

Dosen:
Prof Dr Ir Rudy C Tarumingkeng, M F (Penanggung Jawab)
Prof. Dr. Ir. Zahrial Coto, M.Sc
Dr. Ir. Hardjanto, M.S

ANALISIS KUANTITATIF DAN MOLEKULAR DALAM RANGKA MEMPERCEPAT PERAKITAN VARIETAS BARU KEDELAI TOLERAN TERHADAP INTENSITAS CAHAYA RENDAH

Oleh:

Desta Wirnas
A361030041
desta_@plasa.com

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kedelai merupakan salah satu bahan pangan penting di Indonesia sebagai sumber utama protein nabati. Kontribusi kedelai sangat dominan dalam menu pangan terutama dikonsumsi dalam bentuk tempe, tahu, kecap, dan susu. Protein nabati dalam konsumsi pangan di Indonesia masih menunjukkan proporsi yang tinggi. Sumber protein nabati dalam menu pangan masih didominasi oleh kacang-kacangan terutama kedelai (Udin, Joko, dan Sri, 2002). Setiap tahun konsumsi kedelai dalam negeri terus meningkat yang ditunjukkan dengan meningkat jumlah impor kedelai sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk. Dengan demikian upaya pemenuhan kebutuhan kedelai melalui swasembada sangat strategis untuk dicapai.

Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk terjadi peningkatan permintaan terhadap kedelai. Selama ini produksi dalam negeri tidak mencukupi sehingga harus dipenuhi dengan mengimpor kedelai salah satu adalah dari negara China. Setiap tahun impor kedelai oleh Indonesia terus meningkat. Pada tahun 2002 Indonesia harus mengimpor sebanyak 700 ribu ton kedelai. Impor yang dilakukan terus menerus dengan jumlah yang semakin meningkat pada dasarnya tidak menguntungkan bagi bangsa Indonesia sehingga perlu peningkatan produksi kedelai bahkan harus mencapai swasembada kedelai. Pengembangan kedelai yang berproduktivitas tinggi masih merupakan langkah strategis untuk saat ini.

Swasembada kedelai dapat diwujudkan dengan cara peningkatan luas tanam dan penggunaan varietas unggul baru. Masalah yang dihadapi adalah keterbatasan lahan pertanaman untuk kedelai. Selama ini lahan yang digunakan untuk pertanaman kedelai adalah lahan padi sawah atau tanaman pokok lainnya. Setelah pertanaman padi lalu diikuti dengan penanaman kedelai oleh petani. Jadi Tidak ada lahan khusus yang digunakan untuk pertanaman kedelai sehingga luas areal panen dan produksi sangat

tergantung pada musim dan pola tanam tanaman pokok. Dengan demikian antara pola kebutuhan kedelai dengan pola produksi tidak terdapat sinkronisasi yang baik.

Alternatif pemecahan masalah ini adalah mengembangkan areal tanam baru yaitu dengan memanfaatkan lahan-lahan marjinal. Masalah yang dihadapi pada lahan marjinal adalah produksi rendah sehingga secara ekonomi tidak menguntungkan.

Salah satu lahan marjinal yang belum banyak dimanfaatkan adalah lahan yang ada di bawah tegakan tanaman perkebunan. Pemanfaatan lahan yang ada di bawah tegakan perkebunan untuk pertanaman kedelai dilakukan dengan cara tumpang sari. Pemanfaatan ini dapat dilakukan selama tanaman belum menghasilkan (TBM) yaitu sampai berumur 4 tahun.

Beberapa keuntungan dapat diperoleh dengan pengembangan kedelai dengan pola tumpang sari dengan tanaman pokok oleh perkebunan dan petani yang ada disekitar perkebunan. Bagi perkebunan, penanaman kedelai dapat meningkatkan kesuburan tanah karena kedelai dapat mengikat nitrogen sehingga akan mengurangi biaya untuk pemupukan. Disamping itu, penanaman kedelai juga dapat mengurangi biaya pemeliharaan kebun karena terintegrasi dengan biaya pemeliharaan kedelai.

Bagi petani atau penduduk di sekitar perkebunan, pemanfaatan lahan yang ada di bawah tegakan tanaman perkebunan juga akan memberikan dampak sosial dan ekonomi yang baik. Diharapkan pemanfaatan untuk pertanaman kedelai memberikan kesempatan kepada petani untuk peningkatan pendapatan.

Peluang untuk mengembangkan kedelai dengan pola tumpang sari atau tanaman sela menjadi tanaman yang adaptif terhadap intensitas cahaya rendah sangat besar mengingat lahan yang tersedia cukup luas. Di Indonesia terdapat tidak kurang dari 11.5 juta hektar areal perkebunan, dimana 33% dari luasan ini merupakan areal tanaman baru yang belum menghasilkan tapi sangat potensial untuk dimanfaatkan dalam menanam tanaman sela seperti kedelai atau tanaman pokok lainnya.

Masalah utama yang dihadapi dalam pemanfaatan lahan di bawah tegakan tanaman perkebunan adalah defisit cahaya baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Cahaya matahari sangat diperlukan oleh tanaman dalam berbagai proses fisiologi. Defisit cahaya mengakibatkan terganggunya berbagai proses metabolisme dalam tanaman akibat turunnya laju fotosintesis. Fotosintesis merupakan satu-satunya mekanisme masuknya cahaya matahari ke dalam tanaman sehingga dapat mengubah CO₂ menjadi berbagai senyawa organik yang digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kendala lain yang dihadapi dalam pemanfaatan lahan di bawah tegakan tanaman perkebunan adalah kekeringan, pH rendah, dan keracunan Aluminium.

Dengan demikian untuk dapat memanfaatkan lahan di bawah tegakan tanaman perkebunan (intensitas cahaya rendah) diperlukan pengembangan tanaman yang mampu tumbuh dan berkembang dengan baik serta berproduksi tinggi pada kondisi intensitas cahaya rendah. Usaha memperoleh varietas yang adaptif terutama terhadap intensitas cahaya rendah atau intensitas cahaya rendah perlu terus dilakukan.

Pemuliaan tanaman pangan sebagai tanaman sela yang adaptif pada kondisi intensitas cahaya rendah dan sebagai tanaman tumpang sari dengan tanaman perkebunan telah berhasil dilakukan untuk padi gogo (Harahap *et al.*, 1995; Harahap dan Lubis, 1995; suwarno dan Lubis, 1995). Pada kedelai juga telah dimulai oleh Sopandie, *et al.*, 2003a; Sopandie, *et al.*, 2003b yang menghasilkan informasi tentang fisiologi, molekular, dan genetika untuk karakter adaptasi terhadap intensitas cahaya

rendah. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelum yang dilakukan oleh Sopandie, *et al.*, 2003a dan Sopandie, *et al.*, 2003b.

Meskipun pemuliaan untuk ketahanan terhadap intensitas cahaya rendah sudah banyak dilakukan, tetapi belum ada dasar metode pemuliaan yang spesifik untuk ketahanan terhadap intensitas cahaya rendah, khususnya pada kedelai. Setelah penelitian ini selesai, diharapkan bisa diperoleh suatu metode pemuliaan yang mantap untuk kedelai sehingga bisa juga diterapkan untuk tanaman menyerbuk sendiri lainnya.

Guna mencapai hal itu maka dalam penelitian ini dilakukan dua pendekatan yaitu analisis kuantitatif dengan metode silang dialel dan analisis molekuler dengan mengidentifikasi QTL (*quantitative trait loci*) yang berasosiasi dengan ketahanan terhadap intensitas cahaya rendah. Analisis silang dialel digunakan untuk menduga pola pewarisan, parameter genetic, serta daya gabung umum (DGU) dan daya gabung khusus (DGK).

Tujuan

1. Mempelajari pola pewarisan karakter adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah pada kedelai
2. Menduga parameter genetik karakter agronomi yang berasosiasi dengan karakter adaptasi di bawah intensitas cahaya rendah pada kedelai
3. Mengetahui daya gabung umum (DGU) dan daya gabung khusus (DGK) karakter adaptasi di bawah intensitas cahaya rendah pada kedelai
4. Mengidentifikasi dan memetakan sejumlah marka RAPD yang berasosiasi dengan karakter adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah
5. Mengidentifikasi adanya QTL dan efek additif masing-masing QTL untuk adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah

Hipotesis

1. Diduga keragaman genetik yang diamati pada karakter agronomi muncul sebagai adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah disebabkan oleh pengaruh genetik
2. Keragaman genetik yang muncul pada karakter agronomi mungkin disebabkan oleh pengaruh additif, dominan, atau epistasis
3. Diduga terdapat paling tidak satu atau beberapa tetua yang memiliki DGU dan DGK yang terbaik
4. Diduga terdapat beberapa marka yang berasosiasi dengan karakter adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah
5. Diduga terdapat beberapa QTL adaptasi terhadap intensitas cahaya rendah

PENGARUH INTENSITAS CAHAYA RENDAH TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN

Intensitas cahaya rendah merupakan suatu kondisi yang membatasi cahaya yang diterima oleh tanaman yang ada dibawahnya baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Menurut Salisbury dan Ross (1992), cahaya matahari mempunyai peranan besar dalam proses fisiologi tanaman seperti fotosintesis, respirasi, pertumbuhan dan perkembangan, menutup dan membukanya stomata, dan perkecambahan tanaman. Cahaya matahari berperan penting dalam metabolisme tanaman hijau, sehingga ketersediaan cahaya matahari menentukan tingkat produksi tanaman. Tanaman hijau memanfaatkan cahaya matahari melalui proses fotosintesis. Intensitas cahaya rendah merupakan salah faktor yang membatasi proses fotosintesis.

Chozin *et al.*, (1998) melaporkan bahwa intensitas cahaya di bawah intensitas cahaya rendah tegakan karet umur dua dan tiga tahun setara dengan intensitas cahaya rendah paranet 25 dan 50%, sedangkan pada tegakan karet yang berumur 4 tahun sudah melebihi intensitas cahaya rendah paranet 75%.

Nilai rata-rata intensitas cahaya dibawah intensitas cahaya rendah tegakan karet berumur 2, 3, dan 4 tahun masing-masing adalah 237.6; 109.2; dan 38.2 kal/cm²/hari. Nilai intensitas cahaya intensitas cahaya rendah tegakan karet umur 2 tahun setara dengan intensitas cahaya rendah paranet 25% dan umur 3 tahun setara dengan intensitas cahaya rendah paranet 50% dan umur 4 tahun sudah melebihi intensitas cahaya rendah paranet 75% (chozin *et al.*, 1998; Harris, 1999).

Penurunan intensitas cahaya akan mempengaruhi pertumbuhan dan hasil tanaman. Beberapa hasil penelitian tentang pengaruh intensitas cahaya rendah terhadap pertumbuhan dan hasil telah dilaporkan oleh Anderson and Osmond, 1987; Mohr and Schopfer, 1995; Baharsjah, 1980; Chozin *et al.*, 1999; dan Daubenmire, 1974.

Di alam tanaman akan memberikan respon terhadap intensitas cahaya rendah (intensitas cahaya rendah). Respon pertumbuhan tanaman yang ternaungi dapat dilihat seperti pada Tabel 1 (Anderson and Osmond, 1987; Daubenmire, 1974).

Tabel 1. Karakter morfologi dan fisiologi tanaman ternaungi dibandingkan dengan tanaman yang mendapat cahaya penuh (Anderson and Osmond, 1987; Daubenmire, 1974)

No	Karakter morfologi	Karakter fisiologi
1	Batang lebih kecil karena xilem kurang berkembang	Kandungan klorofil lebih tinggi
2	Luas daun per tanaman lebih besar	Laju fotosintesis lebih rendah
3	Jarak antar buku lebih panjang	Laju respirasi lebih rendah
4	Jumlah cabang lebih sedikit	Kandungan air lebih tinggi
5	Sel-sel pada daun berukuran lebih besar sehingga helai daun menjadi lebih lebar dan tipis	Transpirasi lebih lambat
6	Endodermis lebih berkembang	C/N rendah
7	Kutikula dan dinding lebih berkembang	Kemampuan berbunga dan berbuah kurang bagus
8	Kloroplas lebih banyak dan berukuran lebih besar	Bunga muncul lebih lambat
9	Jaringan palisade kurang berkembang	Kurang tahan terhadap stress suhu, kekeringan, dan penyakit
10	Jaringan mesofil lebih berkembang	
11	Jarak antar sel lebih besar	
12	Akar lebih pendek dan rasio akar/tajuk lebih rendah	
13	Pada tanaman legume, bintil akar lebih sedikit dan lebih kecil	

Hasil penelitian Baharsjah (1980) menunjukkan bahwa penurunan intensitas cahaya sampai 40% setelah perkecambahan mengakibatkan penurunan jumlah buku, jumlah cabang, diameter batang, jumlah polong, serta hasil biji pada tanaman kedelai. Penurunan intensitas cahaya menjadi 40% sejak pengisian polong menyebabkan penurunan jumlah polong, hasil biji, dan kadar protein kedelai. Hasil penelitian Asadi *et al.* (1997) menunjukkan penurunan hasil biji 28 galur kedelai yang diuji di bawah intensitas cahaya rendah 33% berkisar antara 2-45% dari kondisi tanpa intensitas cahaya rendah.

Hasil penelitian Chozin *et al.*, (1998) pada padi gogo yang ditanam pada intensitas cahaya 109.2 kal/cm²/hari di bawah intensitas cahaya rendah karet umur 3 tahun memberikan hasil biji berkisar 5 –55 % dibawah tanaman kontrol, sedangkan yang ditanam di bawah tegakan karet umur 4 tahun pada intensitas cahaya 38.2 kal/cm²/hari memberikan hasil biji 5 – 35% dibawah kontrol.

MEKANISME ADAPTASI TANAMAN TERHADAP INTENSITAS CAHAYA RENDAH

Strees yang terjadi pada tanaman dapat menimbulkan kerusakan pada aparatus dan proses yang terlibat dalam fotosintesis. Stress intensitas cahaya yang terjadi pada aparat fotosintesis maupun proses fotosintesis dapat menyebabkan kerusakan. Jika dihubungkan lamanya terkena stress maka stress suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan yang tidak dapat balik (irreversible) dan kerusakan yang dapat balik (reversible). Stress intensitas cahaya rendah pada tanaman lebih banyak menyebabkan kerusakan pada proses metabolisme yang terlibat dalam proses fotosintesis. Jika factor stressnya dihilangkan maka tanaman akan tumbuh dan berproduksi normal kembali.

Cahaya matahari merupakan sumber energi bagi tanaman dan tanaman biasanya berkompetisi untuk mendapatkannya sehingga tanaman melakukan efisiensi penangkapan cahaya. Dengan cara *solar tracking* melalui pembentukan sudut daun, penyusunan sudut daun dalam tajuk tanaman, dan gerakan pemanjangan cabang ke arah cahaya. Pada daun dilakukan dengan perubahan anatomi dan morfologi daun seperti daun jadi tipis, lapisan palisade lebih tipis, adanya rambut daun, perubahan jumlah stomata, dan perubahan susunan sel bunga karang. Di tingkat sel dilakukan dengan cara pergerakan kloroplas dalam sel dan penambahan jumlah kloroplas yang berfungsi untuk peningkatan penangkapan cahaya.

Cahaya sangat besar peranannya dalam proses fotosintesis. Energi cahaya pada panjang gelombang 400-700 nm merupakan panjang gelombang yang menghasilkan fotosintesis paling efisien (Taiz and Zeiger, 1991).

Kemampuan tanaman untuk mengatasi cekaman intensitas cahaya rendah tergantung pada kemampuan tanaman untuk melakukan fotosintesis pada kondisi defisit cahaya. Menurut Hale dan Orcut (1997), adaptasi tanaman terhadap intensitas cahaya rendah pada dasarnya dilakukan dengan dua cara melalui :

1. peningkatan luas sebagai cara untuk mengurangi penggunaan metabolit
2. mengurangi jumlah cahaya yang ditransmisikan dan direfleksikan

Sedangkan Levitt(1980) membuat hipotesis bahwa adaptasi tanaman terhadap intensitas cahaya rendah dicapai melalui mekanisme :

1. Penghindaran (avoidence), berkaitan dengan perubahan anatomi dan morfologi yang dilakukan oleh daun guna meningkatkan efisiensi fotosintesis

2. Toleran, berkaitan dengan penurunan titik kompensasi cahaya

Menurut Mohr dan Scopfer (1995), adaptasi aparat fotosintesis meliputi adaptasi genetik dan adaptasi fenotip. Adaptasi genetik diperoleh karena adaptasi karakter morfologi selama proses evolusi. Adaptasi genetik juga berkaitan dengan peningkatan ekspresi gen-gen pengendali proses fotosintesis selama kondisi defisit cahaya. Adaptasi fenotip ditentukan oleh kemampuan tanaman melakukan berbagai modifikasi fenotip sebagai respon terhadap stress lingkungan.

Perubahan anatomi dan morfologi

Intensitas cahaya mempengaruhi anatomi daun termasuk sel epidermis dan sel mesofil. Perbedaan anatomi spesies *Sinapsis alba* yang ditumbuhkan pada kondisi agak gelap (5 watt/m²) dengan terang (90 watt/m²) dapat dilihat pada Gambar 2. Perubahan ini merupakan mekanisme untuk pengendalian kualitas dan kuantitas cahaya yang dapat dimanfaatkan oleh daun. Pada tanaman yang ditumbuhkan pada kondisi 5 watt ternyata mempunyai jaringan palisade dan mesofil yang lebih tipis sehingga membentuk daun yang lebih tipis dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh pada kondisi 90 watt (Mohr dan Schopfer, 1995). Perubahan lapisan palisade karena intensitas cahaya menyebabkan tanaman menjadi lebih efisien dalam menyerap dan menggunakan cahaya matahari (Taiz dan Zeiger, 1995).

Hasil penelitian Handayani (2002) menunjukkan mekanisme adaptasi secara anatomi adalah peningkatan kerapatan stomata, pengurangan ketebalan jaringan palisade dan parenchyma. Adaptasi morfologi pada kedelai adalah dengan meningkatkan tinggi tanaman dan luas daun, mengurangi jumlah cabang, jumlah buku, dan ketebalan daun.

Bentuk regulasi yang lain dalam penyerapan cahaya matahari oleh daun adalah perubahan orientasi daun terhadap cahaya matahari dan perubahan refleksi cahaya matahari oleh daun (Bjorkman dan Adams, 1989). Perubahan orientasi daun terhadap arah datangnya cahaya dan pengurangan refleksi cahaya oleh daun merupakan mekanisme tanaman untuk memaksimalkan penyerapan cahaya matahari. Tanaman yang tumbuh pada intensitas cahaya rendah cenderung untuk tumbuh mengikuti arah datangnya cahaya. Mekanisme seperti ini umum ditemui pada famili *Malvaceae* dan *Fabaceae*.

Perubahan kloroplas

Posisi dan orientasi kloroplas tergantung pada intensitas cahaya matahari. Kloroplas akan bergerak ke arah dimana cahaya bisa diserap secara maksimum. Pada intensitas cahaya rendah kloroplas cenderung untuk mengumpul pada kedua sisi dinding terdekat dan terjauh dari cahaya matahari (Bjorkman dan Adams, 1989; Salisbury dan Ross, 1995). Menurut Anderson dan Osmond (1987), tanaman yang ternaungi mempunyai kloroplas lebih banyak dan cenderung mengumpul dipermukaan daun sehingga daun tampak lebih hijau.

Beberapa spesies yang tumbuh di bawah intensitas cahaya rendah tegakan hutan ternyata mempunyai kloroplas yang lebih banyak dan berukuran lebih besar karena peningkatan densitas membran thylakoid. Pada tanaman yang ternaungi, terdapat perbedaan komposisi *appressed* membran (granal stack) dengan *non-appressed* membran (thylakoid stroma) (Anderson dan Osmond, 1987).

Perubahan Pigmen pada daun

Pigmen utama yang terdapat pada daun adalah klorofil a dan b, meskipun terdapat pigmen lain seperti karotenoid. Pigmen ini berfungsi sebagai antenna untuk menyerap dan mengumpulkan cahaya matahari. Menurut Taiz dan Zeiger (1991),

kandungan klorofil pada tanaman sangat dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Tanaman yang ternaungi mempunyai klorofil lebih banyak dibandingkan tanaman yang tidak ternaungi. Hasil penelitian Handayani (2002) dan Khumaida (2002) pada kedelai menunjukkan bahwa Tanaman yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah memiliki jumlah klorofil lebih banyak dibandingkan dengan tanaman yang peka. Menurut Bjorkman dan Adams (1989), Rasio klorofil a/b lebih rendah dan rasio xanthofil/karoten lebih tinggi pada tanaman yang adaptif terhadap intensitas cahaya rendah. Penurunan rasio klorofila/b terjadi karena peningkatan klorofil b pada tanaman yang ternaungi yang disebabkan oleh peningkatan protein klorofil a/b dalam LHCII. Disamping itu peningkatan ukuran antenna pada PSII akan mempertinggi efisiensi fotosintesis.

Jika dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh pada kondisi cahaya penuh maka tanaman yang ternaungi dapat menjadi adaptif karena mempunyai rasio klorofil a/b lebih rendah, jumlah unit PSII lebih tinggi dan LHCII lebih banyak dibandingkan dengan PSI (Anderson, Wah, dan Gunnar, 1993).

Perubahan fisiologi dan biokimia

Faktor lain yang membatasi fotosintesis adalah resistensi stomata terhadap CO₂ dan rendahnya aktivitas enzim Rubisco pada kondisi ternaungi. Pertumbuhan dan hasil tanaman pada kondisi intensitas cahaya rendah juga dipengaruhi oleh kemampuan tanaman untuk memfiksasi CO₂ yang ada di atmosfer. Jika konsentrasi CO₂ di udara rendah maka net fotosintesis antara yang ternaungi dengan yang kontrol hampir sama. Pada konsentrasi CO₂ di udara yang sama maka tanaman yang dinaungi akan memfiksasi CO₂ jauh lebih sedikit dibandingkan dengan yang tidak ternaungi karena resistensi stomata yang tinggi terhadap CO₂ sehingga net fotosintesisnya jauh lebih rendah dibandingkan tanaman yang mendapat intensitas cahaya penuh seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 3 (Mohr and Schoper, 1995; Salisbury dan Ross, 1995). Intensitas cahaya rendah mengakibatkan perubahan fisiologi dan biokimia pada tanaman. Rubisco adalah enzim yang berperan dalam fiksasi CO₂. Intensitas cahaya rendah mengakibatkan penurunan kandungan dan aktivitas enzim rubisco dan berbagai enzim lainnya (Bruggeman dan Danborn, 1993). Genotipe kedelai yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah memiliki aktivitas rubisco yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang peka pada kondisi ternaungi.

Lebih jauh intensitas cahaya rendah mengakibatkan penurunan karbohidrat dalam tanaman. Hal ini disebabkan oleh tingginya resistensi stomata dan sel-sel mesofil terhadap pertukaran gas CO₂ serta penurunan kandungan dan aktivitas enzim-enzim yang mengkatalis berbagai reaksi dalam fotosintesis.

ANALISIS KUANTITATIF MELALUI ANALISIS SILANG DIALEL

Upaya memperluas keragaman genetik atau membentuk keragaman baru dari karakter yang diinginkan dapat dilakukan melalui persilangan buatan. Rancangan persilangan yang memungkinkan hal ini adalah rancangan persilangan diallel. Rancangan persilangan diallel memungkinkan kombinasi persilangan yang lebih luas. Dengan membuat persilangan diallel maka sangat memungkinkan melakukan analisis genetik yang lebih luas seperti pendugaan heritabilitas, komponen ragam dan parameter genetik berdasarkan rumus yang dikembangkan oleh Hayman. Disamping itu persilangan diallel memungkinkan analisa daya gabung antar tetua baik daya gabung umum maupun daya gabung khusus menggunakan rumus yang dikembangkan oleh

Griffing (Singh dan Chaudhary, 1979; Auld *et al* 1980; Griffing dalam Wilson and George, 1980).

Asumsi yang harus dipenuhi dalam analisis diallel adalah segregasi merupakan segregasi diploid, FI dan resiproknya tidak berbeda atau tidak ada maternal efek, tidak terdapat interaksi antara gen dari alel yang berbeda, tidak ada peristiwa multialel, dan gen bebas terbagi secara acak diantara tetua.

Daya gabung merupakan kemampuan genotipe untuk mewariskan sifat yang dimilikinya pada keturunannya. Daya gabung umum adalah kemampuan suatu genotipe untuk menunjukkan kemampuan rata-rata keturunan bila disilangkan dengan sejumlah genotipe. Daya gabung umum merupakan ukuran penampilan rata-rata tetua. Daya gabung khusus diartikan sebagai kemampuan suatu kombinasi persilangan untuk menunjukkan penampilan keturunannya (Wilson and George, 1979).

Genotipe-genotipe yang mempunyai daya gabung umum tinggi dapat digunakan untuk menciptakan varietas sintetis pada tanaman menyerbuk silang, sedangkan yang mempunyai daya gabung khusus baik maka dapat dikembangkan menjadi varietas hibrida.

Di samping itu pendugaan daya gabung sangat berguna untuk menjelaskan nilai pemuliaan (*breeding value*) dari suatu populasi. Pengaruh daya gabung umum merupakan indikator penting bagi nilai pemuliaan suatu galur dari hasil persilangan. Pengaruh daya gabung umum yang berbeda disebabkan oleh aksi gen aditif dan interaksi aditif x aditif. Pengaruh daya gabung khusus yang berbeda disebabkan oleh keragaman non aditif (Li, *et al.*, 1995).

ANALISIS MOLEKULAR MELALUI PEMETAAN QTL

Teknik yang merupakan kombinasi antara pemuliaan konvensional dan bioteknologi yang berbasis marka molekular merupakan alat bantu strategis yang dapat mempersingkat waktu pencapaian tujuan pemuliaan tanaman dengan cara mempersingkat waktu seleksi. Pemuliaan konvensional memerlukan waktu yang lama dan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Korzun, 2004). Strategi potensial pemanfaatan bioteknologi dalam bidang pemuliaan adalah melalui *marka assisted selection* (MAS) dan rekayasa genetika (Bernardo, 2002; Irwansyah, 2004).

Pemuliaan yang memanfaatkan marka molekular sebagai MAS sehingga seleksi dapat dilakukan pada generasi awal dan hasil diperoleh yang lebih akurat. Pemanfaatan marker molekular yang berasosiasi dengan QTL merupakan strategi yang efisien untuk mendapatkan varietas baru yang berdaya hasil tinggi dan sekaligus membawa satu sifat ketahanan terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Korzun, 2004; Terry, *et al.*, 2000). Namun demikian, untuk dapat memanfaatkan marker molekular sebagai MAS dalam program seleksi terhadap karakter yang diinginkan maka marka yang berasosiasi dengan QTL yang mengendalikan karakter tersebut harus diidentifikasi terlebih dahulu. Identifikasi marka yang berasosiasi dengan QTL dapat dilakukan dengan analisis dan pemetaan QTL (Lee, 1995; Azrai, *et al.*, 2002; Ruswandi, *et al.*, 2002).

QTL (*quantitative trait loci*)

QTL (*quantitative trait loci*) adalah lokus yang mengendalikan karakter kuantitatif. Karakter kuantitatif diterjemahkan sebagai karakter dengan data yang mempunyai distribusi kontinu yang diperoleh dari hasil pengukuran atau penghitungan. Karakter ini dikontrol oleh banyak gen, namun masing-masing gen memberikan efek yang sama terhadap karakter tersebut. Analisis genetik beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa beberapa gen dapat mengontrol suatu karakter yang

menyebar kontinui. Penelusuran gen-gen yang mengontrol karakter kuantitatif berperan penting dalam analisis genom terutama untuk karakter kuantitatif. Prosedur identifikasi dan menentukan lokasi QTL dalam genom disebut pemetaan QTL.

Pemetaan QTL merupakan kombinasi antara analisis pautan kualitatif dengan analisis genetika kuantitatif. Pemetaan QTL meliputi konstruksi pemetaan genom dan penelusuran hubungan antara karakter (trait) dengan marka polimorfik. Hasil pemetaan QTL dapat menyediakan informasi tentang jumlah dan aksi gen yang mengontrol suatu karakter serta lokasinya pada kromosom. Peta QTL dapat juga dijadikan informasi awal bagi kegiatan kloning yaitu kloning berbasis pemetaan dari suatu gen yang berasosiasi dengan karakter tertentu (Surahman, 2002).

Umumnya sifat agronomi yang bernilai ekonomi tinggi yang dimiliki oleh tanaman, sebagai contoh ketahanan terhadap cekaman biotik seperti hama dan penyakit, maupun ketahanan terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, pH rendah, dan intensitas cahaya rendah dikendalikan oleh banyak gen sehingga biasa disebut karakter kuantitatif. Kontribusi masing-masing gen terhadap karakter tersebut tidak besar.

Pemetaan QTL

Peta genetika merupakan pengembangan konsep genetika klasik melalui biologi dan teknik molekular. Peta genetika tanaman merupakan model abstrak dari sejumlah gen atau marka genetik yang tersusun secara linear dalam kromosom atau genom. Gen yang dimaksud dapat seperti gen yang dimaksud oleh Mendel atau segmen DNA yang telah diketahui fungsinya. Marka atau yang dimaksud adalah dapat berupa marka morfologi, marka sitogenetik, marka protein, dan marka DNA (Liu, 1998).

1. Marka morfologi

Studi awal tentang pemetaan lebih banyak mempelajari karakter yang diwariskan secara sederhana seperti karakter yang dipelajari oleh Mendel, contohnya bentuk, warna dan ukuran biji. Marka morfologi ini dikontrol oleh satu gen spesifik (karakter kualitatif) sehingga sangat berguna sebagai marka genetik dalam pemetaan.

Menurut Surahman (2002), dalam pemetaan, karakter morfologi yang dikendalikan oleh banyak gen (karakter kuantitatif) tidak mudah digunakan karena kelemahan karakter morfologi yaitu:

1. ekspresi gen-gen yang mengontrol karakter kuantitatif sangat dipengaruhi oleh lingkungan.
2. Tingkat polimorfisme sangat terbatas sehingga marka morfologi tidak dapat menjelaskan keragaman genotipe antar individu tanaman

2. Marka sitogenetik

Perpasangan kromosom pada saat metafase telah digunakan untuk mempelajari evolusi genom dalam spesies atau antara spesies yang berkerabat karena kromosom yang berpasangan mempunyai kemiripan yang tinggi. Kelemahan marka sitogenetik adalah konfigurasi kromosom pada saat berpasangan sangat terbatas untuk digunakan sebagai marka genetik. Penggunaan marka sitogenetik sangat terbatas karena resolusinya rendah dan metodenya juga sulit.

Salah satu metode yang digunakan adalah *Chromosome Banding* atau *C-banding* untuk memperoleh pola pewarnaan yang spesifik pada kromosom. Sebagian band ditemukan pada kromosom mitotic. Variasi banding ini berasal dari DNA repetitive yang terdapat pada kromosom. Ternyata marka ini juga sulit digunakan karena variasi banding yang dihasilkan sangat rendah.

3. Marka protein

Protein merupakan produk gen. Alel atau gen yang berbeda akan menghasilkan protein dengan komposisi asam amino dan ukuran yang berbeda. Perbedaan muatan dan ukuran dapat dideteksi dengan mudah menggunakan gel elektroforesis sehingga dapat digunakan sebagai marka genetik. Istilah yang umum untuk marka protein adalah marka isozim.

Pada elektroforesis protein tidak tervisualisasi, tetapi enzim dapat tervisualisasi dalam bentuk pita dimana enzim itu ada. Isoenzim adalah bentuk alternatif enzim yang ukurannya berbeda tapi mempunyai aktivitas yang sama. Isoenzim yang berbeda dapat dideteksi dengan menggunakan elektroforesis dalam gel poliakrilamid. Kelemahan isoenzim sebagai marka adalah jumlahnya terbatas serta tergantung jaringan dan stadia pertumbuhan atau perkembangan tanaman

4. Marka DNA

Marka DNA adalah suatu sekuen pendek DNA yang menunjukkan adanya polimorfis antara individu berbeda dalam satu spesies. Marka DNA mempunyai tingkat polimorfisme yang sangat tinggi, jumlahnya tidak terbatas, tidak dipengaruhi oleh lingkungan, dan tingkat heritabilitasnya hampir 100%. Pada decade terakhir marka DNA lebih dikembangkan penggunaannya dalam pemetaan. Marka yang diperoleh dari DNA disebut juga marka molekular.

Suatu marka akan efektif jika marka dapat membedakan antara dua tetua yang berbeda genotipnya dan marka yang digunakan juga harus diwariskan pada keturunannya. Marka juga akan efektif jika dapat dideteksi dengan mudah dalam populasi yang diuji (Liu, 1998; Paterson, 1996).

Peta genetik dibuat berdasarkan rekombinasi homolog yang terjadi selama meiosis sehingga disebut juga peta meiosis. Jika dua atau lebih marka berdekatan dalam kromosom maka alel-alelnya cenderung untuk diwariskan secara bersama-sama. Frekwensi rekombinan yang terjadi antara marka atau lokus yang dijelaskan oleh marka digunakan untuk menentukan jarak keterpautan antara dua lokus atau marka. Beberapa factor yang menentukan kepadatan marka dalam peta adalah panjang genom, jumlah marka yang digunakan, distribusi marka yang polimorfis, distribusi marka dalam genom, distribusi pindah silang, jenis dan ukuran populasi serta strategi pemetaan yang dipilih.

Populasi pemetaan

Populasi yang digunakan untuk pemetaan disebut populasi pemetaan atau *mapping population*. Populasi yang digunakan adalah populasi alami atau populasi artifisial.

1. populasi alami

Kadang-kadang sulit untuk membedakan populasi alami dengan populasi artifisial. Populasi alami adalah populasi yang berasal dari persilangan terjadi secara alami dan acak tanpa campur tangan manusia. Parameter populasi seperti frekwensi alel, frekwensi genotipe, dan disequilibrium digunakan untuk mempelajari struktur genetik suatu populasi. Evolusi yang terjadi karena mutasi, seleksi, migrasi, rekombinasi, dan *genetic drift* berperan penting dalam sejarah evolusi suatu populasi. Populasi alami sering digunakan sebagai bahan pemetaan tanaman kehutanan atau perkebunan

Sebagai contoh pada beberapa spesies populasi alami dapat diperoleh dari persilangan/perkawinan secara acak termasuk selfing diantara semua genotipe atau spesies yang ada. Populasi pemetaan yang berasal dari populasi alami dapat berupa

half-sib families, campuran antara persilangan acak dengan selfing, dan generasi pedigree.

3. Populasi artifisial

Populasi artificial adalah populasi yang terbentuk dari persilangan yang terkontrol oleh campur tangan manusia. Hal yang paling penting adalah pemilihan tetua yang memeberikan keragaman maksimum pada tingkat fenotip sampai DNA pada karakter yang akan dipelajari.

Populasi artificial yang banyak digunakan dianalisis untuk pemetaan adalah F₂, NILs (near isogenic lines), RILs (recombinant inbreed lines), DH (double haploid), dan test cross. RILs merupakan generasi lanjut dari suatu populasi bersegregasi, missal F₆ atau F₇ (Anderson and Torp, 2002; Al-Chaarani *et al.*, 2002; Hoeck, *et al.*, 2003; Tasma and Shoemaker, 2003; Melchinger, 2003).

Diantara populasi yang ada, RILs dan DH adalah populasi yang banyak digunakan untuk analisis pemetaan dan identifikasi QTL. Walaupun memerlukan waktu lebih lama dan biaya banyak untuk menghasilkan, populasi RILs, tetapi populasi ini sudah memiliki homozigositas lebih dari 95%. Dengan homozositas yang tinggi, kemiripan RILs sudah lebih mengarah pada tetua betina atau tetua jantan (Liu,1998; Setiawan *et al.*, 2000; Tasma and Shoemaker, 2003).

Populasi DH juga banyak digunakan karena mirip dengan populasi RILs yaitu mempunyai homozigositas yang tinggi, walaupun rekombinasi yang terjadi lebih rendah dibandingkan dengan RILs. Populasi RILs mengalami rekombinasi melalui pembelahan meiosis pada setiap generasi, sedangkan populasi DH hanya sekali mengalami rekombinasi (Teng, *et al.*, 2004; Hu, 2004)

Struktur data untuk pemetaan dan identifikasi QTL

Dalam pemetaan dan identifikasi QTL diperlukan data fenotip dan data genotip. Data fenotip dapat diperoleh dari hasil pengamatan morfologi di lapang. Sebagai contoh untuk QTL ketahanan terhadap intensitas cahaya rendah, data fenotip didapat diperoleh dari hasil pengamatan morfologi tanaman yang ditanam di bawah intensitas cahaya rendah (Sopandie, *et al.*, 2003).

Data genotip dapat diperoleh dari pemanfaatan marka molekular yaitu dengan mengamati polimorfisme yang terjadi pada tingkat DNA. Marka molekular yang banyak digunakan dalam pemetaan QTL adalah RFLP dan SSR. Kedua marka ini merupakan marka kodominan sehingga dapat memisahkan individu heterozigot dengan individu homozigot. Marka yang bersifat dominan jarang digunakan seperti marka AFLP dan RAPD (Bernardo, 2002).

Fungsi pemetaan (*mapping function*)

Fungsi pemetaan umum digunakan dalam pemetaan karena frekwensi pemetaan tidak bersifat aditif. Fungsi pemetaan disusun untuk menentukan jarak antara lokus atau marka dan urutannya. Fungsi pemetaan disusun untuk mengatasi masalah yang berhubungan ukuran genom dan asumsi yang harus dipenuhi dalam pemetaan. Beberapa asumsi yang berhubungan dengan pemetaan antara lain apakah pindah silang terjadi secara acak atau tidak, ada atau tidak adanya pindah silang ganda, ada atau tidaknya interferensi disepanjang kromosom dalam genom. Fungsi pemetaan akan membantu mepermudah menentukan jarak dan urutan lokus dalam kromosom jika lokus yang akan dipetakan berjumlah banyak. Jika lokus yang akan dipetakan berjumlah sedikit maka dapat dilakukan dengan analisis pautan klasik

Idealnya gen atau marka tersusun secara linear dan posisi relatifnya dalam satu peta dapat dikuantifikasikan dalam model aditif. Sebagai contoh, jika terdapat 6

lokus, A, B, C, D, E, dan F dengan urutan lokus ABCDEF maka jarak lokus dapat dikuantifikasi menggunakan model:

$$\begin{aligned} \text{MAF} &= m_{AE} + m_{EF} \\ &= m_{AD} + m_{DE} + m_{EF} \\ &= m_{AC} + m_{CD} + m_{DE} + m_{EF} \\ &= m_{AB} + m_{BC} + m_{CD} + m_{DE} + m_{EF} \end{aligned}$$

dimana m_{ij} adalah jarak peta antara lokus i dan j yang merupakan frekwensi pindah silang antara lokus i dan j

Menurut teori, jarak dalam peta dapat diperoleh dengan cara:

1. marka sitologi, jika marka sitologi dapat divisualisasikan pada saat meiosis maka dapat digunakan untuk menduga jarak pemetaan. Jarak peta berdasarkan marka sitologi jarang digunakan untuk membangun sebuah pemetaan karena resolusinya sangat rendah.
2. marka genetik, jarak peta dapat diperoleh dengan menjumlahkan semua fraksi rekombinasi yang terjadi dari lokus yang ada dengan asumsi bahwa frekwensi pindah silang ganda sangat rendah bahkan tidak terjadi.
3. Konversi frekwensi rekombinasi ke dalam fungsi pemetaan. Hal ini dilakukan jika jumlah lokus atau marka yang ingin dipetakan sangat banyak.

Fungsi pemetaan yang telah dikembangkan sampai sekarang sangat banyak, diantaranya adalah fungsi Morgan, fungsi Haldane, fungsi Kosambi, fungsi Carter & Falconer, dan fungsi Felsestein. Diantara fungsi-fungsi ini yang umum digunakan adalah fungsi Haldane dan fungsi Kosambi (Liu, 1998).

Fungsi Morgan

Sturtevant (1913) dan Morgan (1928) telah memetakan gen-gen yang terdapat pada kromosom lalat *Drosophila*. Frekwensi rekombinan sebagai jarak lokus dalam peta diduga dengan fungsi $m = r$, dimana m = jarak (centimorgan) dan r = frekwensi rekombinan.

$M=r$ dikenal sebagai fungsi Morgan. Asumsi yang digunakan adalah segment yang dipetakan berukuran pendek dan peluang terjadinya pindah silang ganda sangat kecil atau tidak ada. Dengan demikian fraksi rekombinasi yang diharapkan sama dengan frekwensi pindah silang. Nilai frekwensi pindah silang yang diperoleh langsung menjadi jarak lokus dalam peta. Fungsi pemetaan Morgan hanya efektif jika genom yang dipetakan berukuran kecil, sedangkan jika genom berukuran berukuran besar serta terjadi pindah ganda maka fungsi Morgan tidak efisien digunakan.

Fungsi Haldane

Jika dibandingkan dengan fungsi Morgan, maka fungsi Haldane lebih luas aplikasinya karena fungsi Haldane mengasumsikan terjadi pindah silang ganda di sepanjang kromosom, tetapi tidak ada interferensi dan pindah silang terjadi secara acak sepanjang lengan kromosom. Berdasarkan asumsi ini kejadian pindah silang digambarkan dalam sebaran dan fungsi Poisson.

Jadi kelemahan fungsi Haldane tidak mengakomodir adanya interferensi pada saat pindah silang. Interferensi adalah besarnya pengaruh pindah silang pada satu segmen terhadap pindah silang di segmen yang lain dalam kromosom yang sama.

Berdasarkan asumsi dalam fungsi Haldane jarak lokus tidak bersifat aditif, misalnya untuk memetakan 3 lokus A, B, dan C dengan urutan ABC dapat dikuantifikasikan dengan:

$$\begin{aligned} \text{RAC} &= r_{AB} + r_{BC} - 2r_{ABrBC}, \text{ atau} \\ m &= -50 \ln(1-2r) \end{aligned}$$

Fungsi Kosambi

Fungsi Kosambi digunakan jika terjadi interferensi dan kejadian pindah silang tidak acak di sepanjang lengan kromosom. Fungsi Kosambi mengikuti apa yang dilaporkan oleh Muller (1916) dalam Liu (1998) bahwa terjadi interferensi dan kejadian pindah silang tidak acak di sepanjang lengan kromosom. Hal lain yang dijelaskan dalam fungsi Kosambi adalah bahwa interferensi tergantung pada ukuran segmen genom. Interferensi tidak ada jika genom berukuran besar. Interferensi meningkat jika ukuran genom berkurang. Jarak pemetaan menurut fungsi Kosambi adalah:

$$m = 25 \ln \frac{1 + 2r}{1 - 2r}$$

Tabel 2. Fungsi pemetaan berdasarkan persamaan fungsi pemetaan

	C (nilai coincidensi)	Keterangan
Morgan (1928)	0	Terjadi interferensi, tanpa pindah silang ganda
Haldane (1919)	1	Tanpa interferensi
Kosambi (1944)	2r	Interferensi merupakan fungsi dari frekwensi rekombinan
Carter & Falconer (1951)	8r ³	Terjadi interferensi
Felsenstein (1979)	K-(K-1)2r	K=1: tanpa interferensi K<1: interferensi positif K>1: negatif interferensi

Menurut Karlin and Liberman (1978) dalam Liu (1998), fungsi pemetaan Kosambi, Carter & Falconer, dan Felsenstein tidak valid digunakan untuk multilokus jika nilai K tidak antara 1-2. Fungsi pemetaan Haldane dan Felsenstein sangat valid untuk multilokus jika nilai K berada antara 1-2.

Kelompok pautan dan urutan marka

Linkage grouping (kelompok pautan) adalah mengelompokkan lokus atau marka ke dalam kelompok-kelompok pautan berdasarkan hubungan keterpautan marka-marka tersebut. *Linkage group* (kelompok pautan) adalah kelompok lokus yang diwariskan secara bersamaan berdasarkan analisis secara statistik.

Locus ordering (urutan lokus) didefinisikan sebagai susunan linear dari lokus-lokus atau marka dalam satu kelompok pautan. Susunan urutan marka dibuat berdasarkan jarak peta dengan satuan centimorgan (cm). Jarak peta merupakan jarak yang dihubungkan dengan nilai frekwensi rekombinan dan interferensi pindah silang.

Jika hanya membuat kelompok pautan dan susunan linear beberapa lokus saja maka dapat dilakukan secara manual dan sederhana seperti melakukan analisis pautan klasik, sedangkan jika banyak lokus dapat dilakukan dengan metode statistik berbasis komputer serta softwarena. Sampai saat telah tersedia banyak software dengan kelebihan masing-masing, diantara dapat dilihat pada Tabel 2.

Metode identifikasi QTL

Beberapa metode analisis data yang digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan lokasi QTL dalam kromosom adalah metode *interval mapping* dan *composite interval mapping* (CIM). Kedua metode ini dapat dilakukan dengan bantuan komputer dengan software yang telah banyak tersedia.

Metode interval mapping memperkirakan lokasi QTL berdasarkan frekwensi gabungan dari dua marker yang berdekatan, jadi lokasi QTL diapit oleh kedua marka tersebut. Ambang batas konvensional untuk menyatakan adanya QTL adalah LOD skor 3.0, yang berarti bahwa odds 1000:1 dengan tingkat nyata 0.01-0.1% . LOD tertinggi dalam interval marka merupakan indikasi bahwa suatu QTL sangat mungkin berada pada posisi tersebut. Pendekatan interval mapping selain dengan LOD, dapat juga menggunakan regresi. Masalah yang dihadapi baik dengan LOD maupun regresi adalah:

1. jumlah QTL tidak bisa ditetapkan
2. lokasi dan posisi QTL tidak bisa dipastikan
3. metode statistik yang mendukung sangat lemah, ketiga masalah ini berhubungan dengan:
 1. pautan QTL
 2. interaksi antar QTL
 3. Keterbatasan informasi yang tersedia tentang model QTL yang digunakan

Metode *CIM* merupakan kombinasi antara interval mapping dengan regresi linear berganda. Lokasi QTL diidentifikasi dengan metode interval mapping, sedangkan pengaruh dan aksi QTL dihitung dengan metode regresi berganda. Metode *CIM* memberikan resolusi yang lebih tinggi untuk menentukan lokasi, pengaruh, dan aksi masing-masing QTL dibandingkan dengan metode interval mapping.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Chaarani, G.R., A. Roustae, L. Gentzbittel, L. Mokrani, G. Barrault, G. Dechamp G., and A. Sarrafi. 2002. A QTL analysis of sunflower partial resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) and black stem (*Phoma macdonaldii*) by the use of recombinant inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 104: 490-496
- Andersen, S.B. and A. M. Torp. 2002. QTL mapping in crop plants, In. *Molecular Techiniques in Crop Improvement*. S. Mohan Jain, D. S. Brar and B. S. Ahloowalia (Eds) Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.
- Anderson, J. M. and C. B. Osmond. Sun-shade responses: Compromises between acclimation and photoinhibition. In D. J. Kyle, C. B. Osmond and C. J. Arntzen (*eds.*), *Topics in Photosynthesis: Photoinhibition*, pp 1-30.
- Asadi, B. dan D. M. Arsyad, H. Zahara dan Darmijati. 1997. Pemuliaan kedelai untuk toleran naungan. *Buletin Agrobio.* 1(2):15-20.
- Auld, D.L., L.E. Okeeffe, G.A. Murray, and J.H. Smith. 1980. Diallel analysis of resistance to the adult pea leaf weevil in peas. *Crop Science* 20 (6):760-765
- Azrai, M., Murdaningsih H. K., Neni R., Sugiono M., dan D. Ruswandi. 2002. QTL mapping of maize resistance to downy mildew in Bogor. *Zuriat.* 13(2): 113-120
- Baharsjah, J. S. 1980. Pengaruh naungan pada berbagai tahap perkembangan dan populasi tanaman terhadap pertumbuhan, hasil dan komponen hasil kedelai (*Glycine Max (L.) Merr.*). Disertasi Doktor, Fakultas Pascasarjana IPB, Bogor.
- Chozin, M. A., D. Sopandie, S. Sastrosumarjo dan Suwarno. 1999. *Physiology and Genetic of upland rice adaptation to shade*. Final report of Graduate team Reseach Grant, URGE Project. Directorate General of Higher Education, Ministry of Education and Culture. Jakarta

- Churchill GA, and Doerge RW. 1994. empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*. 138: 963 – 971
- Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative genetics*. 4th edition. Longman. Essex
- Gaspersz, Vincent, 1990. *Analisis Kuantitatif untuk Perencanaan*. Tarsito. Bandung. 418 h
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific of combining ability in relation to diallel crossing system *in* Wilson and George. 1982. combining ability for agronomic and fiber properties in cotton tocks resistant to pink bollworm. *Crop Science*. 20:563-566.
- Harahap, Z. dan E. Lubis. 1995. *Pengembangan padi gogo sebagai tanaman sela di perkebunan*. Balittan, Bogor
- Hoeck, J. A., Walter R. F., Randy C. S., Grace A. W., Susan L. J., and Silvia R. Cianzio. 2003. Molecular marka analysis of seed size in soybean. *Crop Sci*. 43: 68-74
- Hu, Zhong-Li, Ping Li, Ming Quan Zhou, Zhi-Hong hang, Linq Xia wang, Li-Zhuang Zhu and Ying-Guo Zhu. 2004. Mapping of quantitative trait loci (QTLs) for rice protein and fat content using doubled haploid lines. *Euphytica*. 135:21-27
- Irwansyah, E. 2004. *Peta Pautan Genetik Marka RAPD dan Analisis QTL Kelapa sawit Menggunakan Populasi Silang Balik Generasi Pertama menuju perbaikan Kualitas Minyak*. Disertasi IPB. Tidak dipublikasikan
- Karlin, S and U. Liberman. 1978. Classification and Comparison of multilocus recombination distribution. *Proc. Natl Acad Sci USA* 75: 6332-63336
- Korzun, V. 2004. Molecular marker and their application in cereal breeding. *Proceeding of the seminar Marker Assisted Selection: A Fast Track to Increase Genetic Gain In Plant and Animal Breeding*. Einbeck, Germany.
- Li, Y.M., Rufus L.C., Albert A.S., and Jerry F.M. 1995. Combining ability and heterosis estimate for kernel cadmium level in sunflower. *Crop Science* 35 (4): 1015-1019
- Liu, B.H. 1998. *Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. CRC Press. Boca. 611p
- Mather, S. K. and John L.J. 1982. *Biometrical Genetics: study of continuous variation*. Third edition. Chapman and Hall. London. 396p.
- Melchinger, A. E., H.H. Geiger, H. F. Utz And F. W. Schnell. Effect of recombination in the parent populations on the means and combining ability variances in hybrid populationsof maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet*. 106:32-340.
- Nugraha, U.S., Djoko, S.D., dan Sri W. 2002. *Pengembangan mutu kedelai untuk agroindustri*. *Prosiding lokakarya: penelitian dan pengembangan produksi kedelai di Indonesia*. Direktorat Teknologi Lingkungan , badan Pngkajian dan Penerapan teknologi. Hal 24-38
- Paterson, A. H. 1996. *Genome Mapping in Plants*. RGL. Company. Texas
- Ruswandi, D., D.M. Hautea, A. L. Carpena, R. M. Lantikan, A.M. Salazar, and A. D, Raymundo. 2002. Quantitative trait loci maaping of Philippine downy mildew resistance gene in mayze (*Zea mays* L.). *Zuriat*. 13(1): 27-34
- Salisbury, F.B. and C. W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4th edition. Wadsworth Pub.Co.

- Setiawan, A., G. Koch, S. R. Barnes, and C. Jung. 2000. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for resistance to cercospora leaf spot disease (*Cercospora beticola* Sacc.) in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *Theor Appl Genet.* 100:1179-1182
- Sopandie, D., M. A. Chozin, S. Tjitrosemito, dan Sahardi. 2003a. Kefektifan uji cepat ruang gelap untuk seleksi ketenggangan pada padi gogo. *Hayati* 10:91-95..
- Sopandie, D., M. A. Chozin, S. Sastrosumarjo, T Juaheti, dan Sahardi. 2003b. Toleransi terhadap naungan pada padi gogo. *Hayati* 10:71-75.
- Singh, R. K. and B. D. Chaudary. 1979. *Biometrical Methods in Quantitative Genetics Analysis.* Kalyani Publisher. New Delhi.
- Shoemaker, R.C., K.M. Polzin, L.L. Lorenzen, and J. E. Specht. 1996. Molecular mapping of soybean. In: *Soybean: Genetics, Molecular Biology, and Biotechnology.* D.P.S. Verma and R. C. Shoemaker (eds).
- Surahman, M. 2002. Peta genetik tanaman, prinsip dan aplikasinya. *Bul. Agron.* 30 (1): 27-30
- Tasma, I.M. and R. C. Shoemaker. 2003. Mapping Flowering time gene in soyben and their association with maturity (E) loci. *Crop Sci.* 43: 319-328.
- Terry, L.I., K. Chase, T. Jarvic, J Orf, L. Mansur, and K. G. Lark. 2000. Soybean quantitative trait loci for resistance to insect. *Crop Science.* 40: 375-381.
- Teng, S., Qian Qian, Dali Z., Yasufumi K., Kan F., Danian H., Lihuang Z. 2004. QTL analysis of leaf photosynthetic and related physiological traits in Rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica.* 135:1-7
- Van Heusden, A.W., M.C. Jongerius, J.M. Van Tuyl, Th. P. Straatthof, and J.J. Mes. 2002. Molecular assisted breeding for disease resistance in lily. *Acta Hort* 572: 131-138
- Wilson, F.D. and B. W. George. 1979. Combining ability in cotton for resistance to pink bollworm. *Crop Science.* 19 (6):834-836.