karat daun pada gandum melalui pendekatan analisis segregasi bulk (*Bulk Segregation Analysis* = BSA), tanpa memerlukan uji lapangan. Metode gen *tagging* dan *pyramiding* berpeluang besar diaplikasikan untuk mempercepat perbaikan sifat tanaman jagung komersial.

MAS untuk Pengembangan Karakter Kuantitatif

Masalah yang sering timbul dari kegiatan pemuliaan untuk perkaitan kultivar unggul baru adalah sebagian besar karakter agronomi penting tanaman sangat kompleks dan dikendalikan oleh banyak gen. Ketidakterpautan karakter sederhana yang dikendalikan oleh satu atau beberapa gen mayor, perbaikan karakter poligenik melalui MAS menjadi sangat rumit. Kesulitan memanipulasi karakter kuantitatif berhubungan dengan kompleksitas genetiknya, sebab banyak gen yang terlibat dalam ekspresinya, namun efek dari setiap gen tersebut terhadap penampilan fenotipe tanaman kecil. Adanya

interaksi antara gen-gen (epistasis) juga merupakan faktor penghambat dalam memanipulasi karakter kuantitatif. Dengan demikian, diperlukan beberapa lokasi genom yang harus dimanipulasi pada waktu yang sama untuk mendapatkan pengaruh yang nyata, meskipun untuk menghasilkan efek yang nyata pada suatu lokasi genom pada individu tanaman tidak mudah. Untuk kasus ini, reposisi pengujian lapangan diperlukan untuk mengkarakterisasi efek QTL secara akurat dan menguji stabilitasnya pada beberapa lingkungan yang berbeda. Evaluasi interaksi QTL dengan lingkungan (Q x E) secara kontinu merupakan pembatas utama terhadap efisiensi MAS (Beavis and Keim 1996). Kehadiran interaksi epistasis di daerah yang berbeda pada genom dapat mempengaruhi pengujian arah efek QTL. Jika semua lokasi genom yang terlibat dalam interaksi tidak menyatu dalam skema seleksi, efek QTL dari proses seleksi tersebut akan menjadi bias.

Penghambat yang paling menonjol dalam melakukan MAS pada karakter kuantitatif menurut Tanksley dan Nelson (1996) antara lain adalah: (i) identifikasi jumlah terbatas pada mayor *players* (QTLs) pengendali karakter spesifik; (ii) defisiensi percobaan dalam analisis QTL terutama dalam estimasi berlebihan atau estimasi yang sangat rendah dalam jumlah dan efek QTL; (iii) ketiadaan yang bersifat umum dalam validasi QTL (markah) yang berhubungan dengan penerapan set materi pemuliaan yang berbeda; (v) kekuatan interaksi antar-QTL x E; dan (vi) kesulitan dalam mengevaluasi efek epistasis dengan tepat.

Meskipun sulit, namun tidak berarti peningkatan efisiensi MAS untuk karakter kuantitatif tidak dapat dilakukan. Melalui perbaikan rancangan percobaan di lapangan, penyempurnaan model matematika dan pendekatan metode statistik yang tepat akan sangat membantu upaya peningkatan efisiensi MAS pada karakter kuantitatif. Untuk kejadian tersebut, dengan CIM (*Composite Interval Mapping*), data lapangan dari lingkungan yang berbeda dapat diintegrasikan ke dalam analisis gabungan untuk mengevaluasi Q x E, dan selanjutnya, memungkinkan identifikasi QTL yang stabil dari beberapa lingkungan (Jiang and Zeng 1995). Selain itu, dengan peta pautan secara rinci, CIM mampu mengidentifikasi suatu presisi pada QTL dalam genom dan identifikasi yang terbaik terhadap pautan QTL (gabungan), yang berasal dari beberapa galur tetua. Markah DNA berbasis DNA menawarkan keuntungan yang unik untuk identifikasi dan penggunaan QTL *favourable*, yang berasal dari suatu galur tetua yang berbeda (*repulsion*).

Pengetahuan lokasi dan efek QTL dapat dimanfaatkan untuk percepatan program pemuliaan. Beberapa contoh kasus aplikasi markah sebagai alat bantu seleksi karakter kuantitatif yang menggunakan metode AB-QTL (*Advanced Backcrossing-QTL*) telah dilakukan oleh beberapa peneliti, seperti Tanksley dan Nelson (1996) untuk perbaikan kualitas buah dan ketahanan tomat terhadap patogen penyebab *black mold* dan Stuber *et al.* (1999) untuk

peningkatan hasil hibrida silang tunggal B73 x Mo17. Prospek pengembangan karakter kuantitatif pada tanaman jagung cukup besar setelah lokasi mayor QTL untuk karakter toleransi terhadap kekeringan dapat diidentifikasi oleh Ribaut *et al.* (2002), identifikasi karakter ketahanan terhadap *South Western Corn Borer* (SWBC) oleh Khairallah *et al.* (1997), identifikasi karakter ketahanan terhadap *Cercospora zeae-maydis* oleh Gordon *et al.* (2004), dan identifikasi karakter ketahanan penyakit bulai oleh George *et al.* (2003).

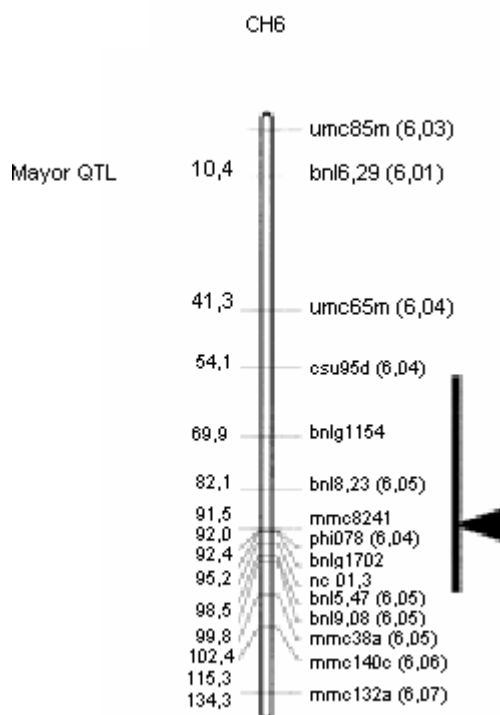
MARKAH MOLEKULER DALAM PENELITIAN JAGUNG DI INDONESIA

Penelitian dan pengembangan biologi molekuler dalam pemuliaan jagung di Indonesia belum berkembang luas. Kegiatan tersebut baru dimulai sejak Indonesia bergabung dalam jaringan kerja regional Asia pada tahun 1998, yakni Asian Maize Biotechnology Network (AMBIONET) yang beranggotakan lima negara pada tahap I, yakni Cina, Filipina, Indonesia, Thailand, India dan pada tahap II juga bergabung Vietnam. Kegiatan pada tahap I (1998-2002) meliputi peningkatan sumber daya manusia, karakterisasi dan identifikasi ketahanan penyakit bulai, dan keragaman genetik galur-galur jagung. Karena laboratorium Biologi Molekuler berkedudukan di BB Biogen (dulu Balitbio), maka kegiatan molekuler dilakukan oleh tim AMBIONET di BB Biogen, sedangkan kegiatan lapangan dilaksanakan oleh tim AMBIONET di Balitsereal (dulu Balitjas). Pembagian tugas tersebut ternyata tidak efektif sehingga pada tahap I Indonesia belum berhasil dalam kegiatan molekuler, sedangkan di lapangan telah berhasil mengidentifikasi ketahanan penyakit bulai terhadap 40 galur jagung di lima lokasi pada dua musim. Selain itu, tim lapangan juga berhasil melakukan kegiatan fenotyping untuk pemetaan QTL ketahanan penyakit bulai di Maros (Indonesia).

Belajar dari pengalaman tahap I dan keberhasilan yang dicapai oleh Cina dan India, maka kegiatan molekuler pada tahap II dilakukan oleh Tim AMBIONET dari Balitsereal yang dimagangkan di Laboratorium BB Biogen, Bogor. Pada tahap II Indonesia telah berhasil mengidentifikasi QTL untuk ketahanan penyakit bulai pada jagung dengan menggunakan markah RFLP dan SSR (Gambar 7), untuk identifikasi QTL ketahanan kekeringan pada populasi F_3 dan RIL, introgresi gen resesif opaque-2 pada galur jagung tahan bulai (Nei9008), dan pemanfaatan markah SSR untuk mengidentifikasi diversitas genetik antara galur-galur jagung untuk membentuk kelompok heterotik yang diperlukan dalam pembentukan hibrida. Mayor QTL yang teridentifikasi oleh markah RFLP adalah bn15,47, bn18,23, dan csu95d berasosiasi kuat dengan ketahanan penyakit bulai pada jagung di Indonesia (Gambar 7). Setelah dilakukan *fine mapping* dengan markah SSR, ternyata

di antara *flanking* markah tersebut teridentifikasi satu markah SRR yang berada pada posisi antara bnl5,47 dan bnl8,23, yaitu bnlg1154 dan empat markah SSR yang berada pada posisi antara bnl8,23 dan csu95d, yaitu mmc0241, phi078, bnlg1702 dan nc013. Markah-markah tersebut juga berasosiasi kuat dengan ketahanan penyakit bulai pada empat lokasi di tiga negara yakni India, Filipina, dan Thailand (George *et al.* 2003). Markah-markah SSR yang secara konsisten berasosiasi kuat dengan gen ketahanan penyakit bulai pada jagung tersebut dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi seleksi dan mempercepat introgresi gen tahan bulai dengan metode AB-QTL.

QTL untuk ketahanan kekeringan pada jagung juga telah dianalisis menggunakan data markah RFLP sebagai data genotyping dan hasil penyaringan kekeringan di Purbolinggo pada tahun 2004. Beberapa markah RFLP berasosiasi dengan beberapa karakter agronomis untuk toleransi genotipe uji terhadap kekeringan, yaitu parameter kapasitas akar dan



Gambar 7. Posisi mayor QTL untuk ketahanan penyakit bulai yang diidentifikasi oleh markah RFLP dan SSR berdasarkan hasil pengujian di Maros dan Bogor.

bobot 100 biji untuk genotipe F_3 dan untuk genotipe RIL adalah tinggi tanaman dan letak tongkol, selang berbunga jantan betina, kapasitansi akar dan umur berbunga betina. Namun demikian, markah yang mendeteksi karakter ketahanan tersebut tidak konsisten antara populasi F_3 dan RIL sehingga diperlukan *fine mapping* untuk menentukan posisi mayor QTL dengan tepat. Tidak semua markah yang terdeteksi berasosiasi dengan QTL terhadap suatu karakter dapat digunakan sebagai MAS, tetapi hanya markah yang berasosiasi dengan QTL yang memiliki efek yang sangat kuat mengendalikan karakter penting tersebut. Kekuatan efek suatu QTL ditentukan oleh kerapatan pautan gen pada suatu lokus, tingkat konsistensi jumlah QTL, lokasi dan efek genetik dan stabilitas dari pengaruh lingkungan (Babu *et al.* 2002).

Pemilihan galur tahan bulai didasarkan pada hasil penyaringan yang dilakukan oleh Kasim *et al.* (2002) dari 40 galur dengan metode inokulasi semibuatan di lima lokasi dan dua musim di Indonesia. Saat ini, kegiatan MAS telah berhasil mengintrogresikan gen resesif opaque-2 pada galur Nei9008 dan untuk galur Mr-10 masih memerlukan satu kali MAS dan silang diri. Dengan demikian, diharapkan 2-3 tahun mendatang dapat dilepas kultivar unggul baru bermutu protein tinggi dan tahan terhadap penyakit bulai.

Pemanfaatan markah molekuler untuk mempercepat proses seleksi dan meningkatkan efisiensi perakitan jagung unggul baru dengan sifat-sifat khusus cukup prospektif. Kendala yang sering timbul adalah seolah-olah antara peneliti biologi molekuler dengan pemulia jagung berjalan sendiri-sendiri sehingga sulit mencapai hasil yang diharapkan. Oleh karena itu, diperlukan terobosan baru yang mampu mempersatukan kegiatan penelitian pemulia dengan penelitian biologi molekuler sehingga tercipta suatu tim kerja yang sinergis. Sangat bijaksana jika balai komoditas dilengkapi dengan laboratorium mini biologi molekuler untuk mendekatkan hasil penelitian dari peneliti biologi molekuler dengan pemulia yang bertugas melakukan eksekusi di lapangan.

PROSPEK PENELITIAN DI MASA DATANG

Pengembangan teknologi markah DNA memungkinkan para pemulia memanfaatkan pendekatan genetik secara Mendelian untuk mempercepat kegiatan pemuliaan. Salah satu kesulitan yang umum dihadapi adalah biaya yang relatif tinggi. Namun markah yang berbasis PCR, seperti SSR, mempunyai rasio multipleks yang tinggi, yang menyebabkan teknologi markah DNA lebih efektif dengan mengimbangi biaya pengeluaran informasi yang diperoleh.

Dengan mengetahui informasi keragaman genetik sejumlah koleksi inbrida akan lebih mudah dan lebih efektif memilih inbrida-inbrida yang mempunyai potensi heterosis tinggi tanpa harus melakukan banyak persilangan di lapangan. Dengan demikian diharapkan sejumlah kultivar yang bisa dilepas akan meningkat dalam waktu relatif singkat. Markah informatif seperti SSR sangat diperlukan untuk itu karena sifatnya yang multialel dan kodominan.

Untuk mempertahankan kualitas dan memproteksi tanaman, markah mikrosatelit juga dapat diandalkan untuk melakukan sidik jari kultivar. Kemajuan dalam bidang bioteknologi sangat cepat sehingga tidak menutup kemungkinan akan muncul markah-markah molekular baru yang mungkin lebih baik dan lebih efisien.

Walaupun bioteknologi berperan penting dalam pertanian, khususnya pemuliaan tanaman, namun fakta menunjukkan bahwa 50% dari produk pertanian dunia dihasilkan melalui pemuliaan konvensional. Beberapa aspek yang mendasar memang tidak dapat digantikan oleh bioteknologi. Jadi, bagi para pemulia, markah molekular berfungsi sebagai alat bantu dalam memecahkan masalah yang dihadapi dalam pemuliaan tanaman secara konvensional.

PENUTUP

Markah mikrosatelit atau SSR dapat dimanfaatkan untuk mengkarakterisasi galur-galur pada level DNA. Namun kesimpulan yang akurat tidak dapat diambil tanpa dukungan data markah fenotipik. Penelitian secara komprehensif diperlukan untuk bisa memanfaatkan markah SSR secara efisien, khususnya dalam upaya mengeksploitasi keragaman genetik plasma nutfah dan menetapkan kelompok dan pola heterotik yang lebih jelas dan bermanfaat. Peningkatan kualitas produk akan semakin menjadi tuntutan di masa mendatang, seperti peningkatan kandungan protein pada jagung dan mempertahankan kemurnian kultivar yang telah dilepas. Markah mikrosatelit adalah salah satu alat bantu molekular yang relatif mudah dilakukan.

Teknologi markah DNA telah banyak dimanfaatkan oleh peneliti jagung di beberapa negara dan cukup prospektif dikembangkan untuk membantu percepatan dan peningkatan efisiensi seleksi dalam program pemuliaan jagung di Indonesia. Melalui jalinan kerja sama AMBIONET telah berhasil diidentifikasi lokus karakter kuantitatif (QTL) ketahanan jagung terhadap penyakit bulai dan karakterisasi keragaman genetik dan homosigositas galur-galur elit yang berguna bagi pengembangan jagung hibrida. Selain itu, juga sedang dilakukan perbaikan kualitas protein jagung dengan mengintrogressi-

kan gen resesif opaque-2 ke galur jagung elit tahan bulai. Lokus karakter kuantitatif dari beberapa parameter agronomis yang terpaut dengan karakter ketahanan terhadap kekeringan juga berhasil diidentifikasi, namun masih memerlukan studi lebih lanjut sebelum melakukan *fine mapping* dalam rangka MAS.

DAFTAR PUSTAKA

- AMBIONET. 1998. Molecular marker applications to plant breeding. AMBIONET s First Training Workshop, 9 November-4 December 1998. CIMMYT Headquarters, El Batan, Mexico.
- Babu, R., S.K. Nair, and B.M. Prasanna. 2005. Integrating marker assisted selection in crop breeding: prospect and challenges. *In* Manual molecular marker applications in plant breeding. ICAR Short-Term Training Course. September 26- October 5 2002. Division of Indian Agricultural Research Institute. New Delhi 110012.
- Barbosa-Neto, J.F., M.E. Sorrels, and G. Cisar. 1996. Prediction of heterosis in wheat using coefficient of percentage and RFLP-based estimates of genetic relationship. *Genome* 39:1142 - 1149.
- Beavis, N.D. and P. Keim. 1996. Identification of QTL that are effected by environment. *In*: M.S. Kang and H.G. Gauch (*Eds.*). Genotype-by-environment Interaction. CRC Press, p.123-149.
- CIMMYT. 2002. SSR markers for opaque-2. Service lab protocols. Applied biotechnology laboratory. CIMMYT, Mexico.
- Cox, T.S., G.L. Lookhart, D.E. Walker, L.G. Harrell, L.D. Albert, and D.M. Rodgers. 1985. Genetic relationship among hard red winter wheat cultivars as evaluated by pedigree analysis and gliadin polyacrilamide gel electrophoretic patterns. *Crop Sci.* 25:1058 - 1063.
- Cox, T.S. and J.P. Murphy. 1990. The effect of parental difergence on F2 heterosis in winter wheat crosses. *Theor. Appl. Genet.* 79: 169-171.
- Cregan, P.B., J. Mudge, J.P. Kenworthy, W.J. Kenworthy, J.H. Orf, and N.D. Young. 1999. Two simple sequence repeat markers to select for soybean cys nematode resistance conditioned by *rgl1* locus. *Theor. Appl. Genet.* 99:172-181.
- Diers, B.W., P.B. McVetty, and T.C. Osborn. 1996. Relationship between heterosis and genetic distance based on RFLP markers in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Crop Sci.* 36:79-83.

- Dreher, K. Morris, M. Khairallah, J.M. Ribaut, S. Pandey, and G. Sinivasan. 2000. Is marker assisted selection cost-effective compared to conventional plant breeding methods? The case of quality protein maize. Paper presented at the Fourth Annual Conference of the International Consortium on Agricultural Biotechnology Research (ICBR). Economics of agricultural biotechnology "held in Ravello", Italy, from 24-28 August 2000.
- Eberhart, S.A., W. Salhuana, W.R. Sevilla, and S. Taba. 1995. Principles of tropical maize breeding. *Maydica* 40:339-355.
- El-Maghraby, M.A., M.E. Moussa, N.S. Hana, and H.A. Agrama. 2005. Combining ability under drought stress relative to SSR diversity in common wheat. *Euphytica* 14:301-308.
- George, M. L. C., B.M. Prasanna, R.S. Rathore, T.A.S. Setty, N.N. Singh, F. Kasim, M. Azrai, S. Vasal, O. Balla, E. Regalado, M. Vargas. M. Khairallah, D. Jeffers, and D. Hoisington. 2003. Identification of QTL conferring resistance to downy mildews of maize in Asia. *Theor. Appl. Genet.* 107:544-551.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M.Cao, M. Dahlan, M. Pabendon, M.L. Warburton, X. Xianchun, and D. Hoisington. 2004. Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor. Appl. Genet.* 109:80-91.
- Gordon Stuart G., M. Bartsch, I. Matthies, H.O. Gevers, P. E. Lipps, and R.C. Pratt. 2004. Linkage of molecular markers to *cercospora zeaе-maydis* resistance in maize. *Crop Sci.* 44:628-636.
- Guzhov, Y. 1989. Genetics and plant breeding for agriculture. Mir Publisher. Moscow.
- Jena, K.K. and S.K. Pandey. 1999. DNA markers for purification of A and B lines for hybrid rice improvement. *Hybrid Rice News Lett.* 2(1): 13-14.
- Jiang, C. and Z.B. Zeng. 1995. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 140:1111-1127.
- Karp, A. and K. Edwards. 1998. DNA markers: a global overview. *In: Caetano-Anolles and P.M. Gresshoff (Eds.). DNA markers: protocols, applications, and overviews.* p. 1-14. Wiley-VCH, New York.
- Kasim, F., M. Azrai, Sutrisno, and D. Ruswandi. 2002. Preliminary marker assisted selection breeding program for downy mildew resistance in Indonesia. Proceedings of the 8th Asian Regional Workshop, Bangkok, Thailand, 5 August 2002. Kasetsart University. p. 82-90.

- Khairallah, M., M. Bohn, C. Jiang, J.A. Deutsch, D.C. Jewell, J.A. Mihm, A.E. Melchinger, D. Gonzales-de-Leon, and D.A. Hoisington. 1997. Molecular mapping of QTL for southwestern corn borer resistance, plant height and flowering in tropical maize. *Plant Breed.* 117: 309-318.
- Lamadji, M.J., L. Hakim, dan Rustidja. 1999. Akselerasi pertanian tangguh melalui pemuliaan nonkonvensional. *Prosiding Simposium V Pemuliaan Tanaman. PERIPI Komda Jawa Timur.* p. 28-32.
- Lee, M., E.B. Godshalk, K.R. Lamkey, and W.L. Wooman. 1989. Association of restriction length polymorphism among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Sci.* 29:1067-1071.
- Mayo, O. 1980. *The theory of plant breeding.* Clarendon Press. Oxford
- Mertz, E.T., L.S. Bates, and O.E. Nelson. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science* 145: 279-280.
- Pabendon, M.B., E. Regalado, Sutrisno, M. Dahlan, dan M.L.George. 2004. Pembentukan kelompok genotipe jagung berdasarkan markah SSR (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 22(1):23-30.
- Pabendon, M.B., M. J. Mejaya, Subandi, dan M. Dahlan. 2005. Sidik jari empat kultivar jagung hibrida beserta tetuanya berdasarkan markah mikrosatelit. *Zuriat* 16 (2):192-200.
- Ragot, M, A. Beeville, and M. Tarsac. 1995. Marker assisted back crossing: a practical example in techniques et utilisations des marquees moleculaires, *Les Colloques, Institute National de la recherch  agronomique* 72:45-56.
- Ribaut, J.M., C. Jiang, and D. Hoisington. 2002. Simulation experiments on efficiencies of gene introgression by backcrossing. *Crop Sci.* 42:557-565.
- Shivanna, K.R. and Sawhney. 1997. Pollen biology and pollen biotechnology: an introduction. *In: Shivanna and Saehney (Eds.). Pollen biotechnology for crop production and improvement.* Cambridge University Press.
- Smith, J.S.C., O.S. Smith, S. Wright, S.J. Wall, and M. Walton. 1992. Diversity of U.S. maize hybrid germplasm as developed by restriction fragment length polymorphism. *Crop Sci.* 32: 598-604.
- Smith, O.S., J.S.C. Smith, S.L. Bowen, R.A. Tenborg, and S.J. Wall. 1990. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1-grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theor. Appl Genet.* 80: 833-840.

- Stoskopf, N.C., D.T. Thomes, and B.R. Christie. 1993. Plant breeding, theory and practice. Westview Press. Oxford.
- Stuber C.W., M.D. Edwards, and J.F. Wendel. 1999. Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase yield potential. *Crop Sci.* 39:1571-1583.
- Tanskley, S.D. and J.C. Nelson. 1996. Advanced backcross QTL analysis a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm in to elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 92:191-203.
- Vasal, S.K. 2001. High quality protein corn. p. 85-129. *In: A.R. Hallauer (Ed.). Specialty corns, second ed.* CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.
- Vaz Patto M.C., Z. Satovic, S. Pego, and P. Feveiro. 2004. Assessing the genetic diversity of Portuguess maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica* 137: 63-72.
- Warburton, M.L., J.M. Ribaut, J. Franco, J. Crossa, P. Dubreuil, and F.J. Betran. 2005. Genetic characterization of 218 elite CIMMYT maize inbred lines using RFLP markers. *Euphytica* 142:97-106.
- Yashitola, J., T. Thirumurugan, R.M. Sundaram, M.K. Naseerullah, M.S. Ramesha, N.P. Sarma, and R.V. Sonti. 2002. Assessment of purity of rice hybrids using microsatellite and STS markers. *Crop Sci.* 42:1369-1373.
- Young, N.D. and S.D. Tanskley. 1989. RFLP analysis of the size of the chromosomal segments retained around the *tm-2* locus of tomato during backcross breeding. *Theor. Appl. Genet.* 77:353-359.
- Zawko, G. 2003. Protein and DNA methods for variety identification. *Agribusiness crops up dates.*