

Identifikasi Molekuler Pohon Induk Beberapa Varietas Durian Asal Jepara Menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA*

(Molecular Identification of Parent Trees of Some Varieties of Durian from Jepara Using Random Amplified Polymorphic DNA)

Yulita, KS

Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

E-mail: yulita.kusumadewi@gmail.com

Naskah diterima tanggal 26 Juni 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 2 Mei 2013

ABSTRAK. Jepara dikenal sebagai salah satu sentra buah durian di Jawa Tengah. Di antara varietas durian asal Jepara yang banyak dikenal di pasar buah domestik ialah durian Petruk. Beberapa varietas lokal lain yang terdapat di Jepara yaitu Sutriman, Sukarman, Subandi, dan Sundari. Varietas tersebut secara formal belum dilepas tetapi memiliki potensi sebagai varietas unggul. Penelitian bertujuan memperoleh identitas kelima varietas durian lokal Jepara dan keragaman genetiknya berdasarkan profil sidik RAPD. Penelitian yang dilakukan meliputi koleksi lapangan sampel tanaman durian di Kabupaten Jepara dan Kebun Raya Bogor pada Bulan Maret-April 2009 dan analisis RAPD dilakukan di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi-LIPI sejak Bulan Juli 2010-Maret 2011. Tujuh primer RAPD diseleksi dan tiga di antaranya terpilih untuk dianalisis, yaitu OPB-18, OPN-14, dan OPD-20. Ketiga primer ini menghasilkan 22 pita DNA yang dapat diskor, dimana 91,1% di antaranya merupakan pita-pita polimorfik. Beberapa pita merupakan pita spesifik yang merupakan identitas varietas tertentu, yaitu OPB-18 ukuran 1210 bp pada varietas Sutriman, 1200 dan 1300 bp pada varietas Subandi, 450 bp dijumpai pada varietas Petruk, dan OPN-14 ukuran 1200 bp pada varietas Sukarman. Profil RAPD ini kemudian digunakan untuk menganalisis sistem pengelompokan menggunakan metode UPGMA. Nilai kesamaan genetik berkisar antara 49–73% yang menunjukkan tingginya kesamaan genetik antarvarietas yang diuji, sehingga mengindikasikan rendahnya keragaman genetik di antara aksesi durian tersebut.

Katakunci: Identitas molekuler; *Durio zibethinus* Murray; Jepara; RAPD; Varietas lokal

ABSTRACT. Jepara is known to be one of the centre of diversity of durian in Central Java. Several local varieties of durian from Jepara have been widely known in domestic fruit markets, one of which is Petruk. Other local varieties that were recorded from Jepara *i.e.* Sutriman, Sukarman, Subandi, and Sundari. Such varieties have not yet been officially released but known to have potential as 'superior varieties'. This present study aimed to assess molecular identity of these five varieties of durian and their genetic diversity based on RAPD fingerprints. The research covered of collecting sample of durian plant from Jepara District and Bogor Botanical Garden from March to April 2009 and the RAPD analysis was conducted at Genetic Laboratory, Cibinong Science Centre from July 2010 to March 2011. Seven RAPD's primers were initially screened and primers three were selected for the analysis, *i.e.* OPB-18, OPN-14, and OPD-20. These primers generated 22 scoreable bands to which 91.1% of them were polymorphic. Several bands were specifically found in certain varieties, thus become identity to such varieties, *i.e.* OPB-18 at 1210 bp was exclusively possessed by Sutriman, 1200 and 1300 bp by Subandi, 450 bp by Petruk, and OPN-14 at 1200 bp was only found in Sukarman. Clustering analysis was performed based on RAPD profiles using the UPGMA method. The range of genetic similarity value among accessions was 49–73% suggesting high level of genetic similarity among varieties thus implied considerably low level of genetic variations existed among them.

Keywords: Molecular identity; *Durio zibethinus* Murray; Jepara; RAPD; Local variety

Durio zibethinus Murray merupakan salah satu komoditas buah-buahan yang mulai banyak dibudidayakan petani dan bernilai ekonomi cukup penting. Indonesia diperkirakan memiliki 103 varietas durian (Nafsi 2007) dan hingga tahun 2010 telah dilepas 71 kultivar durian unggul (Direktorat Budidaya Tanaman Buah 2010) di antaranya Sunan, Sukun, Petruk, Sitokong, Mas, Otong, Tembaga, Perwira, Bokor, Hepe, dan Sriwig (Subhadrabandhu *et al.* 1997).

Kabupaten Jepara merupakan salah satu sentra buah durian di Provinsi Jawa Tengah (Direktorat Jenderal Hortikultura 2012) yang memiliki beberapa varietas unggul durian. Durian Petruk merupakan salah satu varietas asli Jepara yang banyak diminati

karena rasanya yang legit dan manis. Durian ini telah dipasarkan secara luas di pasar buah domestik. Selain varietas Petruk, ada empat varietas durian unggul lain asal Jepara, yaitu Sutriman, Sukarman, Subandi, dan Sundari. Keempat varietas ini merupakan kandidat varietas baru yang akan dilepas oleh Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Jepara. Varietas Sutriman memiliki keunggulan yaitu daging buah tidak lengket dan biji gepeng. Pohon induk durian ini terletak di Desa Welangan dengan umur pohon induk diperkirakan antara 95–105 tahun. Varietas Sukarman memiliki keunggulan daging buah yang tebal dan tidak menempel pada biji. Pohon induk varietas ini berumur sekitar 90 tahun yang terletak di Desa Batu



Alit Kecamatan Batu Awe. Varietas Subandi memiliki keunggulan rasa daging buah yang legit dan berwarna kuning. Pohon induknya berusia lebih kurang 85 tahun dan terletak di Desa Rengging, Kecamatan Pecangan.

Identifikasi varietas umumnya dilakukan dengan observasi karakter-karakter morfologi. Namun karakter morfologi memiliki keterbatasan terutama mudah terpengaruh oleh kondisi lingkungan (Meng *et al.* 2011). Perkembangan teknik penanda molekuler telah memungkinkan untuk menganalisis genom secara langsung dan akurat, sehingga dapat meminimalisir kesalahan akibat faktor lingkungan. Beberapa penanda molekuler yang banyak digunakan untuk tujuan ini antara lain *inter simple sequence repeats* (ISSR), *random amplified polymorphic DNA* (RAPD), dan *amplified fragment length polymorphism* (AFLP). Di antara penanda molekuler tersebut, RAPD banyak dipilih karena mudah dalam persiapannya, relatif sederhana tetapi memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan penanda molekuler lainnya, tidak membutuhkan pengetahuan mengenai urutan DNA dari organisme target, jumlah DNA yang digunakan dalam reaksi hanya sedikit (± 25 nanogram per reaksi), penggunaan peralatan laboratorium yang minimal, non-radioaktif, dan dapat menggunakan primer universal yang sudah ada (Hasnaoui *et al.* 2010).

Pada saat ini, RAPD banyak digunakan untuk mengetahui keragaman genetik (Adetula 2006, Fan *et al.* 2004, Guo *et al.* 2007, Jain *et al.* 2007, Poerba *et al.* 2007, Toruan-Mathius *et al.* 2002, Ferriol *et al.* 2003), sidik DNA (Chakrabarti *et al.* 2001, 2006), dan identitas kultivar (Keller-Przybyłkiewicz *et al.* 2006, Jain *et al.* 2007). Walaupun tingkat keberulangan penanda RAPD banyak dipertentangkan, tetapi hal ini dapat ditanggulangi dengan melakukan skrining primer RAPD dan amplifikasi PCR dengan beberapa ulangan, sehingga memperoleh hasil yang lebih konsisten.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh identitas beberapa varietas durian asal Jepara dan memperkirakan keragaman genetiknya berdasarkan profil sidik RAPD. Hipotesis yang diajukan ialah terdapat keragaman genetik di antara varietas lokal durian asal Jepara yang tinggi. Profil RAPD yang dihasilkan nantinya diharapkan dapat digunakan selain sebagai identitas genotip, juga dapat dimanfaatkan lebih lanjut dalam upaya pemuliaan tanaman durian yang menggunakan pohon induk ini sebagai indukan dalam proses budidaya lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan meliputi koleksi lapangan sampel tanaman durian di Kabupaten Jepara dan Kebun

Raya Bogor pada Bulan Maret sampai dengan April 2009 dan analisis RAPD dilakukan di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi-LIPI sejak Bulan Juli 2010 sampai dengan Maret 2011. Sampel tanaman durian yang dikoleksi berupa daun muda dan segar yang bebas hama penyakit. Daun selanjutnya dibersihkan dengan alkohol 70% dan langsung disimpan dalam silika gel.

Analisis RAPD

Total DNA genom diisolasi dari daun menggunakan protokol CTAB (Delaporta *et al.* 1983) yang dimodifikasi dengan perlakuan RNase 200 $\mu\text{g/ml}$. Lima μL total DNA genom dielektroforesis dalam 0,7% gel agarose dalam larutan penyangga TAE, kemudian diwarnai dengan etidium bromida dan difoto menggunakan lampu ultraviolet untuk memastikan kuantitas dan kualitas DNA. DNA yang telah diisolasi disimpan pada suhu -20°C .

Skrining dilakukan terhadap tujuh primer RAPD (*operon technologies*), yaitu OPA-13, OPA-18, OPB-18, OPD-8, OPD-20, OPN-6, dan OPN-14 untuk memperoleh primer dengan tingkat keberulangan tinggi dengan hasil konsisten pada seluruh sampel durian.

Volume reaksi total PCR ialah 15 ml yang terdiri atas 1x PCR *green master mix* (Promega), 2 μM primer (Promega), dan ~ 10 ng DNA *template*. Kondisi mesin PCR untuk amplifikasi DNA diawali dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, diikuti oleh 45 siklus yang terdiri atas fase denaturasi (94°C selama 1 menit), fase penempelan (36°C selama 1 menit), dan fase pemanjangan (72°C selama 2 menit) (Williams *et al.* 1990). Setelah 45 siklus selesai, proses amplifikasi PCR diakhiri dengan fase pemanjangan pada suhu 72°C selama 5 menit.

Reaksi PCR dilakukan dengan dua ulangan untuk memastikan konsistensi profil yang dihasilkan. Hasil amplifikasi PCR divisualisasi pada gel agarosa 2% dalam larutan penyangga TAE (Tris-EDTA) secara elektroforesis, kemudian difoto menggunakan *gel documentation system* (Atto Bioinstrument). Sebagai standar digunakan 100 pb (pasang basa) plus DNA *marker* (Fermentas) untuk menentukan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

Analisis Data

Pita DNA yang ada pada profil RAPD diskor secara manual dari foto gel agarosa. Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk diskor 1 bila ada pita dan 0 bila tidak ada pita. Data RAPD digunakan dalam bentuk data matriks dan kemiripan



genetik yang dianalisis menggunakan *similarity for qualitative data* (SIMQUAL). Matriks kemiripan ini kemudian digunakan untuk pengelompokan *sequential agglomerative hierarchical and nested* (SAHN) dengan metode *unweighted pair group method with arithmetical average* (UPGMA) menggunakan paket program NTSys-PC (Numerical Taxonomy System, versi 2.02i Rohlf 1998). *Principal coordinate analysis* (PCO) juga dilakukan menggunakan paket program ini untuk memetakan sebaran sampel durian ke dalam suatu ruang dimensi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Umum Pita RAPD

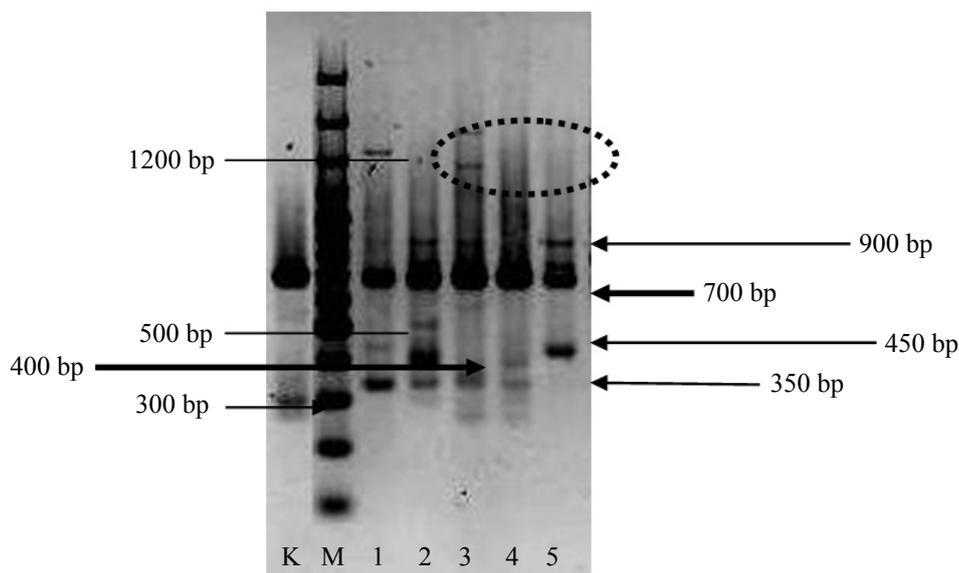
Seluruh sampel durian digunakan dalam proses skrining primer untuk memilih primer yang menghasilkan pita DNA polimorfik. Hasil

seleksi skrining yang menggunakan tujuh primer menunjukkan bahwa primer OPB-18, OPD-20, dan OPN-14 yang menghasilkan profil pita RAPD yang jelas dan mudah dibaca pada keseluruhan sampel. Padahal skrining terdahulu terhadap 30 primer dari kit A, C, dan N merekomendasikan bahwa OPA-13, OPD-8, OPN-6, dan OPA-18 layak digunakan dalam identifikasi varietas durian karena memiliki tingkat polimorfisme beragam (Yulita & Murnianjari 2010). Namun untuk sampel durian asal Jepara ini, kelima primer yang direkomendasikan tersebut tidak menghasilkan produk amplifikasi khususnya untuk varietas Sutriman, padahal proses amplifikasi dilakukan lebih dari tiga ulangan dan lebih dari lima ulangan untuk beberapa varietas yang sulit dikerjakan, misalnya varietas Sutriman.

Dari ketiga primer ini (OPB-18, OPD-20, dan OPN-14) diperoleh 22 pita DNA berukuran 300 pb hingga 1300 pb. Dari keseluruhan pita ini, 91,1% ialah pita

Tabel 1. Urutan primer dan jumlah fragmen DNA yang terbentuk (*DNA sequence motifs of primers used and numbers of DNA bands obtained from PCR amplification*)

Primer (Primer)	Urutan DNA (DNA sequence)	Jumlah pita DNA (Numbers of DNA bands)	Pita DNA polimorfik (Polymorphic bands) %
OPB-18	CCACAGCAGT	10	90
OPN-14	TCGTGCGGGT	6	83,3
OPD-20	ACCCGGTCAC	6	100
		Jumlah (Total): 22	Rerata (Average): 91,1



Gambar 1. Profil sidik RAPD menggunakan primer OPB-18, K= kontrol, M= DNA marker 100 bp plus (fermentas), 1= *D. zibethinus* var. Sutriman, 2= *D. zibethinus* var. Sukarman, 3= *D. zibethinus* var. Subandi, 4= *D. zibethinus* var. Sundari, 5= *D. zibethinus* var. Petruk, anak panah tebal= pita utama anak panah, tipis= pita tambahan (*RAPD profiles using primer OPB-18, K= control, M:100 bp plus DNA marker (fermentas), 1= D. zibethinus var. Sutriman, 2= D. zibethinus var. Sukarman, 3= D. zibethinus var. Subandi, 4= D. zibethinus var. Sundari, 5= D. zibethinus var. Petruk, arrows in bold= main bands, arrows in thin lines= additional bands*)



polimorfik (Tabel 1). OPB-18 merupakan primer yang paling banyak menghasilkan pita DNA polimorfik dibanding dua primer lainnya.

Pengamatan terhadap pola pita DNA hasil amplifikasi menunjukkan profil DNA yang berbeda. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan urutan nukleotida pada keempat primer yang digunakan, sehingga menyebabkan pelekatan primer di sepanjang DNA genom sampel juga berbeda. Pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat bergantung pada kemampuan primer mengenal daerah komplemennya pada cetakan (*template*) DNA yang digunakan. Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan, semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan (Poerba & Yuzammi 2008).

Secara umum, hasil amplifikasi total DNA genom sampel durian asal Jepara menggunakan primer terpilih menghasilkan dua macam pita berdasarkan intensitas pita, yaitu pita utama yang ditunjukkan oleh pita tebal dan pita tambahan yang ditunjukkan oleh pita tipis (Gambar 1–3). Dari serangkaian pita-pita tersebut terdapat pita-pita yang umum dijumpai pada seluruh sampel dan ada pula pita spesifik yang hanya ditemukan pada varietas tertentu. Keseluruhan profil pita yang dihasilkan dari amplifikasi primer RAPD inilah yang merupakan sidik DNA setiap varietas. Ada atau tidaknya pita DNA spesifik sangat dipengaruhi oleh situs penempelan primer pada cetakan DNA. Weising *et al.* (1995) berpendapat bahwa ada beberapa hal yang menyebabkan perbedaan pita DNA

yang teramplifikasi, yaitu (1) perubahan nukleotida pada sampel yang mencegah terjadinya amplifikasi, (2) delesi pada pelekatan primer, (3) insersi yang menyebabkan daerah pelekatan primer terlalu jauh untuk mendukung terjadinya amplifikasi, serta (4) insersi dan delesi yang mengubah produk amplifikasi.

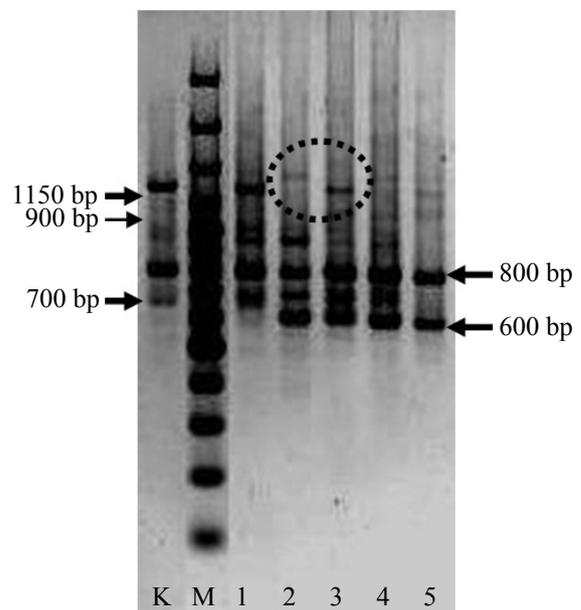
Sidik RAPD dengan Primer OPB-18

Amplifikasi total DNA genom durian menggunakan primer ini menghasilkan 10 pita DNA. Empat pita utama yang tercatat pada profil ini ialah pita dengan ukuran 350, 400, 450, dan 700 bp (Tabel 2). Pita ukuran 700 bp terdapat pada seluruh sampel yang digunakan, maka pita ini merupakan pita umum yang kemungkinan besar dapat digunakan sebagai karakter diagnostik *D. zibethinus*, sedangkan pita ukuran 350 dan 700 bp

Tabel 2. Pita-pita DNA pada sampel durian asal Jepara berdasarkan hasil amplifikasi dengan menggunakan primer OPB-18 (DNA bands of durian from Jepara using RAPD primer OPB-18)

Nama aksesori (Accession name)	Ukuran pita DNA (bp) *) (Size of DNA bands)
<i>D. zibethinus</i> kontrol (K)	300; 700
<i>D. zibethinus</i> var. Sutriman	350; 700; 450; 1210
<i>D. zibethinus</i> var. Sukarman	350; 400; 700; 500; 900
<i>D. zibethinus</i> var. Subandi	350, 700; 900; 1200; 1300
<i>D. zibethinus</i> var. Sundari	700; 350; 400
<i>D. zibethinus</i> var. Petruk	450; 700; 900

*) Angka cetak tebal menunjukkan pita utama, cetak miring merupakan pita umum, dan garis bawah menunjukkan pita spesifik untuk varietas (Numbers in bold type were the main bands, numbers in italic were the common bands, and numbers with underline were specific bands for certain varieties)



Gambar 2. Profil sidik RAPD menggunakan primer OPN-14, K= kontrol, M: DNA marker 100 bp plus (fermentas), 1: *D. zibethinus* var. Sutriman, 2= *D. zibethinus* var. Sukarman, 3= *D. zibethinus* var. Subandi, 4= *D. zibethinus* var. Sundari, 5= *D. zibethinus* var. Petruk, anak panah tebal= pita utama, anak panah tipis= pita tambahan (RAPD profiles using primer OPB-14. K= control, M=100 bp plus DNA marker (fermentas), 1= *D. zibethinus* var. Sutriman, 2= *D. zibethinus* var. Sukarman, 3= *D. zibethinus* var. Subandi, 4= *D. zibethinus* var. Sundari, 5= *D. zibethinus* var. Petruk. Arrows in bold= main bands, arrows in thin lines= additional bands)



terdapat pada keempat varietas durian asal Jepara, kecuali Petruk. Selain ke-4 pita tadi ada enam pita tipis yang kemungkinan besar tingkat keberulangnya rendah apabila dilakukan amplifikasi ulang.

Tabel 2 menyajikan ukuran seluruh pita pada setiap varietas durian dari hasil amplifikasi menggunakan primer OPB-18. Beberapa pita spesifik yang merupakan diagnostik karakter, yaitu pita ukuran 1210 bp untuk varietas Sutriman, 1200 dan 1300 bp untuk varietas Subandi, dan pita 450 bp untuk varietas Petruk (Tabel 2).

Sidik RAPD dengan Primer OPN-14

Amplifikasi total DNA genom sampel durian menggunakan primer OPN-14 menghasilkan enam pita, yaitu pita ukuran 600, 700, 800, 900, 1150, dan 1200 bp (Gambar 2 dan Tabel 3).

Pita ukuran 800 bp terdapat di seluruh sampel yang digunakan, maka pita ini merupakan pita umum yang kemungkinan besar dapat digunakan sebagai karakter diagnostik *D. zibethinus*. Pita ukuran 700 bp juga terdapat pada seluruh sampel kecuali pada Petruk, sedangkan pita ukuran 350 dan 700 bp ditemukan pada seluruh varietas, kecuali Petruk. Pita ukuran 600 bp juga terdapat hampir pada seluruh varietas kecuali Sutriman. Hanya ada satu pita spesifik yaitu ukuran 1200 bp yang terdapat pada varietas Sukarman.

Sidik RAPD dengan Primer OPD-20

Amplifikasi total DNA genom sampel durian menggunakan primer OPD-20 menghasilkan enam pita, yaitu pita ukuran 350, 500, 800, 900, 950, dan 1000 bp (Gambar 3 dan Tabel 4).

Tidak ada pita umum yang dijumpai untuk seluruh sampel. Pita ukuran 350 dan 500 bp dijumpai pada seluruh sampel, kecuali pada varietas Sutriman. DNA

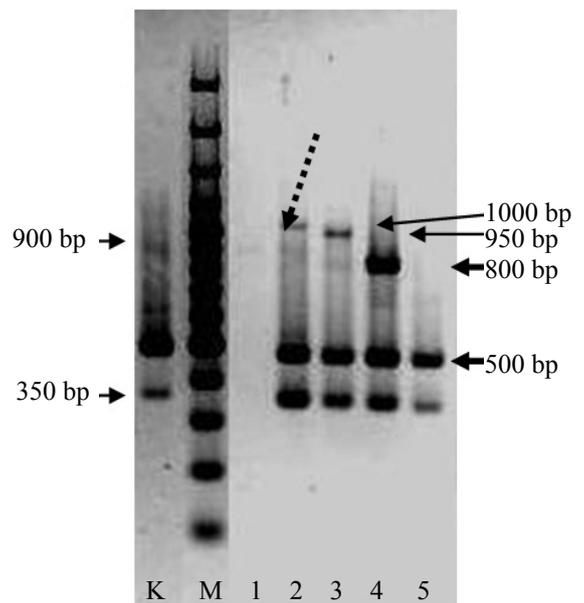
Tabel 3. Pita-pita DNA pada sampel durian asal Jepara berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan primer OPN-14 (DNA bands of durian from Jepara using RAPD primer OPN-14)

Nama aksesori (Accession name)	Ukuran pita DNA (bp) (Size of DNA bands)
<i>D.zibethinus</i> kontrol (K)	700; 800; 900; 1150
<i>D. zibethinus</i> var. Sutriman	700; 800; 900; 1150
<i>D. zibethinus</i> var. Sukarman	600; 700; 800; 900; 1200
<i>D. zibethinus</i> var. Subandi	600; 700; 800; 1150
<i>D. zibethinus</i> var. Sundari	600; 700; 800
<i>D. zibethinus</i> var. Petruk	600; 800

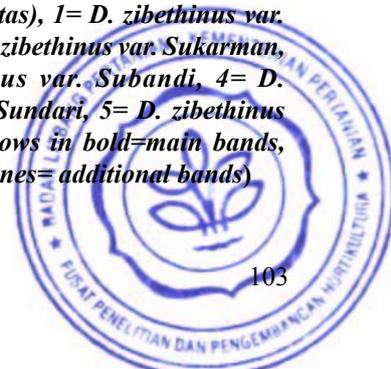
Tabel 4. Pita-pita DNA pada sampel durian asal Jepara berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan primer OPD-20 (DNA bands of durian from Jepara using RAPD primer OPD-20)

Nama aksesori (Accession name)	Ukuran pita DNA (bp) *) (Size of DNA bands)
<i>D.zibethinus</i> kontrol (K)	350; 500; 900
<i>D. zibethinus</i> var. Sutriman	900
<i>D. zibethinus</i> var. Sukarman	350; 500; 1000
<i>D. zibethinus</i> var. Subandi	350; 500; 950
<i>D. zibethinus</i> var. Sundari	350; 500; 800
<i>D. zibethinus</i> var. Petruk	350; 500

*) Angka cetak tebal merupakan pita utama (Numbers in bold types were the main bands)



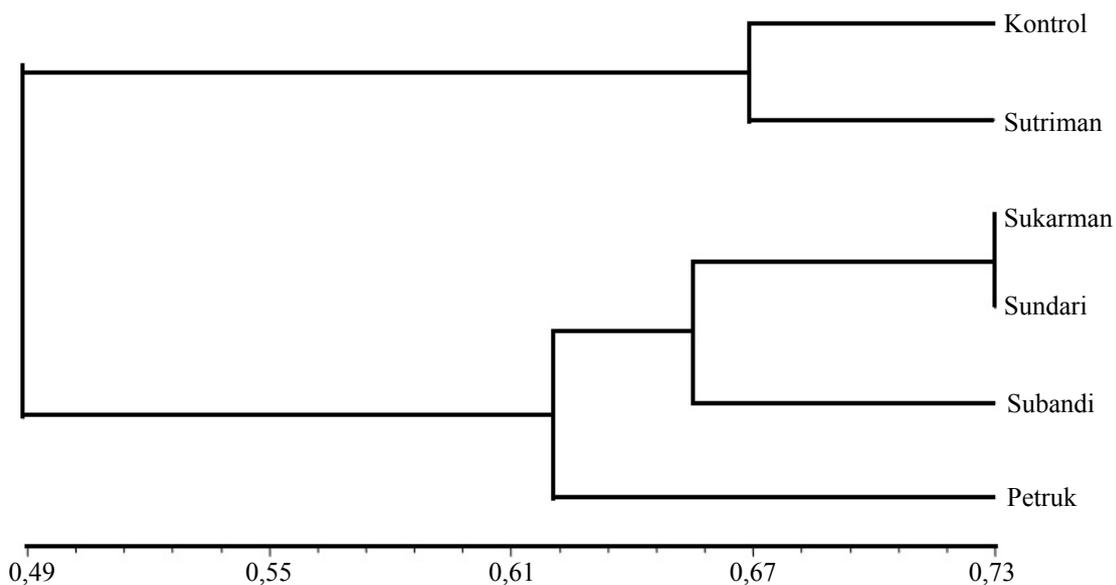
Gambar 3. Profil sidik RAPD menggunakan primer OPD-20. K= kontrol, M: DNA marker 100 bp plus (fermentas), 1= *D. zibethinus* var. Sutriman, 2= *D. zibethinus* var. Sukarman, 3= *D. zibethinus* var. Subandi, 4= *D. zibethinus* var. Sundari, 5= *D. zibethinus* var. Petruk, anak panah tebal= pita utama, anak panah tipis = pita tambahan, anak panah putus-putus = pita tipis pada *D. zibethinus* var. Sutriman (RAPD profiles using primer OPB-20. K= control, M=100 bp plus DNA marker (fermentas), 1= *D. zibethinus* var. Sutriman, 2= *D. zibethinus* var. Sukarman, 3= *D. zibethinus* var. Subandi, 4= *D. zibethinus* var. Sundari, 5= *D. zibethinus* var. Petruk, arrows in bold=main bands, arrows in thin lines= additional bands)



genom varietas Sutriman cenderung sulit diamplifikasi menggunakan primer OPD-20. Hasil yang optimal hanya menghasilkan pita tipis berukuran 900 bp (Gambar 3). Optimasi kondisi PCR kemungkinan perlu dilakukan lebih lanjut terhadap varietas ini. Jika kondisi optimal lebih lanjut dapat diperoleh, maka ada kemungkinan pita ukuran 350 dan 500 bp merupakan pita umum yang dapat digunakan sebagai karakter diagnostik untuk *D. zibethinus*, sedangkan pita umum hasil amplifikasi dengan primer OPD-20 yang dapat digunakan sebagai karakter diagnostik untuk varietas asal Jepara tidak ditemukan.

Pengelompokan varietas Sutriman dengan durian kontrol yang berasal dari koleksi Kebun Raya Bogor kemungkinan besar disebabkan oleh kesamaan yang tinggi antara lokus-lokus yang dihasilkan dari amplifikasi RAPD menggunakan primer OPN-14 dan OPD-20 (Tabel 3 dan 4). Amplifikasi dengan primer OPD-20 hanya menghasilkan satu lokus yaitu ukuran pita 900 bp (Tabel 3 dan Gambar 4) pada varietas Sutriman, dimana pita ini tidak dimiliki oleh keempat varietas lainnya.

Untuk mengetahui distribusi kesamaan antar-tanaman berdasarkan data matriks RAPD, maka



Gambar 4. Dendrogram UPGMA yang mengindikasikan kemiripan genetik pada keenam aksesori durian (UPGMA dendrogram indicating genetic similarity among six accessions of durian)

Analisis Pengelompokan Antarklon Durian

Analisis lanjutan dilakukan untuk mengetahui kemiripan profil RAPD antarvarietas. Pengelompokan varietas ke dalam satu kluster menandakan adanya tingkat kesamaan yang tinggi di antara lokus DNA-nya yang ditunjukkan melalui koefisien kesamaan.

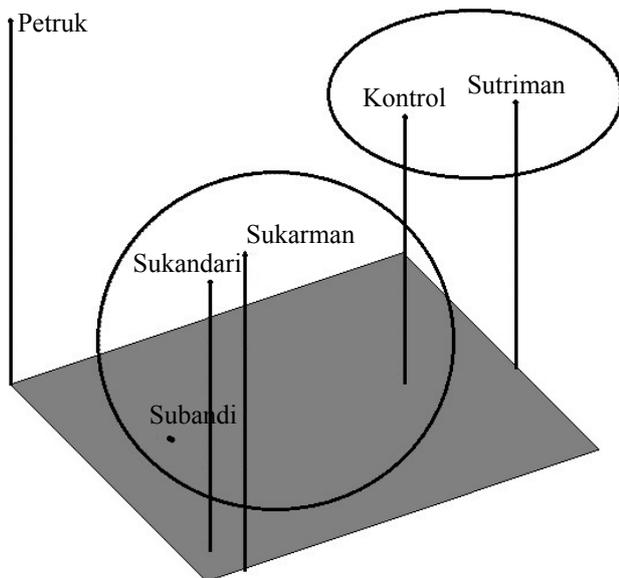
Seluruh sampel durian mengelompok menjadi satu dengan nilai kesamaan 49% (Gambar 4). Analisis kluster menunjukkan pemisahan tanaman durian ke dalam dua kluster, kluster 1 (koefisien kesamaan 67%) terdiri atas durian kontrol dan varietas Sutriman dan kluster 2 (62%) terdiri atas varietas Sukarman, Subandi, Sundari, dan Petruk. Varietas Sukarman dan Subandi merupakan varietas yang paling mirip dengan koefisien kesamaan 73%. Pengelompokan sampel ke dalam satu kluster menandakan adanya tingkat kesamaan yang tinggi di antara lokus DNA-nya yang ditunjukkan melalui koefisien kesamaan.

dibuat ordinasasi 3-dimensi (Gambar 5). Pengelompokan yang terlihat pada ordinasasi 3-dimensi, sesuai dengan pengelompokan yang ditunjukkan oleh dendrogram.

Pada kluster 2 (Gambar 3), varietas Petruk merupakan varietas yang memiliki jarak terjauh dengan varietas lainnya yang tercakup dalam kluster 2, hal ini terutama ditunjukkan dari hasil analisis ordinasasi 3-dimensi (Gambar 5). Hal ini diduga karena beberapa lokus yang terdapat pada varietas lainnya tidak terdapat pada varietas Petruk (Tabel 2, 3, 4). Ketiadaan lokus ini dapat disebabkan karena lokus tersebut hilang atau memang tidak ada, sehingga penanda/primer yang digunakan tidak mampu mengenali lokus yang terdapat pada varietas Petruk.

Hasil analisis pengelompokan dan ordinasasi menggambarkan kesamaan genotip antarvarietas durian yang terukur dari jarak genetik (koefisien kesamaan DICE). Pada bidang pemuliaan tanaman,





Gambar 5. Diagram ordinas 3-dimensi PCO pada keenam aksesori durian (*Three-dimensional diagram of PCO on six accessions of durian*)

mengetahui properti genetik individu tanaman yang akan dikembangkan sangat bermanfaat. Tanaman yang memiliki jarak genetik yang dekat menggambarkan tingginya kesamaan genetik yang apabila disilangkan dapat menghasilkan individu tanaman dengan keragaman genetik yang rendah. Keragaman genetik yang rendah berimplikasi terhadap kesintasan individu yang juga cukup rendah karena kurang beragamnya gen yang diturunkan dari tetuanya. Dengan demikian, identifikasi molekuler dan analisis pengelompokan terhadap individu target sangat penting dilakukan untuk mengetahui properti genetik suatu tanaman sebelum melakukan proses budidaya lebih lanjut.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Identitas varietas durian asal Jepara dapat ditunjukkan oleh profil pita RAPD hasil amplifikasi menggunakan primer OPB-18, OPN-14, dan OPD-20.
2. Beberapa pita spesifik merupakan diagnostik karakter untuk beberapa varietas diperoleh dari hasil amplifikasi dengan primer OPB-18 dan OPN-14.
3. Pita spesifik ukuran 1210 bp untuk varietas Sutriman, 1200 dan 1300 bp untuk varietas Subandi, dan pita 450 bp untuk varietas Petruk diperoleh dari hasil amplifikasi menggunakan primer OPB-18, sedangkan amplifikasi dengan primer OPN-14 menghasilkan satu pita spesifik yaitu ukuran 1200 bp dijumpai pada varietas Sukarman.

4. Dendrogram dan diagram ordinas 3-dimensi memperlihatkan pengelompokan menjadi 2 kelompok, dimana masing-masing kelompok mengindikasikan kesamaan genetik yang tinggi atau keragaman genetik yang rendah.
5. Identifikasi molekuler terhadap komoditas buah-buahan terpilih menjadi lebih bermakna bila menggunakan marka molekuler lain yang terkait dengan pewarisan sifat, yaitu DNA *sequencing* untuk gen kopi tunggal dan analisis fragmen lain yang lebih konsisten misalnya mikrosatelit dan AFLP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sepenuhnya didanai oleh Pusat Penelitian Biologi-LIPI di bawah KSK Kajian Genetika Plasma Nutfah Buah-buahan Indonesia. Penelitian ini juga merupakan kerjasama dengan Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Jepara. Terima kasih kepada Herlina atas bantuan teknis yang telah diberikan.

PUSTAKA

1. Adetula, AO 2006, 'Genetic diversity of *Capsicum* using random amplified polymorphic DNAs', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 5, no. 2, pp. 120-2.
2. Chakrabarti, SK, Pattanayak, D & Naik, PS 2001, 'Fingerprinting Indian potato cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD)', *Potato Res.*, no. 44, pp. 374-87.
3. Chakrabarti, SK, Pattanayak, D, Sarkar, D, Chimote, VP & Naik, PS 2006, 'Stability of RAPD fingerprints in potato: effect of source tissue and primers', *Biol. Plantarum*, vol. 50, no. 4, pp. 531-6.
4. Delaporta, SL, Wood, J & Hicks, JB 1983, 'A plant DNA minipreparation, Version II', *Plant Mol. Biol. Rep.*, no. 4, pp. 19-21.
5. Direktorat Budidaya Tanaman Buah 2010, *Pedoman standar penilaian durian*, diunduh 3 September 2012, <http://ditbuah.hortikultura.deptan.go.id/admin/layanan/PenilaianDurian_Oke.pdf>.
6. Direktorat Jenderal Hortikultura 2012, *Daerah sentra buah durian*, diunduh 6 September 2012, <<http://hortikultura.deptan.go.id/?q=node/327>>.
7. Fan, XX, Shen, L, Zhang, X, Chen, XY & Fu, CX 2004, 'Assessing genetic diversity of *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) populations from China by RAPD markers', *Biochem. Genetics.*, vol. 42, no. 7/8, pp. 269-78.
8. Ferriol, MM, Pico, B & Nuez, F 2003, 'Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers', *Genet. Resour. Crop. Evol.*, no. 50, pp. 227-38.
9. Guo, HB, Li, SM, Peng, J & Ke, WD 2007, 'Genetic diversity of *Nelumbo* accessions revealed by RAPD', *Genet. Resour. Crop. Evol.*, no. WD, pp. 741-8.



10. Hasnaoui, N, Messaoud, M, Chibani & Trifi, JM 2010, 'Molecular polymorphisms in Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) as revealed by RAPD fingerprints', *Diversity*, no. 2, pp. 107-14.
11. Jain, PK, Saini, L, Pathak, MH & Gupta, VK 2007, 'Analysis of genetic variation in different banana (*Musa* species) variety using random amplified polymorphic DNAs (RAPDs)', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 6, no. 17, pp. 1987-89.
12. Keller-Przybylkowicz, S, Korbin, M & Gwozdecki, J 2006, 'RAPD and ISSR markers of black and green color of blackcurrant (*Ribes nigrum*) fruits', *J. Fruit Ornament. Plant. Res.*, vol. 14, no. 1, pp. 45-2.
13. Nafsi, NI. 2007, *Analisis keanekaragaman varietas durian (Durio zibethinus Murr.) dengan marka mikrosatelit*, diunduh 31 Agustus 2012, <<http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbtp-gdl-nurizzatun-26709>>
14. Meng, L, Yang, HX, Mao, PC, Gao, HW & Sun, FD 2011, 'Genetic diversity analysis of *Arratherum elasticum* germplasm with inter-simple sequence repeat (ISSR) markers', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 10, no. 56, pp. 8729-36.
15. Poerba, YS, Wawo, A & Yulita, KS 2007, 'Keragaman fenotip RAPD *Santalum album* L. di Pulau Timor Bagian Timur', *Berita Biologi*, vol. 8, no. 6, hlm. 537-46.
16. Poerba, YS & Yuzammi 2008, 'Pendugaan keragaman genetik *Amorphopallus titanum* Becc. berdasarkan marka *random amplified polymorphic DNA*', *Biodiversitas*, vol. 9, no. 2, hlm. 103-7.
17. Rohlf, FJ 1998, '*NTSys-PC. Numerical taxonomy and multivariate analysis system NTSys-PC*', Version 2.02i. Exeter, New York.
18. Subhadrabandhu, S, Schneemann, JMP & Verheij, EWM 1997, 'Edible fruits and nuts plant resources of South-East Asia (*PROSEA*)', in Verheij, EWM & Colwell, RE (eds.), Netherland, Pudoc Wageningen.
19. Toruan-Mathius, N, Lalu, Z, Soedarsono & Aswidinnoor, H 2002, 'Keragaman genetik klon-klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) yang resisten dan rentan terhadap *Corynespora asiicola* berdasarkan penanda RAPD dan AFLP', *Menara Perkebunan*, vol. 70, no. 2, hlm. 35-49.
20. Weising, K, Nybom, H, Wolff, K & Meyer, W 1995, *DNA florida fingerprinting in plants and fungi*, CRC Press, Florida.
21. Williams, JGK, Kubelik, AR, Livak, KJ, Rafalski, JA & Tingey, SV 1990, 'DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers', *Nuc. Acids Res.*, no. 18, pp. 6531-5.
22. Yulita, KS & Murnianjari, M 2010, 'Keragaman genetik beberapa klon durian (*Durio zibethinus* Murray) asal Jawa Barat berdasarkan sidik *random amplified polymorphic DNA*', *Berita Biologi*, vol. 10, no. 3, hlm. 269-75.

