

PENGEMBANGAN MARKA SNAP MULTIPLEKS BERBASIS GEN PENGENDALI HASIL TINGGI DAN KETAHANAN HAWAR DAUN BAKTERI PADA TANAMAN PADI

ANDHIKA FAISAL MUBAROK



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Pengembangan Marka SNAP Multipleks Berbasis Gen Pengendali Hasil Tinggi dan Ketahanan Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, September 2025

Andhika Faisal Mubarak
A2503231007



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

RINGKASAN

ANDHIKA FAISAL MUBAROK. Pengembangan Marka SNAP Multipleks Berbasis Gen Pengendali Hasil Tinggi dan Ketahanan Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Dibimbing oleh SINTHO WAHYUNING ARDIE, REFLINUR, dan ANTONIUS SUWANTO.

Pemanasan global menjadi ancaman dalam produksi padi di Indonesia karena lahan produktif semakin berkurang dan meningkatnya serangan hama dan penyakit, seperti hawar daun bakteri (HDB). Salah satu upaya yang dilakukan adalah perbaikan genetik tanaman padi menggunakan varietas nasional Inpari 32 yang membawa gen ketahanan HDB dan *Code-qTSN4* yang membawa gen produktivitas tinggi dalam pembentukan populasi persilangan. Set marka molekuler berbasis *simple sequence repeat* (SSR) dan *sequence-tagged site* (STS) spesifik untuk gen *qTSN4* terkait produktivitas, serta *xa5* dan *Xa21* terkait ketahanan HDB telah digunakan dalam seleksi individu yang membawa gen target dalam populasi tersebut. Akan tetapi, marka SSR dan STS sulit diamati dengan sistem sederhana dan posisinya dengan gen *qTSN4* dan *Xa* masih jauh. Marka *single nucleotide amplified polymorphism* (SNAP) menjadi solusi karena menggunakan sistem sederhana dan letaknya dapat berada dekat atau di dalam gen target. Kelemahan sistem SNAP yang hanya mengandalkan ada atau tidaknya produk PCR adalah ketidakmampuan membedakan antara kegagalan PCR dan kinerja primer spesifik, sehingga diperlukan reaksi multipleks dengan sepasang primer kontrol internal seperti gen *elongation factor-1 α* (*EF1- α*) untuk memastikan PCR berjalan lancar. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengembangkan marka SNAP multipleks berbasis gen *qTSN4* dan *Xa* untuk akselerasi dan akurasi seleksi galur padi dengan produktivitas tinggi dan ketahanan terhadap HDB.

Penelitian terdiri atas dua percobaan. Percobaan pertama bertujuan merancang primer SNAP berbasis gen *qTSN4*, *xa5*, dan *Xa21*, serta mengoptimasi reaksi PCR SNAP multipleks dengan primer spesifik gen *EF1- α* . Keberadaan SNP pada Gen *qTSN4*, *xa5*, dan *Xa21* berhasil diidentifikasi melalui penyejajaran sekuens gen-gen tersebut dari genotipe padi yang telah dilaporkan sebelumnya. Tiga lokus SNP *non-synonymous*, yaitu *Spike 1* (G/A pada posisi ekson 2), *Spike 2* (C/T pada posisi ekson 4), dan *Spike 3* (G/A pada posisi ekson 4), berhasil diidentifikasi dengan menyejajarkan gen *qTSN4* dari genom padi IR64 dan Japonica. Penyejajaran gen *xa5* dari genom padi Nipponbare, IR24, dan IRBB5 mengidentifikasi dua lokus SNP yang bersebelahan (TC/AG) pada posisi ekson 1 yang menyebabkan translasi *non-synonymous*, sedangkan penyejajaran gen *Xa21* dari genom padi IR64 dengan IRBB21 mengidentifikasi satu lokus SNP (T/C pada posisi ekson 1) yang bersifat *synonymous*. Dua primer spesifik masing-masing alel dengan tambahan *mismatch* pada posisi kedua sebelum lokasi SNP dan satu primer universal berhasil dirancang pada ketiga gen tersebut dengan kualitas persen GC optimal serta pembentukan *hairpin*, *self-dimer*, dan *heterodimer* dengan peluang yang kecil. Suhu *annealing* 60°C dan konsentrasi primer *EF1- α* sebesar 0,5 μ M menghasilkan produk yang jelas antara produk primer SNAP dan kontrol internal PCR. Reaksi tersebut mampu membuktikan bahwa *Code-qTSN4*, IRBB5, dan IRBB21 masing-masing mempunyai genotipe positif untuk gen *qTSN4*, *xa5*, dan *Xa21*.



@akademi@ipb.ac.id

Percobaan kedua dilakukan untuk menguji kemampuan marka SNAP yang dirancang pada percobaan pertama dalam membedakan tetua Inpari 32 dan Code-*qTSN4* yang digunakan dalam pembentukan populasi F_2 dan BC_1F_1 . Setelah itu, marka SNAP digunakan untuk kegiatan seleksi individu tanaman yang membawa alel positif untuk gen-gen tersebut pada populasi F_2 dan BC_1F_1 . Hasil percobaan kedua menunjukkan bahwa Inpari 32 terbukti mempunyai genotipe positif untuk *Xa21*, serta tidak mempunyai genotipe positif untuk *xa5* dan *qTSN4*, sedangkan Code-*qTSN4* hanya mempunyai genotipe positif untuk *qTSN4*. Hanya marka SNAP *qTSN4* dan *Xa21* yang dapat digunakan untuk seleksi karena bersifat polimorfik untuk kedua tetua. Marka SNAP gen *qTSN4* dan *Xa21* menunjukkan pola sesuai dengan hukum Mendel, yaitu 1:2:1 pada populasi F_2 . Genotipe yang diseleksi adalah genotipe heterozigot dan homozigot untuk alel positif A gen *qTSN4* dan alel positif C gen *Xa21*. Penelitian ini mengidentifikasi 94 tanaman dengan alel positif untuk kedua gen tersebut dengan potensi mempunyai produktivitas dan ketahanan HDB yang perlu diuji lebih lanjut. Populasi BC_1F_1 menunjukkan pola yang sesuai dengan hukum Mendel 1:1 dengan marka SNAP gen *qTSN4* dan *Xa21*. Marka SNAP *qTSN4* dan *Xa21* merupakan marka untuk seleksi *foreground*. Genotipe yang diseleksi hanya bentuk heterozigot untuk *qTSN4* dan genotipe homozigot CC untuk *Xa21*. Kedua marka ini dapat menyeleksi sebanyak 18 tanaman. Dengan demikian, genotipe tanaman yang terseleksi membawa genotipe target pada kedua populasi yang dapat dikembangkan menjadi generasi lebih lanjut sampai menghasilkan calon varietas baru dengan produktivitas tinggi serta ketahanan HDB.

Kata kunci: Gen *qTSN4*, Gen *Xa*, SNP, *marker-assisted selection*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

SUMMARY

ANDHIKA FAISAL MUBAROK. Development of Multiplex SNAP Markers Based on High-Yield and Bacterial Leaf Blight Resistance Genes in Rice Plants. Supervised by SINTHO WAHYUNING ARDIE, REFLINUR, and ANTONIUS SUWANTO.

Global warming poses a threat to rice production in Indonesia due to the decreasing availability of productive land and the increasing incidence of pests and diseases, such as bacterial leaf blight (BLB). One of the efforts undertaken is the genetic improvement of rice plants using the national variety Inpari 32, which carries the BLB resistance gene, and Code-*qTSN4*, which carries a high-yield gene, in the formation of a crossing population. A set of molecular markers based on simple sequence repeat (SSR) and sequence-tagged site (STS) specific to the *qTSN4* gene related to productivity, as well as *xa5* and *Xa21* related to BLB resistance, have been used to select individuals carrying the target genes in the population. However, SSR and STS markers are difficult to detect using simple systems and are located far from the *qTSN4* and *Xa* genes. Single nucleotide amplified polymorphism (SNAP) markers offer a solution due to their simplicity and proximity to or within the target genes. The weakness of the SNAP system, which relies solely on the presence or absence of PCR products, is its inability to distinguish between PCR failure and specific primer performance, thus requiring a multiplex reaction with a pair of internal control primers, one of which the *elongation factor-1 α* (*EF1- α*) gene to ensure successful PCR. Therefore, this study aims to develop multiplex SNAP markers based on the *qTSN4* and *Xa* genes to accelerate and improve the accuracy of selecting rice lines with high productivity and resistance to BLB.

The study consisted of two experiments. The first experiment aimed to design SNAP primers based on the *qTSN4*, *xa5*, and *Xa21* genes, and to optimize the multiplex SNAP PCR reaction using specific primers for the *EF1- α* gene. The presence of SNPs in the *qTSN4*, *xa5*, and *Xa21* genes was successfully identified through sequence alignment of these genes from previously reported rice genotypes. Three non-synonymous SNP loci—*Spike 1* (G/A at exon 2), *Spike 2* (C/T at exon 4), and *Spike 3* (G/A at exon 4)—were identified by aligning the *qTSN4* gene from the IR64 and Japonica rice genomes. Alignment of the *xa5* gene from the Nipponbare, IR24, and IRBB5 rice genomes identified two adjacent SNP loci (TC/AG) at exon 1 that result in non-synonymous translation, while alignment of the *Xa21* gene from the IR64 and IRBB21 genomes identified one synonymous SNP locus (T/C at exon 1). Two allele-specific primers with an added mismatch at the second position before the SNP site and one universal primer were successfully designed for each of the three genes, with optimal GC content and minimal potential for hairpin, self-dimer, and heterodimer formation. An annealing temperature of 60 °C and *EF1- α* primer concentration of 0.5 μ M produced clear products between the SNAP primers and the internal PCR control. This reaction confirmed that Code-*qTSN4*, IRBB5, and IRBB21 each had positive genotypes for the *qTSN4*, *xa5*, and *Xa21* genes.

The second experiment was conducted to test the ability of the SNAP markers designed in the first experiment to distinguish the parental lines Inpari 32 and Code-*qTSN4* used in the formation of F₂ and BC₁F₁ populations. Subsequently, the SNAP markers were used to select individual plants carrying positive alleles for these genes in the F₂ and BC₁F₁ populations. The results of the second experiment showed that



Inpari 32 had a positive genotype for *Xa21*, but not for *xa5* and *qTSN4*, while Code-*qTSN4* had a positive genotype only for *qTSN4*. Only the SNAP markers for *qTSN4* and *Xa21* could be used for selection because they were polymorphic between the two parental lines. The SNAP markers for *qTSN4* and *Xa21* showed patterns consistent with Mendelian inheritance, namely 1:2:1 in the F₂ population. The selected genotypes were heterozygous and homozygous for the positive allele A of the *qTSN4* gene and the positive allele C of the *Xa21* gene. This study identified 94 plants with positive alleles for both genes, which have the potential for high productivity and BLB resistance and require further testing. The BC₁F₁ population showed a 1:1 Mendelian pattern with the SNAP markers for *qTSN4* and *Xa21*. The SNAP markers for *qTSN4* and *Xa21* served as foreground selection markers. The selected genotypes were only heterozygous for *qTSN4* and homozygous CC genotype for *Xa21*. These two markers were able to select 18 plants. Thus, the selected plant genotypes carry the target genotypes in both populations and can be developed into subsequent generations to produce new candidate varieties with high productivity and BLB resistance

Keywords: *qTSN4* gene, *Xa* gene, SNP, marker assisted selection



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PENGEMBANGAN MARKA SNAP MULTIPLEKS BERBASIS GEN PENGENDALI HASIL TINGGI DAN KETAHANAN HAWAR DAUN BAKTERI PADA TANAMAN PADI

ANDHIKA FAISAL MUBAROK

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

- 1 Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc.
- 2 Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.



Judul Tesis : Pengembangan Marka SNAP Multipleks Berbasis Gen Pengendali
Hasil Tinggi dan Ketahanan Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

Nama : Andhika Faisal Mubarok

NIM : A2503231007

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si.

Pembimbing 2:

Reflinur, S.P., M.Si., Ph.D.

Pembimbing 3:

Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, M.Sc.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.

NIP 19700404199702001

Dekan Fakultas Pertanian:

Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc., Agr.

NIP 196902121992031003

Tanggal Ujian: 4 Agustus 2025

Tanggal Lulus:

15 OCT 2025



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PRAKATA

Penulis memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat-Nya sehingga penelitian dengan judul “Pengembangan Marka SNAP Multipleks Berbasis Gen Pengendali Hasil Tinggi dan Ketahanan Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi” yang dilaksanakan pada bulan Juli 2024 hingga Januari 2025 dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si, Reflinur, S.P., M.Si., Ph.D., dan Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, M.Sc. selaku komisi pembimbing yang telah banyak memberikan saran dan masukan baik selama kegiatan penelitian berlangsung maupun selama proses penyusunan tesis ini. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si. sebagai Ketua Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, serta Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc. sebagai penguji luar komisi atas saran dan masukan yang diberikan. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Lembaga pengelola dana penelitian (LPDP) dari Kementerian Keuangan Republik Indonesia atas bantuan dana selama masa studi magister di Institut Pertanian Bogor.
2. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), PT Wilmar Padi Indonesia dan PT Syngenta Seed Indonesia, atas penggunaan bahan genetik tanaman padi yang dihasilkan melalui kerja sama riset ‘pembentukan galur harapan padi berdaya hasil tinggi dan tahan penyakit HDB’.
3. PT Wilmar Benih Indonesia atas fasilitas laboratorium yang telah diberikan.
4. Bapak Dr. Sigit Purwantomo, M.Si dan para staf di laboratorium bioteknologi PT Wilmar Benih Indonesia atas bimbingannya selama pengerjaan di laboratorium.
5. Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Pertanian (BBPSI) Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik (Biogen), atas fasilitas rumah kaca yang telah diberikan.
6. Dosen moderator kolokium Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc dan dosen moderator seminar Dr. Ir. Alinda Fitriany Malik Zain, M.Si atas saran dan masukan dalam penyusunan proposal dan makalah seminar.
7. Ayah Didi Sulaiman, Ibu Eka Tisah, dan Adik Jihan Fajira Anjani yang memberikan do’a, dukungan, serta semangat.
8. Sahabat sebimbingan, yaitu Marissa Vidya L. dan M. Reza Fahlevi atas bantuan selama penyusunan tesis.
9. Sahabat satu angkatan PBT 2023 yang selalu memberikan dukungan,
Semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat dan mampu memperkaya informasi di bidang pemuliaan dan bioteknologi tanaman.

Bogor, September 2025

Andhika Faisal Mubarak



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Hipotesis	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	4
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Botani Tanaman Padi	5
2.2 <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP)	7
2.3 Gen <i>qTSN4</i>	8
2.4 Gen <i>Xa</i>	9
2.5 Inpari 32	11
2.6 Code- <i>qTSN4</i>	12
2.7 Piramidisasi gen	13
III KONFIRMASI SNP, PERANCANGAN, DAN OPTIMASI MARKA SNAP MULTIPLEX GEN <i>qTSN4</i> , <i>xa5</i> , dan <i>Xa21</i>	14
3.1 Abstrak	14
3.2 Pendahuluan	15
3.3 Bahan dan Metode	16
3.4 Hasil dan Pembahasan	18
3.5 Simpulan	27
IV INTEROGRESI GEN <i>qTSN4</i> PADA INPARI 32 BERBANTU MARKA SNAP BERBASIS GEN <i>qTSN4</i> , <i>xa5</i> , DAN <i>Xa21</i>	28
4.1 Abstrak	28
4.2 Pendahuluan	29
4.3 Bahan dan Metode	30
4.4 Hasil dan Pembahasan	32
4.5 Simpulan	40
V PEMBAHASAN UMUM	41
VI SIMPULAN UMUM DAN SARAN	44
6.1 Simpulan	44
6.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	55
RIWAYAT HIDUP	63



DAFTAR TABEL

3.1	Karakteristik pimer SNAP dan primer kontrol (<i>EF1</i>) untuk deteksi gen <i>qTSN4</i> , <i>xa5</i> , dan <i>Xa21</i>	22
4.1	Daftar primer SNAP spesifik gen <i>qTSN4</i> , <i>xa5</i> , <i>Xa21</i> dan primer kontrol internal <i>EF1-α</i>	32
4.2	Uji <i>Chi-square</i> (χ^2) segregasi genotipe pada populasi F ₂ berdasarkan marka SNAP berbasis <i>Spike</i> 3 gen <i>qTSN4</i>	35
4.3	Uji <i>Chi-square</i> (χ^2) segregasi genotipe pada populasi F ₂ berdasarkan marka SNAP berbasis gen <i>Xa21</i>	36
4.4	Frekuensi genotipe tipe tetua dan rekombinasi pada populasi F ₂ persilangan Inpari 32 x Code- <i>qTSN4</i>	37
4.5	Uji <i>Chi-square</i> (χ^2) segregasi genotipe pada populasi BC ₁ F ₁ berdasarkan marka SNAP berbasis gen <i>qTSN4</i>	38
4.6	Uji <i>Chi-square</i> (χ^2) segregasi genotipe pada populasi BC ₁ F ₁ berdasarkan marka SNAP berbasis gen <i>Xa21</i>	39

DAFTAR GAMBAR

1.1	Diagram alir pada penelitian pengembangan marka SNAP multipleks berbasis gen pengendali hasil tinggi dan ketahanan hawar daun bakteri pada tanaman padi	4
2.1	Struktur morfologi tanaman padi. (A) Batang, (B) Malai, dan (C) Bunga (Chang <i>et al.</i> 1965)	6
2.2	Skema pemuliaan <i>near-isogenic line</i> (NIL) untuk keperluan pemetaan QTL terkait jumlah total <i>spikelet</i> per malai (Fujita <i>et al.</i> 2012)	8
2.3	Pengelompokkan gen <i>Xa</i> yang telah dikloning berdasarkan mekanisme kerjanya (Jiang <i>et al.</i> 2020; Yang <i>et al.</i> 2022)	9
2.4	Mekanisme kerja gen <i>Xa</i> sebagai <i>receptor-like kinase</i> dalam pertahanan terhadap infeksi <i>Xoo</i> (Jiang <i>et al.</i> 2020)	10
2.5	Mekanisme kerja gen <i>Xa</i> sebagai <i>SWEET</i> dan eksekutor dalam kerentanan dan pertahanan terhadap infeksi <i>Xoo</i> (Jiang <i>et al.</i> 2020)	11
3.1	Pemetaan posisi SSR gen <i>qTSN4</i> , <i>xa5</i> , dan <i>Xa21</i> pada genom Nipponbare	19
3.2	Struktur gen dan lokasi SNP yang digunakan sebagai dasar perancangan primer SNAP pada penelitian ini. (A) <i>qTSN4</i> , (B) <i>xa5</i> , dan (C) <i>Xa21</i>	20
3.3	Lokasi primer pada gen target. (A) satu set primer SNAP gen <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 1, 2, 3. (B) satu set primer SNAP gen <i>xa5</i> , (C) satu set primer SNAP gen <i>Xa21</i> , (D) satu set primer kontrol	23
3.4	Elektroforegram optimasi suhu annealing multipleks PCR marka SNAP. (A) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 1, (B) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 2, (C) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 3, (D) <i>xa5</i> , dan (E) <i>Xa21</i>	24

3.5 Elektroforegram optimasi konsentrasi primer kontrol internal pada PCR multipleks marka SNAP. (A) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 1, (B) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 2, (C) <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 3, (D) <i>xa5</i> , dan (E) <i>Xa21</i>	26
4.1 Skema persilangan Inpari 32 dengan Code- <i>qTSN4</i> untuk menghasilkan populasi F ₂ dan BC ₁ F ₁	31
4.2 Hasil elektroforesis genotyping Code- <i>qTSN4</i> dan Inpari 32 menggunakan marka SNAP berbasis gen. (A) <i>qTSN4 Spike</i> 1, (B) <i>qTSN4 Spike</i> 2, (C) <i>qTSN4 Spike</i> 3, (D) <i>xa5</i> , dan (E) <i>Xa21</i>	33
4.3 Hasil elektroforesis genotyping beberapa sampel F ₂ menggunakan marka SNAP berbasis gen <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 3	34
4.4 Hasil elektroforesis genotyping beberapa sampel F ₂ menggunakan marka SNAP berbasis gen <i>Xa21</i>	35
4.5 Hasil elektroforesis genotyping beberapa sampel BC ₁ F ₁ menggunakan marka SNAP berbasis gen <i>qTSN4</i> lokus <i>Spike</i> 3	38
4.6 Hasil elektroforesis genotyping beberapa sampel BC ₁ F ₁ menggunakan marka SNAP berbasis gen <i>Xa21</i>	39
5.1 Perbandingan metode <i>backcross</i> dengan metode konvensional dan berbantu marka (Hasan <i>et al.</i> 2015; Oladosu <i>et al.</i> 2019; Lubberstedt <i>et al.</i> 2023, Arra <i>et al.</i> 2024; Ramalingam <i>et al.</i> 2020)	43

DAFTAR LAMPIRAN

1 Hasil penyejajaran sekuen gen <i>Xa21</i> genotipe IR64 dan IRBB21	56
2 Hasil genotyping populasi F ₂ menggunakan marka SNAP gen <i>qTSN4</i> dan <i>Xa21</i>	60
3 Hasil genotyping populasi BC ₁ F ₁ menggunakan marka SNAP gen <i>qTSN4</i> dan <i>Xa21</i>	62