

RINGKASAN

Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) merupakan komoditas yang berperan krusial dalam ketahanan pangan nasional. Varietas padi dengan karakteristik aromatik dan kandungan antosianin semakin diminati karena nilai ekonomi dan manfaat kesehatannya yang tinggi. Namun, identifikasi dan seleksi untuk sifat-sifat tersebut masih memerlukan metode yang lebih efisien. Salah satu pendekatan alternatif adalah teknologi *multiplexing* PCR berbasis penanda SSR, yang mampu mendeteksi simultan dua sifat genetik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji penerapan PCR multipleks berbasis penanda SSR sebagai alat seleksi molekuler untuk sifat antosianin dan aromatik, serta untuk menentukan hubungan antara hasil amplifikasi molekuler dan sifat fenotipik tanaman padi yang diamati.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman dan Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Jenderal Soedirman dari Juli 2024 hingga Mei 2025. Sampel yang digunakan terdiri dari 8 genotipe padi dengan kombinasi sifat antosianin dan aromatik, yaitu Jeliteng, Pandan Wangi, Padi Hitam Lokal (PWR), Basmati Pakistan, Logawa, PHMW 482-1-4, PHMW 482-9-134, dan PHMW 487-24-8. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode CTAB, dilanjutkan dengan pengujian kualitas dan kuantitas DNA menggunakan spektrofotometri dan elektroforesis gel agarosa. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan metode PCR untai tunggal dan PCR multipleks dengan dua penanda SSR: RM336 untuk antosianin dan RM515 untuk aromatik. Data hasil amplifikasi dianalisis keberadaan, jumlah, dan ukuran pita DNA, kemudian dibandingkan dengan data fenotipe masing-masing genotipe untuk menentukan asosiasinya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik *multiplexing* PCR mampu mendeteksi sifat antosianin dan aromatik secara simultan dalam satu reaksi, dengan sebagian besar genotipe menunjukkan kesesuaian yang baik antara data molekuler dan fenotipiknya. Penanda RM336 efektif dalam mengidentifikasi genotipe berpigmen dan tidak berpigmen, sedangkan RM515 mampu membedakan beras aromatik dan non-aromatik berdasarkan ukuran pita. Data hasil amplifikasi DNA dikonversi menjadi data biner dan dianalisis menggunakan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) untuk membentuk pohon filogenetik. Dendrogram menunjukkan bahwa pengelompokan genotipe yang selaras dengan karakter fenotipik, seperti Pandan Wangi dan Basmati Pakistan yang berada dalam kluster padi aromatik tetapi non-antosianin, serta Galur 1 dan 2 yang menunjukkan kedekatan genetik yang identik yaitu padi berpigmen. Sementara itu, genotipe Jeliteng memiliki posisi unik sebagai satu-satunya genotipe dengan karakter aromatik sekaligus antosianin. Pola pengelompokan ini mencerminkan hubungan kekerabatan berdasarkan kemunculan pita dan fenotipenya, sekaligus memperkuat efektivitas metode PCR multipleks sebagai alat seleksi dan analisis kekerabatan molekuler.

SUMMARY

Rice (Oryza sativa L.) is a commodity that plays a crucial role in national food security. Rice varieties with aromatic characteristics and anthocyanin content are increasingly in demand due to their high economic value and health benefits. However, identification and selection for these traits still require more efficient methods. One alternative approach is SSR marker-based multiplex PCR technology, which can detect two genetic traits simultaneously. This study aims to test the application of SSR marker-based multiplex PCR as a molecular selection tool for anthocyanin and aromatic traits, and to determine the relationship between the molecular amplification results and the observed phenotypic traits of rice plants.

The research was conducted at the Plant Breeding and Biotechnology Laboratory and the Integrated Research Laboratory of Jenderal Soedirman University from July 2024 to May 2025. The samples used consisted of eight rice genotypes with a combination of anthocyanin and aromatic traits: Jeliteng, Pandan Wangi, Local Black Rice (PWR), Basmati Pakistan, Logawa, PHMW 482-1-4, PHMW 482-9-134, and PHMW 487-24-8. DNA extraction was carried out using the CTAB method, followed by testing the quality and quantity of DNA using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis. DNA amplification was carried out using single-strand PCR and multiplex PCR with two SSR markers: RM336 for anthocyanin and RM515 for aromatic. The amplified data were analyzed for the presence, number, and size of DNA bands, then compared with the phenotype data of each genotype to determine their association.

The results showed that the multiplexing PCR technique was able to detect anthocyanin and aromatic properties simultaneously in a single reaction, with most genotypes showing good agreement between their molecular and phenotypic data. The RM336 marker was effective in identifying pigmented and non-pigmented genotypes, while RM515 was able to distinguish aromatic and non-aromatic rice based on band size. The DNA amplified data were converted into binary data and analyzed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) to form a phylogenetic tree. The dendrogram showed that the grouping of genotypes was aligned with phenotypic characters, such as Pandan Wangi and Basmati Pakistan which were in the aromatic but non-anthocyanin rice cluster, and Lines 1 and 2 which showed identical genetic closeness, namely pigmented rice. Meanwhile, the Jeliteng genotype has a unique position as the only genotype with both natural and anthocyanin characters. This clustering pattern reflects the kinship relationship based on the appearance of bands and their phenotypes, while strengthening the effectiveness of the multiplex PCR method as a tool for selection and analysis of molecular kinship.