

RINGKASAN

Beras aromatik merupakan komoditas pangan strategis dengan nilai ekonomi tinggi karena mengandung senyawa volatil utama berupa 2-acetyl-1-pyrroline (2AP). Senyawa ini meningkatkan daya saing produk di pasar domestik maupun internasional karena menjadi penentu mutu yang disukai konsumen. Namun, keterbatasan informasi genetik mengenai gen pengendali sifat aroma, terutama pada varietas lokal, masih menjadi hambatan signifikan dalam program pemuliaan padi. Salah satu solusi untuk menjawab tantangan tersebut dengan pendekatan bioteknologi berbasis marka fungsional. Salah satu teknik molekuler yang terbukti efisien adalah *multiplex* PCR yang mampu mengamplifikasi beberapa target gen secara simultan dalam satu reaksi. Keunggulan teknik ini terletak pada efisiensi waktu dan penggunaan *reagen* yang minimal. Marka Bradbury dan Badex7-5 telah divalidasi secara ilmiah sebagai penanda molekuler yang akurat untuk mendeteksi alel *badh2*, gen utama dalam lintasan biosintetik pembentuk aroma 2AP pada padi aromatik.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman dan Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, selama periode Juli hingga Desember 2024. Sebanyak 14 genotipe padi diuji untuk mengetahui karakter genetik aromatiknya menggunakan teknik *multiplex* PCR dengan primer Bradbury. Proses ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode CTAB yang telah terstandarisasi, kemudian dilanjutkan dengan tahap amplifikasi menggunakan alat *thermal cycler*. Produk PCR yang dihasilkan dianalisis melalui elektroforesis gel agarosa 2% untuk memvisualisasikan pola pita DNA yang terbentuk.

Penelitian ini menegaskan kembali efektivitas primer Badex7-5 dan Bradbury dalam membedakan genotipe padi aromatik dan non-aromatik melalui metode *single* PCR dan *multiplex* PCR. Kemunculan pita DNA berukuran 585/257 bp menunjukkan alel aromatik homozigot, sedangkan pita 585/355 bp mengindikasikan genotipe non-aromatik. Beberapa genotipe seperti Pandan Wangi, Jeliteng, dan Basmati Original yang secara fenotipik tergolong aromatik, justru menunjukkan profil molekuler non-aromatik berdasarkan hasil PCR. Ketidaksesuaian tersebut diperkirakan disebabkan oleh adanya deleksi 4 bp pada gen *badh1* atau adanya variasi mutasi lain di luar daerah target primer Bradbury. Temuan ini menunjukkan bahwa penggunaan satu jenis marka molekuler belum cukup untuk mendeteksi sifat aromatik secara menyeluruh. Penggunaan teknik lanjutan seperti SNP dan qRT-PCR sangat disarankan untuk mengungkap variasi alel tersembunyi serta mengonfirmasi ekspresi gen secara lebih mendalam. Hasil penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pengembangan metode seleksi berbantuan marka (Marker-Assisted Selection/MAS) dan memperkuat strategi pemuliaan padi aromatik secara lebih efisien dan presisi. Penelitian ini juga menjadi rujukan penting dalam mengatasi ketidaksesuaian antara data fenotipik dan molekuler pada varietas lokal. Dengan demikian, teknologi PCR berbasis marka fungsional dapat diintegrasikan dalam skema pemuliaan modern yang berorientasi pada mutu aroma.

SUMMARY

Aromatic rice is a strategic food commodity with high economic value, primarily due to the presence of a key volatile compound, 2-acetyl-1-pyrroline (2AP). This compound is responsible for the characteristic fragrance that enhances the market competitiveness of aromatic rice in both domestic and international markets, as it plays a central role in determining quality preferences among consumers. However, limited genetic information concerning the regulatory genes that control aroma expression particularly in local rice varieties remains a significant bottleneck in current breeding programs. One promising solution lies in the application of biotechnology through functional marker-based approaches, which offer high precision by enabling the identification of specific alleles involved in the biosynthetic pathway of aroma compounds. Among the molecular techniques available, multiplex PCR has proven to be both effective and efficient, as it allows the simultaneous amplification of multiple gene targets in a single reaction. The main advantages of this technique include time efficiency and minimal reagent usage. The Bradbury and Badex7-5 primers have been scientifically validated as reliable molecular markers for detecting the *badh2* allele, a key gene in the 2AP biosynthetic pathway in aromatic rice.

This study was conducted at the Laboratory of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Universitas Jenderal Soedirman, between July and December 2024. A total of 14 rice genotypes were evaluated to determine their genetic aromatic characteristics using the multiplex PCR method with a combination of Bradbury and Badex7-5 primers. DNA extraction was carried out using a standardized CTAB protocol, followed by amplification using a thermal cycler. The resulting PCR products were analyzed via 2% agarose gel electrophoresis to visualize the DNA banding patterns.

The results of the study reaffirm the effectiveness of Bradbury and Badex7-5 primers in distinguishing between aromatic and non-aromatic rice genotypes using both single and multiplex PCR methods. The presence of a 585/257 bp DNA band indicated a homozygous aromatic allele, while the 585/355 bp band marked non-aromatic genotypes. Interestingly, several genotypes—such as Pandan Wangi, Jeliteng, and Basmati Original—phenotypically classified as aromatic, revealed molecular profiles consistent with non-aromatic genotypes. This inconsistency is likely due to a 4 bp deletion in the *badh1* gene or other mutational variants outside the Bradbury primer target region. These findings highlight the limitation of relying solely on a single molecular marker for aroma detection. Therefore, the application of more advanced techniques, such as single nucleotide polymorphism (SNP) analysis and quantitative real-time PCR (qRT-PCR), is strongly recommended to uncover hidden allelic variants and confirm gene expression at a deeper level. This study offers a valuable contribution to the development of marker-assisted selection (MAS) strategies and reinforces the efficiency and precision of breeding programs focused on improving aromatic rice. Furthermore, it serves as a critical reference for addressing discrepancies between phenotypic and molecular data, especially in local genotypes. As such,

PCR-based functional marker technology can be effectively integrated into modern breeding schemes that prioritize the enhancement of aroma quality.

