

**Keanekaragaman Padi (*Oryza sativa* L.) Berdasar Karakteristik Botani
Morfologi Dan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

**DIVERSITY OF RICE BASED ON BOTANY-MORPHOLOGY CHARACTERS
AND RAPD MARKERS**

Adrina Juansa¹, Aziz Purwantoro², Panjisakti Basunanda²

INTISARI

Keanekaragaman padi (*Oryza sativa* L.) tersimpan dalam koleksi plasma nutfah yang harus dilestarikan dan dievaluasi, keanekaragaman tersebut dapat dilihat berdasarkan karakter fenotipe dan genotipenya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan karakter botani-morfologi dan mengkaji keragaman genotipe aksesori padi koleksi Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UGM, serta mengkaji hubungan kekerabatan diantara aksesori-aksesori yang ada berdasarkan informasi karakter fenotipe dan keragaman penanda genetik. Untuk mengetahui keanekaragaman genetik padi koleksi digunakan 25 aksesori padi yang terdiri dari ras-ras lokal, material eksotik, dan kultivar terperbaiki untuk dikarakterisasi pada 15 sifat agrobotani-agromorfologinya dan genotipenya dengan menggunakan 8 primer RAPD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 15 sifat agrobotani-agromorfologi diperoleh keanekaragaman aksesori yang terlihat dari nilai CV (koefisien keanekaragaman), pada level genotipe keanekaragaman terlihat pada persentase lokus polimorfik dan nilai keragaman genetik Nei. Hasil analisis kekerabatan sifat agrobotani-agromorfologi pada jarak kurang dari dua diantara *cluster centroids* terbentuk kekerabatan antara 'Sintanur' – Mentik Susu, dan H3 – 'IR 64'. Pengujian molekuler menunjukkan pada jarak genetik 0,035 populasi terbagi menjadi 9 kelompok yang berdekatan, yaitu kelompok I ('Anak Daro', Lembayung Gogo), kelompok II (Mayangsari, Gadung Mlathi), kelompok III ('Pokkali', 'Mentik Susu'), Kelompok IV (Ketan, H3), kelompok V ('Lumbuk', Andel Abang), kelompok VI ('Sintanur', 'Amaroo'), kelompok VII ('Nipponbare', H2 Bulu), kelompok VIII (Ketan Hitam Bulu, Ketan Hitam Gundil), kelompok IX ('Bluebonnet', 'IR 64' Simpangan). Dari semua aksesori yang dilibatkan terlihat bahwa 44% adalah golongan *indica*, 49% golongan *japonica*, dan 7% adalah golongan *Aromatik*.

Kata kunci: keanekaragaman genetik, padi, RAPD, botani- morfologi.

ABSTRACT

Diversity in rice planted in Java is great and has potential to uncover part of the island's agriculture history. It is then important to conserve the germplasms and and evaluate their genotype and agromorphological characters in order to develop database on the diversity to be used for other purposes. This research is aimed to characterise botany-morphology traits and profile RAPD genetic markers from 25 accessions of landraces as well as exotic and improved cultivars. There were 15 traits and 8 RAPD primers chosen for this study. CV (coefficient of variability) was calculated to measure phenotypic diversity while polymorphic loci fraction and Nei's gene diversity was employed to measure genetic diversity. Analysis of relatedness on agrobotany-agromorphology characters resulted with groups made of 'Sintanur'-Mentik Susu and H3-'IR64'. Molecular testing with genetic distance of 0,035 as threshold value divided the

¹Alumni Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Fakultas Pertanian Gadjah Mada, Yogyakarta

accessions into 9 adjacent groups, namely group I ('Anak Daro', Lembayung Gogo), group II (Mayangsari, Gadung Mlathi), group III ('Pokkali', 'Mentik Susu'), group IV (Ketan, H3), group V ('Lumbuk', Andel Abang), group VI ('Sintanur', 'Amaroo'), group VII ('Nipponbare', H2 Bulu), group VIII (Ketan Hitam Bulu, Ketan Hitam Gundil) and group IX ('Bluebonnet', 'IR 64' Simpangan). Genetic diversity analysis grouped the accessions as into 44% indica, 49% japonica, and 7% aromatic.

Key words: genetics diversity, rice, RAPD, botany-morphology.

PENDAHULUAN

Koleksi plasma nutfah padi yang dimiliki oleh Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada mencakup ras-ras lokal, galur hasil seleksi untuk lahan kering, dan tiga galur eksotik dari Afrika. Dari seluruh koleksi tersebut belum pernah dilakukan pertelaan (*description*) terhadap sifat botani dan karakter molekulernya.

Kajian mengenai keanekaragaman kultivar-kultivar padi di Indonesia telah dilakukan berdasarkan perbedaan anatomi, morfologi, sebaran geografi, serta ciri-ciri fisiologi penting. Pada penelitian ini hanya menggunakan sebagian kecil plasma nutfah dari setiap tempat di Indonesia dan berupaya untuk mengisi kekosongan informasi mengenai keragaman padi lokal di Jawa, dengan pertamanya menggunakan materi koleksi padi yang dimiliki oleh Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman dan Kebun Penelitian Tridharma milik Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Waktu pelaksanaan dimulai pada bulan April 2011 sampai Januari 2012.

Sebanyak 25 aksesori padi koleksi Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UGM, terdiri dari koleksi ras-ras lokal, ditambah beberapa material eksotik dan diperbaiki digunakan sebagai bahan percobaan (Tabel 1). Pada penelitian ini 25 aksesori diamati secara botani-morfologi dan secara molekuler.

Tanaman dibudidayakan dengan pedoman budidaya konvensional. Benih disemai dalam kotak plastik atau besek bambu. Setelah usia tiga minggu, bibit dipindah sambil diambil sebagian jaringan daunnya untuk keperluan ekstraksi DNA. 25 aksesori padi yang ditanam diamati karakter botani-morfologi pada setiap fase pertumbuhan tanaman. Karakter agrobotani - agromorfologi yang diamati

tertera dalam Tabel 2. Skala yang diperoleh lalu di hitung koefisien keanekaragamannya (CV). Untuk mengelompokan data berdasarkan kedekatan sifat yang diamati menggunakan program SAS 9.1 for Windows dengan menggunakan perintah *proc cluster* metode *centroid RMSSTD RSQURE*.

Tabel 1. Daftar 25 aksesi koleksi Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UGM yang digunakan dalam penelitian.

No.	Nama Aksesi	Kode	Jumlah Sampel	No.	Nama Aksesi	Kode	Jumlah Sampel
1	Cempo Bulu	CMBL	3	14	Ketan Hitam Gundil	KHGD	2
2	Mayang Sari	MYSR	3	15	IR 64	IR64	3
3	Gadung Mlathi	GDML	3	16	Anak Daro	ANDR	3
4	Pari Putho	PRPT	3	17	Lembayung Gogo	LMGG	3
5	Andel Abang	ADAB	3	18	H2 Bulu	H2BL	3
6	Sintanur	SNTN	3	19	H2 Cere	H2CR	3
7	Amaroo	AMRO	3	20	Ketan	KTAN	3
8	Nipponbare	NPBR	3	21	Somali	SMLI	3
9	Pokkali	POKL	3	22	Mentik Susu	MNSS	2
10	Ketan Hitam Bulu	KHBL	3	23	H3	H3UT	3
11	Mayangan	MYGN	3	24	Manuk Merah	MNMR	3
12	Mentik Wangi	MTWN	2	25	Bluebonnet	BBNT	1
13	Lumbuk	LMBK	3				

Tabel 2. Karakter agrobotani - agromorfologi yang diamati

No	Karakter
1	Bentuk Lidah Daun
2	Warna Telinga Daun
3	Panjang Lidah Daun
4	Warna Lidah Daun
5	Warna Leher Daun
6	Warna Helaian Daun
7	Warna Pelepah Daun
8	Panjang Daun
9	Lebar Daun
10	Kemampuan Beranak
11	Permukaan Daun
12	Sudut Batang
13	Panjang Biji
14	Lebar Biji
15	Ketebalan Biji

Sumber: Silintonga et al., 2003

Pengamatan 25 aksesi secara molekuler dilakukan dengan tahap preparasi DNA templates, amplifikasi DNA, elektroforesis gel, kuantifikasi hasil elektroforesis gel, analisis data. DNA diekstraksi dari daun segar dengan metode CTAB (Cetyl Trimethylammonium Bromide) (menurut Doyle dan Doyle (1990). Seleksi primer operon dilakukan terhadap 20 primer (Tabel 3) dengan mengambil

lima contoh DNA sebagai templat secara acak yang diamplifikasi dengan sejumlah primer operon. Primer yang menunjukkan polimorfisme digunakan dalam tahap *genotyping* menggunakan PCR (RAPD). Reaksi PCR dilakukan pada total volume 10 µl untuk setiap tabung PCR. Setiap reaksi PCR terdiri dari 5 µl PCR *mix* Go Taq® Green (*Promega*), 0,25 µl 100 µM primer (*Sigma-Proligo*), 2,5 µl DNA genom sebagai templat, dan 2,25 µl air bebas nuklease. Amplifikasi DNA dilakukan dengan *thermal cycler* GeneAmp PCR System 9700 dari Applied Biosystems. Pemanasan pertama dilakukan pada suhu 94°C selama 7 menit, diikuti oleh 45 siklus dengan suhu dan waktu pada setiap siklus adalah denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan menggunakan program PRC *touchdown* (suhu penempelan pada 39°C-38°C-37°C-36°C yang menurun secara bertahap, masing-masing 11 siklus) selama 1 menit, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik. Siklus terakhir diikuti oleh pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 2 menit.

Tabel 3. Kedua puluh primer acak yang digunakan dalam seleksi primer RAPD

No	Primer	Sekuens 5'-3'	No	Primer	Sekuens 5'-3'
1	OPA 1	CAGGCCCTTC	11	OPA 19	CAAACGTCCG
2	OPA 3	AGTCAGCCAC	12	OPB 1	GTTTCGCTCC
3	OPA 4	AATCGGGCTG	13	OPB 2	TGATCCCTGG
4	OPA 9	GGGTAACGCC	14	OPB 7	GGTGACGCAG
5	OPA 10	GTGATCGCAG	15	OPB 8	GTCCACACGG
6	OPA 11	CAATCGCCGT	16	OPB 10	CTGCTGGGAC
7	OPA 13	CAGCACCCAC	17	OPB 11	GTAGACCCGT
8	OPA 16	AGCCAGCGAA	18	OPB 15	GGAGGGTGTT
9	OPA 17	GACCGTTGT	19	OPB 17	AGGGAACGAG
10	OPA 18	AGGTGACCGT	20	OPB 20	GGACCCTTAC

Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis menggunakan 1,5% (b/v) gel agarosa di dalam tangki elektroforesis gel yang berisi larutan penyangga TBE pH 8 (yang terdiri dari 0,45 M Tris-HCl pH 8, 0,45 M asam borat, 20 mM EDTA) dengan tegangan 75 volt selama 40 menit. Selesai elektroforesis gel agarosa direndam dalam etidium bromida sebagai pewarna selama 30 menit. Visualisasi menggunakan sinar UV dan citra direkam dengan kamera digital.

Hasil kuantifikasi visualisasi pita-pita DNA dianalisis dengan *software* program GenAIEx v6, POPGENE 1.32, dan NTSYS 2.02. POPGENE 1.32 digunakan untuk menghitung nilai keragaman genetik (*genetic diversity*) dan jarak genetik (*genetic distances*) berdasarkan *Nei's Gene Diversity* (1973) dan

Nei's Original Measures of Genetic Distance (1972) dengan memanfaatkan perbedaan frekuensi alel (frekuensi pita amplifikasi) diantara individu dan populasi. Nilai keragaman genetik menggambarkan keragaman genetik dalam suatu populasi, sedangkan nilai rata-rata jarak genetik antara dua populasi menggambarkan keragaman genetik antar populasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

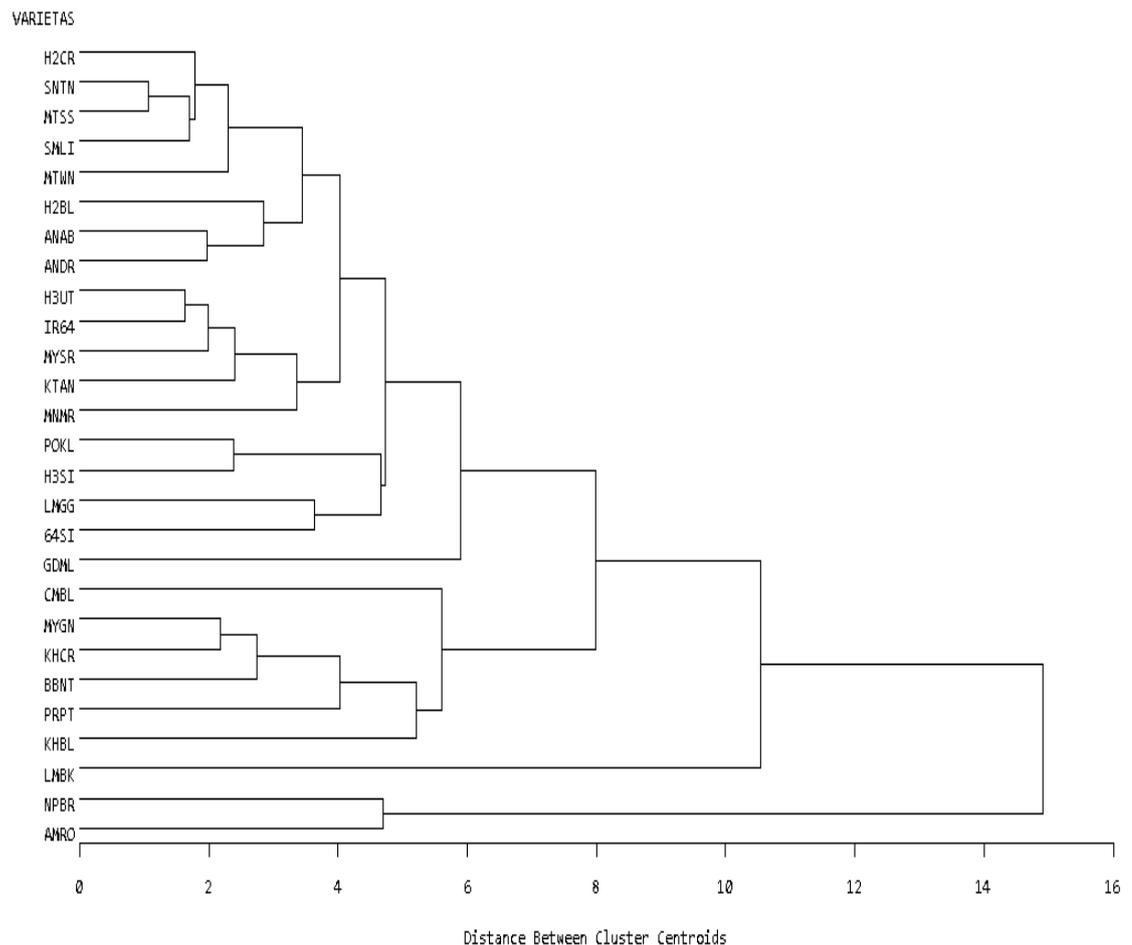
Keanekaragaman padi tercermin melalui sifat agrobotani dan agromorfologi berdasarkan karakter kualitatif dan kuantitatif. Keanekaragaman ditunjukkan melalui koefisien keanekaragaman (CV), keanekaragaman yang besar dicerminkan oleh $CV > 20\%$ (Suhartini Tintin, 2010). Dari 25 aksesii ditemukan 2 tanaman yang menyimpang secara fenotipe terhadap kelompok aksesii 'IR 64' dan H3, sehingga 2 tanaman menyimpang tersebut dibentuk menjadi aksesii tersendiri yaitu 'IR 64' Simpangan dan H3 Simpangan. Nilai CV tiap karakter agromorfologi dan agrobotani ditunjukkan pada Tabel 4. Pada karakter dengan CV yang besar perlu dilihat nilai daya warisnya untuk membentuk populasi segregasi yang kontras untuk sifat-sifatnya.

Tabel 4. Nilai Koefisien Keanekaragaman (CV) dari karakter aksesii padi yang digunakan

No	Karakter	CV
1	Bentuk Lidah Daun	3,22%
2	Warna Telinga Daun	33,39%
3	Panjang Lidah Daun	27,95%
4	Warna Lidah Daun	41,43%
5	Warna Leher Daun	33,39%
6	Warna Helaiian Daun	48,45%
7	Warna Pelepah Daun	63,12%
8	Panjang Daun	24,82%
9	Lebar Daun	23,11%
10	Kemampuan Beranak	43,79%
11	Permukaan Daun	27,31%
12	Sudut Batang	53,87%
13	Panjang Biji	8,79%
14	Lebar Biji	18,39%
15	Ketebalan Biji	14,31%

Hubungan kekerabatan yang dibentuk dari data pengamatan agrobotani-agromorfologi menunjukkan terbentuknya dua kelompok pada jarak kurang dari dua diantara *cluster centroids*, yaitu 'Sintanur' – Mentik Susu, dan H3 – 'IR 64'(Gambar 1). Kedua kelompok tersebut mempunyai banyak kesamaan dalam

15 karakter yang digunakan, oleh karena itu keempat kelompok tersebut berdekatan membentuk 1 kelompok. Hubungan kekerabatan ini dipengaruhi lingkungan dan idealnya semakin banyak sifat yang diamati akan semakin mewakili sifat tanaman secara keseluruhan.



Gambar 1. Dendrogram pengelompokan aksesori berdasarkan 15 sifat agrobotani-agromorfologi.

Amplifikasi DNA menggunakan 8 primer (Tabel 5) dengan 27 aksesori menghasilkan 115 lokus. Persentase jumlah lokus polimorfik yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan tingkat polimorfisme pada sampel yang digunakan disajikan pada Tabel 6. Keanekaragaman genetik aksesori dapat terlihat dari persentase lokus polimorfik. Persentase lokus polimorfik yang tertinggi adalah Pari Putho sebesar 33,04% dan yang terendah adalah 'Bluebonnet', H3 Simpangan, dan 'IR 64' Simpangan sebesar 0%. Rendahnya persentase lokus polimorfik 'Bluebonnet', H3 Simpangan, dan 'IR 64' Simpangan disebabkan karena aksesori tersebut hanya satu individu dalam aksesori.

Tabel 5. Daftar ke-8 primer terpilih berdasarkan tingkat polimorfismenya.

No	Primer
1	OPA 3
2	OPA 9
3	OPA 10
4	OPA 13
5	OPA 16
6	OPA 19
7	OPB 8

Tabel 6. Persentase lokus polimorfik terbentuk dari 8 primer dan 27 aksesi.

Nama Aksesi	Jumlah Lokus Polimorfik	Persentase Lokus Polimorfik	Nama Aksesi	Jumlah Lokus Polimorfik	Jumlah Lokus Polimorfik
Cempo Bulu	26	22.61 %	Ketan Hitam Gundil	20	17.39 %
Mayang Sari	22	19.13 %	IR 64	30	26.09 %
Gadung Mlathi	17	14.78 %	Anak Daro	22	19.13 %
Pari Putho	38	33.04 %	Lembayung Gogo	22	19.13 %
Andel Abang	21	18.26 %	H2 Bulu	15	13.04 %
Sintanur	22	19.13 %	H2 Cere	24	20.87 %
Amaroo	26	22.61 %	Ketan	18	15.65 %
Nipponbare	16	13.91 %	Somali	26	22.61 %
Pokkali	16	13.91 %	Mentik Susu	7	6.09 %
Ketan Hitam Bulu	9	7.83 %	H3	9	7.83 %
Mayangan	25	21.74 %	Manuk Merah	20	17.39 %
Mentik Wangi	31	26.96 %	Bluebonnet	0	0.00 %
Lumbuk	21	18.26 %	H3 Simpangan	0	0.00 %
IR 64 Simpangan	0	0.00 %			

Keanekaragaman pada setiap populasi dinyatakan dengan nilai Indeks Diversitas Gen Nei (h). Perhitungan keanekaragaman gen sama dengan menghitung frekuensi dari heterozigot pada satu lokus, maka perhitungan ini sering disebut heterozigositas. Semakin tinggi frekuensi heterozigot pada suatu populasi, maka semakin tinggi keanekaragamannya. Dari Tabel 7, keanekaragaman genetik tertinggi terdapat pada populasi 'IR 64' (0,1081) 'Mentik Wangi' (0,1007) diikuti Pari Putho (0,1006), sedangkan keanekaragaman yang terendah adalah pada 'Bluebonnet', H3 Simpangan, dan 'IR64' Simpangan (0) yang disebabkan hanya ada 1 sampel.

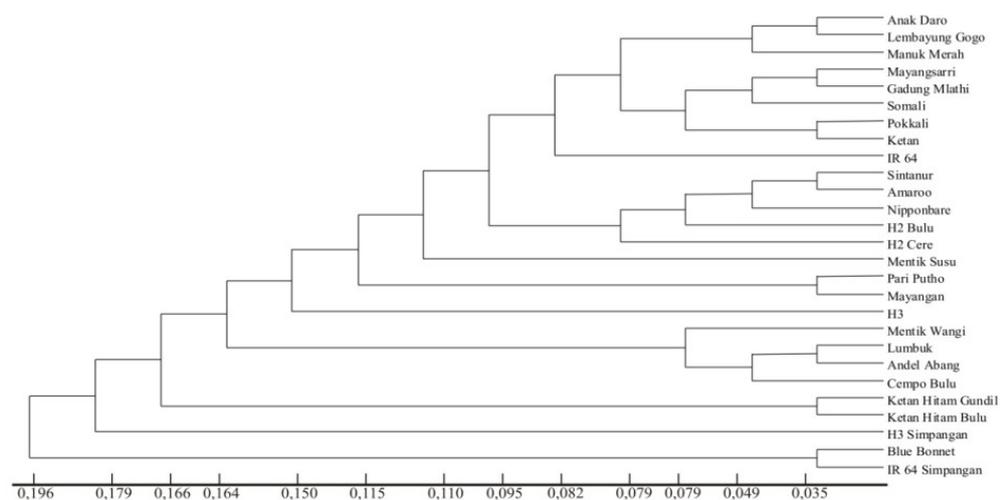
Nilai keragaman genetik dan persentase lokus polimorfisme pada aksesi dapat digunakan untuk menjelaskan keanekaragaman genetik. Aksesi yang mempunyai nilai keragaman genetik tinggi dapat dipastikan mempunyai persentase lokus polimorfisme tinggi, begitu juga sebaliknya.

Tabel 7. Nilai keragaman genetik dari 27 akses

Populasi	h	Populasi	h
Cempo Bulu	0.0880	Ketan Hitam Gundil	0.0686
Mayang Sari	0.0775	IR 64	0.1081
Gadung Mlathi	0.0631	Anak Daro	0.0732
Pari Putho	0.1006	Lembayung Gogo	0.0801
Andel Abang	0.0709	H2 Bulu	0.0520
Sintanur	0.0758	H2 Cere	0.0810
Amaroo	0.0889	Ketan	0.0611
Nipponbare	0.0509	Somali	0.0879
Pokkali	0.0523	Mentik Susu	0.0252
Ketan Hitam Bulu	0.0324	H3	0.0324
Mayangan	0.0873	Manuk Merah	0.0611
Mentik Wangi	0.1007	Bluebonnet	0.0000
Lumbuk	0.0716	H3 Simpangan	0.0000
IR 64 Simpangan	0.0000		

Keterangan: h= keanekaragaman genetik

Dendrogram berdasarkan analisis semua populasi pada Gambar 2 menunjukkan 8 kelompok yang saling berdekatan pada jarak 0,049, yaitu kelompok I ('Anak Daro', Lembayung Gogo), kelompok II (Mayangsari, Gadung Mlathi), kelompok III ('Pokkali', Ketan), kelompok IV ('Sintanur', 'Amaroo'), kelompok V (Pari Putho, Mayangan), kelompok VI (Lumbuk, 'Andel Abang'), kelompok VII (Ketan Hitam Gundil, Ketan Hitam Bulu), kelompok VIII ('Bluebonnet', 'IR 64' Simpangan).

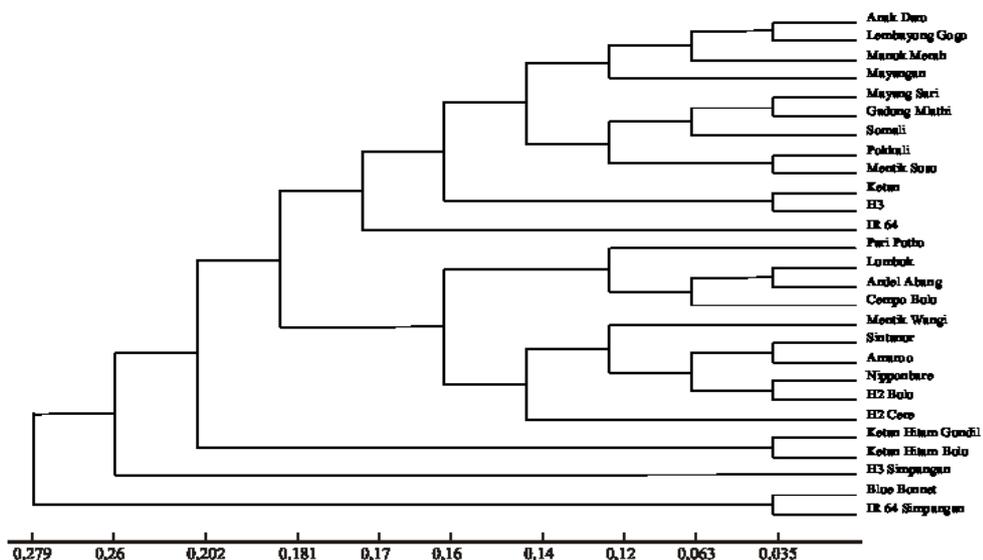


Gambar 2. Dendrogram UPGMA dari semua populasi

Adanya kelemahan pada metode RAPD juga perlu diperhatikan untuk meningkatkan kualitas analisis. Untuk mengurangi efek rendahnya tingkat reproduksibilitas penanda RAPD maka data yang digunakan adalah data yang

muncul konsisten pada lokus yang sama di setiap populasi. Jumlah lokus konsisten yang teramplifikasi pada analisis ini adalah 80 lokus dimana jumlah ini jauh lebih kecil daripada analisis semua populasi yang sudah dilakukan sebelumnya, yaitu 115 lokus. Ke-80 lokus-lokus tersebut adalah lokus pilihan yang selalu muncul pada aksesori yang digunakan. Persentase lokus polimorfik dan nilai keragaman genetik (*Nei's gene diversity*) bernilai 0 karena data biner yang digunakan adalah data yang 100% sama sehingga tidak ada polimorfisme antar lokus.

Analisis kekerabatan berdasarkan pita DNA spesifik menghasilkan dendrogram sebagaimana disajikan pada Gambar 3. Pada jarak 0,035 populasi terbagi menjadi 9 kelompok yang bedekatan, yaitu kelompok I ('Anak Daro', Lembayung Gogo), kelompok II (Mayangsari, Gadung Mlathi), kelompok III ('Pokkali', 'Mentik Susu'), kelompok IV (Ketan, H3), kelompok V ('Lumbuk', Andel Abang), kelompok VI ('Sintanur', 'Amaroo'), kelompok VII ('Nipponbare', H2 Bulu), kelompok VIII (Ketan Hitam Bulu, Ketan Hitam Gundil), kelompok IX ('Bluebonnet', 'IR 64' Simpangan).



Gambar 3. Dendrogram UPMGA dari pita DNA spesifik

Dari analisis kekerabatan dilakukan dengan berbagai macam bentuk dendrogram UPGMA didapati hasil kekerabatan yang konsisten. Aksesori-aksesori yang konsisten selalu berdekatan, yaitu 'Anak Daro' dan Lembayung Gogo, Mayangsari dan Gadung Mlathi, Lumbuk dan Andel Abang, 'Sintanur' dan

'Amaroo', 'Bluebonnet' dan 'IR 64' Simpangan dan Ketan Hitam Gundil' dan Ketan Hitam Cere.

Aksesi-aksesi yang tidak konsisten tersebut belum dapat dicari kesamaanya karena pada setiap analisis yang berbeda posisinya selalu berubah, sehingga perlu dilakukan pengujian dengan penanda RAPD dengan spektrum primer yang lebih luas atau dengan penanda yang lebih spesifik, seperti mikrosatelit.

KESIMPULAN

Terdapat keanekaragaman genetik pada aksesi yang diuji secara molekuler dan sifat agrobotani-agromorfologi. Hubungan kekerabatan antara pengujian molekuler dan agrobotani-agromorfologi sangat berbeda, hal ini disebabkan karena adanya interaksi lingkungan. Berdasarkan pengujian molekuler didapati hasil bahwa aksesi 'Anak Daro'-Lembayung Gogo, Mayangsari-Gadung Mlathi, Lumbuk-'Andel Abang', Ketan Hitam Bulu-Ketan Hitam Gundil, 'Bluebonnet'-H3 Simpangan adalah aksesi-aksesi yang konsisten berdekatan. Berdasarkan pengujian agrobotani-agromorfologi didapati bahwa 'Sintanur'- Mentik Susu dan H3- 'IR64' adalah aksesi yang berkerabat dekat.

Keanekaragaman dalam pemuliaan tanaman adalah hal yang mutlak ada, sehingga koleksi plasma nutfah padi yang ada hendaknya dirawat dengan baik dan mengikuti kaidah-kaidah konservasi plasma nutfah. Penelitian dengan melibatkan populasi terpilih dan primer serta sifat agrobotani-agromorfologi yang lebih luas perlu dilakukan agar mendapatkan informasi yang lebih lengkap, selain itu juga data yang diperoleh dari penelitian ini dapat disusun pangkalan datanya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian. Pelaksanaan penelitian ini tidak lepas dari bantuan dari:

1. Dr. Ir. Aziz Purwantoro, MSc dan Dr. Panjisakti Basunanda, S.P, M.P. selaku pengarah penelitian ini.
2. Ir. Supriyanta, M.P. yang telah memberikan aksesi padi yang beragam.
3. Sumbogo Waldijono, A.Md., Eko Nur Prasetyo, S.P. dan Tantri Swandari, S.Si selaku pembimbing kerja di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Doyle, J. J. dan J. L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation for fresh plant tissue . *Focus* 12:13-15.
- Suhartini, Tintin. 2010. Keragaman Karakter Morfologis Plasma Nutfah Spesies Padi Liar (*Oryza* spp.). *Buletin Plasma Nutfah* 1: 17-28.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 3321-23.
- Thomson, M.J. *et al.* 2006. "Genetic Diversity Analysis of Traditional and Improved Indonesian Rice (*Oryza sativa* L.) Germplasm Using Microsatelite Markers". *Theor. Appl. Genet.*
- Xu, Yunbin. 2010. *Molecular Plant Breeding*. Cambridge: CABI.