

**EFISIENSI SELEKSI BERDASARKAN PENANDA
PADA POPULASI F_2 DENGAN MODEL SATU LOKUS :
KAJIAN SIMULASI**

***EFFICIENCY BASED ON MARKER ASSISTED SELECTION FOR
 F_2 POPULATION WITH ONE LOCUS MODEL:
A SIMULATION STUDY***

Bambang Supriyanta

Tenaga Pengajar Program Studi Agroteknologi,
Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Yogyakarta Jl. SWK 104 Yogyakarta 55282

*email : bambang.supriyanta@upnyk.ac.id;

ABSTRACT

Simulation study was done to evaluate QTL mapping and selection efficiency of molecular markers utilisation in the F_2 population. The simulation study started with formulating genetic configuration which consists of chromosome maps and genetic models. Genetic model for diploid individuals is a model which consists two alleles for each locus. Genetic model that used is a mathematical model consists additive, dominance, and interactions with different effects at each locus, with maximum interaction occurs between two loci (digenic). QTL mapping was constructed by using single locus model, two loci model and multiple loci model. the effect of sample size, heritability, and marker density was observed. Three model was used to analyse QTL position, i.e. marker regression, interval mapping (IM) and composite interval mapping (CIM). Several parameters were specified in this study: genetic variability coefficient (GVC=15%), population mean ($\mu=10$), epistasis and genetic variance ratio ($f=0.1$), dominance and additive variance ratio ($r=0.25$), the ratio of AA:AD:DD is 3:2:1 with additive and dominance gene action, and its interaction. The first and last marker were located at each edge of 150 cM chromosome for each chromosome. The interval distance between markers were equal. Haldane's map function was used in this simulation. The simulation was performed by using the QTL Package on "R" software. With a heritability 0.2, the required sample size to indicate the interval markers associated with QTL were 50 for single locus model. The level of selection efficiency using molecular markers was higher than the phenotypic screening on. Efficiency level of selection based on molecular markers (E_m) is a function of the distance between the markers to QTL (d) which follows "reciprocal quadratic" function. Efficiency level of selection based on phenotype (E_f) is a function of heritability favourable traits which follows "reciprocal quadratic" function.

Keywords: efficiency, markers, QTL, simulation

ABSTRAK

Pendekatan simulasi digunakan untuk mengevaluasi pemetaan QTL dan efisiensi seleksi penggunaan penanda molekuler pada populasi F_2 . Studi simulasi dimulai dari perumusan konfigurasi genetik yang terdiri dari peta kromosom dan model genetik. Model genetik dirumuskan untuk individu diploid dengan model dua alel untuk tiap lokus (bialelik). Model genetik yang digunakan adalah model matematis terhadap nilai aditif, dominan, dan interaksi dengan pengaruh yang berbeda pada setiap lokus, dengan maksimum interaksi yang terjadi adalah antar dua lokus (digenik).

Pemetaan QTL dilakukan dengan menggunakan model satu lokus. Pengaruh yang dilihat adalah pengaruh jumlah individu, pengaruh nilai heritabilitas, dan pengaruh kerapatan penanda. QTL dipetakan dengan menggunakan metode regresi, pemetaan interval, dan metode pemetaan interval gabungan. Parameter yang ditetapkan pada simulasi ini adalah: *genetic variability coefficient* ($GVC=15\%$), rata-rata populasi ($\mu=10$), nisbah ragam epistasis dan ragam genetik ($f=0,1$), nisbah ragam dominan dan aditif ($r=0,25$), perbandingan AA:AD:DD adalah 3:2:1, dengan tindak gen aditif, dominan dan interaksinya. Lokus penanda pertama dan penanda terakhir terletak pada ujung segmen kromosom sepanjang 150 cM dengan jarak lokus antar penanda sama dan fungsi pemetaan menggunakan formula Haldane. Proses simulasi dijalankan dengan menggunakan perangkat lunak "R".

Pada nilai heritabilitas 0,2 untuk melihat interval penanda yang terkait dengan QTL pada model satu lokus, diperlukan jumlah individu 50. Tingkat efisiensi seleksi menggunakan penanda molekuler lebih efisien dibandingkan dengan seleksi fenotipe. Tingkat efisiensi seleksi penanda molekuler (E_m) merupakan fungsi dari jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL (d) yang mengikuti fungsi "*reciprocal quadratic*". Tingkat efisiensi metode pemilihan dengan sifat fenotipe (E_f) merupakan fungsi dari nilai heritabilitas sifat yang diminati, yang juga mengikuti fungsi "*reciprocal quadratic*".

Kata kunci : efisiensi, penanda, QTL,

PENDAHULUAN

Salah satu sumbangan bagi dunia pertanian khususnya dalam bidang pemuliaan tanaman adalah ditemukannya penanda molekuler. Penemuan penanda molekuler dianggap sebagai sarana penyelesaian masalah akibat keterbatasan dalam program pemuliaan konvensional. Penanda molekuler, khususnya penanda DNA mempunyai kelebihan antara lain tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan pengamatan dapat dilakukan pada semua tahap pertumbuhan tanaman, termasuk pada saat pembibitan, sehingga akan menghemat waktu (Fransia *et al.*, 2005).

Penanda molekuler yang pertama kali dikenal dan mulai berkembang di bidang genetika adalah penanda protein yang secara genetik dikenal sebagai penanda isozim (Vuylsteke, 1999). Penanda ini mempunyai kelemahan yaitu jumlahnya terbatas dan

beberapa sistem enzim tertentu dipengaruhi oleh kendala perkembangan jaringan. Dengan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan, maka pada awal tahun 1980-an ditemukan penanda molekuler yang berbasis DNA. Penanda DNA tersebut dapat menutupi kekurangan penanda isozim, karena jumlah yang tidak terbatas, dapat melingkupi seluruh genom tanaman, tidak dipengaruhi oleh perkembangan jaringan, sehingga dapat dikenali pada seluruh jaringan, dan memiliki kemampuan yang sangat tinggi dalam menangkap keragaman sifat antar individu (Collard *et al.* 2005).

Pemanfaatan penanda DNA sebagai alat bantu seleksi (*Marker Assisted Selection*, MAS) lebih menguntungkan dibandingkan dengan seleksi secara fenotipik. Seleksi dengan bantuan penanda molekuler didasarkan pada sifat genetik tanaman saja, tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Dengan demikian, kegiatan pemuliaan tanaman menjadi lebih tepat, cepat, dan relatif lebih hemat biaya dan waktu. Seleksi berdasarkan sifat fenotipik tanaman di lapangan memiliki beberapa kelemahan seperti yang disarikan oleh Lamadji *et al.* (1999), di antaranya (1) memerlukan waktu yang cukup lama, (2) kesulitan memilih dengan tepat gen-gen yang menjadi target seleksi untuk diekspresikan pada sifat-sifat morfologi atau agronomi, (3) rendahnya frekuensi individu yang diinginkan yang berada dalam populasi seleksi yang besar, dan (4) fenomena pautan gen antara sifat yang diinginkan dengan sifat tidak diinginkan yang sulit dipisahkan saat melakukan persilangan.

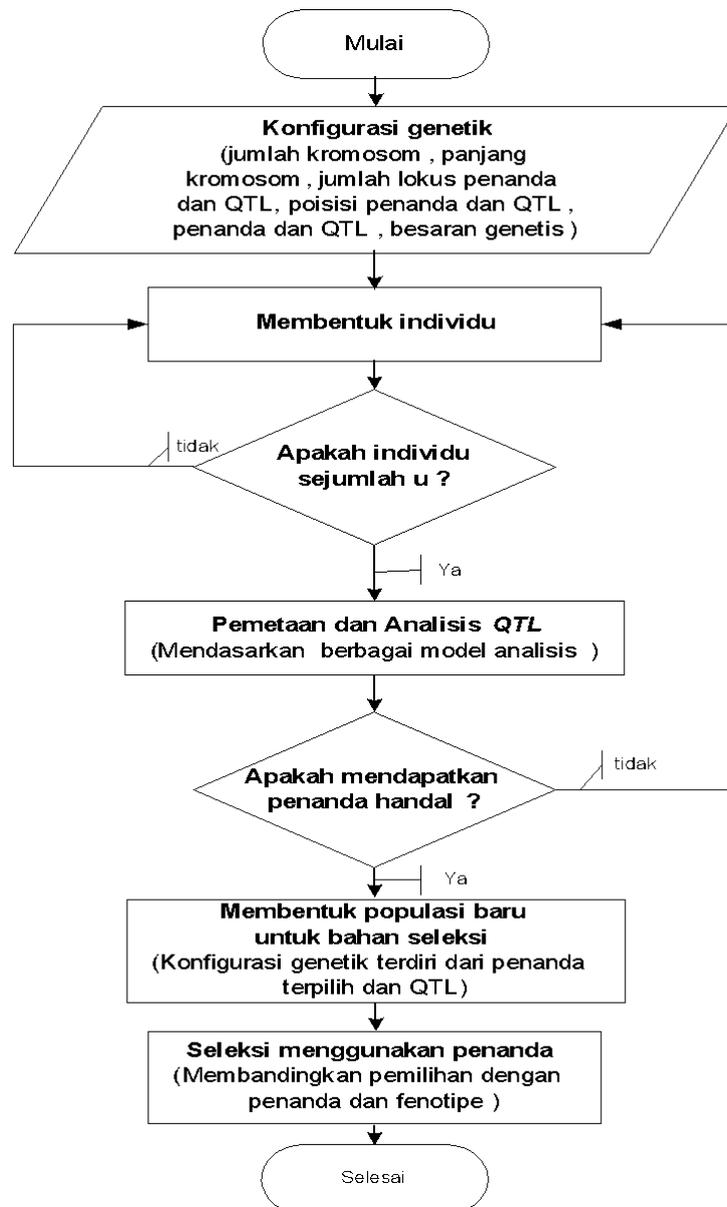
Keberhasilan penggunaan suatu penanda untuk seleksi dalam kegiatan pemuliaan bergantung pada tiga syarat utama yang harus dipenuhi, yaitu (1) peta genetik dengan jumlah lokus polimorfik yang memadai, sehingga dapat mengidentifikasi QTL atau gen-gen mayor dengan akurat, (2) penanda yang terkait erat dengan QTL atau gen mayor target pada peta genetik yang sudah dibuat, dan (3) kemampuan menganalisis sejumlah besar tanaman dalam waktu dan biaya secara efektif.

Konsep dasar keterkaitan antara penanda dengan sifat kuantitatif (*quantitative trait loci*, QTL) terletak pada konsep ketidakseimbangan pautan (*linkage disequilibrium*). Dalam hal ini tergantung dari jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL yang dapat dinyatakan dalam bentuk fraksi rekombinasi. Fraksi rekombinasi antara dua lokus yang berada pada lengan kromosom yang sama (berasosiasi) merupakan probabilitas dari gamet yang diwariskan kepada keturunan dalam bentuk rekombinan atau bentuk gamet yang bukan berasal dari tetua, yang terjadi akibat pindah silang.

Untuk perlu dikaji lebih mendalam tentang beberapa “skenario pemetaan” QTL yang dapat menghasilkan penanda DNA yang dapat digunakan untuk program pemuliaan. Di samping itu, perlu dikaji tingkat efisiensi pemuliaan menggunakan penanda dibandingkan pemuliaan menggunakan fenotipe. Pendekatan simulasi merupakan pilihan yang tepat untuk mengevaluasi hal ini dengan cara membuat berbagai skenario kondisi yang biasa terjadi di lapangan dengan waktu dan biaya yang lebih rendah. Dengan demikian, diharapkan akan tergambar prospek dan efisiensi pemuliaan tanaman menggunakan penanda molekuler dibandingkan dengan pemuliaan tanaman secara konvensional.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan berdasarkan metode simulasi, dengan tahap : (1) Menentukan konfigurasi genetik, (2) Membentuk individu, (3) Melakukan pemetaan dan analisis QTL, dan (4) Melakukan seleksi menggunakan penanda. Gambar alur penelitian selengkapnya terdapat pada Gambar 1. Konfigurasi genetik merupakan bentuk atau susunan genetik suatu individu. Dalam hal ini pembentukan konfigurasi genetik terdiri dari dua bagian yaitu, pembuatan peta kromosom dan penentuan besaran genetik untuk membentuk model genetik. Selanjutnya model genetik ini akan menentukan nilai fenotipe.



Gambar 1. Alur penelitian

Peta suatu kromosom adalah gambar skema dalam bentuk sebuah garis lurus yang memperlihatkan lokus-lokus yang ada pada kromosom itu. Untuk individu diploid, kromosom dalam keadaan berpasangan. Besaran yang diperlukan untuk membuat peta kromosom adalah jumlah kromosom, panjang kromosom, banyaknya lokus dalam masing-masing kromosom, dan jarak antar lokus. Andaikan sifat yang diminati dikendalikan oleh suatu lokus, menggunakan model dua alel untuk tiap lokus (*bialelik*), seperti populasi yang berasal dari persilangan dua tetua homozigot, maka alel untuk suatu lokus adalah A_1 dan A_2 . Dengan demikian ada tiga kemungkinan genotipe, yaitu A_1A_1 , A_1A_2 dan A_2A_2 . Demi kemudahan digunakan θ untuk melambangkan genotipe, yang tak lain merupakan banyak alel A_1 dikurangi 1, sehingga θ akan bernilai 1, 0 dan -1 (Hayman, 1954). Dalam simulasi, jarak dua lokus (cM) ditetapkan. Untuk pembentukan gamet perlu frekuensi rekombinasi yang dilambangkan dengan c . Frekuensi rekombinasi dapat diperoleh dengan menggunakan formula Haldane. Formula Haldane didasarkan pada asumsi tidak ada campur tangan (*no interference*) yang berarti terjadinya rekombinasi berlangsung independen, dengan formula $d = -\frac{1}{2} \ln(1 - 2c)$, sehingga $c = \frac{1}{2}(1 - e^{-2d})$ (Liu, 1988). Populasi F_2 merupakan populasi yang dibentuk dari hasil penyerbukan sendiri pada populasi F_1 , sehingga populasi F_2 adalah kuadrat larik gamet yang dihasilkan F_1 . Konfigurasi genetik F_1 dalam keadaan heterosigot untuk semua lokus dan dalam bentuk *coupling*, dan seleksi dilakukan pada populasi F_2 .

Model genetik QTL ditentukan untuk menghasilkan nilai fenotipe. Model genetik yang digunakan dikembangkan dari Nasrullah (1986) dan Nasrullah *et al.* (1995) dengan koreksi kecil yang dilakukan oleh Budisantosa (2012). Model ini merupakan pembangkitan nilai fenotipe berdasarkan susunan gen dengan memperhatikan pengaruh aditif, dominan dan interaksinya dengan asumsi populasi dalam keadaan keseimbangan (*equilibrium*). Untuk model satu lokus QTL di lokus A, maka pengaruh lokus tersebut adalah :

$$\theta_A \alpha_A + \left(\frac{1}{2} - \theta_A^2\right) \delta_A$$

dengan :

- α_A = pengaruh aditif untuk lokus A
- δ_A = pengaruh dominan untuk lokus A
- θ_A = banyaknya individu A dikurangi 1 pada lokus ke-i, Untuk individu A_1A_1 , A_1A_2 dan A_2A_2 , maka θ bernilai 1, 0 dan -1.

Untuk membangkitkan nilai genetik perlu ditentukan nilai parameter :

- GVC = σ_G^2 / m , (*genetic coefficient of variability*)
- $\sigma_A^2 = (1-f) \sigma_G^2 / (1+r)$
- $f = \sigma_1^2 / \sigma_G^2$,
- $r = \sigma_D^2 / \sigma_A^2$
- $\sigma_{AA}^2 : \sigma_{AD}^2 : \sigma_{DD}^2 =$ perbandingan 3 : 2 : 1
- $E \sim N(0, \sigma_E^2)$; $\sigma_E^2 = (\sigma_A^2 - h^2 \sigma_G^2) / h^2$,

h^2 = adalah nilai heritabilitas arti sempit
 Nilai fenotipe adalah $P=G+E$.

Pembangkitan sejumlah individu, dimulai dari individu pertama sampai individu ke- u . Untuk suatu individu dibangkitkan lengkap dengan susunan genotipe pada masing-masing lokus untuk semua kromosom. Setelah terbentuk susunan genotipe penanda dan QTL, maka genotipe QTL ini digunakan untuk membentuk nilai genetik dengan menggunakan model genetik dengan menambahkan pengaruh lingkungan yang mengikuti distribusi normal $(0, \frac{\sigma^2}{E})$ (Broman dan Sen, 2009).

Dalam pemetaan QTL, data yang diperlukan adalah susunan data genotipe penanda dan nilai fenotipe. Bagian pertama dari data adalah genotipe penanda pada setiap lokus pada semua kromosom. Untuk populasi F_2 dengan menggunakan penanda kodominan, genotipe penanda yang mungkin adalah tiga, sedangkan untuk populasi BC_1 , genotipe hanya dapat dibedakan menjadi dua, yaitu homozigot dominan dan heterosigot. Bagian kedua adalah nilai fenotipe dari sifat yang diminati, yang merupakan pengaruh gabungan dari nilai genetik dan pengaruh lingkungan. QTL dipetakan dengan menggunakan metode regresi (*marker regression*), pemetaan interval (*interval mapping*, *IM*) dan metode pemetaan interval gabungan (*composite interval mapping*, *CIM*). Pada metode *interval mapping*, interval yang digunakan adalah jarak antar penanda ke- i dan ke- $(i+1)$ yang dilambangkan dengan $M_{(i,i+1)}$, sedangkan untuk metode *composite interval mapping*, ditambah kofaktor yaitu penanda $M_{(i-1)}$, dan $M_{(i+2)}$.

Pemetaan QTL dilakukan dengan beberapa skenario yang terdiri dari pengaruh jumlah individu, kerapatan penanda, efek QTL. Parameter yang ditetapkan pada simulasi ini adalah : *genetic coefficient of variability* ($GVC = 15\%$), rata-rata populasi ($\mu = 10$), nisbah ragam epistasis dan ragam genetik ($f = 0.1$), nisbah ragam dominan dan aditif ($r = 0.25$), perbandingan AA:AD:DD adalah 3:2:1, peluang alel ($q : 0.5$) dengan tindak gen aditif, dominan dan interaksinya. Lokus penanda pertama dan penanda terakhir terletak pada ujung segmen kromosom sepanjang 150 cM pada masing-masing kromosom. Interval jarak antar lokus penanda sama. Fungsi pemetaan menggunakan formula Haldane dan nilai fenotipe menggunakan model genetik pada persamaan [16]. Proses simulasi dijalankan dengan menggunakan *Package QTL* pada perangkat lunak "R" (Broman dan Sen, 2009). Pemetaan QTL ini dilakukan pada populasi F_2 dan dijalankan sebanyak 500 ulangan. Pengujian penanda yang terkait dengan QTL dilaksanakan dengan melihat nilai LOD (*LOD score*) untuk masing-masing penanda. Penanda dengan nilai LOD sama dengan atau lebih besar dari 3 dinyatakan sebagai penanda yang terkait dengan QTL.

Pada model satu QTL, beberapa skenario pemetaan dilakukan untuk melihat pengaruh jumlah individu dan kerapatan penanda, dengan asumsi hanya terdapat satu QTL pada genom. Sehingga pengaruh gen yang terjadi hanya ada dua yaitu, pengaruh aditif dan pengaruh dominan. Untuk melihat pengaruh jumlah individu, maka metode simulasi dilaksanakan dengan menggunakan 25, 75, 100, dan 200 individu. Parameter lainnya adalah jarak antar penanda 5 cM yang terletak pada satu kromosom (sehingga jumlah penanda ada 31 penanda), lokus QTL pada posisi 75 cM, dengan nilai heritabilitas (h^2) : 0,2. Sedangkan untuk melihat pengaruh kerapatan penanda, maka metode

simulasi dilaksanakan dengan menggunakan berbagai interval antar penanda, yaitu 2 cM, 5 cM, 10 cM, dan 15 cM pada satu kromosom. Lokus QTL diletakkan pada posisi 75 cM, jumlah individu 100, dan nilai heritabilitas (h^2) : 0,2.

Seleksi berdasarkan penanda dilaksanakan setelah mendapatkan interval penanda yang dapat dikaitkan dengan keberadaan QTL. Seleksi dilaksanakan pada semua skenario model yang digunakan pada pemetaan QTL pada model satu QTL. Seleksi diawali membentuk populasi F_2 dengan jumlah individu yang sebesar 5.000. Populasi ini mempunyai parameter yang sama dengan populasi yang digunakan pada pemetaan QTL. Seleksi dilaksanakan untuk memilih individu-individu dengan penampilan terbaik sesuai dengan sifat yang diminati, sehingga terbentuk populasi individu terpilih (*selected population*). Seleksi dilakukan dengan tingkat seleksi sebesar 10% dari total individu anggota populasi. Seleksi dilakukan dengan dua cara yaitu, berdasarkan nilai fenotipe dan pemilihan berdasarkan penanda. Untuk model satu lokus seleksi hanya dilakukan berdasarkan satu penanda.

Dengan menggunakan model genetik, nilai genotipe pada populasi bisa diketahui. Nilai genotipe ini merupakan suatu nilai yang menggambarkan keadaan individu yang sesungguhnya dan diwariskan kepada keturunannya. Dengan menyimak nilai genotipe ini, bisa ditentukan kehandalan apakah suatu metode seleksi (seleksi penanda atau fenotipe). Di samping itu dengan melihat nilai genotipe bisa ditentukan tingkat efisiensi suatu metode seleksi. Jumlah individu terpilih ditentukan sebesar 10% (sejumlah 500) dari total jumlah individu dalam populasi (sejumlah 5000).

sehingga modelnya menjadi :

$$Y_{ij} = \beta_i 500 + \varepsilon_{ij}$$

dengan $i = 1, 2$ dan $j = 1, 2, \dots, u$.

Y_{ij} = banyak individu yang seharusnya terpilih; $i = 1$ untuk seleksi berdasarkan penanda dan $i = 2$ untuk seleksi berdasarkan nilai fenotipe.

β_i = efisiensi seleksi ke i .

Hipotesis yang digunakan adalah:

$H_0 : \beta_i = \beta$ untuk menguji apakah metode seleksi sama tingkat efisiensinya

$H_0 : \beta_1 = \beta_2$ untuk menguji apakah salah satu metode seleksi lebih efisien.

Uji hipotesis dilaksanakan dengan menggunakan dua rerata Uji Satterthwaite dengan asumsi variannya tidak homogen dengan tingkat beda nyata sebesar 5%.

Jika salah satu metode seleksi terbukti lebih efisien, maka perlu dilanjutkan dengan pengujian selanjutnya untuk menentukan tingkat efisiensi seleksi. Pengujian tingkat efisiensi suatu metode seleksi dengan cara membandingkan metode seleksi tersebut dengan seleksi menggunakan nilai genotipe, dengan cara menentukan besaran sebesar Δ_i (besaran untuk menentukan tingkat efisiensi yang dikehendaki). Untuk metode seleksi dengan penanda, maka Δ_i merupakan fungsi dari d_i , yang merupakan jarak antar lokus penanda dengan lokus QTL ($\Delta_i = f(d_i)$), sedangkan untuk metode

seleksi dengan fenotipe, maka Δ_i merupakan fungsi dari h_i , yang merupakan nilai heritabilitas dari QTL ($\Delta_i = f(h_i)$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh jumlah individu

Jumlah individu berhubungan dengan banyaknya genotipe yang mungkin terjadi yang dipengaruhi oleh jumlah lokus QTL. Jumlah individu yang diperlukan pada umumnya sebanding dengan jumlah lokus yang mengendalikan sifat yang diminati. Selain itu jumlah individu akan berpengaruh pada biaya untuk diperlukan untuk *genotyping* di laboratorium. Kondisi yang diinginkan adalah minimum jumlah individu tetapi masih dapat mencakup semua kemungkinan genotipe yang terjadi dalam populasi pemetaan.

Tabel 1. Interval letak penanda pada berbagai jumlah individu dan berbagai metode pemetaan QTL.

Jumlah individu	Interval letak penanda (cM)		
	Regresi sederhana	Pemetaan interval	Pemetaan interval gabungan
25	-	-	-
50	75 *)	75 *)	75 *)
100	60 – 90 *)	60 – 90 *)	65 – 85 *)
200	45 – 105 *)	45 – 105 *)	65 – 85 *)

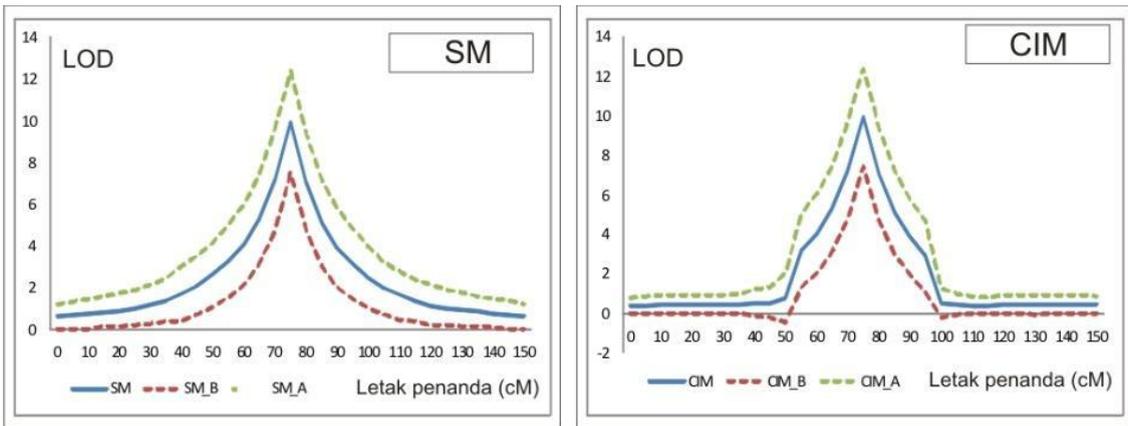
Keterangan : *) letak penanda dengan nilai LOD di atas 3

Pada skenario ini, lokus QTL diletakkan pada posisi 75 cM dengan jumlah individu yang digunakan adalah 25, 50, 100, dan 200 individu. Tabel 1. menunjukkan interval letak penanda yang terkait dengan QTL pada berbagai jumlah individu dan pada berbagai metode pemetaan QTL. Letak penanda yang terkait dengan QTL ditunjukkan dengan nilai LOD > 3. Interval letak penanda dapat berupa satu titik posisi penanda maupun dalam bentuk interval. Jika letak penanda dalam bentuk interval, maka interval ditentukan dengan batas bawah sampai dengan batas atas dalam satuan cM.

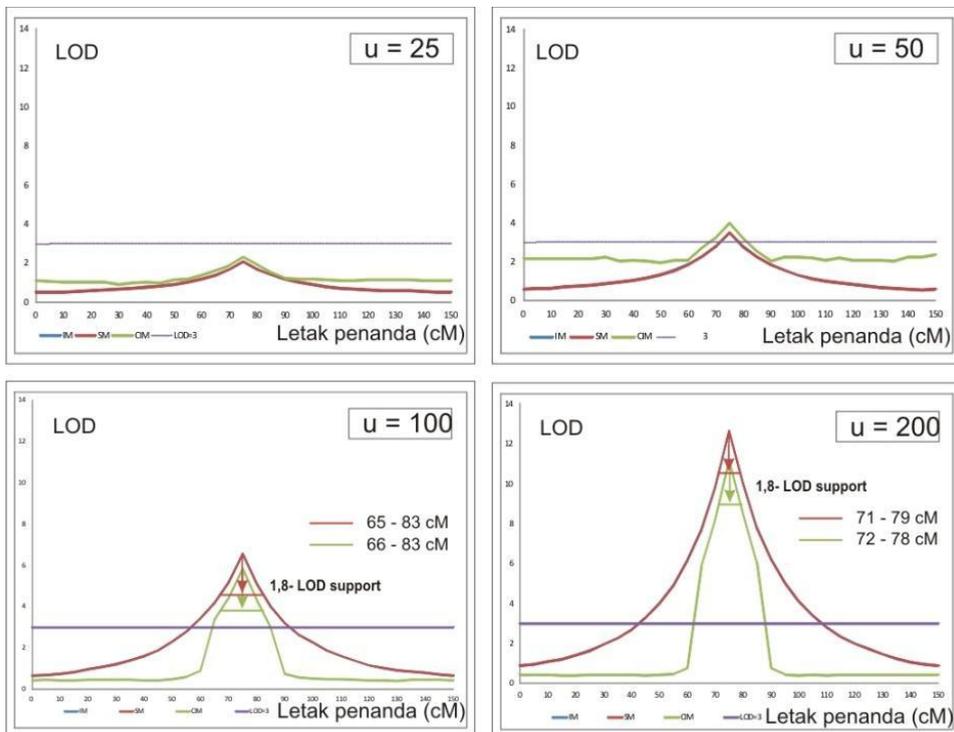
Pada jumlah individu 50, sudah terdapat posisi penanda dengan nilai LOD > 3, yaitu pada posisi 75 cM pada semua metode pemetaan QTL. Interval penanda dalam bentuk interval baru terjadi pada jumlah individu 100, yaitu pada posisi 60-90 cM dan cenderung meluas seiring dengan meningkatnya jumlah individu yang digunakan. Hal ini disebabkan karena dengan bertambahnya jumlah individu, terdapat lebih banyak penanda-penanda yang dapat dikaitkan dengan keberadaan QTL.

Gambar 2, menunjukkan nilai rerata dan simpangan baku nilai LOD pada saat program simulasi dilakukan. Program simulasi untuk pemetaan QTL dijalankan sebanyak 500 ulangan untuk semua metode pemetaan. Nilai rerata dan simpangan baku dihitung pada semua letak penanda yang digunakan, yaitu pada setiap interval 5 cM. Gambar 3, menunjukkan nilai 1,8 *LOD support interval* merupakan interval penanda yang

diperoleh dengan menarik garis sepanjang 1,8 LOD dari nilai puncak LOD. Nilai ini juga menunjukkan interval penanda yang dapat dikaitkan dengan keberadaan suatu QTL. Interval penanda berdasarkan pada nilai *LOD support interval* pada jumlah individu 200 cenderung lebih sempit dibandingkan pada jumlah individu 100 (Gambar 6). Menurut (Zeng) jumlah individu yang dibutuhkan pada pemetaan QTL tergantung dari nilai heritabilitas sifat yang diminati, pengaruh QTL yang akan dideteksi dan konfigurasi dari QTL, yang terdiri dari jumlah QTL, sebaran pengaruh aditif, pengaruh dominan, maupun interaksinya. Untuk model satu QTL, dengan nilai heritabilitas 0,6; tidak gen aditif, dan peran pengaruh QTL terhadap varian genotipe sebesar 50% maka jumlah contoh individu yang dibutuhkan adalah 55.



Gambar 2. Grafik rerata dan simpangan nilai LOD terhadap letak penanda pada metode SM dan CIM



Keterangan : u = jumlah individu, IM =interval mapping, SM =single marker, CIM =composite interval mapping.

Gambar 3. Grafik Nilai LOD terhadap letak penanda pada berbagai jumlah individu

2. Pengaruh kerapatan penanda

Kerapatan penanda menunjukkan banyaknya penanda pada suatu kromosom. Besarnya kerapatan penanda ditentukan dengan jarak antar penanda dalam suatu kromosom. Penanda akan mempunyai kerapatan yang tinggi, jika jarak antar penanda semakin rapat. Pada penelitian ini ditentukan panjang segmen kromosom adalah 150 cM, dengan kerapatan penanda yang digunakan adalah 76 penanda (jarak antar penanda 2 cM), 31 penanda (jarak antar penanda 5 cm), 16 penanda (jarak antar penanda 10 cM) dan 11 penanda (jarak antar penanda 15 cM).

Pada skenario ini, lokus QTL diletakkan pada posisi 75 cM. Tabel 2. menunjukkan interval letak penanda yang dapat dikaitkan dengan keberadaan QTL, yaitu penanda-penanda dengan nilai LOD > 3. Pada kerapatan penanda yang rapat (jarak antar penanda 2 cM) menunjukkan interval interval yang dapat dikaitkan dengan keberadaan QTL lebih lebar, yaitu 56-92 cM pada metode regresi sederhana maupun metode pemetaan interval, sedangkan pada metode pemetaan interval gabungan, interval penandanya pada interval 64-82 cM. Pada kerapatana penanada yang semakin jarang (jarak antar penanda semakin lebar) maka semakin sedikit penanda yang bisa dikaitkan dengan QTL.

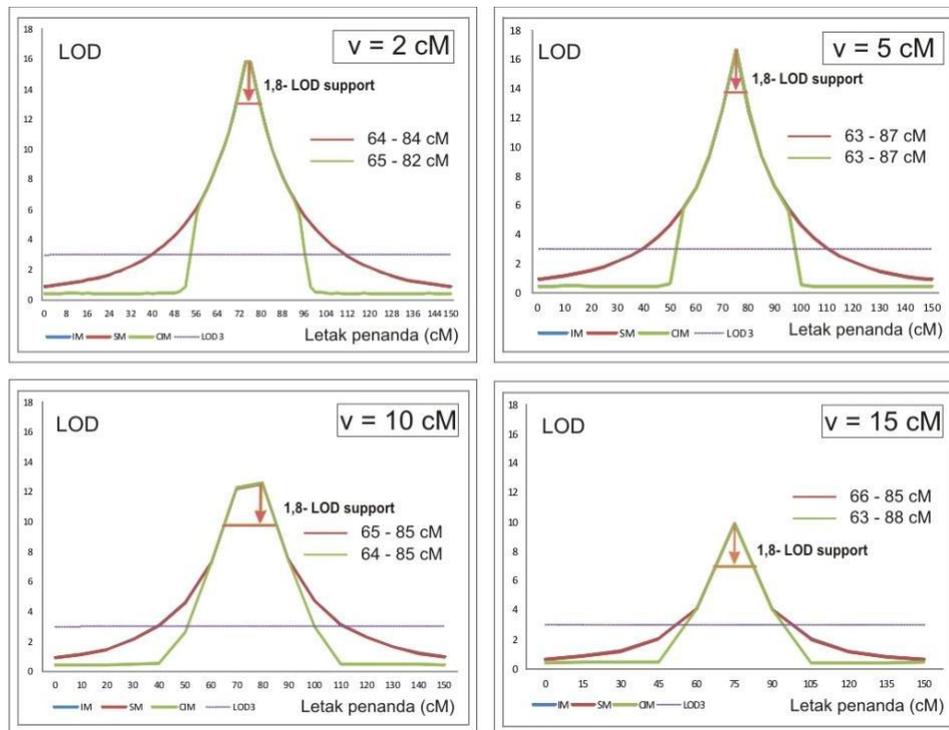
Tabel 2. Interval letak penanda pada berbagai kerapatan penanda pada berbagai metode pemetaan QTL.

Kerapatan penanda /Jarak antar penanda (cM)	Interval letak penanda (cM)		
	Regresi sederhana	Pemetaan interval	Pemetaan interval gabungan
2	56 – 92 *)	56 – 92 *)	64 – 82 *)
5	60 – 90 *)	60 – 90 *)	65 – 85 *)
10	60 – 80 *)	60 – 80 *)	60 – 80 *)
15	60 *)	60 *)	60 *)

Keterangan : *) letak penanda dengan nilai LOD di atas 3

Gambar 4. menunjukkan nilai LOD pada berbagai kondisi kerapatan penanda, jika dilihat dari interval antar penanda yang mempunyai nilai LOD di atas 3 tidak banyak perbedaan. Perbedaan yang muncul hanya terjadi pada metode pemetaan interval gabungan yang mempunyai lebar interval lebih sempit jika dibandingkan dengan dua metode pemetaan lainnya. Jika diperhatikan lebih rinci pada masing-masing kerapatan penanda, tampak bahwa dengan makin sempitnya jarak antar penanda maka makin banyak penanda yang bisa dikaitkan dengan keberadaan QTL. Sebaliknya jika jarak antar penanda yang digunakan terlalu lebar, misalkan 15 cM, maka hanya sedikit jumlah penanda yang bisa dikaitkan dengan QTL, yaitu hanya penanda yang terletak pada posisi 80 cM pada metode pemetaan interval gabungan.

Interval letak penanda yang dihitung berdasarkan nilai $1,8 \text{ LOD support interval}$ mempunyai interval yang relatif sama pada semua tingkat kerapatan penanda, yaitu berkisar pada interval 63 – 87 cM. Untuk semua metode pemetaan QTL, interval letak penanda yang terjadi cenderung berimpit satu sama lain (Gambar 4).



Keterangan : v = kerapatan penanda, *IM*=interval mapping, *SM*=single marker, *CIM* =composite interval mapping.

Gambar 4. Grafik Nilai LOD pada berbagai kerapatan penanda

3. Efisiensi Metode Seleksi

Pemilihan individu tanaman dilakukan dengan menggunakan dua metode, berdasarkan nilai fenotipe dan pemilihan berdasarkan dengan penanda. Selanjutnya kedua metode tersebut akan dibandingkan dan akan ditentukan tingkat efisiensinya masing-masing, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam program pemuliaan tanaman. Pada model satu lokus ini menggambarkan bahwa suatu sifat kuantitatif dikendalikan oleh satu lokus, sehingga pengaruh yang muncul adalah pengaruh lokus. Pengaruh ini merupakan gabungan pengaruh alel (aditif) dan pengaruh interaksi alel dalam lokus (dominan). Tingkat efisiensi suatu metode seleksi ditentukan dengan menyimak nilai genotipe, selanjutnya metode seleksi penanda dibandingkan dengan metode seleksi berdasarkan fenotipe. Perbandingan dilakukan dengan pengujian rerata antara metode yang digunakan dengan uji rerata Satterthwaite pada tingkat beda nyata 5%. Tabel 3, menunjukkan pengujian rerata antar metode seleksi yang digunakan, metode seleksi penanda mempunyai rerata lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan metode seleksi fenotipe pada semua jarak antar lokus penanda dengan QTL.

Pada model satu lokus QTL dengan satu penanda, tingkat efisiensi seleksi ditentukan dengan menggunakan berbagai jarak antar lokus penanda dengan QTL. Tingkat efisiensi pada model ini mencapai 95% artinya metode seleksi yang digunakan mencapai proporsi kebenaran sebesar 95%, atau jika kita memilih sejumlah 100, maka 95 individu tersebut mempunyai sifat sesuai dengan yang diinginkan. Sedangkan untuk mencapai tingkat efisiensi sebesar 90%, maka jarak penanda yang digunakan harus terletak pada posisi 3–5 cM. Tingkat efisiensi semakin menurun dengan lebarnya jarak antara penanda dengan QTL, yaitu menjadi 75% pada interval jarak 11-15 cM.

Tabel. 3. Uji rerata Satterhwaite pada efisiensi seleksi pada berbagai jarak penanda dengan QTL.

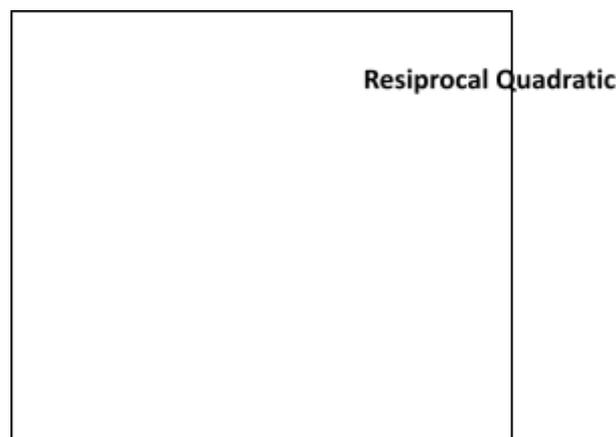
Metode seleksi	Jarak antar lokus penanda dengan QTL		
	5 cM	10 cM	20 cM
Penanda	89,13 a	80,53 a	67,79 a
Fenotipe	13,01 b	13,26 b	13,48 b

Keterangan : rerata yang diikuti huruf yang sama tidak ada beda nyata pada tingkat beda nyata $\alpha = 5\%$

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa tingkat efisiensi metode seleksi dengan menggunakan penanda molekuler merupakan fungsi dari jarak antar penanda dengan lokus yang mengendalikan sifat kuantitatif. Hasil analisis lebih lanjut dapat disimpulkan hubungan antara tingkat efisiensi dengan jarak antar penanda dengan QTL mengikuti hubungan “*reciprocal quadratic*” adalah :

$$y = \frac{1}{(0,00978 + 0,000248x - 0,0000000280x^2)}$$

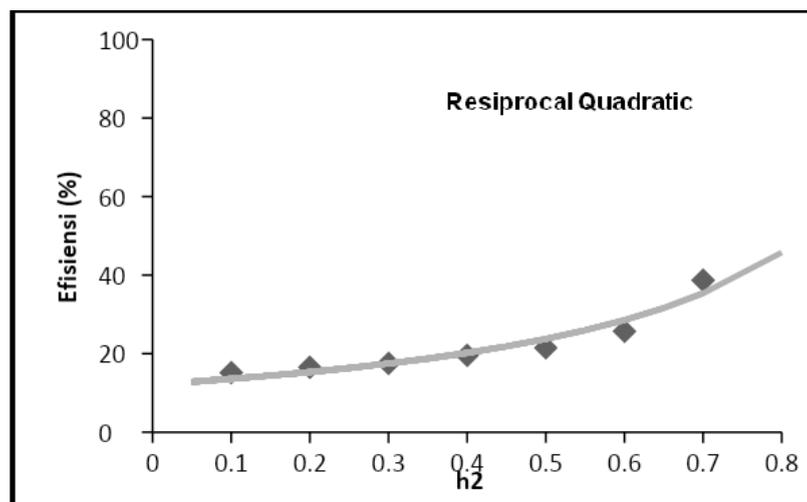
Gambar 5, merupakan grafik fungsi hubungan antara tingkat efisiensi dengan jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL. Semakin jauh jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL maka tingkat efisiensinya semakin rendah. Tingkat efisiensi akan mencapai 100 % jika lokus penanda tepat pada lokus QTL, tetapi kondisi ini sangat jarang terjadi.



Gambar 5. Grafik fungsi hubungan antara tingkat efisiensi dengan jarak antara lokus penanda dengan lokus QTL (d).

Metode seleksi dengan menggunakan fenotipe merupakan metode yang umum digunakan pada praktek pemuliaan tanaman, meskipun pengamatan fenotipe ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Dalam kajian ini nilai fenotipe diperoleh dari nilai genotipe ditambah dengan faktor lingkungan. Faktor lingkungan diperoleh dari varian lingkungan yang diturunkan dari nilai heritabilitas. Dengan demikian tingkat efisiensi seleksi ini merupakan fungsi dari nilai heritabilitas. Hubungan fungsi antara tingkat efisiensi metode seleksi fenotipe dengan nilai heritabilitas merupakan fungsi “*reciprocal quadratic*” dengan persamaan fungsi :

$$y = \frac{1}{(0,08230528 - 0,08854932x - 0,01623555x^2)}$$



Gambar 6. Grafik fungsi hubungan antara tingkat efisiensi seleksi fenotipe dengan nilai heritabilitas (h²)

Gambar 6 merupakan grafik fungsi hubungan antara tingkat efisiensi seleksi fenotipe dengan nilai heritabilitas. Nilai heritabilitas menggambarkan besarnya kontribusi pengaruh genetik pada penampilan fenotipe, sehingga semakin besar nilai heritabilitas akan semakin besar pula pengaruh genetik pada penampakan sifat fenotipe. Lebih lanjut terlihat pada grafik bahwa tingkat efisiensi meningkat dengan semakin meningkatnya nilai heritabilitas.

KESIMPULAN

Model genetik untuk diploid pada pemetaan QTL dapat disusun dari pengaruh lokus (aditif dan dominan) dan atau pengaruh interaksi antar lokus (epistasis). Pengaruh antar lokus dapat ditentukan sama atau berbeda. Pemetaan QTL dipengaruhi oleh jumlah individu, nilai heritabilitas, peran pengaruh lokus, dan jumlah lokus QTL yang mengendalikan suatu sifat. Jumlah minimal individu yang diperlukan adalah 50 individu dengan kerapatan penanda 2 cM pada nilai heritabilitas 0,2. Tingkat efisiensi seleksi menggunakan penanda molekuler lebih efisien dibandingkan dengan seleksi fenotipe. Tingkat efisiensi metode seleksi mengikuti fungsi “*reciprocal quadratic*” baik untuk variabel tingkat kerapatan penanda maupun variabel heritabilitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta atas kesempatan dan dana yang diberikan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Broman, K. W, and S. Sen, 2009. A Guide to QTL Mapping. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Budisantosa, H. 2012. Efisiensi pemilihan tetua dan kombinasi persilangan pada pemuliaan tanaman tebu : pendekatan simulasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Disertasi. 185 hal.
- Collard, B.C.Y., M. Z. Z. Jahufer, J. B. Brouwer, dan E. C. K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142: 169–196.
- Francia, E., G. Tacconi, C. Crosatti, D. Barabaschi, D. Bulgarelli, E. Dall’Aglia, dan G. Vale`. 2005. Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 317–342.
- Hayman, B.I. 1954. The theory of analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39:789-809
- Lamadji, S., L. Hakim, dan Rustidja. 1999. Akselerasi pertanian tangguh melalui pemuliaan non-konvensional. Dalam Ashari *et al.* (Eds.). Prosiding Simposium V Pemuliaan Tanaman PERIPI Komda Jawa Timur. hal. 28-32.
- Liu, B.H. 1998. *Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. CRC Press, Boca Raton.
- Lynch, M. and B. Walsh. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Nasrullah. 1986. Evaluation of The Haploid Technique for Crop Improvement – A Simulation Study. University of The Philipines. Los Banos. Disertasi doktor. 79p.
- Nasrullah A.L. Carpena and M. M. Lantin. 1995. A simple way to construct matrix specifications in defining gene action. *Proc. Simposium Pemuliaan Tanaman III*: 39-46.
- Vuylsteke, M.J.R. 1999. Genetic Analysis of Maize by Using The AFLP®Method. Tesis doctoral. Universitas Wageningen, Wageningen.
- Zeng, (tanpa tahun). Experimental desain and sample size requirment for QTL mapping.