



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" YOGYAKARTA

FAKULTAS PERTANIAN

Jl. SWK 104 (Lingkar Utara) Condongcatur, Yogyakarta 55283
Telp/fax. (0274) 486693, 487793 <http://www.agriculture.upnyk.ac.id>

SURAT TUGAS

Nomor : 92 /VII/2015/Sem-FP

Pertimbangan : Bahwa dalam rangka mendukung pelaksanaan Tridharma Perguruan Tinggi dalam upaya peningkatan kegiatan profesional dosen Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta perlu diterbitkan surat tugas.

- Dasar :
1. Undang-Undang Nomor 14 tahun 2005 tentang Guru dan Dosen
 2. Peraturan Pemerintah RI nomor 4 Tahun 2014 tanggal 4 Februari 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi
 3. Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 121 Tahun 2014 tanggal 6 Oktober 2014 tentang Pendirian Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta sebagai Perguruan Tinggi Negeri dibawah Kemendikbud.
 4. Pertimbangan Pimpinan Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta

DITUGASKAN

Kepada : Dr. Bambang Supriyanta, SP, MP

Untuk : 1. Disamping tugas pokok yang dipangkunya untuk menjadi pemakalah dalam Diseminasi Karya Ilmiah Dosen Fakultas Pertanian yang diselenggarakan pada tanggal 13 Juli 2015 di Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta.

2. Melaksanakan tugas ini dengan seksama dan penuh rasa tanggung jawab.

Selesai.

Dikeluarkan di : Yogyakarta

Pada tanggal : 10 Juli 2015



Parto Vito SP, MP, Ph.D
NIP. 2 7004 95 0007 1

Tembusan :

Kaprodi Agroteknologi FP
UPN "Veteran" Yogyakarta



Sertifikat

Diberikan kepada

Dr. Bambang Supriyanta, SP, MP

Sebagai

Pemakalah

**SEMINAR DISEMINASI HASIL PENELITIAN DOSEN
FAKULTAS PERTANIAN UPN "VETERAN" YOGYAKARTA
SENIN, 13 JULI 2015**

DEKAN

PARTOVO, SP, MP, Ph.D



**PERSPEKTIF EFISIENSI SELEKSI BERDASARKAN
PENANDA MOLEKULER PADA PEMULIAAN TANAMAN**



**Penulis :
Bambang Supriyanta**

Seminar Desiminasi Karya Ilmiah
Dosen Fakultas Pertanian
UPN “Veteran” Yogyakarta
Juli 2015

PERSPEKTIF EFISIENSI SELEKSI BERDASARKAN PENANDA MOLEKULER PADA PEMULIAAN TANAMAN ¹⁾

Bambang Supriyanta ²⁾

I. PENDAHULUAN

Salah satu sumbangan bagi dunia pertanian khususnya dalam bidang pemuliaan tanaman adalah ditemukannya penanda molekuler. Penemuan penanda molekuler dianggap sebagai sarana penyelesaian masalah akibat keterbatasan dalam program pemuliaan konvensional. Penanda molekuler, khususnya penanda DNA mempunyai kelebihan antara lain tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan pengamatan dapat dilakukan pada semua tahap pertumbuhan tanaman, termasuk pada saat pembibitan, sehingga akan menghemat waktu (Fransia *et al.*, 2005).

Penanda molekuler yang pertama kali dikenal dan mulai berkembang di bidang genetika adalah penanda protein yang secara genetik dikenal sebagai penanda isozim (Vuylsteke, 1999). Penanda ini mempunyai kelemahan yaitu jumlahnya terbatas dan beberapa sistem enzim tertentu dipengaruhi oleh kendala perkembangan jaringan. Kedua faktor tersebut merupakan kendala utama penggunaan penanda isozim dalam mengeksploitasi potensi genetik tanaman. Laporan Tanksley dan Rick (1980), yang menggunakan isozim sebagai penanda biokimiawi yang terpaut dengan QTL, memberikan dorongan baru mengenai pemanfaatan pautan penanda terhadap sifat kuantitatif dalam seleksi, meskipun jauh sebelumnya Sax (1923) sudah menggunakan penanda morfologi (warna dan pola kulit biji) bagi sifat kuantitatif bobot biji pada tanaman *Phaseolus vulgaris* (Lynch dan Walsh, 1998; Yin *et al.*, 2003).

Dengan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan, maka pada awal tahun 1980-an ditemukan penanda molekuler yang berbasis DNA. Penanda DNA tersebut dapat menutupi kekurangan penanda isozim, karena jumlah yang tidak terbatas, dapat melingkupi seluruh genom tanaman, tidak dipengaruhi oleh perkembangan jaringan, sehingga dapat dikenali pada seluruh jaringan, dan memiliki kemampuan yang sangat tinggi dalam menangkap keragaman sifat antar individu (Collard *et al.* 2005).

Pemanfaatan penanda DNA sebagai alat bantu seleksi (*Marker Assisted Selection*, MAS) lebih menguntungkan dibandingkan dengan seleksi secara fenotipik. Seleksi dengan bantuan penanda molekul didasarkan pada sifat genetik tanaman saja, tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Dengan demikian, kegiatan pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, cepat, dan

relatif lebih hemat biaya dan waktu. Seleksi berdasarkan sifat fenotipik tanaman di lapangan memiliki beberapa kelemahan seperti yang disarikan oleh Lamadji *et al.* (1999), di antaranya (1) memerlukan waktu yang cukup lama, (2) kesulitan memilih dengan tepat gen-gen yang menjadi target seleksi untuk diekspresikan pada sifat-sifat morfologi atau agronomi, (3) rendahnya frekuensi individu yang diinginkan yang berada dalam populasi seleksi yang besar, dan (4) fenomena pautan gen antara sifat yang diinginkan dengan sifat tidak diinginkan yang sulit dipisahkan saat melakukan persilangan.

Keberhasilan penggunaan suatu penanda untuk seleksi dalam kegiatan pemuliaan bergantung pada tiga syarat utama yang harus dipenuhi, yaitu (1) peta genetik dengan jumlah lokus polimorfik yang memadai, sehingga dapat mengidentifikasi QTL atau gen-gen mayor dengan akurat, (2) penanda yang terkait erat dengan QTL atau gen mayor target pada peta genetik yang sudah dibuat, dan (3) kemampuan menganalisis sejumlah besar tanaman dalam waktu dan biaya secara efektif.

Konsep dasar keterkaitan antara penanda dengan sifat kuantitatif (*quantitative trait loci*, QTL) terletak pada konsep ketidakseimbangan pautan (*linkage disequilibrium*). Dalam hal ini tergantung dari jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL yang dapat dinyatakan dalam bentuk fraksi rekombinasi. Fraksi rekombinasi antara dua lokus yang berada pada lengan kromosom yang sama (berasosiasi) merupakan probabilitas dari gamet yang diwariskan kepada keturunan dalam bentuk rekombinan atau bentuk gamet yang bukan berasal dari tetua, yang terjadi akibat pindah silang.

Perkembangan ilmu statistika dan genetika kuantitatif berperan besar dalam pengembangan teknik-teknik analisis dalam pemetaan QTL. Pesatnya perkembangan ilmu komputer dan informatika juga sangat berperan dalam membantu pengembangan model dan analisis data, karena proses-proses penghitungan panjang dan membosankan yang diakibatkan model analisis yang rumit dapat dijalankan dengan mudah dan cepat. Teknik yang tepat dalam mendeteksi pemetaan QTL akan menentukan tingkat kehandalan penanda yang akan digunakan dalam program pemuliaan tanaman. Berbagai analisis telah diperkenalkan dalam pemetaan QTL, yaitu analisis satu penanda (*single marker analysis*), analisis pemetaan selang (*interval mapping*), *composite interval mapping*, dan *multiple interval mapping* (Liu, 1998).

Mendasarkan uraian di atas perlu dikaji lebih mendalam tentang beberapa “skenario pemetaan” QTL yang dapat menghasilkan penanda DNA yang dapat digunakan untuk program pemuliaan. Di samping itu, perlu dikaji tingkat efisiensi pemuliaan menggunakan penanda dibandingkan pemuliaan menggunakan fenotipe. Pendekatan simulasi merupakan pilihan yang tepat untuk mengevaluasi hal ini dengan cara membuat berbagai skenario kondisi

yang biasa terjadi di lapangan dengan waktu dan biaya yang lebih rendah. Dengan demikian, diharapkan akan tergambar prospek dan efisiensi pemuliaan tanaman menggunakan penanda molekuler dibandingkan dengan pemuliaan tanaman secara konvensional.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sejarah QTL

Konsep poligen dalam genetika kuantitatif, digunakan untuk menjelaskan terbentuknya sifat kuantitatif, yang dikatakan sebagai sifat yang dikendalikan oleh banyak gen dengan pengaruh yang kecil-kecil dan saling menambah dan dikaburkan oleh pengaruh lingkungan tumbuh. Pemulia tanaman biasanya tidak mengetahui jumlah, lokasi dan pengaruh dari gen-gen pada sifat kuantitatif tersebut. Gen-gen tersebut kemudian dikenal dengan lokus sifat kuantitatif (*quantitative trait loci*, QTL). Informasi tentang jumlah, lokasi, dan pengaruh dari QTL sangat diperlukan untuk kebutuhan pemuliaan tanaman melalui genetika molekuler. QTL, dalam genetika, mengacu pada suatu bagian kromosom atau peta genetik yang terkait secara statistik dengan suatu keragaman yang ditunjukkan oleh suatu sifat kuantitatif. QTL ditentukan melalui suatu kajian hubungan antara variasi genotipe yang ditunjukkan oleh sejumlah penanda pada peta keragaman genetik dan keragaman fenotipe yang terukur (Liu, 1998) . Kajian yang melibatkan QTL banyak ditemukan dalam bidang kedokteran untuk mencari gen penyebab penyakit, dalam bidang pertanian untuk membantu pekerjaan pemuliaan, serta dalam beberapa cabang biologi, terutama evolusi dan taksonomi.

Langkah pembuktian mengenai adanya gen-gen yang mengatur sifat kuantitatif mulai terbuka setelah ditemukan banyak penanda genetik sehingga memungkinkan dibuat peta pautan genetik yang dapat menjangkau sebagian besar kromosom. Penanda-penanda genetik digunakan sebagai rambu pengapit (*flanking markers*) yang menunjukkan situasi alelik pada bagian kromosom tertentu. Variasi alel pada suatu penanda menjadi genotipe penanda pada suatu kromosom atau kelompok pautan (apabila kromosomnya belum teridentifikasi).

Kajian penentuan QTL mulai marak sejak 1990-an. Dasar teori dan perangkat lunak analisisnya dipublikasi oleh Lander dan Botstein pada tahun 1989, meskipun dasar-dasar pemikirannya telah diletakkan sejak 1923 oleh Sax. Kemajuan ini harus menunggu lama karena harus menunggu tersedianya penanda genetik yang melimpah (pada waktu itu adalah RFLP) dan adanya perangkat keras komputer yang sanggup membantu penghitungannya.

Analisis QTL menjadi awal bagi semakin berperannya bioinformatika secara pesat dalam genetika molekular.

Perkembangan saat ini, cukup mudah untuk mendapatkan penanda-penanda genetik pada berbagai organisme karena didukung oleh perkembangan teknologi genetika modern. Di samping itu berbagai metode statistik telah dikembangkan untuk analisis dan pemetaan QTL dengan menggunakan informasi dari penanda genetik. Lander dan Bolstein (1989) menggunakan metode *interval mapping* dengan menggunakan dua penanda yang mengapit suatu daerah untuk menguji keberadaan QTL dengan pendekatan perbandingan kemungkinan terbesar (*maksimum likelihood ratio*) pada tiap-tiap posisi lokus. Metode ini telah terbukti lebih baik dan hanya membutuhkan sedikit keturunan dibandingkan dengan metode satu penanda (*single marker*). Pemetaan satu QTL akan bias, jika kemudian terdapat lebih dari satu QTL yang ditemukan pada satu kromosom yang sama (Haley dan Knott, 1992; Martinez and Curnow, 1992).

Perkembangan lebih lanjut, beberapa pendekatan telah dibuat untuk menyelesaikan problem yang ada. Zeng (1994) mengusulkan metode perbaikan yang dikenal dengan *composite interval mapping* (CIM) dengan menggabungkan pemetaan interval dengan analisis regresi berganda. Jansen (1993) juga mengajukan strategi yang sama. CIM lebih baik dibandingkan dengan interval mapping pada kasus QTL ganda yang terpaut. Terdapat metoda lainnya adalah *multiple interval mapping* (MIM) digunakan untuk menguji semua QTL pada *mixed model* dan mampu menganalisis QTL epistasis.

B. Penanda Molekuler

Penanda molekuler yang pertama kali digunakan adalah alozim atau alelik isozim yaitu enzim-enzim yang memiliki molekul aktif dan struktur kimia yang berbeda, tetapi mengkatalisis reaksi kimia yang sama dan dikode pada lokus yang sama. Penanda ini dapat diterapkan secara luas untuk menentukan keragaman genetik (Tanksley and Rick, 1980). Dalam perkembangannya penggunaan alozim ini relatif murah untuk penilaian individu dalam jumlah besar, hanya saja protein yang ada tidak cukup untuk pemetaan dengan resolusi yang tinggi. Hal ini yang mengakibatkan perkembangan pemetaan QTL tidak menggunakan penanda alozim.

Penanda DNA mulai meluas dan menghilangkan studi penanda alozim. DNA merupakan bahan genetik organisme yang terdiri dari sekuen-sekuen nukleotida yang merupakan molekul DNA. Penanda ini sangat efektif karena penanda DNA ini tidak terdapat batasan lokasi genom atau jumlah dari penanda DNA.

Seiring dengan berkembangnya teknologi yang berbasis penanda DNA, maka saat ini telah ditemukan tiga tipe penanda DNA dengan segala kelebihan dan kekurangan masing-masing. Ketiga tipe penanda DNA tersebut adalah (1) penanda yang berdasarkan pada hibridisasi DNA seperti *Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP); (2) penanda yang berdasarkan pada reaksi rantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) dengan menggunakan sekuen-sekuen nukleotida sebagai primer, seperti *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP); dan (3) penanda yang berdasarkan pada PCR dengan menggunakan primer yang menggabungkan sekuen komplementer spesifik dalam DNA sasaran, seperti *Sequence Tagged Sites* (STS), *Sequence Characterized Amplified Regions* (SCAR), *Simple Sequence Repeats* (SSR) atau mikrosatelit (*microsatellites*), dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs) (Azrai, 2005). Penanda-penanda molekular (khususnya DNA) memiliki ciri-ciri khas mengenai reliabilitas, tingkat kesulitan, biaya per unit informasi, dan tingkat polimorfismenya.

Dalam analisis QTL menggunakan penanda DNA diperlukan penafsiran atas pita-pita hasil elektroforesis. Biasanya penanda dominan diberi kode 0 (tidak ada) dan 1 (ada pita). “Lokus” pada penanda dominan merupakan satu baris kedudukan pita. Baris yang tidak menunjukkan polimorfisme tidak dimasukkan dalam proses analisis lebih lanjut. Penanda kodominan, karena memiliki tiga kemungkinan, diberi kode macam-macam: ada yang 0, ½, 1; -1, 0, 1; atau menggunakan dua kode sekaligus: 0-1, 1-1, 1-0. Pada penanda kodominan, “lokus” bagi penanda adalah enzim endonuklease restriksi (RFLP) atau primer (untuk yang berbasis PCR).

C. Populasi Keturunan Persilangan Galur Murni

Dalam bidang pertanian galur adalah sekelompok individu sejenis yang homozigot atau mendekati homozigot untuk suatu sifat tertentu yang akan menjadi penciri galur tersebut. Akibat keadaan genotipe tersebut, penampilan luar (fenotipe) galur akan seragam. Galur dapat dibentuk melalui persilangan sekerabat secara terus-menerus. Galur-galur akan paling cepat terbentuk apabila suatu spesies dapat melakukan perkawinan sendiri (*selfing*), biasanya pada generasi ke-6 atau ke-7 setelah penyerbukan sendiri berulang-ulang (*recurrent selfing*). Semakin dekat hubungan kekerabatannya, semakin cepat galur-galur terbentuk. Galur murni (*pure line*) dapat terjadi apabila persilangan dalam suatu galur antara dua individu menghasilkan keturunan dengan penampilan yang sama dengan kedua tetuanya. Dalam pemuliaan tanaman, istilah galur murni mengacu pada tanaman menyerbuk sendiri, sedangkan

pada tanaman menyerbuk silang, galur-galur tersebut dikenal dengan istilah galur inbred (*inbred line*).

Populasi yang berasal dari persilangan galur murni merupakan populasi yang ideal bagi pemetaan QTL. Keturunan dari persilangan tersebut menunjukkan populasi yang lokus-lokusnya berada pada kondisi ketidakseimbangan penuh (*maximum gametic phase disequilibrium*), sehingga proporsi frekuensi genotipe per lokusnya merupakan perbandingan sederhana. Kondisi ini terutama disebabkan oleh adanya pautan antar lokus, percampuran populasi dalam tahap generasi awal, atau mutasi baru (Hash, 2003). Populasi pemetaan yang umum digunakan adalah generasi F₂ persilangan *inbred*, generasi silang balik (*BC = backcross*), baik pertama maupun selanjutnya, haploid ganda (*DH = double haploid*), dan galur-galur isogenik rekombinan (*RIL = recombinant inbred line*).

Hash (2003) menjelaskan bahwa populasi generasi F₂ mempunyai ciri-ciri : (1) keturunan generasi yang dibentuk dari persilangan dua tetua inbred/ homozigot, (2) perbandingan untuk satu lokus:1D:2H:1R, sehingga dapat menduga tindak gen aditif dan dominan, (3) informasi dan daya-ujinya (*power*) yang diperoleh besar.

Zhang *et al.* (2005) mengemukakan keuntungan penggunaan galur *inbred* untuk pemetaan QTL melalui silang balik dan F₂, yaitu: (1) nilai fenotipik dari masing-masing galur *inbred* dapat diukur pada percobaan berulang di berbagai lingkungan yang dapat mengurangi sesatan/kesalahan dari pengukuran dan lingkungan; (2) genotipe galur *inbred* konstan di seluruh generasi (*breeding true*); (3) peristiwa jejak rekombinasi kumulatif dapat digunakan untuk pemetaan QTL pada skala yang halus (*fine scale*); (4) hibrida percobaan dan keturunan segregasinya tidak diperlukan; dan (5) setelah pemetaan QTL, nilai alelik QTL untuk masing-masing galur *inbred* dapat diduga menggunakan *best linear unbiased prediction* (BLUP) sehingga pemulia dapat memilih galur superior dan galur kombinasi untuk menghasilkan kultivar baru.

D. Pemetaan dan Analisis QTL

Salah satu tahap yang dilakukan dalam pemuliaan berbasis penanda adalah pemetaan lokus-lokus yang mengatur sifat kuantitatif (QTL). Pemetaan menggunakan penanda DNA memerlukan tiga langkah pokok: (1) pemilihan material genetik (populasi pemetaan dan penanda DNA), (2) membangun peta pautan genetik, dan (3) mendeteksi keberadaan QTLs serta menduga jumlah, lokasi, tindak gen, dan interaksinya (Hash 2003). Populasi yang berasal dari persilangan galur inbred merupakan populasi yang ideal dalam pemetaan QTL

Pemetaan QTL dapat menggunakan beragam penanda, meskipun penanda kodominan memberi informasi lebih banyak, kecuali bila populasi pemetaannya sangat homozigot, seperti *recombinant inbred lines*.

Tahap selanjutnya dalam analisis QTL adalah pembangkitan data melalui karakterisasi sifat fenotipe atau *phenotyping* (di lapangan) dan penentuan genotipe individu-individu dalam populasi pemetaan (*genotyping*). Pertimbangan-pertimbangan dalam memilih teknik uji-lapangan sangat penting dalam *phenotyping*. *Genotyping* dilakukan terhadap setiap penanda yang dipilih untuk setiap individu. Data yang dihasilkan mengandung informasi segregasi pada berbagai posisi di genom. Pemetaan dapat dilakukan setelah data genotipe serta fenotipe diperoleh. Yang dilakukan pertama kali dalam pemetaan sebenarnya adalah mengurutkan penanda-penanda genetik secara linier pada genom berdasarkan nilai-nilai duga fraksi rekombinasi antar penanda.

Fraksi rekombinasi terkait dengan jarak antara dua lokus sehingga sedikit banyak terkait dengan besaran-besaran yang menyatakan jarak antara dua lokus. Besaran yang pertama adalah jarak fisik, biasanya dinyatakan dalam "*base pairs*" atau "pasangan basa" (bp) serta yang lebih umum "*kilobase pairs*" (kb). Besaran yang kedua adalah jarak peta genetik, yang biasanya dinyatakan dalam "*morgan*" (M), atau "*centimorgan*" (cM), yang menggambarkan posisi relatif lokus dalam kromosom. Secara definitif, 1 Morgan adalah jarak yang memiliki harapan untuk mengalami satu pindah silang per gamet per generasi (Weir, 1996).

Analisis data untuk memetakan penanda terdiri dari tiga tahap: (1) analisis satu lokus, untuk menguji kesesuaian segregasi dengan hukum Mendel pada setiap lokus penanda; (2) analisis dua lokus, untuk menduga fraksi rekombinasi dan menguji keberadaan pautan; dan (3) pengelompokan pautan dan pengurutan lokus penanda. Untuk tahap ini, data fenotipe tidak diperlukan. Analisis yang dilakukan menyesuaikan dengan populasi pemetaan yang digunakan. Lokus penanda yang tidak mengikuti perbandingan Mendel dikeluarkan dari analisis. Uji kesesuaian dengan hukum Mendel dilakukan dengan menggunakan uji khi-kuadrat untuk kesesuaian (*goodness of fit*) atau menggunakan uji nisbah kemungkinan (*likelihood ratio test*), dan nilai *G* (Liu, 1998; Weir, 1996).

Peta genetik yang baik adalah yang memiliki tingkat kepercayaan tinggi atas urutan lokus penanda yang diperoleh (*marker coverage*-nya tinggi), disertai dengan penanda yang tersebar relatif merata dalam kerapatan yang mencukupi (misalnya paling tidak satu penanda dalam 5 cM) (Hash, 2003).

Tahap terakhir adalah pendeteksian keberadaan QTL. Tahap ini merupakan pekerjaan mencari asosiasi antara keragaman genetik, yang tersusun dalam bentuk peta pautan genetik,

dan nilai fenotipe. Ide dasarnya adalah penanda genetik yang cenderung untuk bervariasi bersama dengan variasi nilai suatu sifat fenotipe tertentu lebih mungkin berada di dekat suatu QTL yang mempengaruhi sifat tadi.

Strategi pemetaan QTL yang paling awal adalah melalui analisis satu-penanda (*single marker analysis*). Prosedur statistika yang umum digunakan dalam strategi ini, dapat melalui uji t (untuk populasi dengan dua kelas genotipe, seperti BC), analisis varians satu-arah, regresi linear atau kemungkinan terbesar (*maximum likelihood*). Analisis satu penanda merupakan analisis yang sederhana dalam kaitannya dengan analisis data dan implementasi. Regresi liner paling banyak digunakan karena koefisien determinasi (R^2) dari penanda menjelaskan variasi fenotipe yang muncul dari QTL yang bertautan dengan penanda (Collard *et al.*, 2005). Dalam analisis ini tidak diperlukan urutan gen (*gene orders*) dan peta tautan lengkap. Namun demikian, peta tautan akan membantu menyajikan hasil analisis ini (Liu, 1998).

Lander dan Botstein (1989) mengembangkan analisis dua-penanda, atau lebih dikenal sebagai pemetaan interval. Strategi ini memerlukan pengurutan lokus pada genom. Pendekatannya dapat melalui *maximum likelihood* (Lander dan Botstein, 1989), regresi (Haley dan Knott, 1992; Martinez dan Curnow, 1992 *cit.* Charmet *et al.*, 1998), atau kombinasi keduanya. Dasar teoritis analisis serta penerapannya dapat dilihat pada Lander dan Botstein (1989) atau Hash (2003).

Ide dasar untuk pemetaan interval antara dua penanda M_i dan $M_{(i+1)}$, adalah menghitung nilai skor LOD pada setiap kenaikan (*increment*) dalam interval tersebut sehingga pada akhirnya didapatkan profil skor LOD untuk seluruh genom (Gambar 2.). Ketika puncaknya telah melebihi nilai ambang batas, dapat dinyatakan bahwa QTL telah ditemukan di lokasi itu (Wang, 2000).

Pengembangan lebih lanjut adalah menggabungkan pemetaan interval dan regresi berganda, menjadi semacam analisis kovarians, melalui *composite interval mapping* (CIM), yang diajukan oleh Zeng dan Jansen (Jansen 1995). Zeng (1994) mengusulkan *composite interval mapping* yang memadukan *simple interval mapping* dengan regresi liner berganda. Metode ini menambahkan penanda genetik pada model statistik yang digunakan. Analisis CIM mempertimbangkan penanda interval ditambah beberapa penanda lain yang dipilih dalam setiap analisis sehingga uji untuk asosiasi interval-QTL dilakukan pada suatu kromosom dengan n penanda. Liu (1998) menyatakan bahwa kelebihan CIM adalah: (1) berkonsentrasi hanya pada satu wilayah genom sehingga pencarian multidimensi untuk banyak QTL model direduksi menjadi pencarian satu dimensi dan estimasi lokasi dan efek

QTL secara asimtotot tidak bias, (2) penggunaan penanda tertentu sebagai kofaktor dengan menghilangkan efek QTL yang berada di luar wilayah pengujian berakibat meningkatkan keakuratan dan (3) mengeliminasi varian genetik karena QTL yang lain sehingga varian residu mengecil akhirnya dapat meningkatkan kemampuan deteksi QTL.

E. Pemilihan mendasarkan penanda (*marker-assisted selection*)

Seleksi dengan bantuan penanda DNA mempunyai kelebihan, antara lain tidak berinteraksi dengan lingkungan, tidak dipengaruhi oleh kondisi tempat tanaman tumbuh, dapat dideteksi di seluruh tahap pertumbuhan tanaman. Collard *et al.* (2005) dan Collard dan Mackill (2008) melaporkan beberapa keuntungan yang diperoleh dalam penggunaan MAS dibanding dengan pemuliaan metode konvensional yaitu: (1) menghemat waktu dari mengganti uji coba lapangan kompleks, (2) menghilangkan fenotip yang tidak dapat diandalkan terkait dengan uji coba lapangan karena efek lingkungan, (3) seleksi genotipe pada tahap pembibitan, (4) dapat menggabungkan beberapa gen secara bersamaan, (5) dapat menghindari pemindahan gen yang tidak diinginkan atau yang merusak, (6) seleksi dapat dilakukan pada sifat dengan heritabilitas rendah, (7) lebih sederhana daripada pemilihan fenotipe, yang dapat menghemat waktu, sumber daya, dan usaha, dan (8) dapat dilakukan seleksi pada tanaman tunggal.

Francia *et al.* (2005) mengemukakan bahwa keberhasilan penerapan penanda molekuler untuk membantu prosedur pemuliaan bergantung pada beberapa faktor, yaitu (1) peta genetik dengan penanda molekuler yang terkait dengan gen-gen mayor atau QTL sifat agronomi, (2) asosiasi yang erat antara penanda dan gen-gen utama atau QTL, (3) rekombinasi yang memadai antara penanda terpaut dengan sifat-sifat yang diminati dan (4) adanya akses untuk menganalisis sejumlah besar individu dalam satu waktu dan biaya yang efektif.

Biaya penggunaan alat dalam program pemuliaan adalah pertimbangan utama. Biaya penggunaan MAS dibandingkan dengan pemuliaan tanaman konvensional beragam dalam berbagai studi. Dreher *et al.* (2003) menunjukkan bahwa efektivitas biaya perlu dipertimbangkan berdasarkan kasus per kasus. Faktor-faktor yang mempengaruhi biaya penggunaan penanda meliputi pola pewarisan sifat, metode evaluasi fenotipe, biaya penggunaan lahan/rumah kaca, biaya tenaga kerja, dan biaya sumber daya.

Pada beberapa kasus, *screening* fenotipik lebih murah dibandingkan dengan MAS (Bohn *et al.*, 2001; Dreher *et al.*, 2003). Namun, dalam kasus lain, *screening* fenotipik mungkin memerlukan waktu lama, sulit, dan biaya mahal, dan penggunaan penanda akan lebih baik. Beberapa penelitian yang melibatkan penanda untuk ketahanan terhadap penyakit

menunjukkan bahwa penanda yang telah dikembangkan untuk MAS, lebih murah daripada metode-metode konvensional (Yu *et al.*, 2000 *cit.* Collard *et al.*, 2005). Satu hal penting bagi MAS yang sering tidak dilaporkan ketika MAS dikatakan lebih murah untuk digunakan adalah biaya awal yang besar (Langridge *et al.*, 2001 *cit.* Collard *et al.*, 2005) .

Ukuran dan komposisi populasi merupakan pertimbangan yang penting pada program pemuliaan (Collard dan Mackill, 2008). Semakin besar jumlah gen yang bersegregasi dalam suatu populasi, semakin besar ukuran populasi yang diperlukan untuk mengidentifikasi kombinasi gen tertentu. Pemulia biasanya bekerja dengan ratusan, bahkan ribuan populasi, yang seringkali ukuran populasinya besar (Ribaut dan Betran, 1999; Witcombe dan Virk, 2001). Mengingat luasnya dan kompleksitas seleksi dalam program pemuliaan, jumlah dan ukuran populasi, pemulia dapat dengan mudah menghargai kegunaan alat-alat baru yang dapat membantu pemulia dalam seleksi. Skala program pemuliaan juga menggaris bawahi tantangan dalam menggunakan teknologi yang relatif mahal seperti *Marker-assisted Selection* (MAS). MAS (juga *marker-assisted breeding* atau *marker-aided selection*) dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas dalam pemuliaan tanaman dibandingkan dengan metode pemuliaan konvensional (Collard *et al.*, 2005).

F. Sistem, Model dan Simulasi

Sistem adalah sekumpulan entitas (sering disebut komponen atau elemen) yang saling berhubungan dengan tujuan tertentu. Elemen tersebut mempunyai ciri dan sifat tertentu yang mempunyai nilai logika dan numerik (Rubinstein, 1981). Perilaku sistem biasanya terdiri dari sebuah transformasi masukan menjadi keluaran. Sistem dapat dipelajari dengan melakukan percobaan terhadap sistem aktual atau menggunakan suatu model dari sistem. Model dapat didefinisikan sebagai abstraksi sistem nyata yang dapat digunakan untuk tujuan prediksi dan pengendalian. Model dapat berupa model fisik atau model simbolik yang salah satunya adalah model matematis. Dengan model matematis, solusi analitis atau simulasi dapat dilakukan untuk mempelajari sistem.

Simulasi adalah proses yang diperlukan untuk operasionalisasi model, atau penanganan model untuk meniru tingkah-laku sistem yang sesungguhnya. Pemodelan dan simulasi merupakan proses yang berhubungan sangat erat. Simulasi dimungkinkan dengan berkembangnya teknologi informasi baik perangkat keras terutama media penyimpanan yang makin besar dan proses pengolahan yang makin cepat maupun perangkat lunak terutama bahasa program dan paket program yang semakin ramah pengguna (*user friendly*) (Budisantosa, 2012).

Simulasi pada tanaman dapat dilakukan pada banyak hal, misalkan simulasi proses produksi yang menirukan pertumbuhan tanaman dikaitkan dengan input yang diberikan. Simulasi dan pemodelan banyak digunakan pada genetika dan pemuliaan. Pengamatan terhadap naskah pada jurnal *Theoretical dan Applied Genetic* (TAG), didapatkan bahwa makalah tentang simulasi telah muncul sejak tahun 1966. Makalah meningkat tajam pada era setelah tahun 2000. Makalah berisikan penggunaan simulasi baik untuk verifikasi maupun justifikasi suatu metode ataupun model, terutama berkenaan strategi pemuliaan dan *mapping* QTL.

Wang (2000) melakukan simulasi untuk membandingkan berbagai metode pemetaan QTL pada persilangan galur-galur inbred dengan menggunakan populasi BC₁. Chao dan Ukai (2000) melakukan simulasi untuk menentukan ukuran contoh untuk seleksi sifat kuantitatif pada tanaman menyerbuk sendiri (*self-fertilizing crop*).

Zou (2001) juga melakukan simulasi untuk mengetahui tingkat efisiensi dan kekuatan metode statistik pada analisis QTL. Manichaikul (2008) dalam naskah disertasi menggunakan simulasi untuk mempelajari berbagai metode statistik untuk pemetaan QTL dengan epistasis.

V. Kesimpulan dan Saran

1. Model genetik untuk diploid pada pemetaan QTL dapat disusun dari pengaruh lokus (aditif dan dominan) dan atau pengaruh interaksi antar lokus (epistasis). Pengaruh antar lokus dapat ditentukan sama atau berbeda.
2. Pemetaan QTL dipengaruhi oleh jumlah individu, nilai heritabilitas, peran pengaruh lokus, dan jumlah lokus QTL yang mengendalikan suatu sifat.
3. Tingkat efisiensi seleksi menggunakan penanda molekuler lebih efisien dibandingkan dengan seleksi fenotipe pada semua model QTL yang digunakan.
4. Tingkat efisiensi metode seleksi mengikuti fungsi "*reciprocal quadratic*". Efisiensi seleksi dengan penanda molekuler (E_m) merupakan fungsi dari jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL, sedangkan pada efisiensi seleksi dengan sifat fenotipe (E_f) merupakan fungsi dari nilai heritabilitas.

DAFTAR PUSTAKA

Azrai, M., 2005. Pemanfaatan Markah Molekuler dalam Proses Seleksi Pemuliaan Tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 1(1):26-37.

- Belknap, J.K. 1988. Effect of within-strain sample size on QTL detection and mapping using recombinant inbred mouse strains. *Behavior Genetics* 28(1) : 29-38
- Bohn, M., S. Groh, M. M. Khairallah, D. A. Hoisington, H.F. Utz, dan A.E. Melchinger. 2001. Re-evaluation of the prospects of marker-assisted selection for improving insect resistance against *Diatraea* spp. in tropical maize by cross validation and independent validation. *Theor Appl Genet* 103: 1059–1067.
- Boopathi, N.M. 2013. *Genetics Mapping and Marker Assisted Selection. Basic, Practice, and Benefit*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 293p.
- Broman, K. W, and S. Sen, 2009. *A Guide to QTL Mapping*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Broman K.W. , 2001. Review of statistical methods for QTL mapping in experimental crosses. *Lab Animal* 30(7): 44-52.
- Budisantosa, H. 2012. Efisiensi pemilihan tetua dan kombinasi persilangan pada pemuliaan tanaman tebu : pendekatan simulasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Disertasi. 185 hal.
- Chao, Y. T. dan Y. Ukai. 2000. Sample size required for marker assisted selection in improving quantitative traits of self-fertilizing species. *Euphytica* 116: 87–94.
- Charmet, G., T. Cadalen, P. Sourdille, M. Bernard. 1998. An extension of the ‘marker regression’ method to interactive QTL. *Mol. Breeding* 4:67-72.
- Collard, B. Y. C. dan D. J Mackill. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*363:557–572.
- Collard, B.C.Y., M. Z. Z. Jahufer, J. B. Brouwer, dan E. C. K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142: 169–196.
- Dreher, K., M. Khairallah, J. Ribaut, dan M. Morris, 2003. Money matters (I): Costs of field and laboratory procedures associated with conventional and marker-assisted maize breeding at CIMMYT. *Mol Breed* 11: 221–234.
- Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th edition. Longman. Essex.
- Francia, E., G. Tacconi, C. Crosatti, D. Barabaschi, D. Bulgarelli, E. Dall’Aglia, dan G. Vale`. 2005. Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 317–342.
- Haley, C. S. and S. A. Knott. 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315–324.
- Hash, C.T., P.B. Bramel. 1999. Alphabet Soup. Makalah pada Seminar of the Application of Molecular Markers. IITA, Ibadan, Nigeria, 16–17 August 1999.
- Hash, C.T. 2003. *QTL Analysis by Regression and Simple Interval Mapping Procedures*. (Adapted from lectures prepared by S. Chandra, ICRISAT). Diktat Pelatihan Pemuliaan Mutasi dan Pemuliaan Molekular.
- Hayman, B.I. 1954. The theory of analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39:789-809
- Jansen, R. C., 1993. Interval mapping of multiple quantitative trait loci. *Genetics*. 135: 205–211.
- Jansen, R.C. 1995. *Genetic Mapping of Quantitative Trait Loci in Plants – A Novel Statistical Approach*. Tesis doctoral. Universitas Wageningen, Wageningen.
- Kearsey, M. J. And H.S. Pooni, 1998. *The genetical analysis of quantitative traits*. Chapman & Hall, Bristol.

- Lamadji, S., L. Hakim, dan Rustidja. 1999. Akselarasi pertanian tangguh melalui pemuliaan non-konvensional. Dalam Ashari *et al.* (Eds.). Prosiding Simposium V Pemuliaan Tanaman PERIPI Komda Jawa Timur. hal. 28-32.
- Lander, E.S. and D. Botstein. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Liu, B.H. 1998. *Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. CRC Press, Boca Raton.
- Lynch, M. and B. Walsh. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Martinez, O. and R. N. Curnow, 1992. Estimating the locations and the sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theor. Appl. Genet.* 85: 480-488.
- Nasrullah. 1986. Evaluation of The Haploid Technique for Crop Improvement – A Simulation Study. University of The Philipines. Los Banos. Disertasi doktor. 79p.
- Nasrullah A.L. Carpena and M. M. Lantin. 1995. A simple way to construct matrix specifications in defining gene action. *Proc. Simposium Pemuliaan Tanaman III*: 39-46.
- Rubinstein, R.Y. (1981). *Simulation and the Monte Carlo Method*. John Wiley and son. New York.
- Ribaut, J.-M. and J. Betran. 1999. Single large-scale marker-assisted selection (SLS–MAS). *Mol. Breed.* 5: 531–541.
- Sax, K. 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8 : 552–560.
- Tanksley, S.D. and C.M. Rick. 1980. Isozymic gene linkage map of the tomato: Applications in genetic and breeding. *Theor. Appl. Genet.* 57:161–170.
- Tanskley, S.D., H. Medina-Filho, and C.M. Rick. 1982. Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map gene controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity* 49:11–25.
- Vuylsteke, M.J.R. 1999. *Genetic Analysis of Maize by Using The AFLP®Method*. Tesis doctoral. Universitas Wageningen, Wageningen.
- Wang, S. 2000. *Simulation Studi on The Methods for Mapping Quantitative Trait Loci in Inbred Line Crosses*. A Dissertaion Zhejian University, Hanzhou, Zhejiang, China.
- Weir, B.W. 1996. *Genetic Data Analysis II*. Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Witcombe, J. R. and D. S. Virk. 2001. Number of crosses and population size for participatory and classical plant breeding. *Euphytica* 122: 451–462.
- Yandel, B.S., J. Y. Moon, S. Banerjee. W.N. Belly, N. Yi, 2012. QTL analysis using bayesian interval mapping.
- Yin, X., P. Stam, M.J. Kropff, A.H.C.M. Schapendonk. 2003. Crop modelling, QTL mapping, and their complementary role in plant breeding. *Agron. J.* 95:90-98.
- Zeng, Z.B. 1994. Precision mapping of quantittive traits loci. *Genetics* 136:1457–1468
- Zeng, (tanpa tahun). *Experimental desain and sample size requirment for QTL mapping*.
- Zou, F. 2001. *Efficient and Robust Statistical Methodologies for Quantitative Trait Loci Analysis*. Disertasi. Universitas Wisconsin-Madison.

