



Studi Variabilitas Genetik 30 Genotipe Padi (*Oryza Sativa* L.) Menggunakan Beberapa Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*) Terpaut Zn

Study of Genetic Variability of 30 Rice Genotypes (*Oryza Sativa* L.) Using Some SSR (*Simple Sequence Repeat*) Markers Adrift Zn

Tiwi Rumondang Pangaribuan^{1*}, Muhammad Syafii¹, Elia Azizah¹, Untung Susanto²
Furry Pramudyawardani², Desi Prastika²

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang

²Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (*Indonesian Center for Rice Research*), Sukamandi, Subang

*Email korespondensi : tiwiirp@gmail.com ; muhammad.syafii@staff.unsika.ac.id

ABSTRACT

Rice is one of the important commodities in Indonesia. Analysis of rice genetic diversity is necessary for the success of the local rice variety program. *This study aims to identify the genetic variability and kinship patterns of 30 rice genotypes (*Oryza sativa* L.) using six zinc-linked SSR (*Simple Sequence Repeat*) markers. The research was conducted in September - December 2021 at the DNA Laboratory of the Sukamandi Rice Plant Research Center. A total of 30 local rice genotypes with diverse Zinc content have been analyzed using laboratory experiments. The results showed that there were different allele variations (2 – 8) among the genotypes tested with an average number of alleles of 4.5, while the average value of Polymorphism Information Content (PIC) amounted to 0.48 (0.20 - 0.70). 4 SSR markers have PIC values of > 0.5 (RM162, RM38, RM30, and RM80) which show that the markers are informative for the study of rice genetic diversity with Zinc content variety with an average gene diversity value of 0.53. The results of the phylogenetic analysis showed that the 30 genotypes clustered into five clusters with a similar coefficient of 0.68.*

Keywords: *Genetic diversity, Polymorphism Information Content, Rice, SSR markers, Zn*

ABSTRAK

Padi merupakan salah satu komoditas penting di Indonesia. Analisis keragaman genetik padi diperlukan untuk keberhasilan program pemuliaan varietas padi lokal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi variabilitas genetik dan pola kekerabatan tiga puluh genotipe padi (*Oryza sativa* L.) menggunakan beberapa marka SSR terpaut Zink. Penelitian dilaksanakan pada bulan September - Desember 2021 di Laboratorium DNA Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi. Sebanyak 30 genotipe padi lokal dengan kandungan Zn yang beragam telah dianalisis menggunakan eksperimen laboratorium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat variasi alel yang berbeda (2 - 8) di antara genotipe-genotipe yang di uji dengan rerata jumlah alel 4,5, sedangkan rerata nilai Polymorphism Information Content (PIC) sebesar 0,48 (0,20 - 0,70). Terdapat 4 marka SSR yang memiliki nilai PIC > 0,5 yaitu RM162, RM38, RM30 dan RM80 yang menunjukkan bahwa marka-marka tersebut informatif untuk studi keragaman genetik padi dengan ragam kandungan Zn dengan rerata nilai diversitas gen sebesar 0,53. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa 30 genotipe tersebut mengelompok menjadi lima kelompok dengan koefisien kemiripan 0,68.

Kata Kunci : *Informasi Polimorfisme, Keragaman Genetik, marka SSR, Padi, Zn*

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan penting dalam kehidupan manusia. Sebagai pangan utama masyarakat, beras berfungsi sebagai penyedia nutrisi bagi manusia (Hamam et al., 2017). Salah satu nutrisi yang dibutuhkan manusia adalah nutrisi mikro seperti Fe dan Zn.

Tiwi Rumondang Pangaribuan, Muhammad Syafi'i, Elia Azizah, Untung Susanto, Furry Pramudyawardani, Desi Prastika: *Studi Variabilitas Genetik 30 Genotipe Padi (Oryza Sativa L.) Menggunakan Beberapa Marka SSR (Simple Sequence Repeat) Terpaut Zn..(Hal. 722 - 729)*

Namun beras diketahui memiliki nutrisi Zn yang tidak memadai sehingga berpotensi menimbulkan kekurangan gizi bagi masyarakat yang mengkonsumsi (Ahmadi & Rukadi, 2019). Dosis zinc harian yang optimum bagi manusia minimal 34.7-43.4 ppm; sedangkan kandungan Zinc pada beras VUB (Varietas Unggul Baru) adalah 23.9 ppm, dosis ini bahkan belum mencapai dosis harian Zinc yang optimum bagi manusia (Hamam et al., 2017). Selain berakibat pada menurunnya daya tahan tubuh, produktivitas dan kualitas hidup manusia, kekurangan Zn juga menjadi salah satu faktor penyebab stunting atau kekerdilan.

Menurut Welch & Graham (2004) defisiensi nutrisi terutama besi (Fe), seng (Zn) dan vitamin A merupakan penyebab hampir dua per tiga kematian anak-anak di dunia. Oleh karena itu, usaha peningkatan kualitas beras yang mengandung Zn perlu ditingkatkan dan lebih digencarkan sehingga dapat memberikan kontribusi terhadap peningkatan nilai gizi dan kesehatan masyarakat (Liyanan et al., 2015).

Kandungan gizi bahan pangan dapat diperbaiki dan ditingkatkan melalui pemuliaan tanaman, baik secara konvensional maupun dengan non konvensional (bioteknologi). Pemuliaan tanaman merupakan serangkaian kegiatan penelitian dan pengembangan genetic tanaman untuk merakit kultivar/varietas unggul yang berguna bagi manusia (Carsono et al., 2014). Pemuliaan tanaman terbagi menjadi pemuliaan tanaman konvensional dan non konvensional.

Keragaman genetik pada suatu populasi dapat diidentifikasi dengan menggunakan penanda molekuler (Syafii & Ruswandi, 2019). Pemuliaan tanaman non konvensional berupa penanda molekuler berbasis DNA telah banyak digunakan dalam pemuliaan tanaman karena memiliki beberapa kelebihan yang bisa diperhitungkan diantaranya adalah memiliki kecepatan untuk mengidentifikasi spesies yang berbeda dan dapat membedakan menganalisis kekerabatan dengan lebih efisien dan akurat serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Rohaeni et al., 2016).

Penanda molekuler SSR merupakan salah satu penanda yang paling banyak digunakan untuk pemetaan genetik, analisis keragaman dan studi evolusi (Pasaribu et al., 2017). Penanda SSR memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan penanda lain, yaitu bersifat kodominan karena dapat membedakan alel heterozigot dan alel homozigot, lokus tersebar merata dalam genom, memiliki polimorfisme yang tinggi, dan hanya memerlukan DNA dalam jumlah yang sedikit.

Penanda molekuler berupa marka mikrosatelit SSR (*Simple Sequence Repeat*) digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi variabilitas genetik dan pola kekerabatan tiga puluh genotipe padi lokal (*Oryza sativa* L).

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Penelitian dilaksanakan dari bulan September 2021 sampai November 2021 di Laboratorium DNA, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi yang berada di Jl. Raya 9 Desa Sukamandi, Kecamatan Ciasem, Kabupaten Subang, Jawa Barat. Lokasi penelitian terletak pada titik koordinat 6021'18"S 170038'44"E dengan ketinggian 16 mdpl.

Bahan yang digunakan yaitu 70% isopropanol dingin, Red PCR master mix (thermo scientific), acrylamide 8%, Acrylamid 40%, Tsp 10x, bisacrylamide, APS, TEMED, PCRBIO Ladder III 50 - 1500 bp parafilm, aluminium foil, alkohol, aquades, aquabides (ddH₂O), kertas tissue, sarung tangan karet, Gel red, mineral oil, serta ekstrak DNA 30 genotipe padi (*Oryza sativa* L) (tabel 1) yaitu : Fatmawati, Mahakam, Asahan, Semeru, Barito, Pepe, Gilirang, Tapus, Tondano, Konawe, Seratus Malam, Batang Ombilin, Batang Lembang, Lalan, Cipunegara, Diah Suci, Seililin, Barumon, Batang Sumani, Wera, Ciapus, Singkil, Mendawak, Cikapundung, Batang Piaman, Air Tenggulang, Situ Gintung, Walanay, Batanghari, Maninjau serta 6 marka mikrosatelit (SSR) yaitu : RM162, RM3331, RM80, RM30, RM38, RM439.

Alat yang digunakan yaitu *mikro tube 96 well*, vortex, freezer, kulkas, elektroforesis (*polyacrylamide*), PCR (Therma Cycler), *PCR Rotate*, *Chambell well* (bal elektroforesis), mikropipet ukuran 1-50 µl, 100-500 µl, dan 200-1000 µl, mikro tip (putih, kuning, dan biru), gelas ukur, *UV Tray*, silk, *Taper tooth*, Cetakan kaca, gel doc/*UV transilluminator*, handphone, timbangan, *magnetic stirrer*, masker dan alat tulis.

Tabel 1. Daftar varietas padi yang digunakan dalam penelitian.

No.	Nomor Akses	Varietas	Fe	Zn*
1		Fatmawati	15.10	23.30
2	4180	Mahakam	12.50	22.80

3	1551	Asahan	13.50	22.70
4	7901	Semeru	13.90	22.70
5	1717	Barito	14.20	22.40
6	5893	Pepe	11.60	22.20
7	1205	Gilirang	12.70	22.10
8	4468	Tapus	12.60	22.10
9	4940	Tondano	13.50	22.00
10	1197	Konawe	11.00	21.90
11	723	Seratus Malam	12.20	21.60
12	1757	Batang Ombilin	10.60	21.30
13	6661	Batang Lembang	15.80	21.20
14	1470	Lalan	12.10	21.20
15	4186	Cipunegara	13.20	21.10
16	1664	Diah Suci	12.90	21.10
17	7323	Seililin	12.50	21.10
18	1140	Barumun	13.10	20.80
19	6665	Batang Sumani	11.70	20.70
20	1170	Wera	13.20	20.70
21	1719	Ciapus	13.20	20.60
22	1190	Singkil	13.30	20.50
23	1171	Mendawak	12.30	20.50
24	7309	Cikapundung	13.20	20.10
25	6662	Batang Piaman	12.70	20.00
26	7308	Air Tenggulang	14.50	19.90
27	1725	Situ Gintung	15.10	19.90
28	1202	Walanay	12.20	19.90
29	1153	Batanghari	12.80	19.80
30	1189	Maninjau	11.80	19.80

Keterangan : *data diperoleh dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi

PCR dilakukan dengan menggunakan total volume sebanyak 31.50 μ l yang terdiri dari 10 μ l Master Mix, 0.25 μ l primer *forward*, 0.25 μ l primer *reverse*, 3 μ l template DNA, 8 μ l ddH₂O dan 10 μ l *Mineral Oil*.

Program PCR dijalankan dengan pengaturan suhu yang telah ditetapkan. pengaturan suhu predenaturasi dilakukan pada suhu 95° selama 3 menit, kemudian diikuti dengan tahap denaturasi dengan suhu 95° selama 15 detik persiklus selama 35 siklus, tahap penempelan (*annealing*) 55°C selama 15 detik persiklus, selanjutnya tahap pemanjangan (*extension*) 72°C selama 15 detik persiklus, diakhiri dengan tahap pemanjangan (*final extension*) 72°C selama 1 menit.

Elektroforesis (PAGE)

Pemisahan pita DNA hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan PAGE 8% (*Polyacrilamide Gel Electrophoresis*). Setiap sumur gel berisi 3 μ l sampel masing-masing DNA dan satu dua sumur berisi DNA *ladder* sebanyak 1 μ l. Elektroforesis dijalankan dengan arus listrik 60 V selama 120 menit. Visualisasi fragmen-fragmen yang terdeteksi dilakukan menggunakan perendaman di larutan yang berisi 200 ml ddH₂O dan 20 μ l gel red. selanjutnya pita DNA divisualisasi menggunakan gel doc UV transilluminator yang tersambung ke komputer.

Analisis Data

Analisis data hasil elektroforesis dilakukan berdasarkan hasil skoring atau penilaian muncul tidaknya nilai pita DNA yang merupakan data biner pada program Microsoft Excel. Nilai (1) diberikan untuk amplifikasi positif yang menggambarkan alel yang teramati, sedangkan nilai (0) diberikan untuk amplifikasi negatif yang menggambarkan tidak adanya alel yang teramati. profil keragaman alel yaitu

Tiwi Rumondang Pangaribuan, Muhammad Syafi'i, Elia Azizah, Untung Susanto, Furry Pramudyawardani, Desi Prastika: *Studi Variabilitas Genetik 30 Genotipe Padi (Oryza Sativa L.) Menggunakan Beberapa Marka SSR (Simple Sequence Repeat) Terpaut Zn..(Hal. 722 - 729)*

jumlah alel per lokus, frekuensi alel mayor, keragaman alel, dan nilai *polymorphism information content* (PIC) dilakukan menggunakan perangkat lunak Power Marker 3.25.

Selanjutnya dibuat pohon kekerabatan/filogram antar aksesori. *Software* yang digunakan yaitu NT Edit untuk mengimport data skoring dan dilakukan analisis gerombol (*cluster analysis*) berdasarkan hasil skoring marka molekuler menggunakan *software* NTSys.

Kuantitas PIC didasarkan pada jumlah alel yang dihasilkan oleh suatu marka dan frekuensi dari tiap alel yang diuji. Nilai PIC mengindikasikan bahwa marka SSR yang digunakan cukup informatif untuk melihat keragaman antar genotipe. Semakin besar nilai PIC pada suatu primer maka semakin baik primer tersebut untuk marka SSR.

Secara matematis, penghitungan nilai PIC adalah sebagai berikut (Liu, n.d.).

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

dengan P_{ij}^2 = frekuensi alel j pada lokus i dan n = jumlah alel pada lokus.

Koefisien jarak genetik direpresentasikan dengan nilai jarak geometri (Nei & Takezaki, 1994). Perhitungan dilakukan dengan asumsi tidak ada mutasi dan semua perubahan frekuensi alel terjadi karena penyimpangan genetik.

$$D_A = 1 - \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \sum_{t=1}^{a_j} \sqrt{p_{ij}q_{it}}$$

D_A = koefisien jarak genetik,

p_{ij} = frekuensi alel i pada lokus j pada populasi P,

q_{it} = frekuensi alel i pada lokus j pada populasi

Q, m = jumlah lokus yang diperiksa, dan

a_j = jumlah alel pada lokus j.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Visualisasi DNA

Visualisasi DNA dilakukan dengan menggunakan Gel Doc uv transilluminator setelah sebelumnya terlebih dahulu gel direndam dalam tray pewarnaan yang berisi red gel (pewarna). Hasil dari visualisasi DNA menunjukkan bahwa amplifikasi marka SSR terpaut Zn yang di uji memiliki karakteristik dan kemampuan amplifikasi yang berbeda (Gambar 1).

Hasil amplifikasi DNA menunjukkan adanya pita dna yang *smear* pada beberapa marka yang di uji. *Smear* menunjukkan bahwa pita DNA kotor karena terkontaminasi oleh senyawa-senyawa lain yang ikut terekstraksi sehingga pada saat di visualisasi pita DNA yang dihasilkan kurang bagus. Selain itu, *smear* bisa terjadi karena beberapa faktor yang lain yaitu panjang gelombang UV yang digunakan dan waktu yang digunakan ketika elektroforesis (Juniar, 2021).

Keragaman Marka SSR

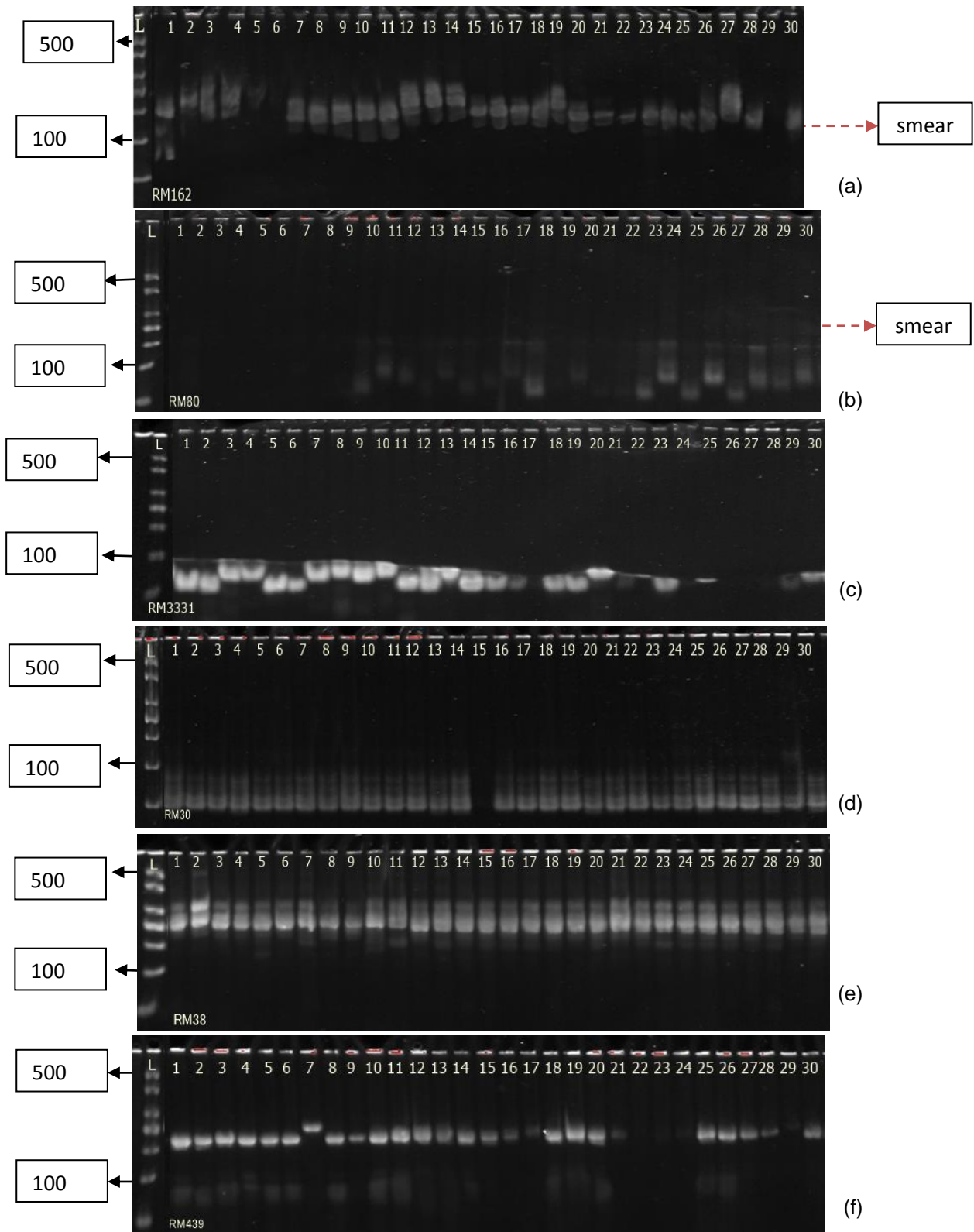
Berdasarkan hasil skoring, alel yang dihasilkan oleh 6 primer SSR yang digunakan memberikan hasil pita polimorfik. Profil keragaman alel berupa jumlah alel per lokus, frekuensi alel mayor, keragaman alel, dan nilai *polymorphism information content* (PIC) disajikan pada tabel 2.

Masing-masing primer memiliki profil yang berbeda. Hasil analisis Powermarker menunjukkan bahwa jumlah alel yang dihasilkan dari 6 marka SSR yang digunakan adalah 2 – 8 dengan rata-rata sebesar 4,5 alel per lokus. lokus RM162 merupakan marka yang paling banyak menghasilkan variasi alel, yaitu sebanyak 8 alel dengan primer RM3331 dan RM439 menjadi primer yang menghasilkan variasi alel paling rendah yaitu sebanyak 2 alel per lokus. Hal ini menunjukkan bahwa marka RM162 merupakan marka yang paling baik untuk mengidentifikasi adanya variasi genetik apabila dilihat dari variasi alel yang diidentifikasi.

Rerata frekuensi alel utama yang diperoleh sebesar 59% dengan nilai terendah sebesar 40% pada marka RM162 serta nilai tertinggi 86% pada marka RM439. Nilai diversitas gen menunjukkan tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi berkisar dari 0,2778 (RM3331) hingga 0,7400 (RM162) dengan rata-rata sebesar 0,5307.

Nilai PIC dari 6 primer yang di uji berkisar antara 0,20 - 0,70 dengan rata-rata sebesar 0,48. Hal tersebut mengindikasikan bahwa marka SSR yang digunakan mampu mendeteksi polimorfisme dalam suatu populasi sebesar 20-70 %. Nilai PIC terendah terdapat pada primer RM439 sebesar 0,20, sedangkan nilai PIC tertinggi yang memiliki nilai > 0,5 dihasilkan oleh primer RM162, RM38,

RM30 dan RM80. Hal ini menunjukkan bahwa keempat primer tersebut merupakan primer yang bersifat polimorfik dan informatif.



Gambar 1. Hasil Visualisasi DNA 30 Genotipe padi menggunakan marka RM162 (a); RM80 (b); RM3331 (c); RM30 (d); RM38 (e); dan RM439 (f) pada gel Acrylamide 8%.

Tabel 2. Profil 6 marka SSR terpaut Zn pada 30 genotipe padi

Marka	Jumlah Alel	Frekuensi Alel Utama	Diversitas gen	PIC
RM162	8	0,4000	0,7400	0,70
RM3331	2	0,8333	0,2778	0,24
RM80	3	0,5000	0,6111	0,53
RM38	7	0,4833	0,6928	0,65
RM439	2	0,8667	0,2311	0,20
RM30	5	0,4833	0,6317	0,56
Mean	4,5	0,5944	0,5307	0,48

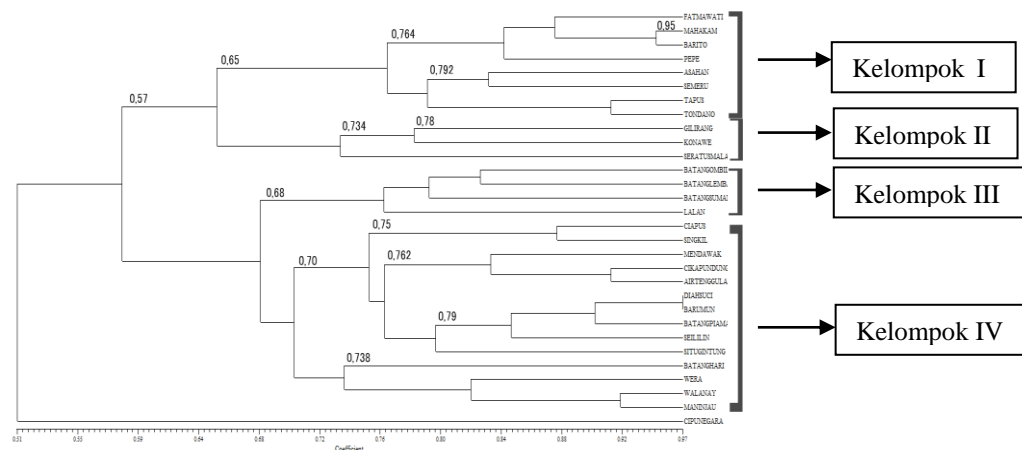
Indrawan *et al.* (2007) menyatakan bahwa jumlah keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh banyaknya gen yang bersifat polimorfik dan banyaknya alel yang dihasilkan pada setiap gen tersebut. Xing *et al.* (2005) menyatakan bahwa nilai informasi polimorfik berbanding lurus dengan jumlah alel yang dihasilkan pada setiap lokusnya. Semakin tinggi jumlah alel, maka nilai PIC yang dihasilkan juga akan semakin tinggi. Marka dengan jumlah alel yang besar cenderung memiliki nilai PIC yang lebih tinggi, sehingga marka tersebut dinilai lebih informatif.

Keragaman Genetik 30 Genotipe Padi

Analisis keragaman genetik dianalisis dengan menggunakan metode UPGMA. Matriks nilai kemiripan genetik (jarak genetik) ditentukan lebih lanjut dengan menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method Arithmetic* (UPGMA) analisis kluster yang kemudian akan memperoleh pengelompokan genotipe dengan terbentuknya dendrogram kekerabatan antar 30 genotipe padi yang di uji.

Keanekaragaman genetik 30 genotipe padi menggunakan 6 marka SSR (Gambar 2) memiliki koefisien kemiripan yang berkisar antara 0.51 – 0.97 (51% - 97%) atau dengan nilai keragaman sebesar 0 - 46 %. Pada tingkat kemiripan 0.68 atau 68% diperoleh lima kelompok, kelompok I terdiri atas genotipe Fatmawati, Mahakam, Barito, Pepe, Asahan, Semeru, Tapus, Tondano. Kelompok II terdiri atas genotipe Gilirang, Konawe, Seratus Malam. Kelompok III terdiri atas genotipe Batang Ombilin, Batang Lembang, Batang Sumani, Lalan. Kelompok IV terdiri atas genotipe Ciapus, Singkil, Mendawak, Cikapundung, Air Tenggulang, Diah Suci, Barumun, Batang Piaman, Seiililin, Situ Gintung, Batang Hari, Wera, Wanay, Maninjau. Kelompok V hanya terdiri dari satu genotipe yaitu Cipunegara.

Tingkat koefisien kemiripan dapat menentukan tingkat kekerabatan genotipe yang di uji. Koefisien kemiripan sebesar 0,51 – 0,97 menunjukkan bahwa ke-30 genotipe yang di uji memiliki tingkat kekerabatan dari sangat berkerabat sampai kerabat jauh dan memiliki keragaman genetik yang luas. Menurut Lucasz (2015), apabila nilai koefisien kemiripan genetik >0,6 maka kemiripan genotipe satu dengan yang lain berkerabat dekat atau sangat berkerabat, sedangkan koefisien kemiripan genetik dengan nilai <0,6 maka dapat dikatakan genotipe yang di uji memiliki kekerabatan yang jauh.



Gambar 2. Dendrogram UPGMA Menunjukkan Hubungan Genetik Antara 30 Genotipe Padi Menggunakan 6 Marka SSR

Dendrogram yang terbentuk ditinjau dari polimorfisme alel yang teramplifikasi menggambarkan hubungan kekerabatan yang saling berkerabat dekat antara genotipe satu dengan lainnya (nilai koefisien kemiripan genetik >0,6). Apabila ditinjau dari kandungan Zn yang dimiliki oleh masing-masing genotipe, kelompok I dan II memiliki kandungan Zn yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok III dan IV (Tabel 1).

Dari dendrogram yang terbentuk, varietas Cipunegara terpisah kedalam satu kelompok yang berbeda dari genotipe yang lain, ini menunjukkan bahwa Cipunegara memiliki karakter yang berbeda dengan semua genotipe yang di uji. Berdasarkan analisis jarak genetik, varietas Diah Suci dan Barumun memiliki jarak genetik tertinggi yaitu sebesar 97%, hal ini mengindikasikan bahwa secara molekuler kedua varietas ini memiliki kemiripan genotipe yang tinggi.

Tingginya nilai koefisien kemiripan menunjukkan bahwa terdapat kemiripan antarvarietas sehingga terdapat hubungan kekerabatan yang dekat. Acquaaah (2007) menjelaskan bahwa semakin jauh jarak genetik maka Kelompok I Kelompok II Kelompok III Kelompok IV proses persilangan yang dilakukan juga akan semakin mudah. Varietas-varietas yang memiliki tingkat kekerabatan terjauh akan memiliki potensi untuk dijadikan calon tetua persilangan. Persilangan genotipe padi dengan jarak genetik terjauh, bahkan antarspesies, berpotensi untuk mendapatkan progeni dengan keragaan fenotipe superior (Terryana, 2020). Menurut Sutoro et al. (2017), persilangan antar calon tetua dengan jarak genetik yang jauh akan memaksimalkan kesempatan dalam memperoleh segregan transgresif di antara progeni persilangan.

KESIMPULAN

Keragaman genetik 30 genotipe padi (*Oryza sativa* L.) berdasarkan kandungan informasi polimorfisme (PIC) pada marka SSR terpaut Zn sebesar 20% – 70% dan berbanding lurus dengan nilai keragaman genetik yang berkisar antara 27% – 74. Dari 6 marka yang digunakan, marka yang informatif adalah RM162, RM38, RM30 dan RM80.

Uji filogenetik menggunakan metode UPGMA berdasarkan polimorfisme marka SSR terpaut Zn pada ambang koefisien kesamaan genetik 68% menghasilkan 5 klaster. Nilai koefisien kesamaan genetik terbesar terdapat pada varietas Diah Suci dan Barumun, menunjukkan bahwa keduanya masih berkerabat dekat karena memiliki banyak persamaan karakter molekuler

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada pihak Balai Besar Penelitian Tanaman Padi yang telah memberi saya kesempatan untuk melakukan penelitian serta membimbing saya dari awal hingga akhir penelitian dan menanggung seluruh pembiayaan, serta kepada seluruh pihak yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, E., & Rukadi. 2019. Uji multilokasi galur-galur padi kandungan zn tinggi di kabupaten kuningan. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, 353–361.
- Carsono, N., Lukamn, P., Damayanti, F., Susanto, U., & Sari, S. 2014. Identifikasi Polimorfis Marka-Marka Molekuler Yang Diduga Berkaitan Dengan Karakter Daya Hasil Tinggi Pada 30 Genotip Padi. *Chimica et Natura Acta*, 2(1), 91–95.
- Hamam, M., Pujiasmanto, B., & Supriyono. 2017. Peningkatan Hasil Padi (*Oryza sativa* L.) dan Kadar Zink dalam Beras melalui Aplikasi Zink Sulfat Heptahidrat. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 45(3), 243–248
- Liyanan, Septianingrum, E., & Kusbiantoro, B. 2015. Kandungan Unsur Mineral Seng (Zn), Bioavailabilitas Dan Biofortifikasinya Dalam Beras. *Jurnal Sungkai*, 3(2), 65–73.
- Nei, M., & Takezaki, N. 1994. Estimation of Genetic Distances and Phylogenetic Trees from DNA Analysis. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 21, 405–412.
- Welch, R. M., & Graham, R. D. 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 353–364.

- Tiwi Rumondang Pangaribuan, Muhammad Syafi'i, Elia Azizah, Untung Susanto, Furry Pramudyawardani, Desi Prastika:** *Studi Variabilitas Genetik 30 Genotipe Padi (Oryza Sativa L.) Menggunakan Beberapa Marka SSR (Simple Sequence Repeat) Terpaut Zn..(Hal. 722 - 729)*
- Pasaribu, A., Agustina, L., & Suryanto. 2017. Analisis Awal Keragaman Molekular Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Menggunakan Lima Primer Ssr (Simple Sequences Repeats). *Jurnal Pertanian Tropik*, 4(1), 47–56.
- Rohaeni, W. R., Susanto, U., Yunani, N., Usyati, N., & Satoto. 2016. Kekekabatan Beberapa Akses Padi Lokal Tahan Hama Penyakit Berdasarkan Analisis Polimorfisme Marka SSR. *Jurnal AgroBiogen*, 12(2), 81–90.
- Sulistiyawati, Purnamila., & Widyatmoko. 2017. Keragaman Genetik Populasi Kayu Merah (*Pterocarpus indicus*) Menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(1), 67–76.
- Syafii, Muhammad., & Ruswandi, Dedi. 2019. Analisis Estimasi Jarak Genetik dan Hubungan Kekekabatan Genotipe Jagung Unpad Toleran Naungan Berdasarkan Marka SSR. *Prosiding Seminar Nasional Agroteknologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung*, 1(1), 406-416.
- Xing, Chao., Elston, R., & Schumacher. 2005. Comparison of microsatellites, single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and composite markers derived from SNPs in linkage analysis. *Bmc Genetics*, 6(1), 1–5.