

Penentuan Sifat Aromatik Beberapa Varietas Padi Lokal berdasarkan Analisis Fenotip dan DNA Molekuler

The Determination of Aromatic Character of Several Local Rice Varieties using Phenotypic Analysis and Molecular DNA

Wahyu Indra Duwi Fanata^{1,2*}, Syafira Fatihatul Husna¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37 Jember

²Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Universitas Jember

*E-mail: wahyuindra.faperta@unej.ac.id

ABSTRACT

The pandan scent in aromatic rice has been known as the result of 8 bp deletions and 3 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in *BADH2* gene, which produce non-functional betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) enzyme. Several DNA markers for aromatic character based on mutation in *BADH2* gene have been developed. In our experiment, we analysed the presence of aromatic character in four local rice variety such as Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, and Mentik Wangi Susu using KOH method and DNA molecular method using three DNA markers to detect mutation that responsible for the development of aromatic character. Phenotype analysis using KOH method showed that Merah Wangi, Genjah Arum, and Mentik Wangi Susu produce pandan scents. PCR analysis using Bradbury and Badex7-5, and RM223 markers showed the presence of *BADH2* mutation in Merah Wangi and Mentik Wangi Susu, whereas Pendok and Genjah Arum did not show *BADH2* mutation using those used three markers. Our results indicate that among four investigated local rice, only Merah Wangi and Mentik Wangi Susu are categorized as aromatic rice whereas Pendok and Genjah Arum are non-aromatic.

Keywords: genetic analysis, aromatic rice, specific markers, genetic mutation.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara *megabiodiversity* yang memiliki kekayaan sumber daya genetik luar biasa. Kekayaan sumber daya genetik yang dimiliki oleh Indonesia sangat beragam, salah satunya adalah kekayaan plasma nutfah komoditas padi (*Oryza sativa* L.). Padi adalah tanaman sereal yang bernilai sosial, politik dan ekonomi. Padi merupakan bahan makanan pokok bagi lebih dari setengah penduduk dunia (Daradjad *et al.*, 2015). Padi digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi 50-80% kalori bagi orang Asia (Khus, 1997). Negara-negara Asia mengkonsumsi sekitar 90% beras yang ditanam dan diproduksi di dunia (Negalur, 2016).

Beras aromatik merupakan salah satu jenis beras yang diminati masyarakat karena karakternya yang pulen dan mengeluarkan aroma pandan ketika ditanak, sehingga terciptalah rasa dan aroma wangi. Beberapa varietas padi lokal seperti Rojo Lele, Mentik Wangi, dan Pandan Wangi menghasilkan beras aromatik dengan kualitas yang tinggi dan mempunyai nilai jual yang lebih tinggi. Namun demikian, padi-padi ini masih mempunyai beberapa kekurangan terutama dari

segi produktivitasnya yang sangat rendah dan umur panen yang lama.

Aroma pandan yang dihasilkan oleh padi aromatik disebabkan oleh akumulasi senyawa volatil *2-Acetyl-1-Pyrroline* (2AP) (Seno *et al.*, 2011). Proses biosintesis 2-AP pada padi aromatik sangat rumit dan melibatkan banyak reaksi biokimia (Widjaja *et al.*, 1996). Hilangnya aktivitas aktivitas enzim betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) oleh delesi 8 nukleotida pada gen gen *BADH2* terkait langsung dengan produksi senyawa 2-AP pada padi aromatik. Mutasi ini menyebabkan senyawa gamma-aminobutyraldehide (GABald) yang seharusnya oleh enzim BADH dirubah menjadi gamma-amino butyric acid (GABA), berubah menjadi senyawa Δ 1-pyrroline (Bradbudry *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2008). Biosintesis 2-AP menggunakan nitrogen yang berasal dari prolin sedangkan ornitine dan asam glutamat digolongkan dalam prekursor potensial (Yoshihashi *et al.*, 2002). Menurut Bao *et al.* (2018) dan Li *et al.* (2016) proses perubahan prolin menjadi 2-AP membutuhkan tiga tahapan; (1) prolin dirubah menjadi asam Δ 1-pyrrolidine-5-carboxylic (P5C), (2) P5C dirubah menjadi Δ 1-pyrroline

yang merupakan substrat pembatas dalam biosintesis 2-AP12; dan (3) Δ 1-pyrroline diubah menjadi 2-AP dalam beras wangi dengan reaksi non-enzimatik atau enzimatik. Oleh karena itu, prolin memiliki peran penting dalam biosintesis 2-AP pada padi aromatik.

Indonesia kaya akan plasma nutfah padi yang dapat digunakan untuk merakit varietas padi aromatik baru dengan sifat-sifat yang lebih unggul. Padi Merah Wangi yang berasal dari Pasuruan, Pendok dari Tuban, Genjah Arum dari Banyuwangi dan Mentik Wangi Susu dari Megelang merupakan contoh varietas padi lokal yang menghasilkan beras beraroma wangi pandan. Namun demikian, belum ada hasil penelitian yang memberikan bukti yang akurat bahwa padi-padi tersebut tergolong dalam padi aromatik. Pada penelitian ini, kami mengidentifikasi keberadaan aroma pandan pada padi Merah Wangi, Pendok, Genjah dan Mentik Wangi Susu dengan metode KOH. Hasil yang diperoleh kemudian diverifikasi menggunakan analisis DNA molekuler melalui pemanfaatan marka Bradbury, Badex7-5, dan RM223. Informasi analisis genotip dan keragaman genetik yang diperoleh dalam penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai sumber informasi bagi pemilihan tetua dalam proses perakitan varietas baru padi aromatik.

METODE

Bahan utama dalam penelitian ini antara lain tanaman padi berumur 2 minggu varietas Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, Mentik Wangi Susu, Mentik Wangi (kontrol positif padi aromatik), dan Ciharang (kontrol negatif), buffer ekstraksi DNA genom, enzim Taq polymerase, primer marka Bradbury, Badex7-5, dan RM223, dan KOH 1,7%. Sedangkan peralatan utama yang digunakan yaitu mesin PCR, alat elektroforesis DNA, dan *gel imaging system*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Center for Development of Advance Sciences and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Desember 2018 sampai dengan Mei 2019.

Ekstraksi DNA Genom, PCR, dan Genotyping

DNA genom diekstrak dari daun padi yang diambil dari tanaman berumur 2 minggu. Jaringan daun sepanjang kurang lebih 1 cm dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml DNAzol. Daun kemudian dihancurkan dengan menggunakan alat *tissue grinder* kemudian dilakukan penambahan kloroform sebanyak 333 μ l dan gojok selama 20 detik. Larutan kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 12.000 rpm dan suhu 4°C. Larutan bagian atas diambil sebanyak 400 μ l untuk dipindahkan ke

tabung untuk kemudian ditambahkan 300 μ l etanol dan 2,5 μ l buffer MRC. Larutan dicampur dengan membolak-balik tabung 8-10 kali, kemudian didiamkan selama 5 menit. Larutan kemudian disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 5000 rpm dan suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang dan pellet yang dihasilkan dilarutkan dengan 150 μ l EDTA (1-10 nM, pH 7-8). Sebanyak 750 μ l larutan DNA *wash* ditambahkan, lalu didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit dan selanjutnya disentrifugasi 4 menit pada kecepatan 5000 rpm dan suhu 4°C. Cairan kemudian dibuang dan pellet dicuci dengan 800 μ l etanol 75% dan disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 5000 rpm dan suhu 4°C. Etanol kemudian dibuang dan pellet yang dihasilkan dikeringkan pada suhu ruang selama 10 menit. Setelah kering sempurna, dilakukan penambahan 50 μ l buffer TE untuk melarutkan DNA genom.

Analisis PCR diawali dengan membuat larutan dengan volume total 20 μ l dengan komponen sebagai berikut; 10 μ l PCR 2X master mix (NEXpro™ ex PCR 2X Master Mix), 0,5 μ l primer *forward*, 0,5 μ l primer *reverse*, 2 μ l DNAGenom, dan 7 μ l ddH₂O. Berikut adalah sequen primer yang digunakan; marka Bradbury menggunakan primer ESP 5'-TTGTTTGGAGCTTGCTGATG-3', EAP 5'-AGTGCTTTACAAAGTCCCGC-3', INSP 5'-TGGTAAAAAGATTATGGCTTCA-3', dan IFAP 5'-CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3' (Bradbury *et al.*, 2005). Sedangkan marka Badex7-5 menggunakan primer Forward 5'-TGTTTTCTGTTAGGTTGCATT-3' dan primer Reverse 5'-ATCCACAGAAAATTTGGAAAC-3' (Sakthivel *et al.*, 2009). Marka RM223 menggunakan primer Forward 5'-GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC-3' dan Reverse 5'-GAAGGCAAGTCTTGGCACTG-3' (Temnykh *et al.*, 2000). PCR dilakukan selama 30 siklus dengan suhu sebagai berikut; 95°C selama 5 menit (denaturasi awal), 90°C selama 30 detik (denaturasi), 55°C selama 30 detik (*annealing*), 72°C selama 1 menit (elongasi), dan 72°C selama 5 menit (elongasi akhir). Produk PCR kemudian divisualkan menggunakan elektroforesis DNA dengan konsentrasi gel agarose adalah 1,5 % untuk marka Bradbury dan RM223 dan 3,5% untuk marka badex7-5. Pengamatan pola pita DNA dilakukan dibawah *UV-transluminator* dan pengambilan gambar menggunakan kamera.

Uji sensorik aroma pandan

Uji sensorik sifat aromatik dilakukan berdasarkan metode Sood & Siddiq (1978). Daun padi Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, Mentik Wangi Susu, Ciharang, dan Mentik Wangi masing-masing sebanyak 0,1 gram dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi ukuran 1,5 ml. Kemudian ditambahkan larutan KOH 1,7% sebanyak 0,5 ml ke dalam masing-masing tabung uji berisi portongan daun kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama kurang lebih 20 menit.

Keberadaan aroma pandan kemudian dievaluasi dengan metode panelis sederhana oleh 20 orang panelis yang terdiri 10 laki-laki dan 10 perempuan berumur antara 20-25 tahun dengan menghirup aroma sampel. Masing-masing sampel akan diuji dengan metode Cing *et al* (2014) dengan sistem skor sebagai berikut; beraroma pandan (skor=2), agak beraroma pandan (skor=1), dan tdiak beraroma (skor=0). Sampel diklasifikasi menjadi 3 kelompok berdasarkan nilai rata-rata dari jumlah skala yang diperoleh. Tiga kelompok tersebut diantaranya, aromatik jika skor>1, dipertanyakan jika skor 0,5-1, dan non aromatik jika skor <0,5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis fenotip menggunakan metode panelis sederhana dengan uji KOH 1,7%

Fenotip biji padi menunjukkan bahwa varietas Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, dan Mentik Wangi Susu, dan Mentik Wangi mempunyai bentuk yang lebih membulat dibandingkan dengan varietas Ciherang (Gambar 1). Analisis fenotipa menggunakan metode panelis sederhana dengan uji KOH 1,7% dilakukan dengan melibatkan masing-masing 10 orang panelis laki-laki dan panelis perempuan (Tabel 1 dan Tabel 2). Hasil dari uji keberadaan sifat aromatik tersebut kemudian dirangkum pada Tabel 3 yaitu padi varietas Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, dan Mentik Wangi Susu dapat terdeteksi aroma

wangi pandan, yang mengindikasikan adanya akumulasi senyawa 2AP pada ketiga varietas tersebut. Aroma pandan tidak terdeteksi pada varietas Pendok sehingga padi ini kemungkinan bukan merupakan jenis padi aromatik.

Uji sensorik dengan KOH 1,7% bersifat subyektif dan relatif sehingga hasil penggolongan aroma ini sangatlah dipengaruhi oleh individu panelis. Berdasarkan hasil yang didapatkan, diketahui bahwa sampel Ciherang yang sudah terbukti secara ilmiah termasuk dalam varietas non aromatik (masih dipertanyakan), hal ini mengindikasikan bahwa terdapat panelis yang menggolongkan sampel Ciherang termasuk dalam aromatik, sedangkan pada varietas Genjah Arum terdapat perbedaan pendapat diantara panelis, ada yang menggolongkan dalam kelompok aromatik dan ada yang menggolongkan dalam kelompok non aromatik. Analisa secara fenotip melalui uji sensorik sifat aromatik dengan KOH 1,7% menggunakan metode panelis kurang efektif dalam menentukan sifat aromatik karena dipengaruhi oleh subyektivitas penelis serta lingkungan sehingga terdapat variasi penggolongan yang menyebabkan ketidakkonsistenan data (Ana *et al.*, 2017). Oleh karena itu, analisis genotip perlu untuk dilakukan.



Gambar 1. Sampel benih padi lokal varietas (a) Merah Wangi, (b) Pendok, (c) Genjah Arum, (d) Mentik Wangi Susu, (e) Mentik Wangi (Kontrol +), (f) Ciherang (Kontrol -)

Tabel 1. Hasil uji sensorik sifat aromatik 10 panelis laki-laki

Varietas	Uji Aroma Menurut Panelis Laki-Laki										Rata-rata	Status
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
Ciherang	1	0	0	1	1	2	0	0	2	0	0,7	Kurang Wangi
Mentik Wangi	2	1	1	2	2	2	1	1	1	2	1,5	Aromatik
Merah Wangi	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1,9	Aromatik
Pendok	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0,6	Kurang Wangi
Genjah Arum	2	1	0	2	1	2	2	1	1	1	1,3	Aromatik
Mentik Wangi Susu	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1,4	Aromatik

*Keterangan nilai rata-rata : skor >1 = Aromatik, skor < 0,5= non aromatik, 0,5-1 = kurang wangi.

Tabel 2. Hasil uji sensorik sifat aromatik 10 panelis perempuan

Varietas	Uji Aroma Menurut Panelis Perempuan										Rata-rata	Status
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
Ciherang	2	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0,5	Non Aromatik
Mentik Wangi	2	1	0	0	1	1	1	2	2	2	1,2	Aromatik
Merah Wangi	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	1,8	Aromatik
Pendok	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0,3	Non Aromatik
Genjah Arum	2	1	2	2	1	1	0	1	1	1	1,3	Aromatik
Mentik Wangi Susu	0	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1,2	Aromatik

Tabel 3. Kesimpulan sifat aromatik berdasarkan uji KOH 1,7% menurut 20 panelis laki-laki dan perempuan

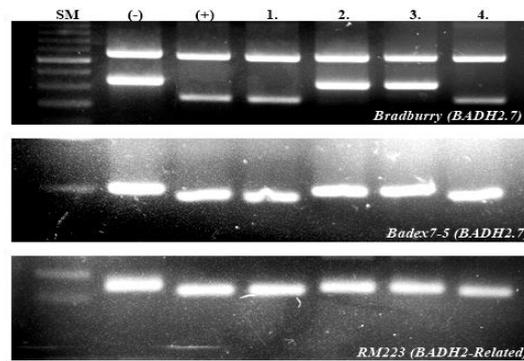
No.	Varietas	Kesimpulan Sifat Fenotip Menurut Panelis		
		Laki-laki	Perempuan	Rata-rata Laki-laki dan Perempuan
1.	Ciherang	Kurang Wangi	Non Aromatik	Kurang Wangi
2.	Mentik Wangi	Aromatik	Aromatik	Aromatik
3.	Merah Wangi	Aromatik	Aromatik	Aromatik
4.	Pendok	Kurang Wangi	Non Aromatik	Non Aromatik
5.	Genjah Arum	Aromatik	Aromatik	Aromatik
6.	Mentik Wangi Susu	Aromatik	Aromatik	Aromatik

Analisis genotip dengan aplikasi primer Bradbury, Badex7-5, dan RM223

Analisis genotip melalui metode PCR dengan menggunakan primer berbasis alel Bradbury, Badex7-5, dan RM223 menghasilkan pita DNA dengan ukuran yang bervariasi. Pita DNA hasil PCR dengan menggunakan DNA genom dari padi Merah Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Mentik Wangi (kontrol positif) bermigrasi lebih cepat dibandingkan dengan pita DNA yang menggunakan DNA genom dari padi Pendok, Genjah Arum, dan kontrol negatif Ciherang (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan bahwa delesi pada gen *BADH2* hanya ditemui pada padi Merah Wangi, Mentik Wangi Susu, dan Mentik Wangi. Oleh karena itu, dari empat varietas padi yang diuji, hanya padi

Merah Wangi dan Mentik Wangi yang telah terkonfirmasi penuh sebagai padi aromatik. Mutasi *BADH2* pada Genjah Arum tidak dapat dibuktikan melalui penggunaan ketiga marka sifat aromatik walaupun analisa dengan metode KOH menghasilkan aroma pandan (Tabel 4). Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya mutasi lain dalam gen *BADH2* yang tidak terdeteksi oleh ketiga marka yang digunakan.

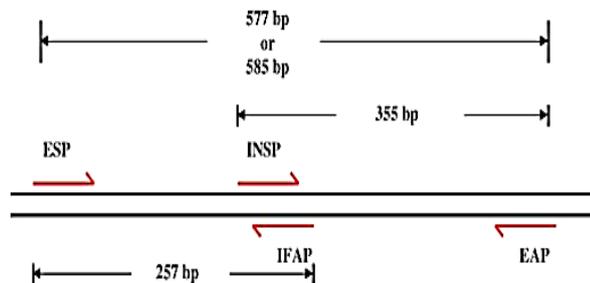
Seperti yang dinyatakan dalam penelitian Amarawathi *et al.*, (2008) bahwa ada kemungkinan mutasi terletak pada alel *BADH2.9* atau tipe mutasi lain seperti pada beberapa varietas padi aromatik dari China misalnya Wuxiang9915 yang memiliki tipe mutasi pada alel *BADH2.2*.



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA 6 padi lokal varietas, Ciherang (kontrol negatif), Mentik Wangi (kontrol positif), (1) Merah Wangi, (2) Pendok, (3) Genjah Arum, (4) Mentik Wangi Susu.

Tabel 4. Ringkasan hasil analisis sifat fenotip menggunakan uji KOH 1,7% dan analisis sifat genetik secara molekuler menggunakan primer Bradbury, Badex7-5, dan RM223

No.	Varietas	Aroma Wangi Pandan	Hasil Visualisasi PCR Target Gen BADH2		
			Bradbury	Badex7-5	RM223
1.	Ciherang	tidak	-	-	-
2.	Mentik Wangi	ya	+	+	+
3.	Merah Wangi	ya	+	+	+
4.	Pendok	tidak	-	-	-
5.	Genjah Arum	ya	-	-	-
6.	Mentik Wangi Susu	ya	+	+	+



Gambar 3. Posisi relatif dari primer multipleks Bradbury dalam reaksi enzimatik PCR (Bradbury et al., 2005)

Primer Bradbury dirancang dengan sistem multiplex menggunakan 4 primer. Keempat primer tersebut adalah ESP (*External Sense Primer*), EAP (*External Antisense Primer*), INSP (*Internal Non Sense Primer*), dan IFAP (*Internal Fragrant Antisense Primer*). Pada Gambar 3, diilustrasikan bahwa apabila keempat primer tersebut digunakan dalam PCR, maka pasangan ESP/EAP akan mengamplifikasi fragmen (pecahan) 577/585 bp disemua varietas yang berfungsi sebagai

kontrol positif untuk reaksi enzimatik pada reaksi PCR. INSP/EAP akan mengamplifikasi fragmen 355 bp dari varietas non aromatik. ESP/IFAP akan mengamplifikasi fragmen 257 bp pada varietas aromatik (Bradbury et al., 2005). Hal ini dapat dikarenakan adanya perbedaan tipe mutasi.

Marka spesifik alel *BADH2.7* Badex7-5 menunjukkan ukuran 95 bp untuk sampel aromatik yang mengalami mutasi gen *BADH2.7* dan ukuran 103 bp untuk sampel non

aromatik. Hasil visualisasi sampel DNA dengan aplikasi primer Badex7-5 sama dengan primer Bradbury. Hal ini karena kedua marka ini dikonstruksi berbasis alel yang sama yaitu BADH2.7. Namun pada marka Bradbury hasil dapat diamati lebih jelas karena Bradbury adalah marka multipleks yang menggunakan 4 primer, sehingga perbedaan ukuran pita DNA antara varietas aromatik dan non aromatik dapat diamati dengan lebih jelas. Hal ini disebabkan karena pola yang muncul terlihat kontras dan berbeda nyata antara varietas aromatik dan non aromatik, sedangkan Badex7-5 adalah marka dupleks dengan 2 primer (*forward* dan *reverse*) dimana perbedaan ampikon sampel aromatik dan non aromatik hanya berjarak 8 pasang basa pada marka Badex7-5, sehingga kurang jelas perbedaannya.

Marka RM223 tersusun dalam bentuk duplex yang memiliki 2 primer berbasis alel gen *BADH2-related*. Dalam penelitian sebelumnya oleh Seno *et al.* (2011) bahwa RM223 berhasil mengidentifikasi varietas aromatik Mentik Wangi dan Pandan Wangi, varietas non aromatik Ciharang dan F1 heterozigot hasil persilangan varietas aromatik dan non aromatik dengan ampikon 120 bp untuk varietas aromatik dan 160 bp untuk varietas non aromatik. Hasil menunjukkan kurang dapat dibedakan karena pola ampikon yang muncul hampir berada dalam satu ukuran, tetapi pola ampikon masih dapat diidentifikasi. Hasil visualisasi DNA dengan aplikasi primer RM223 menunjukkan hasil yang sama dengan marka Bradbury dan Badex7-5. Perbedaan ampikon relatif besar yaitu 40 bp, namun marka ini adalah marka alel gen *BADH2-related* yang masih berjarak 4,5 cm dari alel gen *BADH2*, sehingga tidak seakurat marka *BADH2-based* yaitu Bradbury dan Badex75 (Seno *et al.*, 2011).

Senyawa 2AP dapat terakumulasi karena gen *BADH2* yang mengalami mutasi berupa delesi (penghapusan nukleotida). Mutasi tersebut dapat terletak pada ekson 2 (*BADH2.2*) dan ekson 7 (*BADH2.7*) (Bradbury *et al.*, 2005, Shi *et al.*, 2008). Delesi 8 bp pada ekson 7 (*BADH2.7*) adalah mutasi yang paling umum terjadi pada padi aromatik (Sakthivel *et al.*, 2009). Menurut Irianto (2017), mutasi yang mengubah kodon asam amino menjadi sinyal stop yang disebut *non-sense mutation*. Hampir seluruh *non-sense mutation* mengarah pada pembentukan protein non fungsional begitu

pula yang terjadi pada gen *BADH2*. Mutasi spontan berupa delesi tersebut menyebabkan gen *BADH2* menjadi non fungsional dan menyebabkan timbulnya karakter aromatik yang digemari masyarakat. Mekanisme mutasi gen *BADH2* dapat terjadi pada saat replikasi DNA. Proses translasi mRNA *BADH2* pada padi aromatik berhenti lebih cepat karena mutasi menyebabkan terbentuknya stop kodon prematur dan polipeptida yang dihasilkan menjadi lebih pendek. Enzim *BADH2* fungsional mengkatalisa perubahan GABA menjadi GABA, sedangkan inaktivasi enzim *BADH2* oleh mutasi menyebabkan senyawa GABA yang terakumulasi dirubah menjadi $\Delta 1$ -pyrroline bergabung dengan 2-asetil untuk menjadi 2AP.

KESIMPULAN

Analisis fenotip menggunakan metode panelis sederhana dengan uji KOH 1,7% menunjukkan hasil Merah Wangi, Genjah Arum, dan Mentik Wangi Susu memiliki aroma wangi pandan yang mengindikasikan adanya akumulasi senyawa 2AP. Analisa genotip dengan aplikasi primer berbasis alel *BADH2.7* Bradbury dan Badex7-5, serta berbasis alel *BADH2-related* RM223 menunjukkan bahwa hanya padi Merah Wangi dan Mentik Wangi yang telah terkonfirmasi penuh sebagai padi aromatik. Kandungan *BADH2* termutasi pada Genjah Arum belum dapat teridentifikasi dengan marka spesifik alel berbasis *BADH2.7* dan *BADH2-related*, namun hasil analisis fenotip menunjukkan adanya aroma yang dimiliki varietas ini. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya mutasi lain dalam gen *BADH2* yang tidak terdeteksi oleh ketiga marka yang digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Jember melalui Surat Keputusan Rektor No. 13455/UN25/LT/2019 dengan Surat Penugasan No. 1427/STe/UN25.3.1/LT/2019 untuk Hibah Pendukung IDB.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarawathi Y, Singh R, Singh A K, Singh VP, Mohapatra T, Sharma TR. & Singh NK. 2008. Mapping of Quantitative Trait Loci for Basmati Quality Traits in Rice (*Oryza Sativa* L.). *Molecular Breeding*. **21**: 49-65.
- Ana A, Subekti S, Hamidah S & Komariah K. 2017. Organoleptic Test Patisserie Product

- Based on Consumer Preference. *Materials Science and Engineering*. **180**: 1-7.
- Bao G, Ashraf U, Wang C, He L, Wei X, Zheng A, Zhaowen M, & Tang X. 2018. Molecular Basis For Increased 2-acetyl-1-pyrroline Contents Under Alternate Wetting and Drying (AWD) Conditions in Fragrant Rice. *Plant Physiol. Biochem.* **133**: 149-157
- Bradbury, L. M. T., R. J. Henry, Q. Jin, R. F. Reinke, and D. L. E. Waters. 2005. A Perfect Marker for Fragrance Genotyping in Rice. *Molecular Breeding*. **16**: 279-283.
- Cing JM, Seno DSH, & Santoso TJ. 2015. Identifikasi Gen Aroma (*BADH2* Termutasi) dan Analisis Aroma BC5F2Ciherang Aromatik. *Current Biochemistr.* **2**: 42-51.
- Daradjad AA, Silitonga S & Nafisah. 2015. *Ketersediaan Plasma Nutfah untuk Perbaikan Varietas Padi*. Sukamandi: BB Padi.
- Irianto K. 2017. *Biologi Molekuler*. Bandung: Alfabeta.
- Khush GS. 1997. Origin Dispersal Cultivation and Variation of Rice. *Plant Mol. Biol.* **35**: 25-34.
- Li M, Ashraf U, Tian H, Zhaowen M, pan S, Anjum SA, Duan M & Tang X. 2016. Manganese-induced Regulations in Growth, Yield Formation, Quality Characters, Rice Aroma and Enzyme Involved in 2-acetyl-1-pyrroline Biosynthesis in Fragrant Rice. *Plant Physiol. Biochem.* **103**: 167-175
- Negalur RB, Halepyati AS & Rao KN. 2016. Influence of Age and Number of Seedlings on Yield and Nutrient Uptake by Machine Transplanted Rice (*Oryza sativa* L.). *Bio-resource and Stress Management*. **7**: 393-397.
- Sakthivel K, Rani NS, M. Pandey K, Sivaranjani AKP, Neeraja CN, Balachandran SM, Madhav M S, Viraktamath BC, Prasad GSV & Sundaram RM. 2009. Development of a Simple Functional Marker for Fragrance in Rice and Its Validation in Indian Basmati and Non-Basmati Fragrant Rice Varieties. *Molecular Breeding*. **24**: 185-190.
- Seno DSH, Nugroho S, Santoso TJ, Adrianto D, Praptiwi D, Apriana A & Mas'ud ZA. 2011. Aplikasi Berbagai Marka Aromatik Pada Varietas Padi Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. **16**:149-155.
- Shi W, Yang Y, Chen S & Xu, M. 2008. Discovery of A New Fragrance Allele and The Development of Functional Markers For The Breeding of Fragrant Rice Varieties. *Molecular Breeding*, **22**: 185-192.
- Sood BC & Siddiq EA. 1978. A Rapid Technique for Scent Determination in Rice. *Indian J. Genes. Plant Breed.* **38**:268-271.
- Temnykh S, Park WD, Ayers N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T & Couch M. 2000. Mapping and Genome Organization of Microsatellite Sequence in Rice (*Oryza sativa* L.). *Theory of Applied Genetics*. **100**: 697-712.
- Widjaja R, Craske JD & Wootton M. 1996. Changes in Volatile Components of Paddy, Brown and White Fragrant Rice During Storage. *J. Sci. Food Agric.* **71**: 218-224
- Yoshihashi T, Huong NTT & Inatomi H. 2002. Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, A Potent Flavor Compound of An Aromatic Rice Variety. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 2001-2004.

