

**Analisis keragaman dna tanaman durian sukun  
(*Durio zibethinus* Murr.) Berdasarkan penanda RAPD**

**Tesis**

**Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan  
Guna Memperoleh Derajat Magister**

**Program Studi Agronomi**



**Oleh :**

**Ismi Puji Ruwaida**

**S610907004**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2009**

**ANALISIS KERAGAMAN DNA TANAMAN DURIAN SUKUN (*Durio  
zibethinus* Murr.) BERDASARKAN PENANDA RAPD**

Disusun oleh :

**ISMI PUJI RUWAIDA**

**S 610907004**

Telah disetujui oleh Tim Pembimbing :

Susunan Tim Pembimbing

| Jabatan       | Nama   | Tanda Tangan | Tanggal |
|---------------|--|--------------|---------|
| Pembimbing I  | <u>Dr. Ir. Endang Yuniastuti, M.Si</u><br>NIP. 132 085 921 |              |         |
| Pembimbing II | <u>Dr. Ir. Supriyadi, MS</u><br>NIP. 131 475 637           |              |         |

Mengetahui

Ketua Program Studi Agronomi

**Prof. Dr. Ir. Supriyono, MS**  
**NIP. 131 407 037**

**ANALISIS KERAGAMAN DNA TANAMAN DURIAN SUKUN (*Durio  
zibethinus* Murr.) BERDASARKAN PENANDA RAPD**

Disusun oleh :

**ISMI PUJI RUWAIDA**

**S 610907004**

Telah disetujui oleh Tim Penguji :

| Jabatan         | Nama   | Tanda Tangan | Tanggal |
|-----------------|--|--------------|---------|
| Ketua           | <u>Prof. Dr. Ir. Supriyono, MS</u><br>NIP. 131 407 037   |              |         |
| Sekretaris      | <u>Dr. Ir. Parjanto, MP</u><br>NIP. 131 792 192  |              |         |
| Anggota Penguji | <u>Dr. Ir. Endang Yuniastuti, M.Si</u><br>NIP. 132 085 921<br><br><u>Dr. Ir. Supriyadi, MS</u><br>NIP. 131 475 637 |              |         |

Mengetahui

Direktur Program Pascasarjana

Ketua Program Studi Agronomi

Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D  
NIP. 131 472 192

Prof. Dr. Ir. Supriyono, MS  
NIP. 131 407 037

**PERNYATAAN**

Nama : Ismi Puji Ruwaida

NIM : S 610907004

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis yang berjudul : **ANALISIS KERAGAMAN DNA TANAMAN DURIAN SUKUN (*Durio zibethinus* Murr.) BERDASARKAN PENANDA RAPD** adalah betul-betul karya sendiri. Hal-hal yang bukan karya saya, dalam tesis tersebut diberi tanda citasi dan ditunjukkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan tesis dan gelar yang saya peroleh dari tesis tersebut.

Surakarta, Agustus 2009

Yang membuat pernyataan

**Ismi Puji Ruwaida**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, kemudahan, dan petunjuk-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis dengan judul **“Analisis Keragaman DNA Tanaman Durian Sukun (*Durio zibethinus* Murr.) Berdasarkan Penanda RAPD”** dengan baik. Maksud penyusunan tesis ini adalah untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh derajat Magister Pertanian pada Program Studi Agronomi di Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Pada kesempatan ini penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Suranto, M.Sc.,Ph.D selaku Direktur Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan S2.
2. Prof. Dr. Ir. Supriyono, MS selaku Ketua Program Studi Agronomi Program Pasacasarjana dan selaku ketua penguji atas bimbingannya selama ini.
3. Dr. Ir. Endang Yuniastuti., M.Si, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan saran, petunjuk, dan bimbingan selama ini.
4. Dr. Ir. Supriyadi, MS selaku Dosen Pembimbing II dan selaku sekretaris Program Studi Agronomi atas bimbingan, dan saran.
5. Dr. Ir. Parjanto, MP selaku sekretaris penguji atas bimbingan dan sarannya selama ini.
6. Tim Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2008 dengan ketua Dr. Ir. Endang Yuniastuti. M.Si yang telah memberikan dana penelitian ini.

7. Kepala Kebun Benih Ranukutri, Pendem, Karanganyar dan Kepala Kebun Benih Kabupaten Jepara yang telah menyediakan bahan untuk penelitian ini.
8. Dr. Anto Rimbawanto selaku kepala Laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan di Yogyakarta yang telah menyediakan fasilitas laboratorium dan membimbing penulis dalam melaksanakan penelitian di laboratorium Biologi Molekuler.
9. Kedua orang tua dan keluarga yang telah membantu, memberikan semangat dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
10. Mujianto, S.P, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
11. Rekan-rekan angkatan VII Program Pascasarjana Program Studi Agronomi atas segala masukan dan saran sejak penyusunan proposal sampai tersusunnya tesis ini.
12. Semua pihak yang telah membantu penyusunan tesis ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih terdapat kekurangan, walaupun demikian diharapkan tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surakarta, Agustus 2009

Ismi Puji Ruwaida

## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                        | i       |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN 1</b> .....                 | ii      |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN 2</b> .....                 | iii     |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....                   | iv      |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....                       | v       |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                           | vii     |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                         | x       |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                        | xi      |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                      | xv      |
| <b>ABSTRAK</b> .....                              | xvi     |
| <b>ABSTRACT</b> .....                             | xvii    |
| <b>BAB I. PENDAHULUAN</b>                         | 1       |
| A. Latar Belakang .....                           | 1       |
| B. Rumusan Masalah .....                          | 3       |
| C. Tujuan Penelitian .....                        | 5       |
| D. Manfaat Penelitian .....                       | 5       |
| <b>BAB II. KAJIAN TEORI</b>                       | 6       |
| A. Tinjauan Pustaka .....                         | 6       |
| 1. Durian ( <i>Durio zibethinus Murr.</i> ) ..... | 6       |
| 2. Studi Keragaman DNA.....                       | 11      |

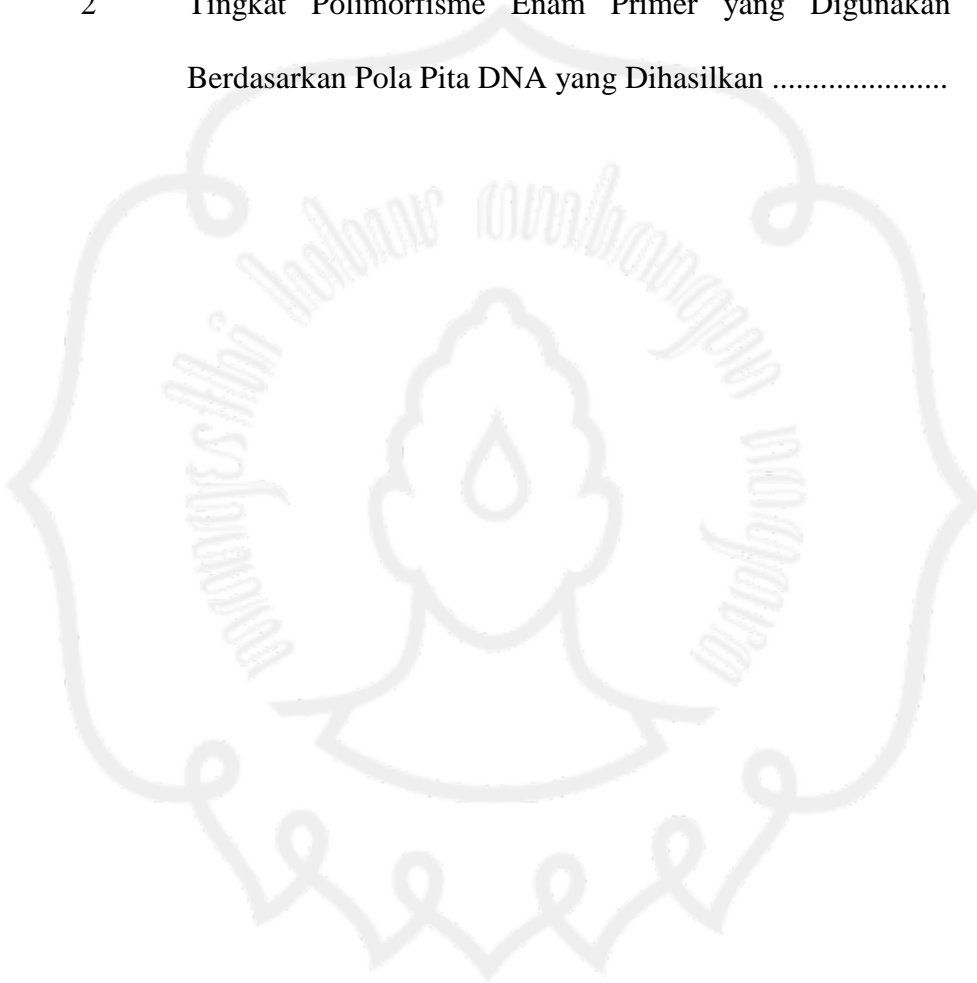
|  |           |
|--|-----------|
| a. DNA ( <i>Deoxyribonucleic acid</i> ) .....                                  | 12        |
| b. RAPD ( <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> ).....                       | 13        |
| B. Kerangka Berpikir .....   | 19        |
| C. Hipotesis .....   | 20        |
| <b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....  | <b>21</b> |
| A. Tempat dan Waktu Penelitian .....   | 21        |
| B. Bahan dan Alat Penelitian .....   | 21        |
| 1. Keragaman DNA antar varietas durian.....                                    | 21        |
| 2. Keragaman DNA varietas durian sukun pada wilayah<br>penanaman berbeda ..... | 22        |
| C. Pelaksanaan Penelitian .....  | 22        |
| 1. Pengambilan Sampel .....  | 22        |
| 2. Isolasi DNA .....   | 22        |
| a. Ekstraksi DNA .....   | 22        |
| b. Pemurnian DNA .....   | 24        |
| 3. Uji Kualitas dan Kuantitas DNA .....  | 24        |
| 4. Seleksi Primer .....  | 25        |
| 5. Reaksi Amplifikasi dan Elektroforesis .....                                 | 25        |
| D. Analisis Data .....   | 27        |
| 1. Keragaman DNA antar varietas durian .....                                   | 27        |
| 2. Keragaman DNA varietas durian sukun pada wilayah<br>penanaman berbeda.....  | 27        |



|  |    |
|--|----|
| <b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>  | 28 |
| A. Seleksi Primer .....  | 28 |
| B. Keragaman DNA Antar Varietas Durian .....                                   | 31 |
| 1. Primer OPA-01 .....   | 32 |
| 2. Primer OPA-02 .....   | 34 |
| 3. Primer OPA-07 .....   | 36 |
| 4. Primer OPA-16 .....   | 38 |
| 5. Primer OPA-18 .....   | 40 |
| 6. Primer OPA-19 .....   | 41 |
| C. Keragaman DNA Varietas Durian Sukun Pada Wilayah<br>Penanaman Berbeda ..... | 43 |
| 1. Primer OPA-01 .....   | 44 |
| 2. Primer OPA-02 .....   | 46 |
| 3. Primer OPA-07 .....   | 48 |
| 4. Primer OPA-16 .....   | 50 |
| 5. Primer OPA-18 .....   | 52 |
| 6. Primer OPA-19 .....   | 54 |
| <b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>   | 57 |
| A. Kesimpulan .....  | 57 |
| B. Saran .....   | 57 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 58 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | 64 |

**DAFTAR TABEL**

| No Tabel | Judul   | Halaman |
|----------|---|---------|
| 1        | Jenis Dan Susunan Basa Dari 20 Primer yang Diseleksi .....                                      | 29      |
| 2        | Tingkat Polimorfisme Enam Primer yang Digunakan Berdasarkan Pola Pita DNA yang Dihasilkan ..... | 30      |



## DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Judul  | Halaman |
|--------|--|---------|
| 1      | Amplifikasi pada Seleksi Primer OPA-16 dan OPA-17 menggunakan sampel DNA durian sukun (1), sunan (2), monthong (3) dan petruk (4) .....        | 30      |
| 2      | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19 ..... | 31      |
| 3      | a. Pola pita DNA Lima Varietas Durian dengan primer OPA-01 .....   | 33      |
|        | b. Interpretasi pola pita DNA Lima Varietas Durian dengan primer OPA-01..  | 33      |
| 4      | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01 .....  | 34      |
| 5      | Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-02 .....                       | 35      |
| 6      | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-02 .....  | 36      |
| 7      | a. Pola pita DNA lima varietas durian dengan primer OPA-07 .....   | 37      |
|        | b. Interpretasi pola pita DNA lima varietas durian dengan primer OPA-07 ....   | 37      |
| 8      | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-07 .....  | 38      |
| 9      | Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-16 .....                       | 38      |

|    |  |    |
|----|--|----|
| 10 | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-16 .....  | 39 |
| 11 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-18 .....   | 40 |
| 12 | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-18 .....  | 41 |
| 13 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-19 .....   | 42 |
| 14 | Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-19 .....  | 42 |
| 15 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19.... | 43 |
| 16 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2) durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-01 .....  | 45 |
| 17 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01 .....                                      | 46 |
| 18 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2), durian sukun dari Jepara (3),   |    |

|    |   |    |
|----|---|----|
|    | dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-02 .....   | 47 |
| 19 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-02 ..... | 47 |
| 20 | a. Pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-07 .....   | 48 |
|    | b. Interpretasi pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-07 .....  | 48 |
| 21 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-07 ..... | 49 |
| 22 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2), durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-16 .....                                  | 51 |
| 23 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-16 ..... | 52 |
| 24 | a. Pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-18.....  | 53 |
|    | b. Interpretasi pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda   |    |

|    |   |    |
|----|---|----|
|    | dengan primer OPA-18 .....  | 53 |
| 25 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-18 ..... | 54 |
| 26 | Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2), durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-19 .....                                  | 55 |
| 27 | Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2), durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-19 ..... | 56 |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Judul   | Halaman |
|----------|---|---------|
| 1        | a. Lokasi Sampel Penelitian Analisis Keragaman DNA<br>Tanaman Durian Sukun Berdasarkan Penanda RAPD ..... | 65      |
|          | b. Foto Tanaman Durian Pada Penelitian Analisis Keragaman<br>DNA Berdasarkan Penanda RAPD .....           | 65      |
| 2        | Alat-alat Yang Digunakan Dalam Analisis Molekuler RAPD ....   | 70      |
| 3        | Prosedur Kerja Analisis Molekuler RAPD.....   | 73      |
| 4        | Hasil Amplifikasi Durian Berdasarkan Penanda RAPD .....   | 77      |
| 5        | Matriks Kemiripan Genetik .....   | 80      |
| 6        | Foto Beberapa Spesies Durian .....  | 83      |
| 7        | Deskripsi Durian Sukun Gempolan Karanganyar.....  | 87      |
| 8        | Deskripsi Durian Sukun Salatiga .....   | 88      |
| 9        | Deskripsi Durian Sukun dari Jepara .....  | 89      |
| 10       | Deskripsi Durian Sukun .....  | 90      |
| 11       | Deskripsi Durian Sunan .....  | 91      |
| 12       | Deskripsi Durian Petruk .....   | 92      |
| 13       | Deskripsi Durian Otong / Monthong .....   | 93      |
| 14       | Deskripsi Durian Kani .....   | 94      |

## **ANALISIS KERAGAMAN DNA TANAMAN DURIAN SUKUN (*Durio zibethinus* Murr.) BERDASARKAN PENANDA RAPD**

### **ABSTRAK**

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) merupakan buah-buahan tropis dari Asia Tenggara. Beberapa genotipe durian lokal telah dilepas menjadi varietas unggul, yaitu durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk, namun sampai saat ini belum diketahui keragaman DNA. Alternatif untuk mengkaji keragaman DNA durian adalah dengan menggunakan penanda RAPD. Tujuan penelitian adalah mengkaji keragaman DNA pada varietas durian sukun, sunan, kani, monthong, dan petruk serta mengkaji keragaman DNA durian sukun yang ditanam pada wilayah yang berbeda berdasarkan penanda RAPD.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan di Yogyakarta mulai bulan November 2008 sampai bulan Januari 2009. Bahan penelitian analisis keragaman DNA antar varietas durian adalah daun tanaman durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk yang ada di kebun benih Ranukutri Karanganyar. Bahan penelitian analisis keragaman DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda adalah daun tanaman durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Kebun Benih Ranukutri Karanganyar, durian sukun dari Jepara dan durian sukun dari Salatiga. Selanjutnya dilakukan analisis DNA terhadap sampel daun yang diawali dengan isolasi DNA, uji kuantitas dan kualitas DNA, seleksi primer, dan amplifikasi dengan PCR. Visualisasi hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan etidium bromide yang menghasilkan pita DNA. Pita DNA selanjutnya dianalisis dengan program *NTSYS* untuk mendapatkan keragaman DNA antar varietas durian dan keragaman DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda.

Seleksi primer menghasilkan 6 primer polimorfik yang digunakan, yaitu primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19. Pola pita DNA hasil amplifikasi menunjukkan adanya keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk serta menunjukkan keragaman durian sukun yang ditanam di wilayah yang berbeda. Dendrogram pengelompokan pada lima varietas durian cenderung memisah, yaitu durian sukun, sunan, monthong dan petruk merupakan satu kelompok yang memisah dengan durian kani. Dendrogram pengelompokan durian sukun yang ditanam pada wilayah berbeda menghasilkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan Karanganyar dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Kebun Benih Ranukutri Karanganyar dan durian sukun dari Jepara.

**Kata kunci : Analisis keragaman, DNA, *Durio zibethinus* Murr, RAPD.**



## DNA VARIABILITY ANALYSIS OF SUKUN DURIO (*Durio zibethinus* Murr.) PLANT BASED ON RAPD MARKERS

### ABSTRACT

Durio (*Durio zibethinus* Murr.) is a tropical fruit from Southeast Asia. Several genotypes of durio have been released as the superior varieties, namely durio of sukun, sunan, kani, monthong and petruk that its need study about their DNA variability. An alternative way to study the DNA variability of durio is by using RAPD markers. The aim of research is to study the DNA variability durio of sukun, sunan, kani, monthong, petruk and to study the DNA variability of sukun durio in different areas planted based on RAPD markers.

The research has conducted in Biotechnology Laboratory in Yogyakarta on November 2008 until January 2009. Material of this research is leaves of sukun, sunan, kani, monthong and petruk durio from Ranukutri seed garden, Karanganyar. The material of DNA variability of sukun durio in different areas planted is leaves of sukun durio from Gempolan, Karanganyar, sukun durio from seed garden Ranukutri, Karanganyar, sukun durio from Jepara dan durio of sukun from Salatiga. DNA analysis of leaves sample is begin DNA isolation, quantity and quality test of DNA, primer selected, and amplification with PCR. Then, electroforesis stage for visualitation of PCR product with etidium bromide. Software of *NTSYS* is used to analyzed a DNA band for DNA variability of durio.

The result of primer selected is six primer used in this research, that is OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 and OPA-19 primers. Amplification product is a DNA band show that DNA variability of sukun, sunan, kani, monthong and petruk durio and show DNA variability of sukun durio in different areas planted. Clustering dendrogram of five durio varieties based on DNA band with 6 primer is separate inclined. The first group consisted of sunan, monthong, petruk and sukun durio, that separate from durio of kani. Clustering of sukun durio into two groups. The first group consisted of sukun durio from Gempolan, Karanganyar and sukun durio from Salatiga, while the second group consisted of sukun durio from Ranukutri seed garden Karanganyar and the one from Jepara.

**Key word : variability analysis, DNA, *Durio zibethinus* Murr, RAPD.**

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Durian (*Durio zibenthinus* Murr.) merupakan buah-buahan tropis yang berasal dari [Asia Tenggara](#). Nama durian diambil dari ciri khas kulit buahnya yang keras dan berlekuk-lekuk tajam sehingga menyerupai [duri](#). Durian pertama kali ditemukan oleh Murray di hutan Malaya atau Malaysia dan oleh Wallace disebut sebagai “*The King of the Fruit*”. Penyebaran durian meluas ke berbagai negara yaitu Indonesia, Thailand, Myanmar, India dan Pakistan. Di Indonesia durian merupakan komoditas ekspor penting karena permintaannya mengalami peningkatan dari tahun ke tahun (Nafsi, 2007).

Durian lokal disukai oleh konsumen dalam negeri karena rasanya manis, sedikit pahit, beraroma sedang hingga kuat, warna kuning menarik, daging tebal dan produktivitas buah tinggi. Sementara itu, konsumen luar negeri lebih menyukai durian yang tidak beraroma, rasa manis, sedikit pahit, daging buah tebal dan warna daging kekuningan (Baswarsiati *et al.*, 2007).

Uji (2005) menemukan di Indonesia ada 20 jenis durian yang 18 jenis diantaranya berada di Kalimantan. Sebagian besar durian yang dibudidayakan berasal dari spesies *Durio zibenthinus* (Sarwono, 1995 dalam Sumarsono *et al.*, 2002). Menurut Direktorat Bina Perbenihan (1996) dalam Sumarsono *et al.*, 2002 beberapa durian lokal yang diakui keunggulannya oleh Menteri Pertanian dan disebarluaskan kepada masyarakat untuk dikembangkan yaitu durian sukun (Jawa Tengah), petruk (Jawa Tengah), sitokong (Betawi),

sijapang (Betawi), simas (Bogor), sunan (Jepara), monthong (Thailand), kani (Thailand), sidodol dan sihijau (Kalimantan Selatan) (Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, 2000). Indonesia memiliki lebih dari 103 varietas durian dan masing-masing dibedakan karakter morfologi (Nafsi, 2007), yaitu bentuk daun dan buah, rasa dan aroma buah, dan bentuk biji.

1 Beberapa penelitian durian yang sudah dilakukan, diantaranya penelitian identifikasi dan keragaman genetik pohon induk durian di Jawa Tengah berdasarkan penanda morfologi dan isozim (Sriyono, 2006) yang menunjukkan bahwa terdapat keragaman berdasarkan karakter morfologi. Keragaman durian akan terus meningkat karena sifat tanaman durian yang menyerbuk silang (Ashari, 1995). Penelitian lain yaitu identifikasi morfologi durian sukun (Yuniastuti, 2008). Penggunaan karakter morfologi mudah dilakukan dan cepat, namun terdapat kendala yaitu adanya faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi karakter fenotip, perbedaan umur tanaman dan jaringan tanaman (Khanuja *et al.*, 2005 dalam Nandariyah, 2007a).

2 Alternatif untuk mengkaji keragaman durian adalah dengan menggunakan penanda molekuler (protein, isozim, dan DNA). Keragaman DNA durian dapat dianalisis dengan menggunakan beberapa penanda, diantaranya penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polimorphisms*), SSR atau mikrosatelit yang telah dilakukan oleh Nur Izzatun Nafsi (2007).

Dibandingkan beberapa penanda molekuler tersebut, keunggulan RAPD antarlain mudah dilakukan, cepat dan hanya memerlukan sedikit DNA sebagai cetakan, serta tanpa memerlukan informasi awal genom target (Martasari dan Sugiyatno, 2007). Rowland dan Levi (1994) dalam Maftuchah dan Zainudin (2007) menyatakan bahwa penanda RAPD sesuai untuk spesies tanaman berkayu, sehingga dapat digunakan untuk analisis keragaman DNA tanaman durian sukun.

Penelitian ini mengungkapkan informasi tentang keragaman DNA antar varietas durian sukun, kani, monthong, sunan dan petruk berdasarkan pola pita DNA dan keragaman DNA durian sukun yang ditanam pada wilayah yang berbeda yang dihasilkan melalui amplifikasi DNA menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada RAPD.

## **B. Rumusan Masalah**

Indonesia mempunyai lebih dari 103 varietas durian yang banyak ditemukan di Kalimantan dan masing-masing memiliki perbedaan morfologi yang membedakan, yaitu pada bentuk buah, rasa dan aroma buah, bentuk biji, dan bentuk daun. Penelitian yang sudah dilakukan yaitu identifikasi dan keragaman genetik pohon induk durian di Jawa Tengah berdasarkan penanda morfologi dan isozim oleh Sriyono (2006), yang diperoleh hasil bahwa durian petruk dan sunan berada pada kelompok yang sama, tetapi berbeda kelompok dengan durian sukun berdasarkan ciri morfologi yang membedakan yaitu pada bentuk tajuk, percabangan, bentuk buah, warna kulit buah, warna dan rasa daging buah, duri buah, tipe daun dan warna daun, sedangkan berdasarkan

penelitian identifikasi morfologi durian sukun oleh Yuniastuti (2008) diperoleh hasil bahwa ciri morfologi durian sukun adalah bentuk buahnya bulat telur, agak lonjong, duri besar dan jarang, jumlah biji kempes rata-rata 1-2 per buah. Daging buah berwarna putih kekuningan, tebal, kaku, aroma buah tidak kuat, kering, tidak manis dan sedikit pahit. Daging buah kurang berlemak. Buah terdiri dari lima lokus (juring) dengan setiap lokusnya terdiri dari 4-5 biji. Selain itu juga diteliti tentang analisis keragaman durian dengan marka mikrosatelit oleh Nafsi (2007).

Penggunaan karakter morfologi merupakan metode yang mudah dan cepat, namun terdapat kendala yaitu adanya pengaruh faktor lingkungan dan membutuhkan sampel banyak, sedangkan durian sukun merupakan salah satu tanaman langka (*rare*). Penelitian dengan marka mikrosatelit membutuhkan biaya yang lebih mahal dan lebih sulit dipelajari. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain untuk mengkaji keragaman DNA durian yaitu dengan menggunakan penanda RAPD yang lebih mudah dipelajari, lebih murah dan tidak membutuhkan jumlah sampel DNA yang banyak.

Masalah yang ditemukan berdasarkan penelitian keragaman durian yang sudah dilakukan adalah :

1. Apakah dari beberapa varietas durian (sukun, sunan, kani, monthong dan petruk) memiliki keragaman DNA berdasarkan penanda RAPD?
2. Apakah durian sukun yang ditanam pada wilayah yang berbeda memiliki keragaman DNA berdasarkan penanda RAPD ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengkaji keragaman DNA pada beberapa varietas durian yaitu sukun, sunan, kani, monthong dan petruk berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).
2. Mengkaji keragaman DNA varietas durian sukun yang ditanam pada wilayah yang berbeda berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan informasi keragaman DNA antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk serta keragaman DNA durian sukun berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).
2. Mendapatkan penanda untuk membedakan karakter-karakter tertentu pada tanaman durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk.

## II. KAJIAN TEORI

### A. Tinjauan Pustaka

#### 1. Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Tanaman durian merupakan sekelompok tumbuhan dari marga (genus) *Durio*. Durian yang dapat dikonsumsi ada sembilan spesies, namun yang paling banyak dibudidayakan adalah *Durio zibethinus*. Delapan spesies durian lainnya yaitu *D. kutejensis* (lai), *D. excelsus* (apun), *D. graveolens* (tuwala), *D. dulcis* (lahong), *D. grandiflorus* (sukang), dan *D. testudinarum* (sekura), *D. lowianus* (teruntung), dan *D. oxleyanus* (kerantungan) (Uji, 2005).

Taksonomi tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) adalah:

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Subdivisio : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Malvales  
Famili : Malvaceae (Bombacaceae)  
Genus : Durio  
Spesies : *Durio zibethinus* Murr.

(Ashari, 1995).

Durian merupakan spesies berhabitat tropika, dapat tumbuh pada ketinggian sekitar 800 m dpl. Curah hujan yang diperlukan adalah 1500-

2500 mm/tahun (Ashari, 1995; Subhadrabandhu *et al.*, 1991; Syafrial *et al.*, 1995). Suhu rerata minimum yang sesuai untuk tanaman durian adalah 22<sup>0</sup>C dan rerata maksimum 33<sup>0</sup>C (Lim, 1997). Intensitas cahaya yang ideal antara 40-50% (Lim, 1997). Winarno (1990) menyatakan bahwa tanah yang paling cocok untuk durian adalah tanah subur dan sedikit berpasir karena durian tidak tahan terhadap genangan. Durian hanya berbuah sekali dalam setahun dan mulai berbunga setelah berumur antara 5-10 tahun (Suharyono, 1990 *dalam* Latifah, 2004).

Tanaman durian mempunyai ketinggian mencapai 30 m lebih. Batang durian tegak, berkayu, bulat, dan mempunyai percabangan simpodial. Bibit yang berasal dari biji mempunyai akar tunggang, sedangkan bibit yang berasal dari perbanyakan vegetatif mempunyai akar serabut (Polprasid, 1961 *dalam* Brown, 1997).

Daun tersusun secara spiral pada cabang, berbentuk jorong (*ellipticus*) hingga lanset (*lanceolatus*), dasar daun runcing (*acutus*) atau tumpul (*obtusus*) dengan ujung daun runcing. Permukaan bagian atas daun mengkilap, sedangkan permukaan daun bagian bawah berambut (Subhadrabandhu *et al.*, 1991).

Bunga berada di cabang (*ramiflorus*) (Lim, 1990 *dalam* Brown, 1997; Halle, Oldeman dan Tomlinson, 1978). Bunga membuka pada sore hari dan sebelum tengah malam. Penyerbukan terjadi malam hari dengan bantuan kelelawar (Subhadrabandhu *et al.*, 1991). Periode pembungaan berlangsung pada awal bulan Oktober dan masa panen berakhir pada



pertengahan bulan Februari. Apabila terjadi masa berbuah kedua, pada periode ini pembungaan terjadi pada awal Juni dan berbuah hingga pertengahan Juni (Lim, 1997). Durian cenderung menyerbuk silang karena bersifat *self-incompatibility*, sehingga tata tanam durian monokultur dianjurkan menggunakan varietas yang sudah diketahui atau dilakukan penanaman beberapa varietas untuk meningkatkan persentase terjadinya penyerbukan silang (Brown, 1997; Subhadrabandhu *et al.*, 1991).

Biji buah durian berbentuk bulat telur (*ovoid*), dengan panjang 3,5-5,0 cm dan diameter 2,5-3,5 cm. Biji buah durian tergolong rekalsitran (Hofmann dan Seiner, 1989 *dalam* Brown, 1997), dan berkecambah dalam waktu 3-8 hari dengan tipe perkecambahan hipogeal atau semihipogeal (Burger, 1972). Biji rekalsitran yaitu biji yang memiliki laju pertumbuhan relatif tinggi dalam waktu singkat, dan mempunyai tingkat kematian yang lebih tinggi pada biji yang lambat berkecambah (Luttge, 1997).

Buah durian tergolong buah sejati tunggal berbentuk bulat (*globose*), bulat telur (*ovoid*) atau elipsoidal (*ellipsoid*) dengan panjang 25 cm dan diameter 20 cm. Warna buah hijau hingga coklat, dengan panjang duri mencapai 1 cm (Subhadrabandhu *et al.*, 1991). Durian merupakan buah klimaterik dengan peningkatan aktivitas sumber (*sink*) yang ditandai oleh peningkatan kadar CO<sub>2</sub> dan etilen meningkat pada bagian akhir perkembangan buah (Tongde *et al.* 1989, Booncherm dan Siriphanich, 1991 *dalam* Brown, 1997).

Berikut adalah deskripsi buah lima varietas durian:

a. Durian sukun

Durian sukun mempunyai bentuk daun jorong dengan ujung daun meruncing, panjang daun 8-23 cm dan lebar daun 7-9 cm. Bentuk buahnya bulat telur, agak lonjong, duri besar dan jarang, jumlah biji kempes rata-rata 1-2 per buah. Daging buah berwarna putih kekuningan, tebal, kaku, aroma buah tidak kuat, kering, tidak manis, sedikit pahit dan kurang berlemak. Buah terdiri dari lima lokus dengan setiap lokusnya terdiri dari 4-5 biji (Yuniastuti, 2008).

b. Durian kani (chane)

Bentuk buah bulat, warna kulit kuning kecoklatan, bentuk duri kerucut agak rapat dan tajam, sifat buah agak sukar dibelah. Berat tiap buah 1,0-1,5 kg, daging buah cukup tebal, warna daging buah kekuningan, daging buah kering berlemak, tekstur daging halus, aroma sedang dan tidak terlalu tajam.

c. Durian sunan

Buah berbentuk bulat telur, kulit berwarna hijau kecoklatan, duri kecil dan jarang, berat buah 1,5 kg-2,5 kg. Kulit buah tipis dan mudah dibuka. Biji buah durian pipih, dengan daging buah berwarna putih kekuningan (krem).

d. Durian petruk

Buah berbentuk bulat telur terbalik, kulit buah berwarna hijau kekuningan dan tipis, bentuk duri kerucut kecil dan rapat. Berat buah

1,0-2,5 kg, buah agak sukar dibelah. Warna buah kuning, ketebalan daging sedang, keadaan daging agak lembek, rasa daging manis sekali, tekstur daging berserat halus, aroma buah sedang tidak tajam. Jumlah pongge per buah antara 5-10 dengan biji sempurna 5-10. Ukuran bijinya kecil dan berbentuk lonjong.

e. Durian monthong

Bentuk buah durian monthong panjang dengan bagian ujung dan pangkal agak meruncing. Warna kulit hijau kekuningan dengan bentuk duri kerucut kecil dan agak rapat. Buah agak sukar dibelah, berat per buah 4-4,5 kg. Warna daging buah kuning dengan daging tebal, kering dan kurang berlemak. Rasa daging manis sekali, tekstur daging halus dan aroma buah sedang tidak tajam. Bentuk biji lonjong sedang..

(Badan Standarisasi Nasional, 1998).

Sunarjono (1997) *dalam* Latifah (2004) menyatakan bahwa durian dapat diperbanyak dengan biji, okulasi dan sambungan. Namun bibit dari hasil okulasi lebih populer dan diajarkan daripada biji. Batang bawah menggunakan tanaman yang berasal dari biji yang telah berumur 4-8 bulan. Jenis durian untuk batang bawah belum ada yang khusus, tetapi dianjurkan menggunakan jenis durian yang serasi dan sehat.

Manfaat durian berdasarkan keterangan dari Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (2000) selain sebagai makanan buah segar dan olahan lainnya, terdapat manfaat dari bagian lain durian, yaitu:

- a. Tanaman dapat digunakan sebagai pencegah erosi di lahan-lahan yang miring.
- b. Batang dapat digunakan untuk bahan bangunan/perkakas rumah tangga.
- c. Bijinya memiliki kandungan pati cukup tinggi, berpotensi sebagai alternatif pengganti makanan (dapat dibuat bubur yang dicampur dengan daging buahnya).
- d. Kulit dipakai sebagai bahan abu gosok yang bagus, dengan cara dijemur sampai kering dan dibakar sampai hancur.

## **2. Studi Keragaman DNA**

Keragaman suatu individu meliputi keragaman fenotipe dan keragaman genotip. Keragaman fenotipe merupakan keragaman yang disebabkan karena faktor genetik, lingkungan dan interaksi keduanya, sedangkan keragaman genotipe merupakan keragaman yang disebabkan faktor genetik. Keragaman fenotipe dapat diketahui melalui analisis morfologi, protein dan enzim. Keragaman genotipe diketahui melalui analisis sitologi dan analisis molekuler. Keragaman berdasarkan analisis molekuler merupakan studi keragaman yang dilihat berdasarkan karakter DNA yang dapat dilakukan berdasarkan penanda RAPD, RFLP, dan AFLP. Pada penelitian ini dilakukan studi keragaman DNA berdasarkan penanda RAPD.

## DNA (*Deoxyribonucleic acid*)

*Deoxyribonucleic acid* (DNA) adalah biomakromolekul penyusun utama kromosom dan mengandung informasi genetika. Informasi genetika yang terdapat pada DNA memiliki dua fungsi, yaitu (1) sebagai sumber informasi sintesis molekul protein sel atau organisme dan (2) sebagai sumber informasi yang akan diturunkan kepada sel anak (Martin, 1987 dalam Purwanti, 2000). DNA sebagai informasi yang diturunkan kepada sel anak dapat dijadikan dasar dalam menentukan kekerabatan suatu organisme, misalnya teknik DNA *fingerprinting* (sidik jari DNA). DNA *fingerprinting* adalah suatu pola fragmen DNA suatu individu dengan ukuran yang berbeda pada suatu gel Southern (*Southern gel*), yang ditimbulkan oleh satu atau banyak lokus (Li Jin dan Chakraborty, 1994).

DNA merupakan suatu materi genetik polinukleotida yang tersusun 4 sub unit nukleotida yang diikat dengan urutan spesifik membentuk suatu rantai *double helix*. DNA terdapat di dalam kromosom, mitokondria dan kloroplast. DNA tersusun atas nukleotida yang terdiri dari gula (deoksiribosa), pospat dan basa nitrogen (purin dan pirimidin) (Suryo, 2005). Rantai DNA tersusun dari ratusan nukleotida yang dihubungkan oleh ikatan dan mempunyai ujung 5' terdiri dari pospat (5' P) dan 3' tersusun dari gugus hidroksil (3'-OH). Panjang rantai DNA tergantung jumlah nukleotida yang sering disebut *base pair* (bp) (Glick and Pasternak, 1994).

Keanekaragaman genetika dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dipantau dengan mata telanjang, atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu (Suryanto, 2003).

Keragaman genetik berdasarkan karakter DNA dapat dianalisis menggunakan beberapa penanda molekuler, yaitu RAPD, RFLP, AFLP, dan SSR. Penanda molekuler DNA mempunyai banyak keuntungan daripada penanda protein, yaitu menghasilkan polimorfisme yang banyak. Analisis molekuler dapat menghasilkan pemahaman yang lebih baik tentang hubungan antar spesies dan menjadi unsur klasifikasi taksonomi yang akurat (Weising *et al.*, 1995).

#### RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

RAPD merupakan salah satu teknik molekuler yang berupa penggunaan penanda tertentu untuk mempelajari keanekaragaman genetika. Dasar analisis RAPD adalah menggunakan mesin PCR yang mampu mengamplifikasi sekuen DNA secara *in vitro*. Teknik ini melibatkan penempelan primer tunggal dengan sekuen nukleotida acak (Williams *et al.*, 1990) yang dirancang sesuai dengan kebutuhan. Primer yang digunakan pada teknik RAPD memungkinkan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen DNA (Suryanto, 2003).

Metode RAPD dilakukan berdasarkan sekuens DNA yang homolog dengan sekuens primer oligonukleotida. Sekuens tersebut berada pada situs berbeda pada dua utas DNA cetakan. Setiap primer secara terus menerus membentuk beberapa produk amplifikasi yang berbeda dan fragmen tersebut dianggap berasal dari lokus genetik yang berbeda. Penelitian dengan memanfaatkan RAPD telah banyak dilakukan untuk menunjang kegiatan pemuliaan tanaman, yaitu analisis variasi genetik dan mengetahui hubungan kekerabatan pada tanaman (Waugh, 1997).

Prinsip dasar RAPD adalah *polymerase chain reactor* (PCR), yakni suatu reaksi yang dipergunakan untuk memperbanyak potongan DNA dengan menggunakan sepasang primer oligonukleotida. Proses ini adalah pemanjangan rantai DNA dengan DNA polimerase. Enzim yang digunakan pada proses PCR adalah *Taq* polymerase yang memiliki suhu optimum 72<sup>0</sup>C dan stabil pada 94<sup>0</sup> C (Paolella, 1998 dalam Hadipoentyanti *et al.*, 2001).

Williams *et al.*, (1990) dalam Mansyah *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa penanda molekuler melalui teknik RAPD dihasilkan melalui amplifikasi DNA yang berdasarkan pada PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Hasil reaksi PCR berupa potongan DNA yang dengan mudah dapat dipisahkan melalui teknik elektroforesis dan dapat dilihat dalam bentuk berbagai ukuran pita DNA.

RAPD menghasilkan gambaran pita putus-putus yang dihasilkan ketika primer terikat pada sisi rantai DNA yang berhadapan di dalam area yang teramplifikasi, umumnya < 3000 bp. Hasil amplifikasi (*amplikon*) membentuk gambaran polimorfisme yang ditandai dengan hadir atau tidaknya amplikon yang berfungsi sebagai penanda genetik (Williams *et al.*, 1990) dan sebagai karakter molekuler untuk tingkat keragaman genetik (Weising *et al.*, 1995). Hal ini sesuai dengan pernyataan Miklas *et al.*, (1996) bahwa hasil amplifikasi DNA dengan RAPD diharapkan dapat menunjukkan fenomena polimorfisme pada pita-pita DNA yang dihasilkan. Penggunaan metode ini memungkinkan deteksi polimorfisme pada fragmen DNA yang terseleksi dengan menggunakan primer yang bersifat acak.

Hasil PCR berupa potongan DNA yang dipisahkan melalui elektroforesis, sehingga diperoleh pita-pita DNA (Williams *et al.*, 1990 dalam Mansyah *et al.*, 2003). Salah satu keuntungan analisis keragaman menggunakan teknik molekuler yang memanfaatkan teknologi PCR adalah kuantitas DNA yang dibutuhkan hanya sedikit (Pandey *et al.*, 1996 dalam Prana dan Hartati, 2003).

Analisis RAPD dapat digunakan untuk menetapkan dan melihat karakteristik variabilitas genetik diantara genotip tanaman dan dapat melihat kekerabatan pada tanaman tingkat tinggi. Hasil RAPD dapat mendeteksi tanaman melalui genotip dan lebih baik daripada



melihat fenotipnya. Selain itu, variabilitas genetik yang dihasilkan berbeda dari polimorfisme isozim atau protein, karena DNA merupakan komponen alel yang memperlihatkan variabilitas lebih banyak (Watanabe, 1997 dalam Hadipoentyanti *et al.*, 2001).

Pengamatan DNA dengan menggunakan metode RAPD memiliki beberapa kelebihan yaitu : (1) DNA yang digunakan dalam pengamatan lebih sedikit, (2) tidak menggunakan radioisotop, (3) hasil segera dapat diperoleh dalam waktu singkat karena tidak memerlukan banyak tahapan, dan (4) primer yang digunakan dalam pengamatan bersifat acak (Wells dan Mc Clelland, 1990).

Riedy *et al.*, (1992) menyebutkan keunggulan teknik analisis menggunakan markah RAPD yaitu (1) kuantitas DNA yang dibutuhkan sedikit, (2) hemat biaya, (3) mudah dipelajari, dan (4) primer yang diperlukan sudah banyak dikomersialisasikan sehingga mudah diperoleh. Kelemahan teknik ini antara lain (1) tingkat reproduksibilitas pola markah dari laboratorium ke laboratorium berbeda dan antara hasil percobaan dalam laboratorium itu sendiri yang sama, (2) sangat sensitif terhadap variasi dalam konsentrasi DNA, dan (3) memerlukan konsentrasi primer dan kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian. Selain itu, markah RAPD dominan dan tidak mampu menampilkan perbedaan sekuen DNA yang homolog, di antara fragmen-fragmen yang ukurannya hampir sama.

Nandariyah (2007b) menyatakan bahwa penanda RAPD berhasil digunakan untuk tujuan dalam bidang pemuliaan, antara lain :

- a. Penyusunan peta genetik
- b. Analisis struktur genetika populasi
- c. Sidik jari individu
- d. Pemetaan sifat-sifat
- e. Penanda khas pada bagian genom
- f. Klasifikasi filogenetik

Selain menggunakan RAPD, analisis keragaman DNA dapat dilakukan dengan penanda RFLP, AFLP, dan SSR. Berikut penjelasan singkat tentang masing-masing penanda :

1) Metode RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

Marka molekuler RFLP merupakan marka molekuler yang menggunakan enzim restriksi dalam mengidentifikasi sekuens DNA genom tanaman. Enzim restriksi ini berperan memotong rangkaian DNA genom tanaman menjadi potongan yang berbeda ukuran dan menjadi sumber informasi genetik (Sianipar, 2003). Prasanna (2002) dalam Azrai (2005) menyatakan bahwa analisis RFLP merupakan marker kodominan yang digunakan untuk studi komparatif pemetaan genom, tetapi memiliki keterbatasan jika digunakan sebagai alat bantu seleksi.

Penerapan marker RFLP tersebut antara lain : (1) menduga hubungan kekerabatan dari beberapa individu yang dianalisis, (2)

menduga ada tidaknya variasi genetik dari koleksi plama nutfah, (3) memonitor kemurnian benih hibrida, (4) memonitor proses seleksi (melalui linkage) berbagai karakter agronomis penting, (5) memilih komponen genetik dari karakter kuantitatif, (6) menganalisis gen yang berasal dari proses transformasi genetik (Sianipar, 2003).

## 2) Metode AFLP (*Amplified Fragment Length Polimorphisms*)

Teknik AFLP didasarkan pada amplifikasi selektif menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) terhadap sekumpulan DNA genomik yang sebelumnya dipotong dengan enzim restriksi. AFLP menghendaki DNA dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Hal ini diperlukan untuk mencegah terjadinya pemotongan DNA genomik secara tidak lengkap sehingga dapat menyebabkan kesalahan dalam identifikasi fragmen polimorfis. Teknik AFLP banyak digunakan dalam mempelajari marka genetik untuk mengidentifikasi marka molekuler yang terpaut dengan fenotipik tertentu (Haris *et al.*, 2003).

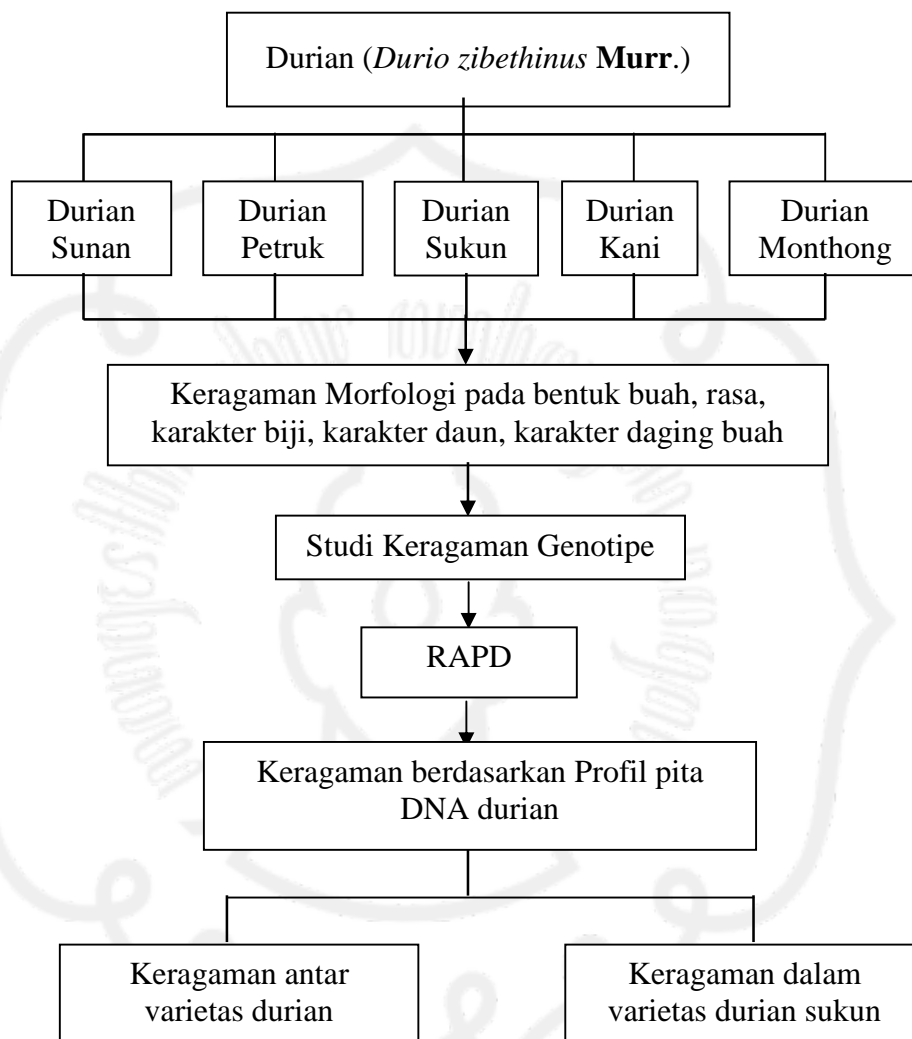
Keunggulan teknik AFLP menurut Vos *et al.*, (1995) dalam Azrai (2005), antara lain (1) tidak memerlukan informasi sekuen dari genom dan perangkat (kit) oligonukleotida yang sama ketika dilakukan analisis dan dapat diaplikasikan pada semua spesies tanaman; (2) hasil amplifikasinya stabil, tingkat pengulangan dan variabilitasnya sangat tinggi; (3) memiliki efisiensi yang sangat

tinggi dalam pemetaan lokus, karena sekali amplifikasi dapat meliputi beberapa lokus; (4) dapat digunakan untuk menganalisis sidik jari semua DNA dengan mengabaikan kompleksitas dan asal usulnya; (5) dapat bertindak sebagai jembatan antara peta genetik dan peta fisik pada kromosom. Keterbatasan dari teknik AFLP adalah cara aplikasinya relatif lebih rumit, sehingga memerlukan waktu lebih lama, keterampilan khusus, serta pengadaan alat dan bahan sangat mahal.

## **B. Kerangka Berpikir**

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) terdiri dari banyak varietas, diantaranya varietas durian sukun (Jawa Tengah), petruk (Jawa Tengah), sitokong (Betawi), sijapang (Betawi), simas (Bogor), sunan (Jepara), otong atau monthong (Thailand), kani (Thailand), sidodol dan sihijau (Kalimantan Selatan). Varietas tersebut dibedakan oleh ciri-ciri morfologi masing-masing, diantaranya pada bentuk buah, rasa dan aroma buah, bentuk biji, bentuk daun. Hasil penelitian beberapa varietas durian terdahulu menunjukkan terdapat keragaman morfologi, tetapi perlu diketahui lebih lanjut apakah keragaman morfologi tersebut juga menunjukkan keragaman DNA. Oleh karena alasan tersebut dilakukan penelitian studi keragaman DNA dengan menggunakan metode RAPD. Studi keragaman ini meliputi keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk dan keragaman dalam varietas durian sukun yang ditanam pada wilayah yang berbeda sehingga diperoleh informasi tentang keragaman antar varietas durian dan keragaman varietas

durian sukun (*Durio zibethinus* Murr.) berdasarkan profil pita DNA yang diperoleh.



### C. Hipotesis

Terdapat keragaman DNA pada durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk berdasarkan penanda RAPD. Terdapat keragaman DNA dalam durian sukun yang ditanam pada daerah yang berbeda berdasarkan penanda RAPD.

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan di Sleman, Yogyakarta mulai bulan November 2008 sampai bulan Januari 2009. Pekerjaan penelitian dilakukan dari hari Senin-Jumat mulai pukul 08.00-16.00 WIB.

#### B. Bahan dan Alat Penelitian

##### 1. Keragaman antar varietas durian

Bahan penelitian adalah daun tanaman durian sukun, petruk, sunan, kani dan monthong yang ada di kebun benih Ranukutri desa Pendem, Karanganyar. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain H<sub>2</sub>O, CTAB, kloroform isoamyl, kloroform, NaOAc, isopropanol, ethanol, NAI, silica, new wash, primer, master mix untuk PCR (H<sub>2</sub>O, stoffel buffer, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, dan enzim *Taq Polymerase*), agarose, TBE, gel loading, dan etidium bromida.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, microtube (tabung *eppendorf*) ukuran 2 ml, 1,5 ml dan 0,5 ml; pipet, rak, timbangan analitik, mesin sentrifuse, vortex, mini beadbeater, rotator, inkubator, Gene Quant, aspirator, desikator, *96-well reaction plate*, mesin PCR (GeneAmp PCR System 9600 dan GeneAmp PCR System 9700), elektroforesis tank, cetakan agarose (tray), Biorad dan komputer sebagai alat untuk mengambil gambar.

## **2. Keragaman varietas durian sukun pada wilayah penanaman berbeda**

Bahan penelitian adalah daun tanaman durian sukun yang berasal dari desa Gempolan, Kerjo, Karanganyar, durian sukun dari kebun benih Ranukutri, Pendem, Karanganyar, durian sukun dari desa Tahunan, Jepara, dan durian sukun dari desa Brongkol, Banyubiru, Salatiga. Bahan-bahan kimia dan alat yang digunakan sama dengan yang digunakan pada keragaman antar varietas durian poin B.1.

### **C. Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa kegiatan, yaitu pengambilan sampel, isolasi DNA yang meliputi ekstraksi DNA dan purifikasi (pemurnian) DNA, uji kualitas dan kuantitas DNA, seleksi primer, serta reaksi amplifikasi dan elektroforesis. Tahap-tahap pelaksanaan penelitian yang dilakukan untuk keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk sama dengan tahap yang dilakukan untuk keragaman varietas durian sukun, yaitu meliputi :

#### **1. Pengambilan sampel**

Sampel yang digunakan berasal dari daun tanaman durian sukun, sunan, kani, monthong, dan petruk yang sudah tua. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan mengambil daun yang masih bagus tekstur dan warnanya.

#### **2. Isolasi DNA, terdiri dari dua tahap yaitu ekstraksi dan purifikasi (pemurnian) DNA**

##### **a. Ekstraksi DNA**

DNA durian diekstraksi dari bagian daun yang tua dengan menggunakan metode CTAB (*Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*). Sebelum dilakukan ekstraksi, terlebih dahulu disiapkan buffer ekstraksi, yang kebutuhannya tergantung dari jumlah sampel yang akan diekstraksi (Lampiran 4).

Sampel yang akan diekstraksi di timbang (50-100 g), dipotong kecil-kecil, dimasukkan dalam microtube 2 ml dengan 2 buah gotri dan 1.5 ml buffer ekstraksi didalamnya. Sampel dihaluskan dengan alat (*mini bead beater*) selama 10 menit dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65 °C. Selanjutnya, sampel tersebut dipisahkan dari larutan bawah (diambil 1000 µl, dimasukkan dalam microtube baru ukuran 2 ml), dan ditambahkan 800 µl kloroform isoamyl, yang berfungsi memisahkan kontaminan seperti protein dengan DNA. Selanjutnya dirotasikan selama 20 menit, disentrifuse 15000 rpm, kemudian diambil 700 µl dan ditambahkan 700 µl kloroform, dirotasikan selama 20 menit dan disentrifuse 15000 rpm. Larutan diambil 600 µl, dipindahkan dalam microtube 1.5 ml yang sudah berisi NaOAc sebanyak 20 µl, kemudian ditambahkan 650 µl isopropanol sebagai pengikat DNA, sentrifuse selama 10 menit pada 15000 rpm, dan dikeringkan dengan aspirator, sehingga diperoleh pellet DNA. Selanjutnya pellet DNA dicuci dengan 1 ml EtOH (ethanol) 70 % dan 100 %. Terakhir, pellet DNA dikeringkan dengan aspirator, dilarutkan dalam 200 µl H<sub>2</sub>O dan penyimpanan dilakukan pada suhu -4 °C.



b. Pemurnian DNA (purifikasi)

Ekstaksi DNA belum menghasilkan DNA yang murni (*crude DNA*), oleh karena itu perlu dilakukan pemurnian DNA (purifikasi) yang bertujuan memisahkan DNA dari kontaminan lain seperti RNA. Metode yang digunakan adalah Gene Clean Kit III, dengan langkah mencampur 50 µl larutan DNA dengan 150 µl NAI, kemudian disentrifuse sebentar pada 10000 rpm, dan ditambahkan 5 µl silica sebagai pengikat DNA. Larutan DNA disentrifuse kemudian dibuang supernatannya dan pellet dicuci dengan 375 µl new wash sebanyak 3 kali. Pencucian DNA disertai dengan sentrifuse 3 kali masing-masing 13000 rpm, 14000 rpm, dan 15000 rpm. Langkah selanjutnya, pellet DNA dikeringkan dengan desikator selama 10 menit, kemudian dilarutkan dengan 65 µl H<sub>2</sub>O.

3. Uji Kualitas Dan Kuantitas DNA

Kuantitas DNA diukur menggunakan alat *Gene Quant*, yaitu sejumlah 7 µl DNA contoh diambil dan dilakukan pengukuran konsentrasi, rasio, dan absorbansi (230 nm, 260 nm, 280 nm dan 320 nm), selanjutnya DNA tersebut dilarutkan dengan H<sub>2</sub>O sesuai kebutuhan. Prinsip kerja *Gene Quant* adalah menghitung rasio dan konsentrasi DNA dengan memanfaatkan *optical density* (OD) DNA pada penyerapan/absorbansi beberapa macam gelombang cahaya (230 nm, 260 nm, 280 nm dan 320 nm). Sambrook *et al.*, (1989), juga menyatakan bahwa kuantitas DNA ditentukan dengan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang

260-280 nm. Kemurniaan DNA ditetapkan berdasarkan nilai rasio  $A_{260}/A_{280}$  sekitar 1,8-2,0. Panjang gelombang 260 nm merupakan panjang gelombang yang dapat diserap maksimal oleh DNA, sedangkan panjang gelombang 280 nm merupakan panjang gelombang yang diserap maksimal oleh RNA.

#### 4. Seleksi Primer

Seleksi primer dari *Operon Technology* (Almaeda, USA) dilakukan untuk mendapatkan primer yang dapat menghasilkan produk amplifikasi dan mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi. Beberapa primer yang akan diseleksi, yaitu : OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, OPA-19, OPG-05, OPG-06, OPG-07, dan OPG-08, OPH-05, OPH-06, OPH-07, OPH-08, OPR-05, OPR-06, OPR-07 dan OPR-08. Seleksi primer menggunakan 4 sampel DNA (DNA durian varietas sukun dari Gempolan karanganyar, sukun dari kebun benih Ranukutri, sunan dan kani).

#### 5. Reaksi Amplifikasi dan Elektroforesis

Persiapan PCR untuk amplifikasi dilakukan dalam bak berisi es. Bahan yang digunakan meliputi 4  $\mu$ l DNA contoh (konsentrasi 2.5 ng/ $\mu$ l), 4.2  $\mu$ l primer oligonukleotida, dan master mix yang terdiri dari H<sub>2</sub>O, 10xStoffel Buffer, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, dan enzim *Taq Polymerase* (Lampiran 4) dimasukkan dalam microtube ukuran 0.5 ml, divortex dan disentrifuse, kemudian di masukkan dalam alat PCR *Applied Biosystem GeneAmp PCR System 9700*. Reaksi PCR dilakukan sebanyak 45 siklus yang terdiri dari 3 tahap, yaitu 1) denaturasi selama 30 detik pada suhu 94<sup>0</sup>C, 2) annealing

selama 30 detik pada suhu 37 °C, dan 3) ekstension selama 1,5 menit pada suhu 72 °C. Reaksi amplifikasi ini membutuhkan waktu selama ± 3 ½ jam.

Langkah selanjutnya setelah reaksi amplifikasi selesai yaitu mencampurkan hasil amplifikasi tersebut dengan 2 µl gel loading kemudian dielektroforesis dengan agarose 1 % (76 g H<sub>2</sub>O, 1 g agarose (Promega), dan 4 ml 20xTBE) pada voltase konstan 120 volt selama 2 jam. Gel kemudian direndam dalam larutan etidium bromide selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan pada *BioRad* kemudian dilakukan pemotretan. Menurut Sambrook *et al.*, (1989) bahwa elektroforesis dengan gel agarose adalah salah satu cara yang digunakan untuk memisahkan, memurnikan, dan mengidentifikasi DNA. Proses elektroforesis ini terjadi karena molekul DNA terpisah melalui pori-pori gel akibat adanya pengaruh medan listrik yang diberikan.

Menurut Williams *et al.*, (1990) yang menggunakan alat Thermolyne Amplitron®-1 versi 2.11, reaksi PCR dilakukan sebanyak 45 siklus yang terdiri atas satu menit pada suhu 94°C (*denaturasi*), satu menit suhu 55°C (*annealing*), dan dua menit suhu 72°C (*ekstension*). Selanjutnya setelah reaksi PCR berakhir, produk amplifikasi dielektroforesis dengan agarose 1.2 % dan divisualisasikan di atas UV transiluminator kemudian dilakukan pemotretan dengan film poraloid 667.

## **D. Analisis Data**

### **1. Keragaman antar varietas durian**

Analisis data didasarkan pada ada atau tidaknya pita DNA. Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk adanya pita DNA pada satu posisi sama dari varietas durian yang dibandingkan. Analisis gerombol (*cluster analysis*) dilakukan menggunakan program NTSYSpc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analisis System*) versi 2.02i dengan metode *Unweight Pair Group Method Arithmetic* (UPGMA) fungsi SIMQUAL (*Similarity Qualitative*) (Rohlf (2000) dalam Mansyah *et al.*, 2002). Matriks kemiripan genetik dihitung berdasarkan koefisien Dice.

### **2. Keragaman varietas durian sukun pada wilayah penanaman berbeda**

Analisis data untuk keragaman varietas durian sukun sama dengan analisis data untuk keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Seleksi Primer

Seleksi primer dilakukan untuk mencari primer yang dapat mengamplifikasi DNA durian, dapat menghasilkan pita DNA yang tegas dan dalam jumlah banyak. Kriteria primer yang digunakan untuk analisis keragaman DNA ini adalah primer yang dapat menghasilkan pita polimorfik, dengan keadaan pita jelas, reproduksibilitasnya baik, dan pita DNA yang dihasilkan relatif stabil, serta mudah dibaca. Menurut Williams *et al.*, (1990) primer yang digunakan untuk RAPD sebaiknya mengandung 40% basa G+C (umumnya mengandung 50%-80% G+C). Sebanyak 20 primer dari *operon* diseleksi dan diperoleh 6 primer (OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, dan OPA-19) yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 1.).

Primer RAPD bersifat random dengan ukuran panjang basanya 10 nukleotida. Jumlah produk amplifikasi PCR berhubungan langsung dengan jumlah dan orientasi sekuen yang komplementer terhadap primer di dalam genom tanaman (Azrai, 2005). Amplifikasi merupakan hasil berpasangannya nukleotida primer dengan nukleotida penyusun DNA (Hartati, 2006). Pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri. Akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA. Polimorfisme merupakan gambaran amplifikasi yang diperoleh dari

perbedaan fragmen DNA yang diobservasi dan diskor sebagai ada atau tidaknya perbedaan sekuen, sehingga menunjukkan adanya variasi (McGregor *et al.*, 2000 dalam Mansyah *et al.*, 2003). Sesuai dengan pernyataan Hartati (2007) bahwa polimorfisme merupakan suatu bentuk variasi genetik yang terjadi dalam rantai DNA.

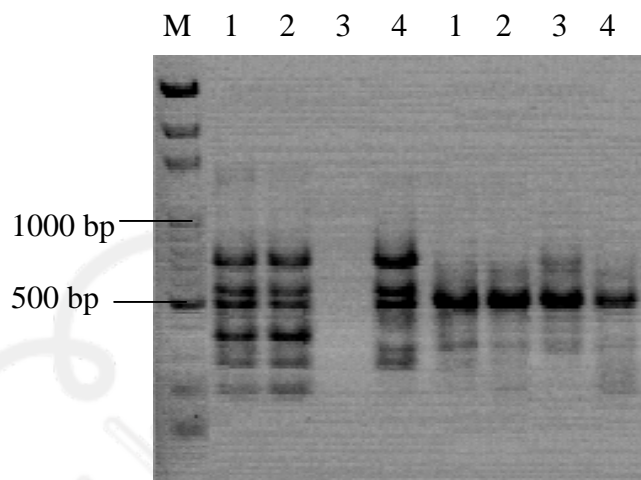
Tabel 1. Jenis dan susunan basa dari 20 primer yang diseleksi

| No | Primer  | Urutan basa nukleotida (5'-3') | Kandungan G+C (%) |
|----|---------|--------------------------------|-------------------|
| 1  | OPA-01* | CAGGCCCTTC                     | 70 %              |
| 2  | OPA-02* | TGCCGAGCTG                     | 70 %              |
| 3  | OPA-04  | AATCGGGCTG                     | 60 %              |
| 4  | OPA-07* | GAAACGGGTG                     | 60 %              |
| 5  | OPA-16* | AGCCAGCGAA                     | 60 %              |
| 6  | OPA-17  | GACCGCTTGT                     | 60 %              |
| 7  | OPA-18* | AGGTGACCGT                     | 60 %              |
| 8  | OPA-19* | CAAACGTCGG                     | 60 %              |
| 9  | OPG-05  | CTGAGACGGA                     | 60 %              |
| 10 | OPG-06  | GTGCCTAACC                     | 60 %              |
| 11 | OPG-07  | GAACCTGCGG                     | 70 %              |
| 12 | OPG-08  | TCACGTCCAC                     | 60 %              |
| 13 | OPH-05  | AGTCGTCCCC                     | 70 %              |
| 14 | OPH-06  | ACGCATCGCA                     | 60 %              |
| 15 | OPH-07  | CTGCATCGTG                     | 60 %              |
| 16 | OPH-08  | GAAACACCCC                     | 60 %              |
| 17 | OPR-05  | GACCTAGTGG                     | 60 %              |
| 18 | OPR-06  | GTCTACGGCA                     | 60 %              |
| 19 | OPR-07  | ACTGGCCTGA                     | 60 %              |
| 20 | OPR-08  | CCCGTTGCCT                     | 70 %              |

\* : Primer yang terpilih

Amplifikasi menggunakan 6 primer (Tabel 2.) menghasilkan jumlah pita antara 11 (primer OPA-19) sampai dengan 18 (primer OPA-01). Menurut Hartati (2006) bahwa perbedaan jumlah pita yang dihasilkan setiap primer disebabkan karena perbedaan urutan basa nukleotida primer atau interaksi antara primer dan DNA cetakan. Perbedaan ini menggambarkan genom

tanaman yang kompleks, sehingga semakin beragam genom akan menghasilkan pita yang semakin kompleks.



Gambar 1. Amplifikasi pada Seleksi Primer OPA-16 dan OPA-17 menggunakan sampel DNA durian sukun (1), sunan (2), monthong (3) dan petruk (4)

Tabel 2. Tingkat polimorfisme enam primer yang digunakan berdasarkan pola pita DNA yang dihasilkan

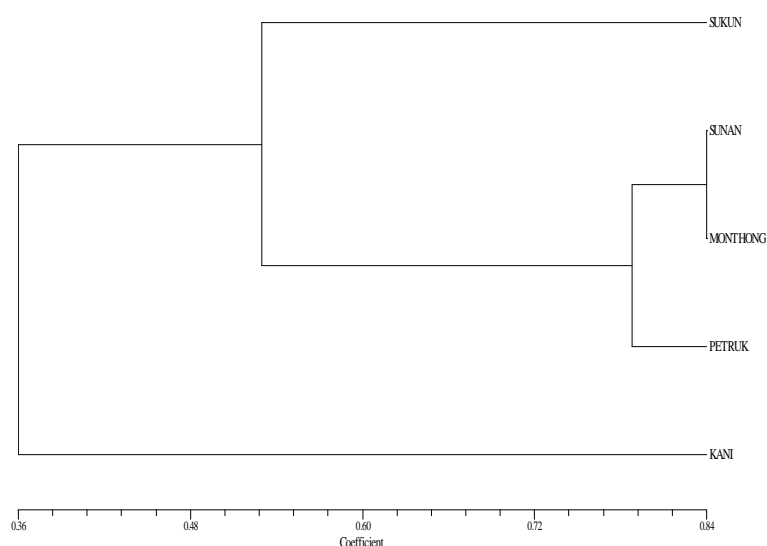
| Primer | Urutan basa nukleotida (5'-3') | Jumlah pita polimorfik | Jumlah pita monomorfik | Prosentase polimorfisme |
|--------|--------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| OPA-01 | CAGGCCCTTC                     | 16                     | 2                      | 88,89%                  |
| OPA-02 | TGCCGAGCTG                     | 11                     | 4                      | 73,33%                  |
| OPA-07 | GAAACGGGTG                     | 12                     | 4                      | 75%                     |
| OPA-16 | AGCCAGCGAA                     | 14                     | 2                      | 85,5%                   |
| OPA-18 | AGGTGACCGT                     | 11                     | 3                      | 78,5%                   |
| OPA-19 | CAAACGTCGG                     | 10                     | 1                      | 90,1%                   |

Pita DNA polimorfik paling banyak dihasilkan primer OPA-01 (yaitu 16 pita), sedangkan paling sedikit dihasilkan primer OPA-19, yaitu 10 pita DNA. Pita polimorfik merupakan pita yang dimiliki pada beberapa individu sampel, sedangkan pita monomorfik adalah pita yang dimiliki oleh semua individu sampel. Jumlah pita DNA polimorfik yang dihasilkan menentukan keragaman

suatu populasi, karena pita DNA polimorfik menggambarkan keadaan genom tanaman (Hartati, 2006).

## B. Keragaman DNA Antar Varietas Durian

Amplifikasi lima varietas durian dengan menggunakan enam primer yaitu OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19 menunjukkan terdapat keragaman DNA antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Keragaman DNA ditunjukkan dengan beragamnya pola pita DNA yang dihasilkan pada amplifikasi dengan menggunakan 6 primer. Cahyarini *et al.*, (2004) menyatakan bahwa perbedaan varietas dapat dilihat dari jumlah pita DNA, ketebalan pita DNA maupun mobilitasnya. Analisis pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA menghasilkan pemisahan yaitu durian sukun, sunan, monthong, dan petruk dalam satu kelompok memisah dengan durian kani.



Gambar 2. Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19



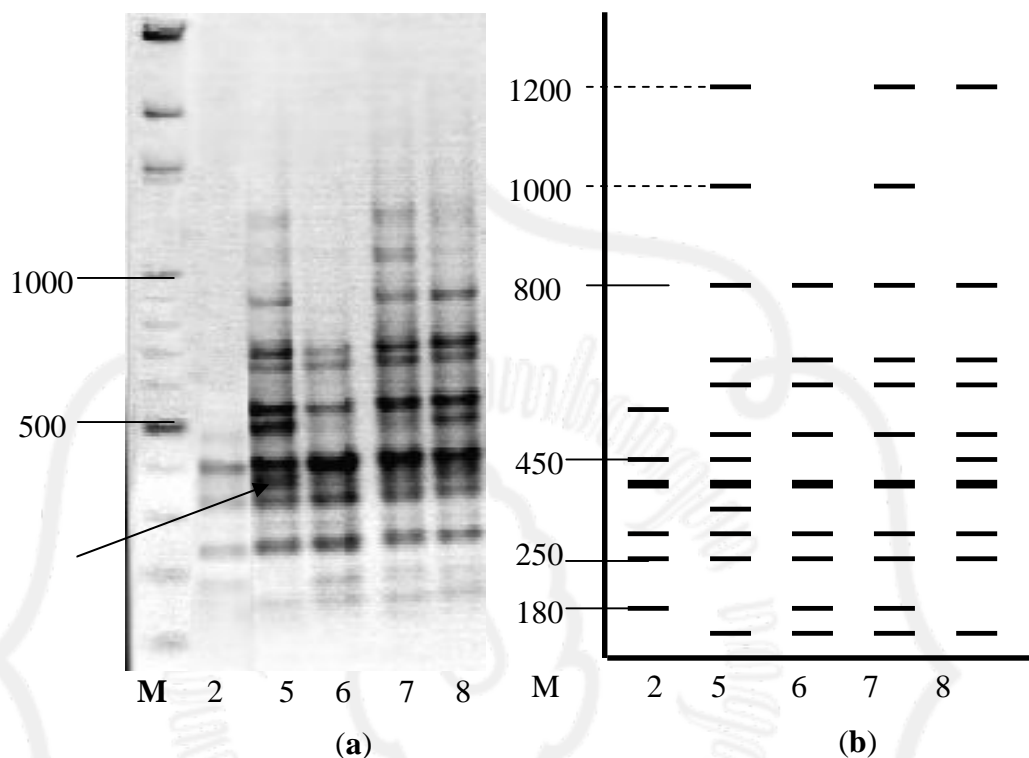
Durian varietas sunan dan monthong mengelompok pada koefisien kemiripan 0,84 atau mempunyai kemiripan 84 %, kemudian mengelompok dengan durian petruk pada koefisien kemiripan 0,83 dan mengelompok dengan durian sukun dan durian kani masing-masing pada koefisien kemiripan 0,52 dan 0,36. Hasil pengelompokan tersebut apabila dihubungkan dengan ciri morfologi diperoleh kenyataan bahwa durian kani mempunyai kedudukan daun berbeda dengan varietas lainnya, yaitu bergantung. Berikut adalah hasil analisis dari masing-masing primer :

#### **1. Primer OPA-01**

Amplifikasi dengan primer OPA-01 menghasilkan total pita DNA sebanyak 47 pita, dengan jumlah pita antara 6-12 pita DNA. Durian sunan menghasilkan pita DNA paling banyak, yaitu 12 pita, sedangkan pita DNA paling sedikit dihasilkan oleh durian sukun yaitu 6 pita DNA. Hasil amplifikasi menunjukkan adanya keragaman pola pita DNA lima varietas durian yaitu durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk.

Ada beberapa pita yang membedakan kelima varietas tersebut, yaitu pita pada ukuran 180 bp yang dimiliki oleh durian sukun, kani dan monthong. Pita ini dapat diasumsikan sebagai penanda yang membedakan bentuk buah pada durian varietas sukun, kani dan monthong yang berbentuk bulat panjang dengan durian varietas sunan dan petruk yang mempunyai bentuk buah bulat telur terbalik. Markah DNA seperti RFLP, RAPD, SSR dan AFLP banyak digunakan sebagai penciri genotipe tanaman. Markah DNA tersebut mampu membedakan genotipe diantara

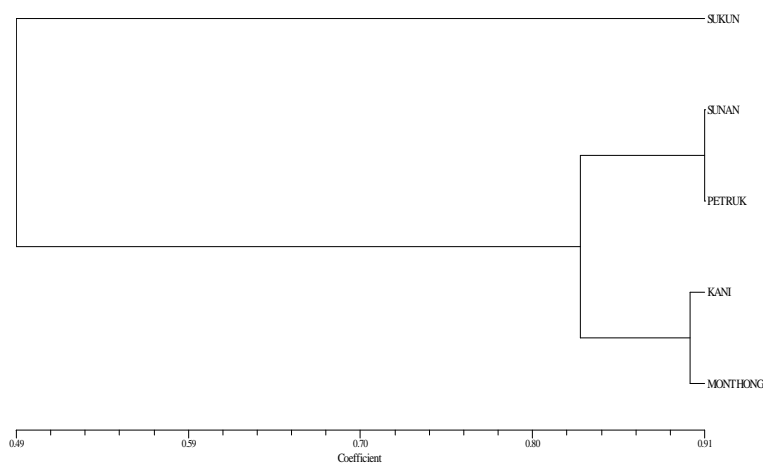
individu dengan tingkat akurasi tinggi, baik pada tingkat inter dan antar spesies maupun kerabat jauhnya (Powell *et al.*, 1996).



Gambar 3. Pola pita DNA Lima Varietas Durian dengan primer OPA-01 (a) dan interpretasi pola pita DNA Lima Varietas Durian dengan primer OPA-01 (b). M : marker, 2. Durian sukun, 5. Durian sunan, 6. Durian kani, 7. Durian monthong, 8. Durian petruk

Berdasarkan dendrogram pengelompokan tampak bahwa pada koefisien kemiripan 0,49 terdapat dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun, dan kelompok II terdiri dari durian sunan, petruk, kani dan monthong. Durian sunan dan petruk mengelompok pada koefisien kemiripan 0,91, sedangkan durian kani dan monthong mengelompok pada koefisien kemiripan 0,90. Hal ini dapat dilihat pada interpretasi pola pita DNA yang menunjukkan bahwa pita DNA pada durian sunan dan petruk

hanya dibedakan oleh dua pita DNA, yaitu pita DNA pada pasang basa 350 dan 1000 yang tidak dimiliki oleh durian petruk. Sementara itu, pada durian kani dan monthong terdapat dua pita DNA yang membedakan kedua varietas tersebut, yaitu pita DNA pada ukuran 1000 dan 1200 bp. Dendrogram juga menunjukkan bahwa pada dua varietas durian introduksi dari Thailand mempunyai kemiripan yang tinggi.

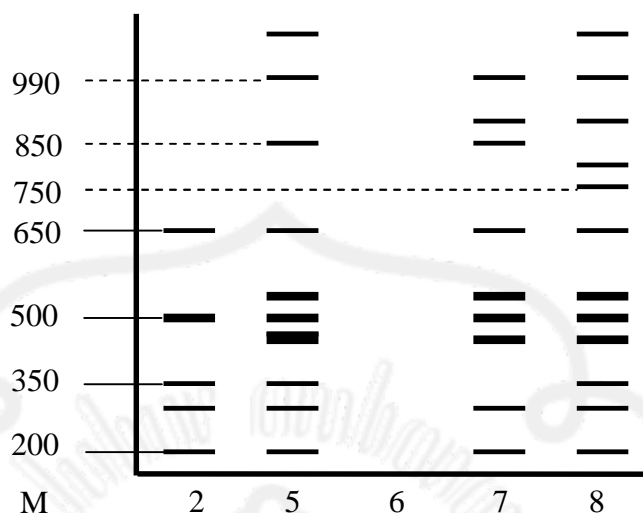


Gambar 4. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01

## 2. Primer OPA-02

Berdasarkan interpretasi pola pita DNA dengan primer OPA-02 tampak bahwa durian kani tidak mampu menghasilkan produk amplifikasi. Hal ini dimungkinkan karena urutan basa nukleotida yang menyusun primer tersebut tidak komplemen dengan pasangan basa yang menyusun DNA sampel durian. Seperti pernyataan Yang *et al.*, (1996) dalam Sanjaya *et al.*, (2002) bahwa panjang pendeknya primer yang digunakan juga mempengaruhi hasil amplifikasi. Selain itu, Menurut Prana dan Hartati

(2003) bahwa jumlah atau konsentrasi primer serta perbedaan kondisi PCR berpengaruh terhadap hasil amplifikasi DNA.

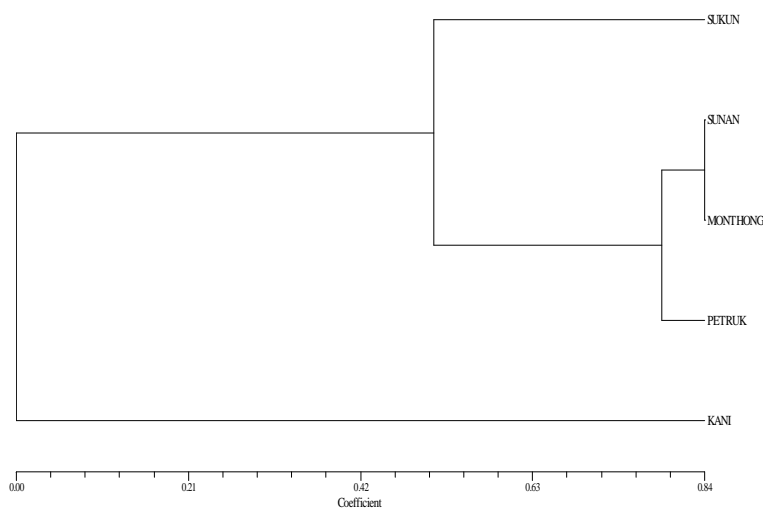


Gambar 5. Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-02

Interpretasi pola pita DNA tersebut menunjukkan bahwa pita DNA yang dihasilkan pada durian sunan dan monthong sebanyak 3 pita yang berbeda, yaitu pada ukuran 1100 bp dan 350 bp yang dimiliki oleh durian sunan, dan pada ukuran 900 bp yang dimiliki oleh durian monthong. Apabila dibandingkan dengan durian petruk, terdapat 4 pita DNA yang membedakan antara durian sunan dan petruk, yaitu pada ukuran 750, 800, 900 dan 1100 bp yang hanya dimiliki oleh durian petruk. Hal ini juga dapat dilihat pada dendrogram pengelompokkan lima varietas durian bahwa durian sunan dan monthong memiliki kemiripan paling tinggi, yaitu 84 %, kemudian keduanya mengelompok dengan durian petruk pada koefisien kemiripan 0,81.

Dendrogram pengelompokkan juga menunjukkan adanya pemisahan, yaitu durian kani yang memisah dengan durian sukun, sunan, monthong

dan petruk yang merupakan satu kelompok. Hasil ini mendukung adanya keragaman DNA antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk seperti pada Gambar 2.

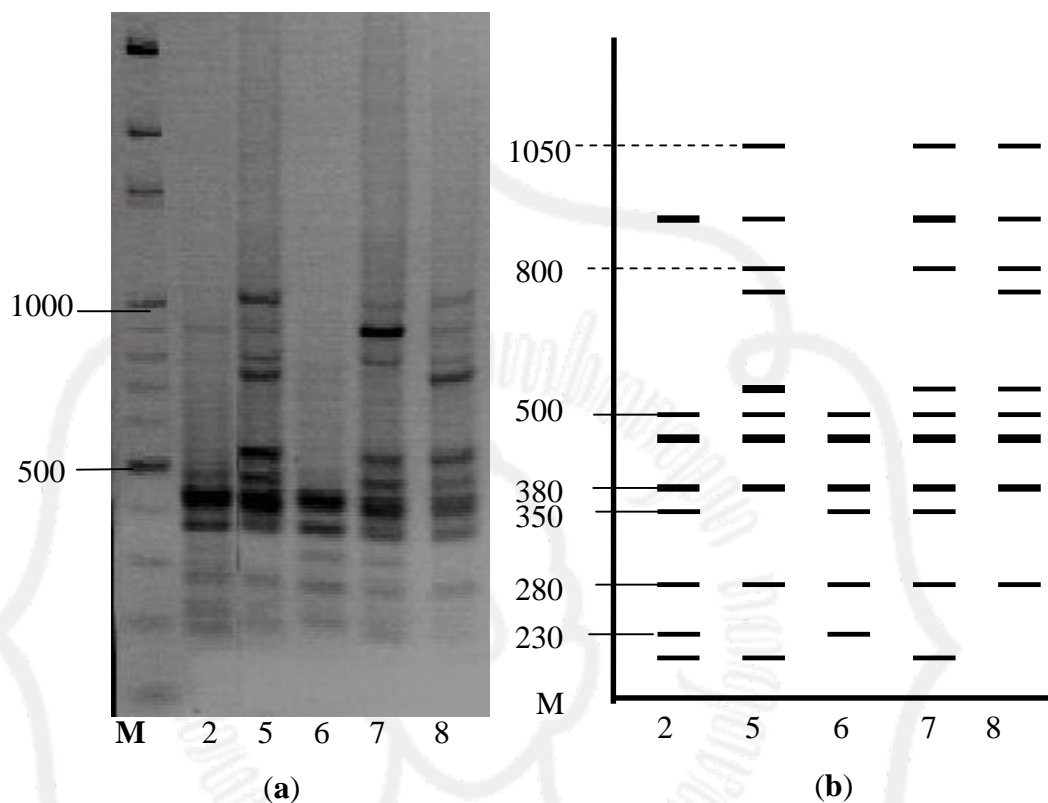


Gambar 6. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-02

### 3. Primer OPA-07

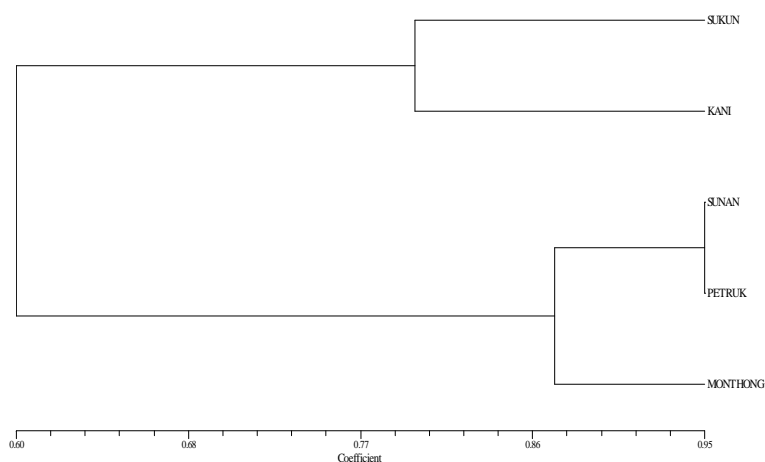
Hasil amplifikasi dengan primer OPA-07 menunjukkan adanya keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Berdasarkan hasil amplifikasi dan interpretasi pola pita DNA pada gambar dibawah ini, diperoleh jumlah total pita DNA yang dihasilkan sebanyak 44 pita, dengan pita paling banyak dihasilkan pada durian sunan dan monthong, yaitu 10 pita DNA. Pita DNA yang dihasilkan oleh durian sunan dan petruk berbeda pada satu pita, yaitu pada ukuran 200 bp. Karsinah *et al.*, (2002) menyatakan bahwa pita-pita spesifik yang dihasilkan dapat memberikan harapan sebagai identifikasi varietas. Didapatnya pita spesifik sebagai penanda suatu varietas atau sebagai

pembeda dengan varietas lainnya sangat penting, karena identifikasi varietas pada umumnya didasarkan pada karakter morfologi yang memerlukan observasi intensif dari tanaman dewasa.



Gambar 7. Pola pita DNA lima varietas durian dengan primer OPA-07 (a) dan interpretasi pola pita DNA lima varietas durian dengan primer OPA-07 (b). M : marker, 2. Durian sukun, 5. Durian sunan, 6. Durian kani, 7. Durian monthong, 8. Durian petruk

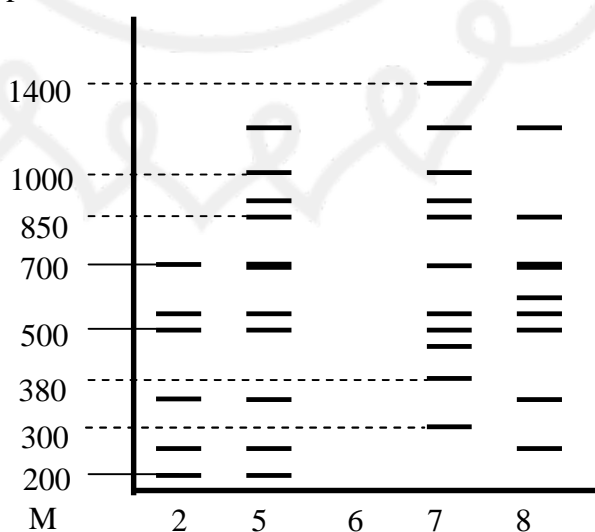
Adanya pita pada ukuran 200 bp tersebut mendukung dendrogram pengelompokkan lima varietas durian, yaitu durian sunan dan petruk mempunyai tingkat kemiripan 95 %. Hasil pengelompokkan lima varietas durian menunjukkan terdapat dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dan kani, sedangkan kelompok II terdiri dari durian sunan, petruk dan monthong.



Gambar 8. Dendrogram pengelompokkan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-07

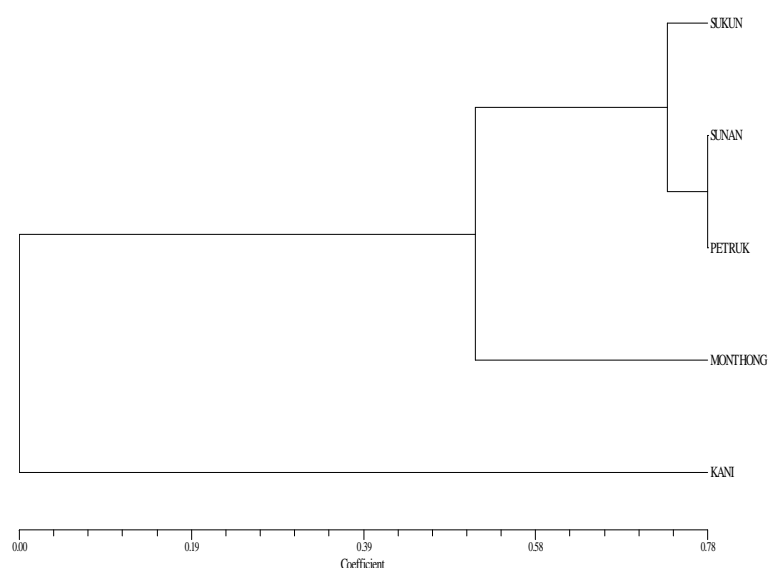
#### 4. Primer OPA-16

Amplifikasi dengan primer OPA-16 menghasilkan 35 pita DNA. Pita DNA paling banyak dihasilkan pada sampel durian monthong, yaitu sebanyak 11 pita DNA. Pita pada ukuran 1400 bp, 380 bp dan 300 bp merupakan pita pembeda antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk.



Gambar 9. Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-16

Pita pada ukuran 600 bp membedakan durian varietas monthong dengan durian varietas lain. Gambar 9 menunjukkan bahwa durian sunan dan petruk dibedakan oleh 4 pita DNA, yaitu pita pada ukuran 200, 900 dan 1000 bp yang dimiliki oleh durian sunan, dan pita pada ukuran 600 bp yang dimiliki oleh durian petruk. Berdasarkan dendrogram pengelompokan lima varietas durian, tampak bahwa durian sunan dan petruk mempunyai tingkat kemiripan paling tinggi, yaitu 78 %. Dendrogram dibawah ini memisahkan lima varietas durian menjadi dua, yaitu durian sukun, sunan, petruk, dan monthong yang merupakan satu kelompok memisah durian kani. Hasil pengelompokan dengan metode UPGMA berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-16 ini sesuai dengan dendrogram pengelompokan antar varietas durian (Gambar 2), yaitu terdapat pemisahan dengan durian kani memisah sendiri.

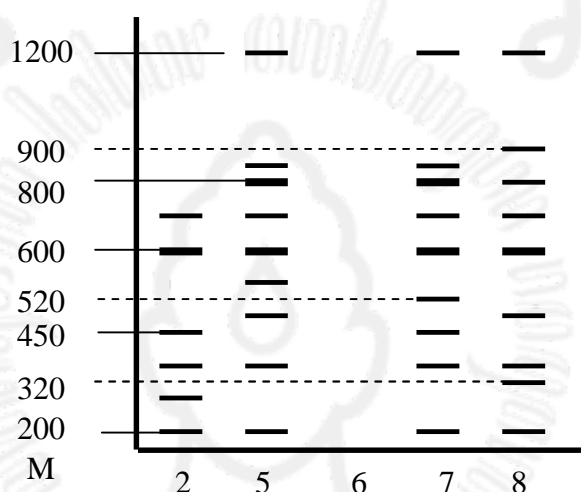


Gambar 10. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-16



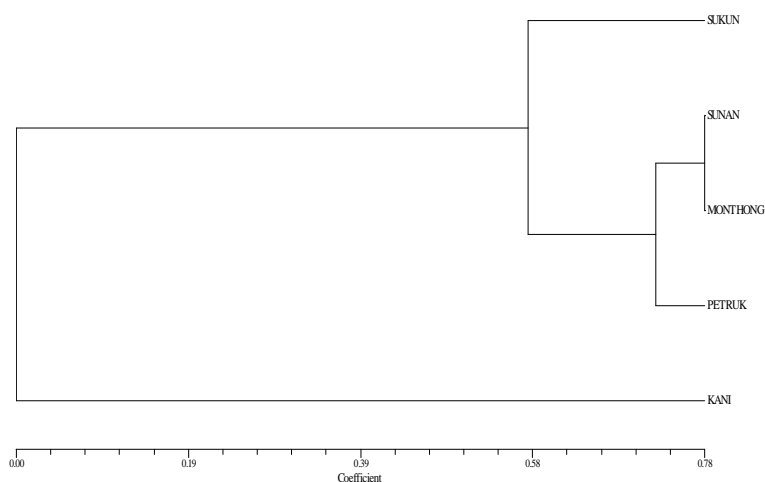
## 5. Primer OPA-18

Hasil amplifikasi dengan primer OPA-18 menghasilkan jumlah total pita DNA sebanyak 33 pita DNA. Durian varietas sunan dan monthong dibedakan oleh tiga pita DNA, yaitu pita ukuran 550 bp dan 500 bp yang dimiliki durian sunan, dan pita 520 bp yang dimiliki durian monthong. Pita pada ukuran 800 bp mempunyai ketebalan yang berbeda antara yang dihasilkan pada durian sunan dan monthong dengan durian petruk.



Gambar 11. Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-18

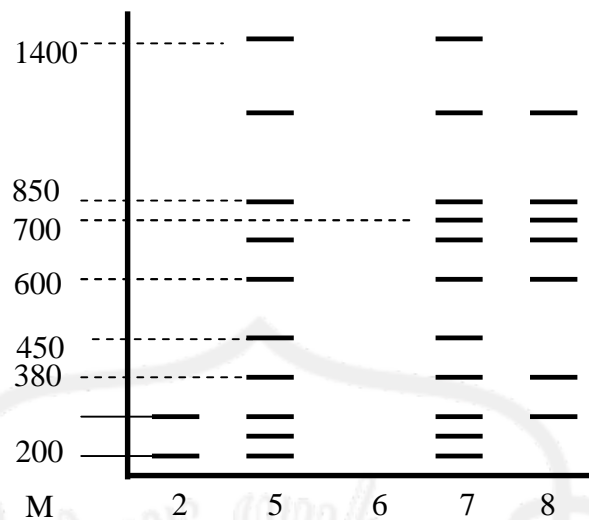
Ketebalan pita DNA yang berbeda ini menurut Sanjaya (2002) disebabkan karena rendahnya suhu *annealing* yaitu dibawah 50-60 °C, yang dapat menyebabkan produk yang dihasilkan mempunyai spesifitas rendah. Dendrogram pengelompokkan dengan metode UPGMA tersebut menunjukkan pemisahan, yaitu durian sukun, sunan, monthong dan petruk yang berada dalam satu kelompok memisah dengan durian kani. Dendrogram ini sama dengan dendrogram pengelompokkan lima varietas durian pada Gambar 1.



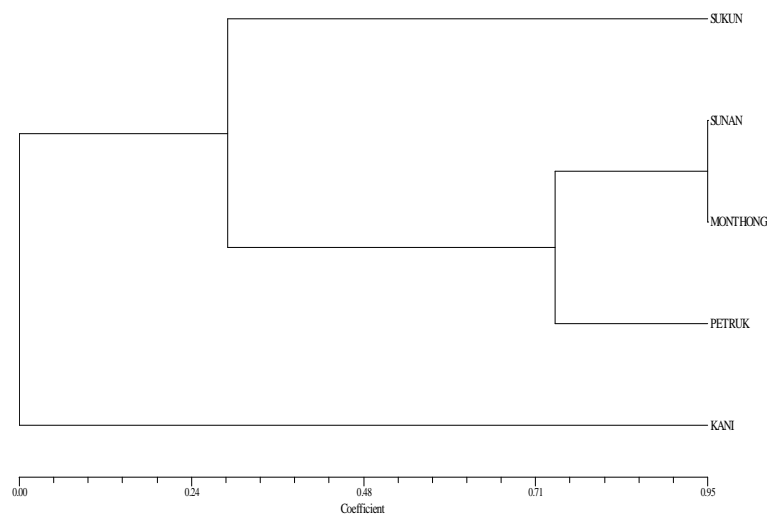
Gambar 12. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-18

## 6. Primer OPA-19

Hasil amplifikasi dengan primer OPA-19 menunjukkan bahwa durian sunan dan monthong mempunyai pola pita yang hampir sama, hanya dibedakan oleh pita DNA pada ukuran 700 bp saja. Hal ini sesuai dengan hasil dendrogram pengelompokan lima varietas durian yang menunjukkan bahwa durian sunan dan monthong mempunyai kemiripan 95 %. Pengelompokan ini menunjukkan bahwa keragaman morfologi belum tentu menunjukkan keragaman genetik yang berbeda (Cahyarini *et al.*, 2004). Hasil pengelompokan berdasarkan pola pita DNA dengan metode UPGMA menunjukkan pemisahan lima varietas durian, yaitu durian sukun, sunan, monthong dan petruk yang berada dalam satu kelompok memisah dengan durian kani. Hasil ini juga sesuai dengan dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan enam primer.



Gambar 13. Interpretasi pola pita DNA durian sukun (2), sunan (5), kani (6), monthong (7) dan petruk (8) dengan primer OPA-19

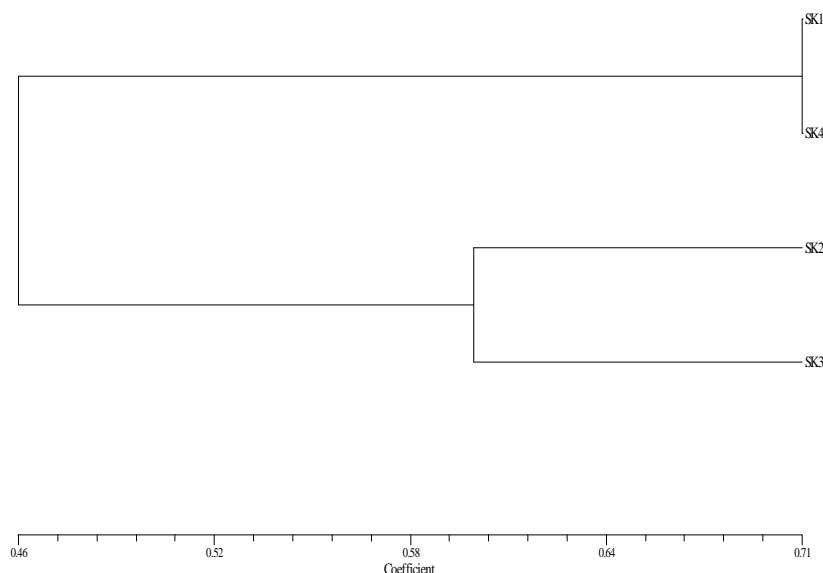


Gambar 14. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-19

Secara keseluruhan apabila dilihat pada primer OPA-02, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19 menunjukkan hasil yang sesuai dengan dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan enam primer, yaitu pada durian kani yang mengelompok sendiri.

### C. Keragaman Varietas Durian Sukun Pada Wilayah Penanaman Berbeda

Hasil amplifikasi durian sukun dari wilayah penanaman berbeda dengan menggunakan enam primer menunjukkan adanya keragaman DNA yang dapat dilihat pada pola pita DNA yang dihasilkan. Berdasarkan pola pita DNA tersebut selanjutnya dilakukan analisis kluster dan diperoleh dendrogram pengelompokkan durian varietas sukun. Analisis tersebut membagi empat sampel durian sukun menjadi dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan, Karanganyar dan durian sukun dari Salatiga. Hal ini menunjukkan bahwa durian dari Salatiga yang disebut durian sukun oleh petani durian di Desa Brongkol, Salatiga diduga memang durian varietas sukun seperti yang ada di Kebun Benih Ranukutri, Karanganyar.



Gambar 15. Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18 dan OPA-19

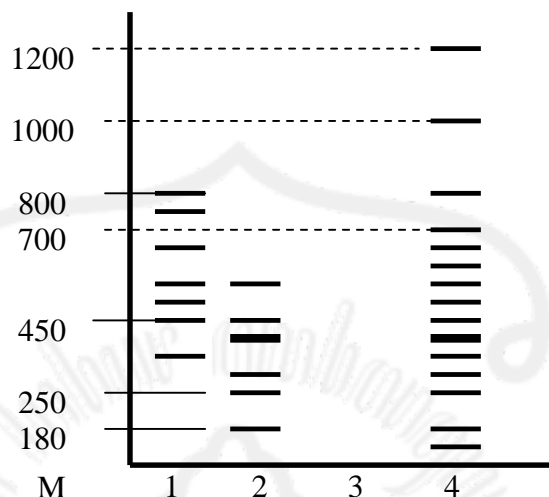
Durian sukun dari Gempolan Karanganyar mempunyai tingkat kemiripan 71% dengan durian sukun dari Salatiga, sedangkan durian sukun dari kebun Benih Ranukutri, Karanganyar mengelompok dengan durian sukun dari Jepara pada koefisien kemiripan 0,60 atau mempunyai tingkat kemiripan 60 %. Pengelompokkan durian sukun yang ditanam pada wilayah berbeda menunjukkan bahwa durian sukun dari Gempolan Karanganyar dengan durian sukun dari Salatiga mempunyai susunan genetik yang sama.

Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Kebun Benih Ranukutri, Karanganyar dan durian sukun dari Jepara. Hal ini mungkin disebabkan karena bibit durian sukun dari Jepara berasal dari durian sukun yang ada di Kebun Benih Ranukutri, Karanganyar yang berasal dari tetua yang sama, sehingga tidak terjadi perubahan genetik. Sebaliknya, durian sukun dari Gempolan, Karanganyar mempunyai tingkat kemiripan yang lebih jauh dengan durian sukun Kebun Benih Ranukutri, Karanganyar dan durian sukun Jepara dibandingkan dengan tingkat kemiripan dengan durian sukun dari Salatiga. Hal ini mungkin disebabkan karena tanaman tersebut berasal dari tetua yang berbeda.

### **1. Primer OPA-01**

Amplifikasi dengan primer OPA-01 menghasilkan jumlah total pita DNA sebanyak 28 pita DNA, dengan sampel durian sukun dari Salatiga menghasilkan pita DNA paling banyak. Gambar interpretasi keragaman pola pita DNA menunjukkan adanya keragaman pola pita DNA pada durian sukun yang ditanam pada daerah yang berbeda, yaitu pita pada

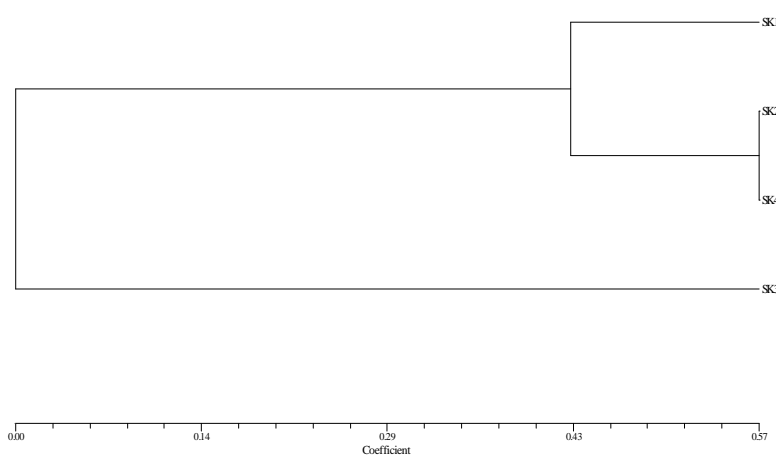
ukuran 750 bp hanya dimiliki durian sukun dari Gempolan Karanganyar dan pita pada ukuran 150 bp dan 700 bp dimiliki oleh durian sukun dari Salatiga. Pita DNA ini yang membedakan keempat durian sukun tersebut.



Gambar 16. Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2) durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-01

Pita pada pasang basa 400 juga lebih tebal daripada pita-pita DNA lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan salah satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen lain diamplifikasi dalam jumlah sedikit, sehingga hanya beberapa saja yang dideteksi sebagai pita setelah amplifikasi (Grattapaglia *et al.*, 1992 dalam Roslim *et al.*, 2003). Sampel nomor 3 yaitu durian sukun yang berasal dari Jepara tidak mampu menghasilkan amplifikasi pita DNA. Hal ini dimungkinkan karena urutan basa nukleotida yang menyusun primer tersebut tidak komplemen dengan pasangan basa yang menyusun DNA sampel durian sukun dari Salatiga.

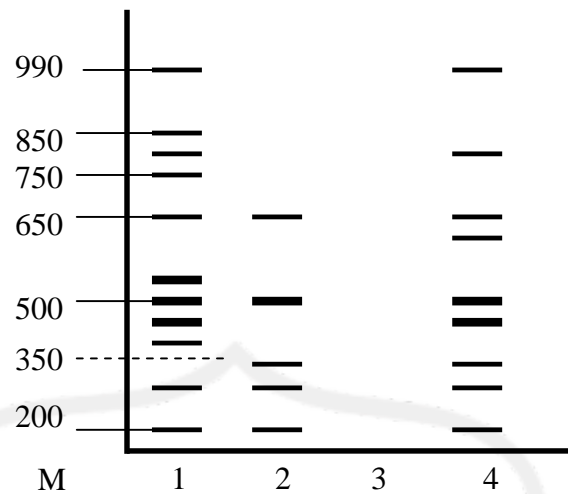
Dendrogram Gambar 17 menunjukkan adanya dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Ranukutri, Karanganyar, dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Salatiga. Dendrogram tersebut menunjukkan bahwa durian sukun dari kebun Benih Ranukutri, Karanganyar dengan durian sukun dari Salatiga mempunyai tingkat kemiripan paling besar, yaitu 57 %.



Gambar 17. Dendrogram pengelompokan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-01

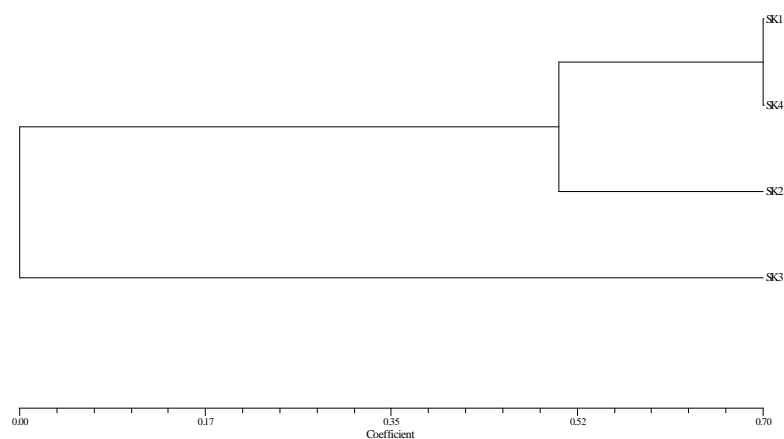
## 2. Primer OPA-02

Berdasarkan interpretasi pola pita DNA, diperoleh bahwa terdapat keragaman pada durian sukun yang ditanam di daerah yang berbeda. Sampel no 1 (durian sukun dari Gempolan Karanganyar) mempunyai pita pada ukuran 400 bp yang membedakan dengan durian sukun yang lain.



Gambar 18. Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2) durian sukun dari Jejara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-02

Pada sampel no 4 (durian sukun dari Salatiga) yang mempunyai pita pada ukuran 600 bp. Dendrogram pengelompokkan menunjukkan bahwa durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Salatiga dan durian sukun dari kebun Benih Ranukutri sebagai satu kelompok memisah dengan durian sukun dari Salatiga.

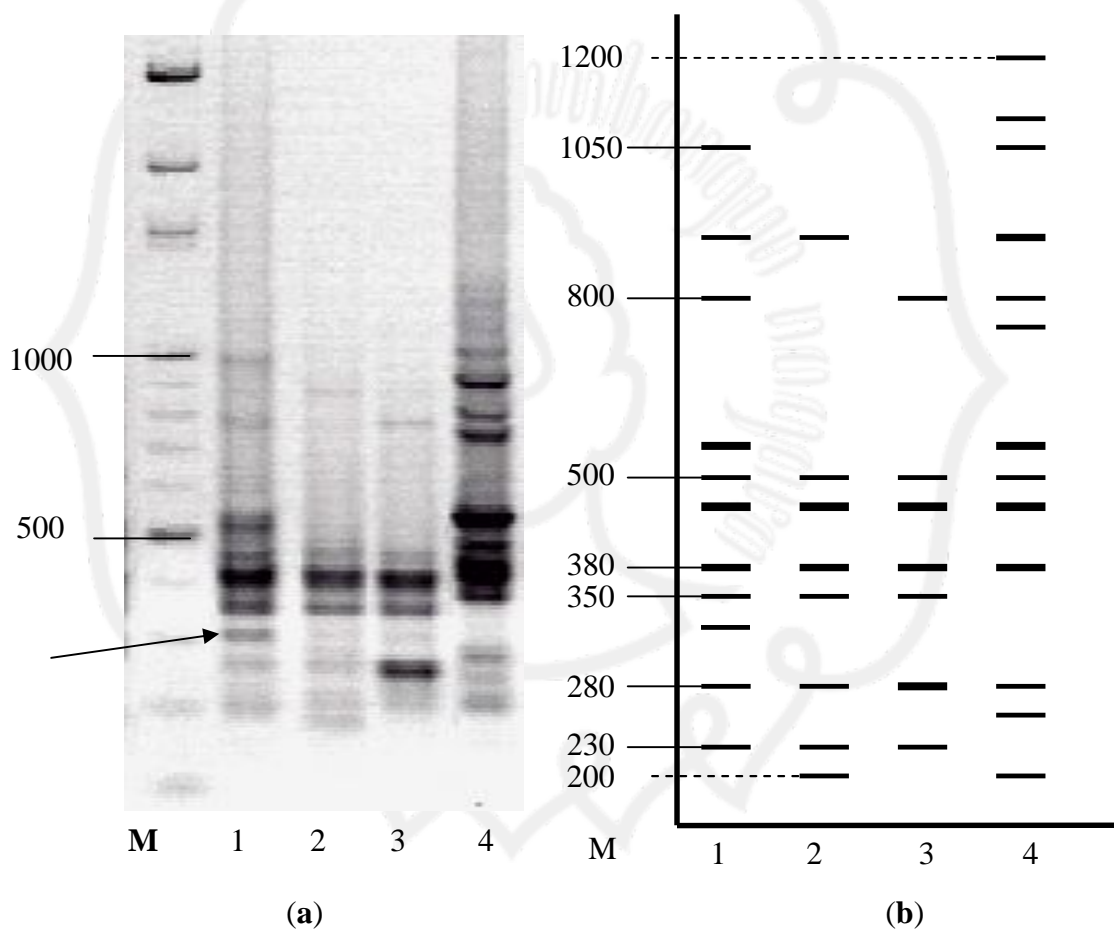


Gambar 19. Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jejara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-02



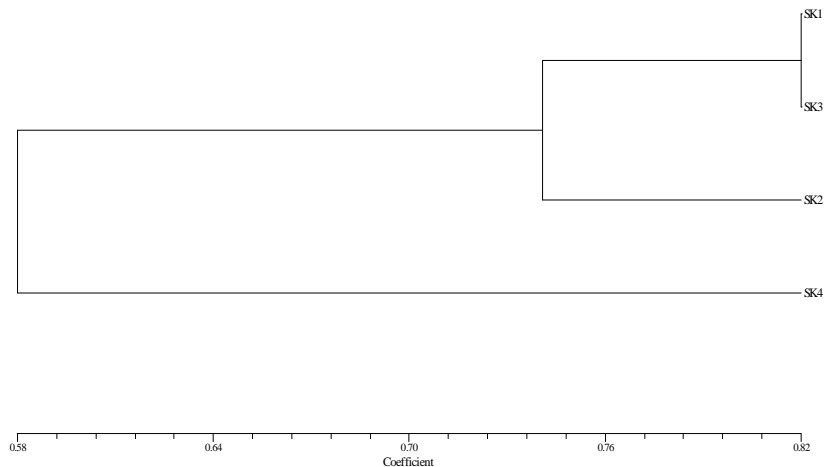
### 3. Primer OPA-07

Hasil amplifikasi dengan primer OPA-07 menghasilkan total pita sebanyak 39 pita. Pita pada ukuran 1200 bp, 1100 bp 750 bp merupakan pita yang hanya dihasilkan oleh durian sukun dari Salatiga. Pita pada ukuran 300 bp juga merupakan pita yang membedakan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar dengan durian sukun yang lain.



Gambar 20. Pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-07 (a) dan interpretasi pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-07 (b). M : marker, (1) durian sukun dari Gempolan, Karanganyar, (2) durian sukun dari kebun benih Ranukutri, (3) durian sukun dari Jepara, dan (4) durian sukun dari Salatiga

Durian sukun dari Salatiga mampu menghasilkan pita DNA dengan jumlah paling banyak, yaitu 13 pita. Weeden *et al.*, (1992) menyebutkan bahwa intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh 1) kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. DNA cetakan yang mengandung senyawa fenolik dan konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup dan tidak jelas; 2) sebaran situs penempelan primer pada DNA cetakan (Grattapaglia *et al.*, 1992; Weeden *et al.*, 1992 *dalam*. Roslim *et al.*, 2003), 3) adanya kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen lainnya sedikit.



Gambar 21. Dendrogram pengelompokan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-07

Proses amplifikasi mungkin saja diinisiasi pada beberapa tempat, namun hanya beberapa set yang dapat dideteksi sebagai pita sesudah

diampifikasi (Grattapaglia *et al.*, 1992 dalam Roslim *et al.*, 2003). Dendrogram pengelompokan berdasarkan metode UPGMA menunjukkan bahwa durian sukun dari Gempolan Karanganyar dengan durian sukun dari Jepara menunjukkan tingkat kemiripan sebanyak 82 %. Dendrogram tersebut menghasilkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Jepara dan durian sukun dari Kebun benih Ranukutri, Karanganyar. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Salatiga.

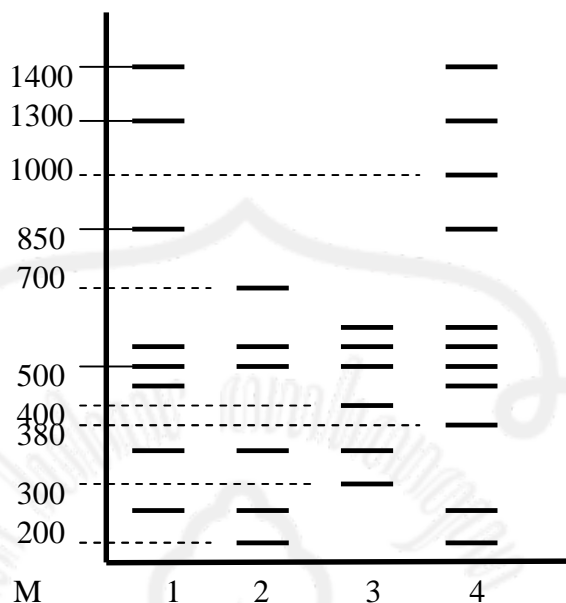
#### **4. Primer OPA-16**

Amplifikasi menghasilkan jumlah total pita DNA sebanyak 31 pita DNA. Sampel durian sukun dari Salatiga merupakan sampel yang menghasilkan pita DNA paling banyak, sedangkan durian sukun dari Jepara menghasilkan pita DNA paling sedikit. Pita pada ukuran 1000 bp dan 380 bp merupakan pita DNA yang membedakan durian sukun dari Salatiga dengan durian sukun lainnya.

Pita pada ukuran 700 bp juga merupakan pita yang membedakan durian sukun dari Ranukutri, Karanganyar dengan durian sukun lainnya. Sementara itu pita pada ukuran 400 bp merupakan pita DNA yang membedakan durian sukun dari Salatiga dengan durian sukun yang lain. Berdasarkan Gambar 22 di bawah, pita DNA yang dihasilkan oleh durian sukun dari Gempolan Karanganyar hampir sama dengan pita DNA yang dihasilkan oleh durian sukun dari Salatiga. Hal ini menunjukkan tingkat

kemiripan keduanya lebih tinggi dibanding dengan durian sukun yang lain.

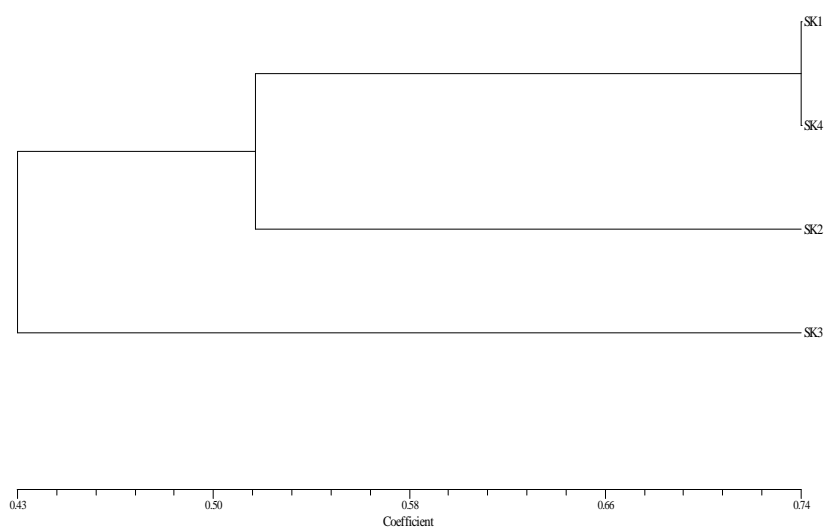
Hal ini tampak pada dendrogram pengelompokkan.



Gambar 22. Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2) durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-16

Dendrogram pengelompokkan memisahkan keempat sampel durian sukun menjadi dua, yaitu durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Salatiga dan durian sukun dari kebun benih Ranukutri Karanganyar berada dalam satu kelompok, yang memisah dengan durian sukun dari Jepara. Amplifikasi dengan primer OPA-16 ini semua sampel mampu menghasilkan produk amplifikasi. Grattapaglia *et al.* (1992) menyatakan bahwa amplifikasi DNA terjadi jika primer menempel pada dua situs komplementer yang jaraknya berdekatan dan orientasinya saling terbalik. Jarak antar situs amplifikasi ini menghasilkan fragmen DNA dengan berbagai ukuran pasang basa. Umumnya jumlah pasang basa yang masih dapat diamplifikasi pada DNA genom tanaman berkisar 200 bp

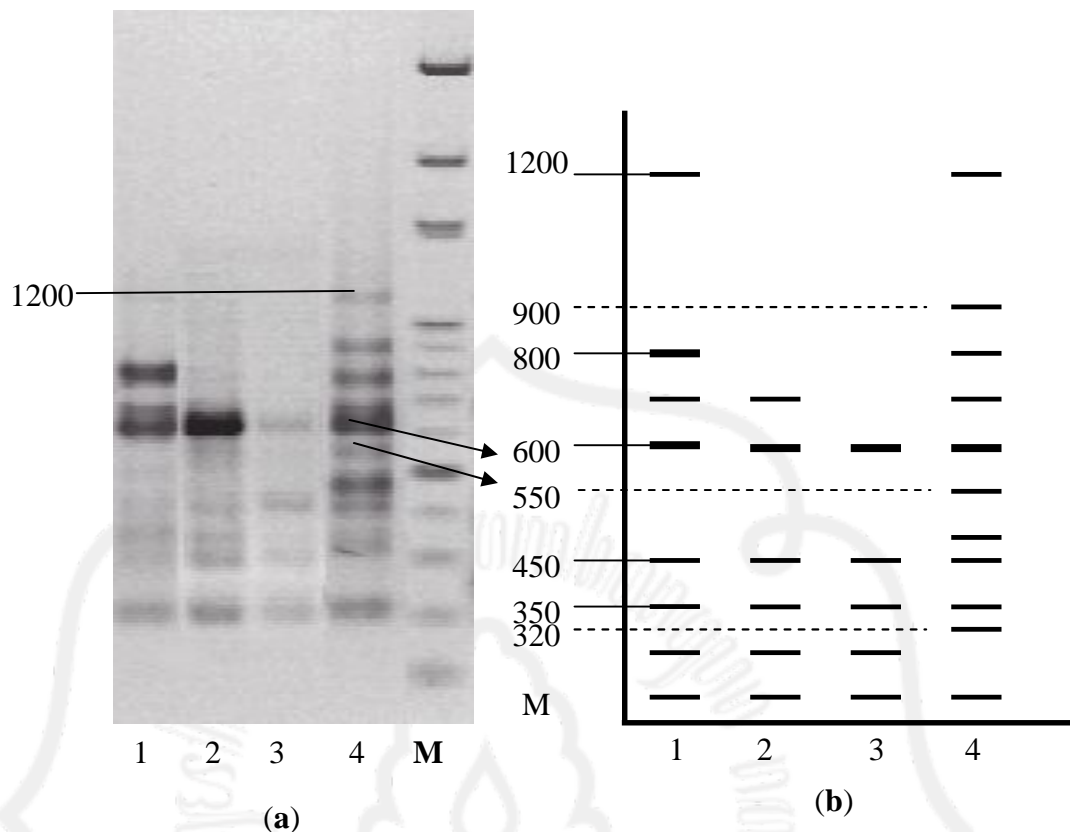
sampai 2000 bp bahkan kadang-kadang mencapai 5000 bp. Pita DNA yang terletak pada pasang basa (bp) yang sama menunjukkan bahwa pita DNA tersebut mempunyai migrasi yang sama dan diasumsikan sebagai lokus yang homolog.



Gambar 23. Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-16

## 5. Primer OPA-18

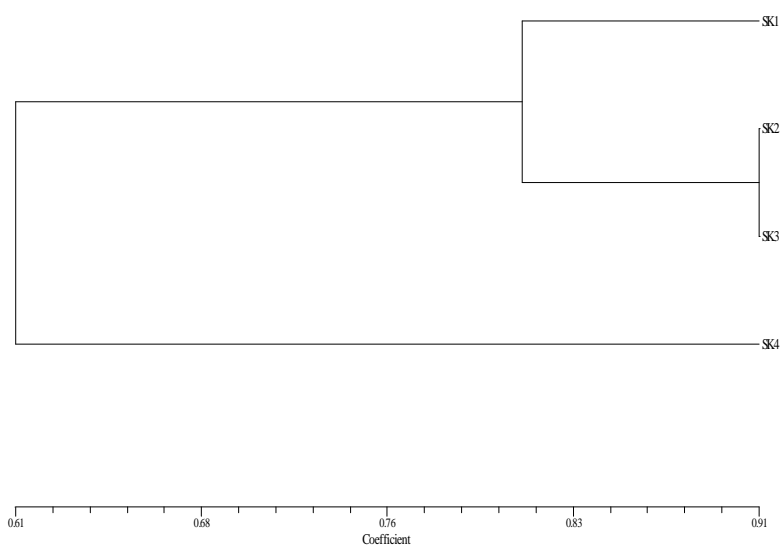
Hasil amplifikasi dengan primer OPA-18 diperoleh 30 pita DNA. Pita DNA pada ukuran 550 bp, 500 bp dan 320 bp hanya dimiliki oleh sampel durian sukun dari Salatiga. Pita ini merupakan pita pembeda yang dapat diasumsikan sebagai penanda dengan durian sukun yang lain. Hasil amplifikasi menunjukkan adanya pita dengan ketebalan yang berbeda, yaitu pita pada ukuran 600 bp.



Gambar 24. Pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-18 (a) dan interpretasi pola pita DNA durian sukun pada wilayah penanaman berbeda dengan primer OPA-18 (b). M : marker, (1) durian sukun dari Gempolan, Karanganyar, (2) durian sukun dari kebun benih Ranukutri, (3) durian sukun dari Jepara, dan (4) durian sukun dari Salatiga

Berdasarkan dendrogram pengelompokan diperoleh bahwa durian sukun dari Gempolan Karanganyar, durian sukun dari Ranukutri, Karanganyar dan durian sukun dari Jepara merupakan satu kelompok yang terpisah dari durian sukun dari Salatiga. Durian sukun dari Ranukutri, Karanganyar mengelompok dengan durian sukun dari Jepara pada koefisien 0,91. Koefisien ini menunjukkan bahwa kedua varietas tersebut masih bisa dikatakan mirip atau mempunyai kemiripan yang dekat. Sesuai

dengan pernyataan Cahyarini *et al.*, (2004) bahwa kemiripan dikatakan jauh apabila kurang dari 0,6 atau 60 %. Dengan demikian pengelompokan tersebut membuktikan bahwa bibit durian sukun dari Jepara yang berasal dari kebun benih Ranukutri, Karanganyar berasal dari tetua yang sama.

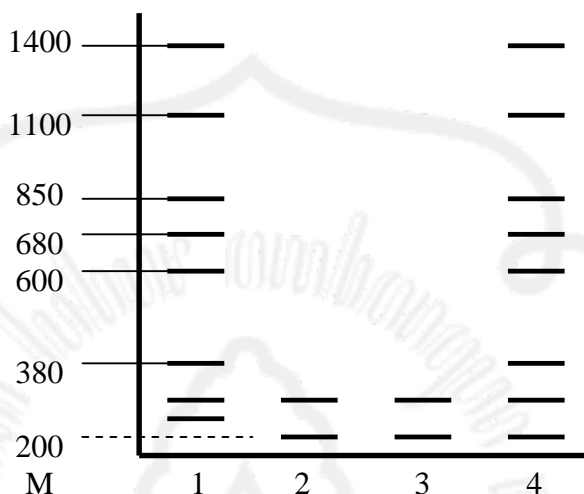


Gambar 25. Dendrogram pengelompokan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-18

## 6. Primer OPA-19

Reaksi amplifikasi dengan primer OPA-19 menghasilkan pita DNA berukuran antara 200-1400 bp dengan jumlah total pita DNA yang dihasilkan sebanyak 20 pita. Pita DNA yang dihasilkan oleh durian sukun dari kebun benih Ranukutri, Karanganyar dengan durian sukun dari Jepara sama persis, yaitu sebanyak 2 pita. Pita yang dihasilkan oleh durian sukun dari Gempolan, Karanganyar dengan durian sukun dari Salatiga hanya

dibedakan oleh pita pada ukuran 200 bp, yang tidak dimiliki oleh durian sukun dari Gempolan, Karanganyar dan pita pada ukuran 250 bp yang hanya dimiliki oleh durian sukun dari Gempolan, Karanganyar. Pita ini dapat digunakan sebagai penanda durian sukun Gempolan, Karanganyar.

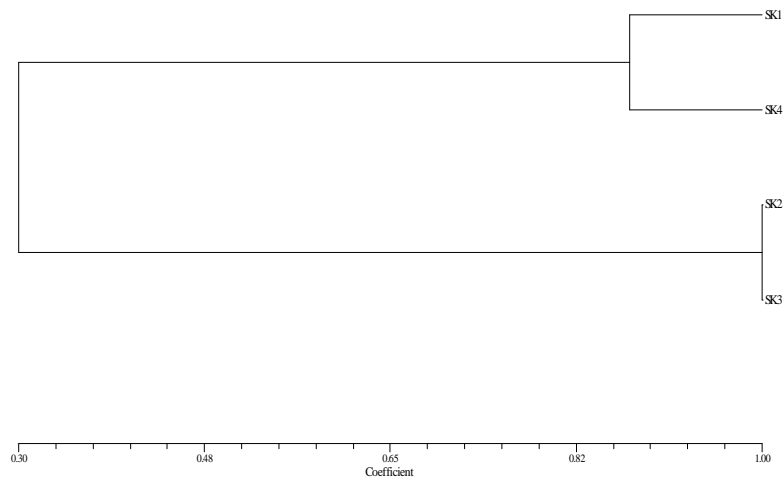


Gambar 26. Interpretasi pola pita DNA durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (2) durian sukun dari Jepara (3), dan durian sukun dari Salatiga (4) dengan primer OPA-19

Dendrogram pengelompokan menunjukkan terdapat dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan Karanganyar dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Ranukutri, Karanganyar dan durian sukun dari Jepara. Hasil pengelompokan dengan primer OPA-19 ini sesuai dengan dendrogram pengelompokan empat varietas durian sukun dengan enam primer. Durian sukun dari Gempolan, Karanganyar mempunyai tingkat kemiripan dengan durian sukun dari Salatiga sebesar 88 %. kemiripan pada tingkat tersebut masih tergolong mempunyai kemiripan yang tinggi. Durian sukun dari kebun benih Ranukutri Karanganyar mempunyai



kemiripan dengan durian sukun dari Jepara pada koefisien 1,00, yang berarti bahwa keduanya mempunyai tingkat kemiripan 100 %.



Gambar 27. Dendrogram pengelompokkan durian sukun dari Gempolan, Karanganyar (SK1), durian sukun dari kebun benih Ranukutri (SK2) durian sukun dari Jepara (SK3), dan durian sukun dari Salatiga (SK4) berdasarkan pola pita DNA dengan primer OPA-19

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

1. Amplifikasi menggunakan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, dan OPA-19 menghasilkan pola pita DNA yang menunjukkan keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk, serta keragaman pada durian sukun yang ditanam pada wilayah berbeda.
2. Dendrogram pengelompokkan dengan metode UPGMA pada lima varietas durian cenderung memisah, yaitu durian sukun, sunan, monthong dan petruk merupakan satu kelompok yang memisah dengan durian kani.
3. Dendrogram pengelompokkan dengan metode UPGMA pada durian sukun yang ditanam pada wilayah berbeda menghasilkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan, Karanganyar dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Kebun Benih Ranukutri, Karanganyar dan durian sukun dari Jepara.

### B. Saran

1. Berdasarkan hasil penelitian, primer OPA-07 mampu mengamplifikasi semua sampel dan primer OPA-19 mampu memberikan polimorfisme tinggi. Primer ini dapat digunakan pada penelitian selanjutnya.
2. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh beberapa pita yang merupakan penanda. Hasil ini dapat diteliti lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Artama, W. T. 1991. *Rekayasa Genetika*. PAU – Bioteknologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura: Aspek Budidaya*. UI Press. Jakarta. Hal : 297-303.
- Asins, M.J., R. Herrero, and L. Navarro. 1995. Factors Affecting Citrus Tree Isozyme-Gene Expression. *Theor. Appl. Genet.* 90 : 892-898.
- 2.1
- Azrai, M. 2005. Pemanfaatan Markah Molekuler dalam Proses Seleksi Pemuliaan Tanaman. *Jurnal AgroBiogen*. 1 (1) : 26-37.
- Badan Standarisasi Nasional.1998. Durian.  
[http://www.agribisnis.deptan.go.id/explor/view.php?file=mutu-standarisasi/standar-mutu/standar\\_nasional/SNI\\_horti/produk%20segar/s-18%20\(horti\).pdf](http://www.agribisnis.deptan.go.id/explor/view.php?file=mutu-standarisasi/standar-mutu/standar_nasional/SNI_horti/produk%20segar/s-18%20(horti).pdf). Diakses tanggal 21 Oktober 2008.
- Baswarsiati, Yuniarti, Suhardi, Harwanto, D. Rahmawati dan M. Soegiyarto. 2007. Karakterisasi Beberapa Sifat Plasma Nutfah Durian Di Kabupaten Kediri.  
[http://jatim.litbang.deptan.go.id/index.php?option=com\\_content&task=view&id=96&Itemid=107](http://jatim.litbang.deptan.go.id/index.php?option=com_content&task=view&id=96&Itemid=107). Diakses tanggal 9 Agustus 2008.
- Brown, M.J. 1997. *Durio: A Bibliographic Review*. International Plant Genetic Resources Institute. New Delhi. 188 p.
- Burger, Hzn. 1972. *Seedling of Some Tropical Tree and Shrubs Mainly of South East Asia*. Centre for Agricultural and Documentation (PUDOC). Wageningen.
- Cahyarini, R.D., A. Yunus., E. Purwanto. 2004. Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. *Agrosains*. Vol 6 (2) : 79-83.
- Crowder, L. V. 1986. *Genetika Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2000. Durian (*Bombaceae* sp).  
<http://www.ristek.go.id>. Diakses Tanggal 4 Mei 2008.
- Glick, B.R. and J. J. Pasternak. 1994. *Molecular Biotechnology : Principles and Applications of Recombinant DNA*. American Society For Microbiology. Washington, D. C.

- Grattapaglia, D., Chaparro, J., Wilcox, P., McCord, S., Werner, D., Amerson, H., McKeand S., Bridgwater, F., Whetten, R., O'Malley, D. & Sederoff, R. 1992. Mapping in Woody Plants with RAPD Markers: Application to Breeding in Forestry and Horticulture. Application of RAPD Technology to Plant Breeding. *Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA*. Minneapolis. 1 November 1992.
- Hadipoentyanti, E., D. Ratnadewi, dan L. Solihat. 2001. Variabilitas Genetik Berbagai Varietas Abaka (*Musa textilis* Nee) Dan Kerabat Liar Melalui Analisis RAPD. *Zuriat*. 12 (2) : 93-104.
- Halle, F. R.A.A. Oldeman dan P. B. Tomlinson. 1978. *Tropical Trees and Forest: An Architecture Analysis*. Springer-Verlag. Berlin. 441 p.
- Haris, N., H. Aswidinooor, N.T. Mathius, A. Purwantara. 2003. Kemiripan Genetik Klon Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Berdasarkan Metode Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP). *Menara Perkebunan*. 71 (1) : 1-15.
- Hartati, D. 2006. Keragaman Genetik Sengon (*Albazia falcataria* L. Fosberg) Melalui DNA Marker di Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman (P3HT). Yogyakarta. *Laporan Kerja Lapang*.
- , D. 2007. Pendugaan Keragaman Genetik Dalam Dan Antar Provenan Pulai (*Alastonia scholaris* (L.) R. Br.) Menggunakan Penanda RAPD. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Hartana, A. 2003. Elektroforesis Sebagai Alat Pelacak Marka Molekul Biologi. *Pelatihan Singkat Teknik Analisis dengan Metode dan Peralatan Mutakhir di Bidang Hayati dan Kimia*. Bogor.
- Indriani, F. C. Indriani, L. Soetopo, Sudjindro, A. N. Sugiharto. 2000. Keragaman Genetik Plasma Nutfah Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Dan Beberapa Spesies Yang Sekerabat Berdasarkan Analisis Isozim. <http://images.hughet.multiply.com/attachment/0/RvnPKAoKCh8AAAPWqQg1/publikasi%20ilmiah%20febria.doc?nmid=59432286>. Diakses tanggal 6 Agustus 2008.
- Karsinah, Sudarsono, L. Setyobudi, dan H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jeruk Berdasarkan Analisis Penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 7 (1) : 8-16.
- Latifah, S. 2004. Pertumbuhan Dimensi Tegakan Durian (*Durio zibethinus* Murr) Bersama Teknologi Gelombang Suara (*Sonic Bloom*). *Karya Tulis*. Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. 1-7.

- Li Jin and R. Chakraborty. 1994. Population Dynamics of DNA Fingerprint Patterns Within and Between Populations. *Genetical Research*. 63(1):1-9.
- Lim, T.K. 1997. *Durian, A Handbook for Farmers and Investors*. Tropical Press. Darwin. pp. 279-285.
- Luttge, U. 1997. *Physiological Ecology of Tropical Plants*. Springer, Berlin. pp. 37-138.
- Maftuchah dan A. Zainudin. 2007. Variasi Genetik Kultivar Mangga Dengan Menggunakan Penanda Molekuler *Random Amplified Polymorphic DNA*. *Prosiding Seminar Nasional Hortikultura*. Surakarta 17 November : 142-148.
- Mansyah, E., A. Baihaki, R. Setiamihardja, J. S. Darsa, dan Sobir. 2003. Analisis Variabilitas Genetik Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Di Jawa dan Sumatera Barat Menggunakan Teknik RAPD. *Zuriat*. 14 (1) : 35-44.
- Martasari, C. dan A. Sugiyatno. 2007. Karakterisasi Morfologi dan Analisa Keragaman Genetik Plasma Nutfah Apel (*Malus sp.*). *Prosiding Seminar Nasional Hortikultura*. Surakarta 17 November : 71-77.
- Mathius, N. T., Z. Lalu, Soedarsono, H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman Genetik Klon-Klon Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg) Yang Resisten Dan Rentan Terhadap *Corynespora Casiicola* Berdasarkan Penanda RAPD Dan AFLP. *Menara Perkebunan*. 70(2): 35-49.
- Miklas, P.N., L. Afanador, and J. Kelly. 1996. Recombination – Facillitated RAPD Marker-Assisted Selection for Disease Resistance in Common Bean. *Crop Science*. 36: 86-90.
- Nafsi, N. I. 2007. Analisis Keanekaragaman Varietas Durian (*Durio Zibethinus Murr.*) Dengan Marka Mikrosatelit. *Tesis*. School of Life Sciences and Technology ITB  
[http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op\\_read&id\\_jbptitbpp/gdl/nu\\_rizzatun/26709.htm](http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op_read&id_jbptitbpp/gdl/nu_rizzatun/26709.htm). Diakses tanggal 22 Oktober 2008.
- Nandariyah. 2007a. Identifikasi Keragaman Genetik Kultivar Salak Jawa Berdasarkan Analisis RAPD. *Agrosains*. 9 (2) : 70-76.
- \_\_\_\_\_. 2007b. Kajian Kultivar Salak di Jawa Berdasarkan Penanda Morfologi dan RAPD. *Disertasi*. Hal : 22.
- Orozco-Castillo, K., J. Chalmers, R. Waugh & W. Powell. (1994). Detection Of Genetic Diversity And Selective Gene Introgression In Coffee Using RAPD Markers. *Theor. Appl. Gent*. 87 : 934-940.

- Paolella, P. 1998. *Introduction to Molecular Biology*. McGraw Hill Companies, Inc., Singapore.
- Powell, W., M. Margonte, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996. The Comparison Of RFLP, RAPD, AFLP And SSR Markers Of Germplasm Analysis. *Molecular Breeding*. 2 : 225-238.
- Prana, T. K., dan N. S. Hartati. 2003. Identifikasi Sidik Jari DNA Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), Skrining Primer dan Optimalisasi Kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia*. 5(2): 107-112.
- Prawoto, A.A. W. Soerodikoesoemo, S. Sastriowinoto dan H. Hartiko. 1990. Kajian Okulasi Pada Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dan Pengaruh Batang Bawah Terhadap Daya Hasil Batang Atas. *Pelita Perkebunan*. 6 (1), 13-20.
- Purwanti, H. 2000. Isolasi DNA Daun Jagung Menggunakan Metode Delaporta dan CIMMYT yang Dimodifikasi. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Riedy, M.F., W.J Hamilton, and C.F. Aquadro. 1992. Excess Of Non Parental Bands In Offspring From Know Pedigrees Assayed Using RAPD PCR. *Nucl. Acids Res*. 1 20:918.
- Rohlf, F. J. 1993. *NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Syersion Version 1.80*. Exerter Software. New York.
- Roslim, D.I, A. Hartana, dan Suharsono. 2003. Hubungan Genetika Populasi Kelapa Dalam Banyuwangi, Lubuk Pakam dan Paslaten berdasarkan Analisis RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Jurnal Natur Indonesia*. 6(1): 5-10.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York : Cold Spring Harbour Laboratory.
- Sanjaya, L., G.A. Wattimena, E. Guharja, M. Yusuf, H. Aswidinoor, dan P. Stam. 2002. Keragaman Ketahanan Aksesori *Capsicum* Terhadap Antraknose (*Colletotricum capsici*) Berdasarkan Penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 7 (2) : 37-42.
- Santoso, T. J., D. W. Utami, dan E. M. Septianingsih. 2006. Analisis Sidik Jari DNA Plasma Nutfah Kedelai Menggunakan Markah SSR. *Journal Agrobiogen*. 2 (1).

<http://anekaplanta.wordpress.com/2008/03/02/analisis-sidik-jari-dna-plasma-nutfah-kedelai-menggunakan-markah-ssr/>. Diakses Tanggal 6 Agustus 2008.

- Sastra, D. R. 2003. Analisis Keragaman Genetik *Maranta Arundinacea* L. Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 5 (5) : 209-218.
- Setyawan, A. D. dan Sutikno. 2006. Kariotype Kromosom Pada *Allium sativum* L. (Bawang Putih) dan *Pisum sativum* L. (Kacang Kapri). *BioSmart*. 2(1) : 20-27.
- Sianipar, N.F. 2003. Penggunaan Marker RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) Dalam Pemuliaan Tanaman. *Makalah Pribadi*. Program Pasca Sarjana / S3 Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sriyono. 2006. Identifikasi dan Keragaman Genetik Pohon Induk Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Lokal di Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Morfologi dan Pola Pita Isoenzim. *Tesis*. Program Pascasarjana Program Studi Agronomi. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Subhandrabandhu, Suranant dan K. Kaiviparkbunnyay. 1998. Effect of Paclobutrazol on Flowering, Fruit Setting and Fruit Quality of Durian (*Durio zibethinus* Murr.) cv. Chanee. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 32 :73-83.
- Sumarsono, L. Syaefudin, A. Dimiyati dan Abdurrahman. 2002. Teknik Okulasi Bibit Durian pada Stadia Entres dan Model Mata Tempel yang Berbeda. *Buletin Teknik Pertanian*. 7 (1) : 10-13.
- Suryanto, D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Suryo. 2005. *Genetika Manusia*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Syafrial, N. Hanani, M. Dewani dan S. Wijana. 1995. *Abstraksi Sistem Usaha Tani Durian di Jawa Timur dalam Struktur Sistem Agribisnis Komoditas Buah-buahan Andalan Jawa Timur*. PPPWP, Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya. Malang.
- Uji, T. 2005. Keragaman Jenis dan Sumber Plasma Nutfah Durio (*Durio* spp.) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah*. 11 (1) : 28-33.

- Waugh, R. 1997. *RAPD Analysis: Use for Genome Characterization, Tagging Traits and Mapping*. Plant Molecular Biology A Laboratory Manual. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 154-175
- Weeden, N.F., Timmerman, G.M., Hemmat, M., Kneen, B.E. & Lodhi, M.A. 1992. Inheritance and Reliability of RAPD Markers. Application of RAPD Technology to Plant Breeding. *Joint Plant Breeding Symposia Series CSSA/ASHS/AGA*. Minneapolis. 1 November 1992.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. and Meyer, W. 1995. *DNA Fingerprinting in Plant and Fungi*. CRC Press. Florida.
- Wells, J., and M. McClelland. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primer. *Nucleic Acid Res.* 18: 7213-7218.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified By Arbitrary Primers Useful As Genetic Markers. *Nucl. Acids Res.* 18:6531-6535.
- Winarno. 1990. *Teknik Perbanyakan Cepat Buah-buahan Tropika*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Jakarta.
- Yuniastuti, E. 2008. Karakterisasi Fenotipik dan Genotipik Serta Perbanyakan *in vitro* Tanaman Durian Sukun (*Durio zibethinus* **Murr.**) di Karanganyar. *Laporan Akhir Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2008*. LPPM. Dikti. Surakarta.