

KARAKTERISASI AKSESI DURIAN LOKAL KOLEKSI HORTIMART AGRO CENTRE JAWA TENGAH MENGGUNAKAN PENANDA MOLEKULER INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS (ISSR)

Ahmad Solikin, Amin Retnoningsih & Enni S. Rahayu

Jurusan Biologi, Universitas Negeri Semarang, Semarang, Indonesia

Korespondensi: aminretnoningsih2016@mail.unnes.ac.id

Ahmad Solikin, Amin Retnoningsih & Enni S. Rahayu. 2017. Characterization of Local Durian Accession Collected Hortimart Agro Centre, Central Java Using Molecular Markers Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Floribunda* 5(7): 267–276. — The lack of morphological markers encourage the use of other markers that are considered more accurate, i.e molecular markers. The purpose of this study is to analyze the genetic diversity as well as determine the identity of the local durian accession collection of Hortimart Agro Centre, Central Java. Leaves of 41 durian accessions were isolated using CTAB method. DNA amplification was conducted with four primers of ISSR PKBT and the results were separated by agarose gel. Data were analyzed using NTSYSpc program version 2: 02. The results showed that DNA amplification using four primers of ISSR BKPT yielded 66 polymorphic bands. The results of the analysis showed that the genetic diversity of local durians of Hortimart collection is high because 100% of polymorphic DNA bands with variations of size 250–1500 bp. No local durian accession was found to have the same DNA100% profile, although four pairs of accessions were known to have a 96% high similarity. Five accessions, namely Petruk 2, Ontoseno, Semar, Arjuno, and Gondomono have specific DNA bands. The only accession of durian apart from the other group is Gondomono because it has only one band on ISSR PKBT 8 with size 750 bp which is not owned by other accession. However, dendrograms showed that no identities that are 100% equal so that each DNA band profile can be the identity of each durian accession.

Keywords: *Durio zibethinus*, molecular marker, genetic diversity.

Ahmad Solikin, Amin Retnoningsih & Enni S. Rahayu. 2017. Karakterisasi Aksesori Durian Lokal Koleksi Hortimart Agro Centre Jawa Tengah Menggunakan Penanda Molekuler Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Floribunda* 5(7): 267–276. — Keterbatasan ciri morfologi mendorong penggunaan penanda lain yang dipandang lebih akurat, yaitu penanda molekuler. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis keanekaragaman genetika sekaligus menentukan identitas aksesori durian lokal koleksi Hortimart Agro Centre, Bawen, Jawa Tengah. Daun 41 aksesori durian diisolasi menggunakan metode CTAB. Amplifikasi DNA dilakukan dengan empat primer ISSR PKBT dan hasilnya dipisahkan melalui gel agarose. Data dianalisis menggunakan program NTSYSpc versi 2:02. Hasil penelitian menunjukkan bahwa amplifikasi DNA menggunakan empat primer ISSR BKPT menghasilkan 66 pita polimorfik. Hasil analisis menunjukkan bahwa keanekaragaman genetika durian lokal koleksi Hortimart tergolong tinggi karena 100% pita DNA polimorfik dengan variasi ukuran 250–1500 bp. Tidak ditemukan aksesori durian lokal yang memiliki profil DNA100% sama, meskipun empat pasang aksesori diketahui memiliki kemiripan tinggi 96%. Lima aksesori, yakni Petruk 2, Ontoseno, Semar, Arjuno, dan Gondomono memiliki pita DNA spesifik. Satu-satunya aksesori durian yang terpisah dari kelompok lainnya adalah Gondomono karena hanya memiliki satu pita pada ISSR PKBT 8 dengan ukuran 750 bp yang tidak dimiliki aksesori yang lain. Meskipun demikian, dendrogram memperlihatkan tidak ada identitas yang 100% sama sehingga setiap profil pita DNA dapat menjadi identitas setiap aksesori durian.

Kata kunci: *Durio zibethinus*, penanda molekuler, keanekaragaman genetika.

Indonesia memiliki keanekaragaman jenis durian terbesar di dunia. Sebanyak 30 jenis durian telah diidentifikasi di seluruh dunia, 14 jenis di antaranya merupakan endemik Kalimantan (Kimman 2002). Beberapa jenis durian tersebut dapat dikonsumsi dan salah satu durian konsumsi yang sangat dikenal masyarakat adalah *Durio zibethinus*.

Lebih dari 90 varietas/kultivar dari *D. zibethinus* merupakan durian unggul (Tirtawinata dkk. 2016). Jenis durian ini tersebar luas di seluruh wilayah Indonesia dan berkembang menjadi varietas durian dengan berbagai karakteristik fenotipe dan genotipe yang khas (Uji 2005).

Penentuan identitas setiap varietas durian cukup sulit dilakukan karena banyaknya varietas durian lokal. Kesulitan ini antara lain disebabkan minimnya ciri yang dapat digunakan sebagai penanda. Kekeliruan penentuan identitas varietas durian dapat terjadi baik pada fase vegetatif maupun generatif. Ciri yang paling umum dan mudah digunakan sebagai pembeda adalah ciri morfologi buah. Ciri morfologi organ yang lain, seperti daun, percabangan, dan bunga digunakan sebagai ciri yang menguatkan (Uji 2005).

Keterbatasan ciri morfologi mendorong penggunaan penanda lain yang dipandang lebih akurat, yaitu penanda molekuler. Kelebihan penanda molekuler dibandingkan penanda morfologi adalah lebih stabil, lebih banyak ciri dan dapat dideteksi pada semua fase pertumbuhan pada semua jenis jaringan, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Kumar *et al.* 2009). Salah satu penanda molekuler yang lazim digunakan untuk mengidentifikasi takson di bawah jenis adalah penanda *Inter simple sequence repeat* (ISSR). Keunggulan ISSR adalah secara teknis analisisnya cepat, murah, jumlah DNA yang digunakan sedikit, dan mampu mendeteksi *genetic polymorphism* tanpa perlu mengetahui susunan basa genom yang dianalisis (Kumar *et al.* 2009). Penanda molekuler ISSR telah digunakan untuk membuat sidik jari (*fingerprint*) plasma nutfah *Garcinia mangostana* (Widiastuti dkk. 2013), identifikasi kerapatan hubungan kekerabatan kultivar jeruk keprok (Yulianti dkk. 2010), identifikasi keanekaragaman genetica durian lokal Thailand (Vanijajiva 2012), dan keanekaragaman genetica durian *D. kutejensis* (Handayani & Rahayu 2017). Sebe-

lumnya, Vanijajiva (2011) melaporkan keanekaragaman genetica *D. zibethinus* menggunakan penanda RAPD. Karakterisasi durian menggunakan RAPD juga telah dilaporkan oleh Mursyidin & Daryono (2016).

Hortimart Agro Centre yang terletak di Kecamatan Bawen, Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah memiliki koleksi lebih dari 100 aksesori durian lokal. Koleksi berbagai aksesori durian lokal tersebut diberi nama tokoh pewayangan, seperti durian Janoko dan durian Suryo. Hingga saat ini kepastian jumlah kultivar/varietas yang dimiliki Hortimart belum dapat ditentukan mengingat sulitnya membedakan antar aksesori durian tersebut hanya berdasarkan penanda morfologi. Penanda molekuler diharapkan dapat mengungkap keanekaragaman genetica dan identitas setiap aksesori durian lokal tersebut. Karakterisasi molekuler menggunakan penanda ISSR perlu dilakukan untuk mengungkap keanekaragaman genetica durian karena kemampuannya dalam membedakan individu dalam satu jenis yang sama. Hasil karakterisasi tersebut dapat digunakan untuk menentukan identitas dan menyediakan informasi terkait bibit unggul untuk mendukung upaya perbanyakan durian yang lebih terarah.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Laboratorium Riset, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang mulai Januari sampai September 2016. Aksesori durian yang diteliti sebanyak 41 durian lokal koleksi Hortimart Agro Centre (Tabel 1).

Tabel 1. Aksesori durian koleksi Hortimart Agro Centre

No.	Aksesori	Hanca	No.	Aksesori	Hanca	No.	Aksesori	Hanca
1	Jagal Bilowo	7	15	Sugriwo	9	29	Ngalengko	7
2	Ajimah	1	16	Bismo	5	30	Abiyoso	11
3	Pancasona	4	17	Tirtonoto	11	31	Betorokolo	11
4	Ponconoko	9	18	Romowijoyo	10	32	Gondomono	11
5	Suryo	9	19	Ngastino	12	33	Lembusuro	11
6	Pasopati	9	20	Janoko	4	34	Rahwono	11
7	Pendowo	7	21	Dewi Sinto	9	35	Arjuno	12
8	Ontoseno	2	22	Pancatnyono	7	36	Jangkarbumi	12
9	Surtikanti	9	23	Petruk	10	37	Duryudono	12

Lanjutan Tabel 1. Aksesori durian koleksi Hortimart Agro Centre

No.	Aksesori	Hanca	No.	Aksesori	Hanca	No.	Aksesori	Hanca
10	Bima	2	24	Ontorejo	2	38	Anjani	13
11	Yomodipati	2	25	Trijoto	2	39	Kolosrenggi	13
12	Mustiko	4	26	Semar	4	40	Noroyono	13
13	Banowati	2	27	Gareng	4	41	Monthong	9
14	Cokro	4	28	Mahesosuro	7			

Isolasi DNA dilakukan dengan metode CTAB yang telah dimodifikasi (Vanijajiva 2011). Prosedur isolasi DNA meliputi empat tahapan utama, yaitu (1) pengambilan sampel daun dan ekstraksi, (2) pemurnian, (3) presipitasi DNA, dan (4) uji kualitas DNA.

Daun durian digerus di dalam *buffer* ekstraksi yang terdiri atas CTAB 2%; EDTA 0,02 M pH 8,0; Tris-HCl 0,1 M pH 8,0; NaCl 1,4 M; dan β -mercaptoetanol 0,3%. Hasil gerusan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 30 menit. Setelah diangkat kemudian ditambahkan larutan *phenol:chloroform:isoamyl-alcohol* (PCI). Larutan PCI digunakan untuk memisahkan protein yang telah terdegradasi agar terpisah dari larutan *buffer* yang mengandung DNA. Larutan yang telah ditambah PCI kemudian dibolak-balik hingga terjadi perubahan warna pada lapisan bawah yang semula berwarna bening menjadi hijau. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit menghasilkan tiga lapisan, yaitu supernatan pada lapisan atas, debris sel pada

lapisan tengah, dan kloroform pada lapisan bawah. Supernatan dipindahkan ke dalam *microtube* baru, kemudian ditambahkan isopropanol dingin 100% sebanyak 0,6 x volume. Larutan dibolak-balik hingga DNA mengendap. Tahapan selanjutnya larutan disentrifugasi 4000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang sehingga tersisa pelet di ujung *microtube*. Pelet DNA dicuci dengan 70% etanol dingin kemudian disentrifugasi 4000 rpm selama 5 menit. Pencucian dengan etanol dingin dilakukan sebanyak 3 kali. Supernatan dibuang kemudian pelet DNA dikeringkan pada suhu ruang selama satu malam. Pelet DNA yang kering kemudian dilarutkan dengan *buffer* TE. Kualitas dan kuantitas DNA hasil isolasi dilihat pada gel agarose 0,8%.

Amplifikasi DNA dilakukan dengan mesin PCR *peqSTAR 2X Thermocycler* menggunakan 4 primer ISSR Pusat Kajian Buah Tropika (PKBT)-IPB. Primer ini telah dioptimasi untuk memperoleh suhu *annealing* yang tepat (Tabel 2).

Tabel 2. Susunan basa primer ISSR PKBT-IPB

No.	Nama primer	Sekuen	Suhu <i>Annealing</i> (°C)
1	PKBT-2	(AC)8TT	53
2	PKBT-3	(AG)8T	53
3	PKBT-8	(GA)9C	54
4	PKBT-9	(GA)9T	54

Komposisi larutan yang diamplifikasi terdiri atas DNA, primer ISSR, dan *PCR Mix Go Tag Green Master Promega* dan *nuclease free water*. Konsentrasi DNA yang digunakan 10–50 ng/μl. Tahapan PCR meliputi *predenaturation* 94°C selama 4 menit, *denaturation* 94°C selama 30 detik, *annealing* 36–54°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 30 detik, dan *final extention* 72°C

selama 5 menit. Jumlah siklus PCR yang digunakan sebanyak 35 siklus.

Produk amplifikasi DNA dipisahkan pada gel agarose 1,2%. Ukuran setiap pita DNA dibandingkan dengan DNA *Ladder 50 basepair* (bp) DNA. Pita yang muncul merupakan satu alel tertentu. Kekeragaman genetika dianalisis melalui dendrogram yang dihasilkan. Identitas setiap aksesori

ditentukan berdasarkan adanya profil pita spesifik yang menjadi ciri khas aksesori. Matriks keanekaragaman genetika diolah menggunakan program *similarity for qualitative* (SIMQUAL) data dengan koefisien *Dice* dari Nei & Li (1979). Analisis dendrogram dilakukan berdasarkan *unweighted pair group with arithmetical averages* (UPGMA) program NTSYS-pc versi 2.02 (Rohlf 1998).

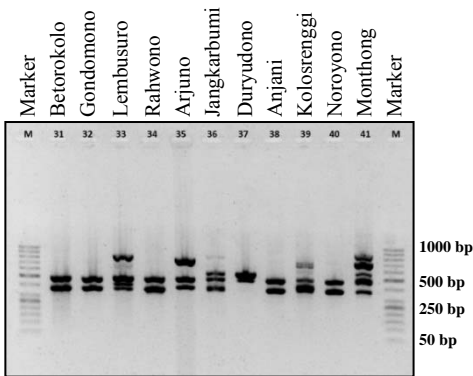
HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi DNA 41 aksesori durian menggunakan empat primer ISSR PKBT menghasilkan semua profil pita polimorfik. Ukuran pita yang dihasilkan berkisar antara 250–1500 bp (Tabel 3).

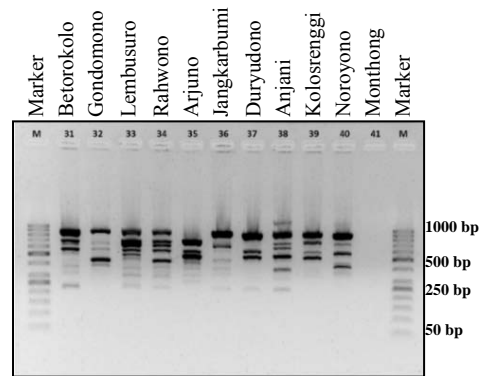
Tabel 3. Ukuran pita hasil amplifikasi menggunakan primer ISSR PKBT 2, PKBT 3, PKBT 8, dan PKBT 9

No.	Primer	Monomorfik (bp)	Polimorfik (bp)
1	PKBT 2	-	330, 375, 400, 430, 450, 500, 575, 600, 625, 675, 700, 800, 875, 1000, 1250
2	PKBT 3	-	250, 300, 330, 375, 400, 450, 475, 500, 515, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 750, 800, 875, 900, 1000, 1030, 1250
3	PKBT 8	-	313, 376, 400, 439, 500, 575, 600, 625, 700, 750, 800, 900, 1000, 1250
4	PKBT 9	-	250, 300, 330, 375, 400, 500, 600, 700, 750, 800, 875, 900, 1000, 1250, 1500

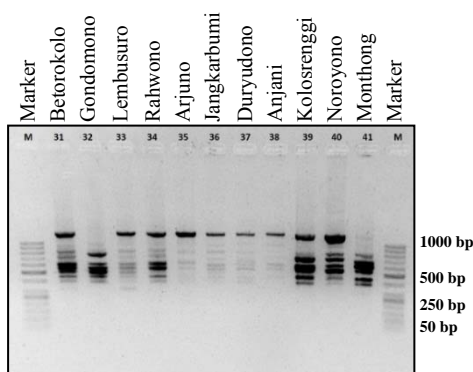
Profil sebagian pita DNA hasil ampifikasi menggunakan primer ISSR PKBT 2 disajikan pada Gambar 1, PKBT 3 pada Gambar 2, PKBT 8 pada Gambar 3, dan PKBT 9 pada Gambar 4.



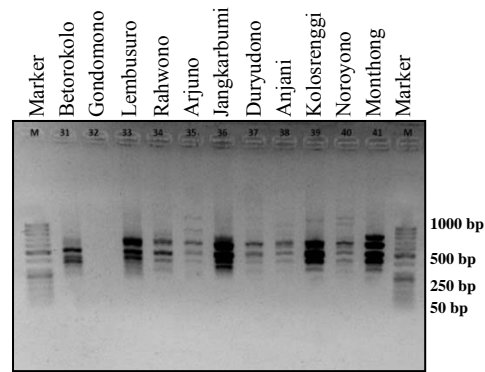
Gambar 1. Profil pita DNA PKBT 2.



Gambar 2. Profil pita DNA PKBT 3.



Gambar 3. Profil pita DNA PKBT 8.



Gambar 4. Profil pita DNA PKBT 9.

Amplifikasi DNA menggunakan primer ISSR PKBT dengan panjang 17–19 bp menghasilkan 66 pita DNA polimorfik (Tabel 4). Amplifikasi DNA setiap primer dipengaruhi oleh distribusi situs *annealing* pada DNA. Pita DNA yang dihasilkan menunjukkan ketebalan yang berbeda-beda karena adanya perbedaan intensitas penempelan primer pada DNA, sehingga satu fragmen DNA dengan panjang tertentu diamplifikasi lebih banyak dibandingkan fragmen yang lain (Kumar *et al.* 2009). Selain itu, penanda ISSR juga memiliki

tingkat keterulangan tinggi, berbeda dengan penanda RAPD yang sering menghasilkan pita berbeda meskipun menggunakan primer yang sama (Semagn *et al.* 2006). Oleh karena itu, penanda ISSR dipandang lebih informatif daripada RAPD sehingga banyak digunakan untuk menganalisis keanekaragaman genetika di dalam jenis tertentu, seperti pada *Lobelia rhychopetalum* (Geleta & Bryngelsson 2009), *Myrcia lundiana* (Alves *et al.* 2016), *Curcuma* sp. (Saha *et al.* 2016), dan *Hyptis pectinata* (Feitosa-Alcantara *et al.* 2017).

Tabel 4. Polimorfisme empat primer ISSR PKBT pada 41 aksesori durian

Primer	Ukuran relatif (bp)	Jumlah pita	Total jumlah pita polimorfik	Total jumlah pita monomorfik	Persentase polimorfisme (%)
PKBT 2	330–1250	15	15	0	100
PKBT 3	250–1250	22	22	0	100
PKBT 8	313–1500	14	14	0	100
PKBT 9	250–1500	15	15	0	100
Total		66	66 (100 %)	0 (0 %)	100%

Hasil penelitian keanekaragaman genetika 41 aksesori durian koleksi Hortimart menunjukkan bahwa tingkat polimorfisme durian lokal tersebut maksimal (100%). Maksudnya adalah berdasarkan penanda molekuler ISSR tidak ditemukan sinonima pada 41 aksesori durian tersebut, setiap aksesori merupakan cultivar/varietas yang berbeda. Persentase polimorfisme yang maksimal juga menunjukkan bahwa tingkat keanekaragaman genetika durian koleksi Hortimart sangat tinggi. Hal ini dapat dipahami karena koleksi durian lokal Hortimart ditanam menggunakan bibit durian yang berasal dari berbagai wilayah di Indonesia (komunikasi pribadi). Berdasarkan morfologi buahnya, aksesori koleksi durian tersebut juga diidentifikasi tidak terdapat duplikasi (Retnoningsih *et al.* 2017). Secara teknis, penggunaan penanda morfologi jauh lebih mudah dibandingkan dengan penanda molekuler karena sifat dan ciri morfologi mudah diamati dengan mata telanjang. Kelemahan penanda morfologi sebagai sifat dan ciri yang baik atau pembeda yang stabil adalah harus ditunggu relatif lama hingga durian menghasilkan bunga dan buah. Durian merupakan tanaman semusim yang secara umum di Indonesia berbunga dan berbuah hanya

satu kali dalam setahun (Tirtawinata dkk. 2016). Selain itu, sifat dan ciri morfologi durian pada saat fase vegetatif, seperti bibit durian dipandang kurang memadai untuk menentukan identitas durian mengingat jumlah sifat dan cirinya yang sangat terbatas, sehingga penggunaan penanda molekuler menjadi mutlak diperlukan.

Temuan menarik dari penelitian ini adalah semua aksesori menghasilkan pita DNA yang polimorfik meskipun hanya menggunakan empat primer ISSR. Hasil penelitian ini memperkuat dan membuktikan bahwa Indonesia merupakan pusat keanekaragaman durian. Hasilnya sangat berbeda dengan analisis keanekaragaman genetika menggunakan penanda ISSR pada 14 aksesori *D. zibethinus* di Thailand yang hanya menghasilkan pita polimorfik 30%–42 %. Selain itu, analisis menggunakan penanda RAPD yang bersifat acak pada aksesori yang sama juga hanya menghasilkan pita polimorfik 23%–50% (Vanijajiva 2011).

Hasil amplifikasi pita DNA menggunakan primer ISSR PKBT2, PKBT3, PKBT8 dan PKBT9 menunjukkan bahwa hanya lima aksesori durian yang memiliki pita spesifik (Tabel 5).

Tabel 5. Pita DNA spesifik pada aksesi durian koleksi Hortimart

Aksesi	Ukuran pita (bp)			
	PKBT 2	PKBT 3	PKBT 8	PKBT 9
Petruk 2	450	-	-	700
Ontoseno	-	900	-	-
Semar	-	400	-	-
Arjuno	-	-	875	-
Gondomono	-	-	750	-

Keberadaan pita spesifik dapat digunakan sebagai identitas aksesi yang ideal karena pita spesifik tersebut masing-masing hanya ditemukan pada satu aksesi saja. Meskipun demikian, profil pita DNA secara menyeluruh dan khas pada setiap aksesi dapat menjadi DNA *fingerprinting* untuk membedakan aksesi satu dengan aksesi yang lain. Profil pita DNA spesifik yang dihasilkan dari amplifikasi DNA tumbuhan dapat digunakan sebagai identitas tumbuhan (Zulfahmi 2013). Keberadaan pita DNA spesifik tertentu selain menjamin akurasi hasil identifikasi juga akan mempercepat proses identifikasi. Identifikasi molekuler terbukti jauh lebih cepat dibandingkan dengan identifikasi menggunakan penanda morfologi yang membutuhkan pengamatan intensif cukup lama hingga perkembangan tumbuhan pada fase generatif. Kelebihan identifikasi molekuler adalah dapat dilakukan pada semua fase pertumbuhan tanaman (Semagn *et al.* 2006).

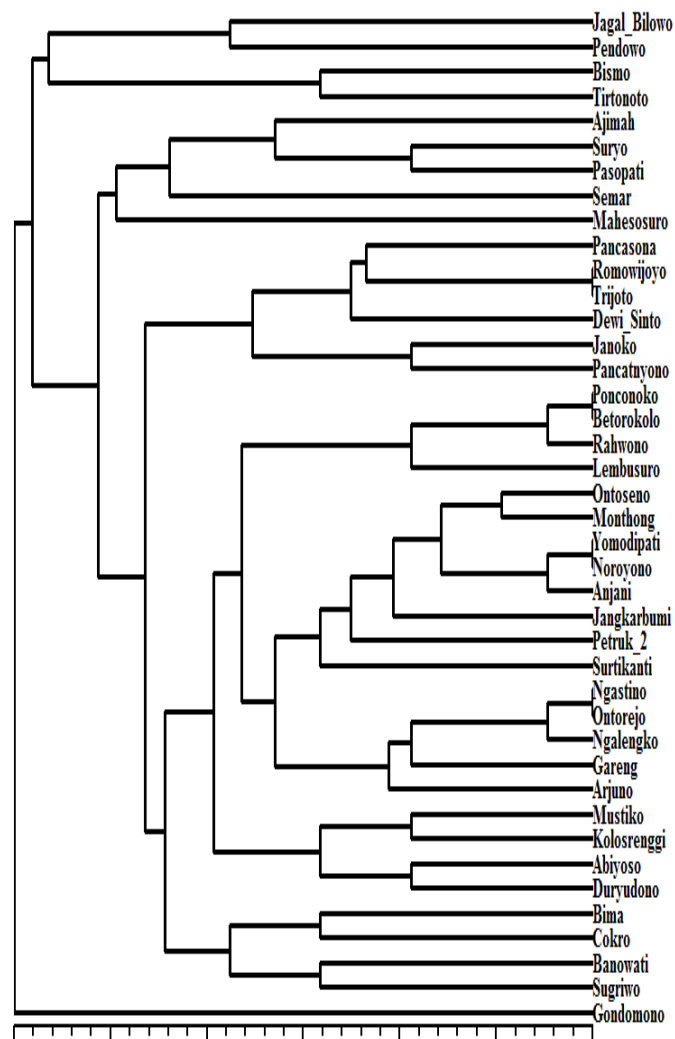
Pengelompokan aksesi ke dalam kluster dilakukan secara acak berdasarkan profil pita yang diberi skor sesuai ukuran pita DNA. Keberadaan aksesi pada kluster yang sama menunjukkan bahwa aksesi tersebut memiliki tingkat kemiripan profil pita DNA (Yulita & Murnianjari 2010). Pengelompokan pada dendrogram berdasarkan empat primer ISSR PKBT menunjukkan bahwa semua aksesi berbeda kecuali pada empat pasang aksesi yang memiliki kemiripan sangat tinggi hingga 96% (Gambar 5). Aksesi yang sangat mirip ini secara molekuler diindikasikan berasal dari tetua varietas yang sama yang mungkin mengalami mutasi akibat perbedaan lingkungan pada fase pertumbuhannya (Syahrudin 2012).

Karakterisasi menggunakan penanda molekuler ISSR terbukti memiliki tingkat ketelitian yang tinggi mengingat berdasarkan penanda morfologi, aksesi durian yang berbeda (Retnoningsih *et al.* 2017), secara molekuler ternyata diketahui sangat mirip. Hal ini mungkin terjadi karena genotipe secara umum tidak dipengaruhi

oleh faktor lingkungan, kecuali jika lingkungan bersifat ekstrim.

Dendrogram memperlihatkan aksesi durian yang diteliti mengelompok menjadi dua. Aksesi Gondomono menjadi satu-satunya anggota kelompok B yang memisah dari aksesi yang lain. Hal ini disebabkan aksesi Gondomono memiliki hanya satu pita yang spesifik berukuran 750 bp yang tidak dimiliki aksesi yang lain.

Semua aksesi durian yang dikenali unggul berdasarkan kajian morfologi buah (Retnoningsih *et al.* 2017) berada pada kelompok A. Temuan yang menarik adalah durian unggul pada aksesi yang secara molekuler memiliki kemiripan tinggi, yaitu Trijoto dan Ontorejo berturut-turut mirip dengan aksesi Romowijoyo dan Ngastino yang tidak dikenali sebagai durian unggul. Keunggulan durian antara lain ditentukan oleh kulit buah yang tipis, rasa yang manis sedikit pahit dengan tekstur arilus lembut dan sedikit berserat, serta warna arilus yang kekuningan, orange hingga kemerahan (Tirtawinata dkk. 2016). Posisi penanda ISSR yang digunakan dalam penelitian ini diduga tidak *linkage* dengan gen yang mengekspresikan sifat dan ciri durian unggul. Pemilihan penanda molekuler yang *linkage* dengan gen tertentu perlu diprioritaskan untuk memastikan penanda spesifik untuk durian yang unggul. Penanda seperti ini dapat membantu meminimalkan kekeliruan dalam pemilihan benih/bibit durian khususnya untuk tujuan pengembangan kebun durian komersial (Retnoningsih 2016). Penggunaan penanda lain seperti mikrosatelit perlu diupayakan mengingat posisi mikrosatelit sering *linkage* dengan gen tertentu (Retnoningsih *et al.* 2010, Arya *et al.* 2014, Begum *et al.* 2014). Meskipun demikian, peluang mendapatkan penanda ISSR spesifik juga masih terbuka lebar karena penambahan jumlah primer berpeluang meningkatkan jumlah pita sehingga mungkin akan diperoleh pita spesifik yang *linkage* gen unggul tertentu.



Gambar 5. Dendrogram 41 aksesori durian berdasarkan penanda ISSR, A dan B adalah kelompok, A1 dan A2 adalah sub kelompok, adalah aksesori durian unggul.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *D. zibethinus* memiliki keanekaragaman genetik yang tinggi. Menurut Bumrungsri *et al.* (2009), faktor yang mempengaruhi keanekaragaman durian adalah biologi polinasi tumbuhan tersebut. Bunga durian adalah *cauliflorous* yang memiliki sifat *hermaphrodite*, sehingga *self-pollination* mungkin terjadi. Durian dengan sifat *self-compatible* memberi peluang kepada polen dari bunga yang sama atau bunga yang berbeda pada pohon yang sama menyerbuki *stigma* bunga dari pohon yang sama. Keanekaragaman yang terbentuk dari hasil polinasi yang bersifat *self-compatible* ini lebih rendah dibandingkan keanekaragaman hasil penyerbukan polen dari pohon durian yang berbeda. Faktor yang mempengaruhi keanekaragaman lainnya adalah posisi tangkai putik durian yang lebih tinggi dari tangkai sari dan faktor fisiologi waktu kesiapan

stigma dan dehisen kepala sari yang berbeda sehingga tidak memungkinkan terjadi *self-pollination*. Bunga durian mulai mekar sore hari sekitar pukul 16.00–16.45, namun sebelum mekar putik biasanya sudah muncul dari kuncup bunga dan reseptif dari pukul 13.00 hingga pagi hari, sedangkan *anther* baru mengalami dehisen pada pukul 19.30–20.00. Kedua faktor tersebut menyebabkan terjadinya *self-incompatibilitas* pada durian. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa persilangan buatan menghasilkan buah 31 % dengan kualitas lebih baik dibandingkan dengan pembentukan buah melalui penyerbukan sendiri yang menghasilkan <10 %. Biologi polinasi durian ada tiga, yaitu *self-compatible*, *semi self-incompatibel* dan *self-incompatible*. Karena faktor biologi polinasi tersebut, durian memiliki keanekaragaman yang tinggi (Lim & Luders 2009).

Keanekaragaman genetika durian dapat juga akibat peristiwa mutasi. Genom tumbuhan memiliki daerah berulang yang sangat banyak dalam jumlah dan distribusinya. Salah satu sifat penting sekuen DNA berulang adalah cenderung mengalami mutasi yang tinggi (Udupa & Baum 2001). Mutasi tidak selalu diikuti perubahan morfologi. Namun demikian, fenotipe mengandung unsur genotipe, deviasi lingkungan, dan interaksi genetika dan lingkungan. Oleh karena itu, sifat dan ciri morfologi baik sifat dan ciri kuantitatif maupun kualitatif tidak hanya merupakan ekspresi genetika karena dipengaruhi juga oleh lingkungan. Keadaan lingkungan yang berbeda memberikan penampilan morfologi yang berbeda (Wang *et al.* 2012).

Keanekaragaman tumbuhan bergantung kepada wilayah penyebarannya. Tumbuhan yang secara geografis memiliki wilayah penyebaran yang luas memiliki tingkat keanekaragaman lebih tinggi daripada tumbuhan dengan penyebaran yang sempit/endemik (Stuessy *et al.* 2014). Selain memiliki wilayah penyebaran geografis yang cukup luas (Uji 2005) dan merupakan jenis tumbuhan berumur sangat panjang, buah durian merupakan favorit beberapa vertebrata. Kondisi ini juga menyebabkan durian memiliki tingkat keanekaragaman yang tinggi. Tumbuhan akan beradaptasi pada lingkungan tempat hidupnya. Adaptasi ini dapat memacu terjadinya perubahan biokimia maupun fisiologis sehingga mempengaruhi keanekaragaman tumbuhan tersebut (Indriani dkk. 2008).

Penanda molekuler penting untuk mengevaluasi keanekaragaman genetika suatu tumbuhan karena relatif tidak dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda molekuler diwariskan dari satu generasi ke generasi selanjutnya, tidak berkaitan langsung dengan ekspresi suatu gen, namun dapat menjadi petunjuk yang stabil dalam genom. Penanda molekuler dapat digunakan secara tidak langsung untuk menentukan gen spesifik pada kromosom tertentu jika posisinya *linkage* sehingga cenderung diwariskan kepada generasi berikutnya (Semagn *et al.* 2006).

KESIMPULAN

Keanekaragaman genetika durian lokal koleksi Hortimart *Agro Centre*, Jawa Tengah berdasarkan 4 primer ISSR BKPT tergolong tinggi karena 100% pita DNA yang dihasilkan polimorfik. Analisis 41 aksesori durian lokal menunjukkan tidak satupun aksesori memiliki profil DNA yang 100% sama, meskipun terdapat 4 pasang aksesori yang memiliki kemiripan 96%. Pita DNA

spesifik ditemukan pada lima aksesori, yakni Petruk 2, Ontoseno, Semar, Arjuno, dan Gondomono. Aksesori Gondomono menjadi satu-satunya aksesori yang terpisah dari aksesori lainnya karena memiliki hanya 1 pita pada penanda ISSR PKBT 8 dengan ukuran 750 bp yang tidak dimiliki aksesori lainnya. Pada dendrogram, tidak ditemukan identitas yang 100% sama sehingga profil pita DNA dapat menjadi identitas setiap aksesori durian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberikan pendanaan untuk skema penelitian hibah kompetensi ini. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Kepala laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dan pengelola Hortimart *Agro Centre* Jawa Tengah yang telah memberikan fasilitas alat maupun bahan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan tepat waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alves MS, Nizio DAC, Brito FA, Sampaio TS, Silva AVC, Arrigoni-Blank MF, Carvalho FVA & Blank AF. 2016. Analysis of genetic diversity of a native population of *Myrcia lundiana* Kiaersk. plants using ISSR markers. *Genetic and Molecular Research* 15 (4):1–10.
- Arya L, Verma M & Lakhanpaul S. 2014. Diagnostic set of microsatellite markers for hybrid purity testing and molecular identification of hybrids and parental lines in sorghum. *Journal of Plant Science & Research* 1(1):1–4.
- Begum H, Reddy MT, Malathi S, Reddy BP, Narshimulu G, Nagaraju J & Siddiq EA. 2014. Morphological and microsatellite analysis of intravarietal heterogeneity in 'Beneshan' mango (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Agricultural and Food Research* 3 (2):16–33.
- Bumrungsri S, Sripaoraya E, Chongsiri T, Sridith K & Racey PA. 2009. The pollination ecology of durian (*Durio zibethinus*, *Bombacaceae*) in southern Thailand. *Journal of Tropical Ecology* 25: 85–92.
- Feitosa-Alcantara RB, Silva AVC, Blank AF, Almeida CS, Alvares-Carvalho CV & Arrigoni-Blank MF. 2017. Analysis of gene-

- tic diversity of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. plants using ISSR markers. *Genetic Molecular Research* 16(3):1–10.
- Geleta M & Bryngelsson T. 2009. Inter simple sequence repeat (ISSR) based analysis of genetic diversity of *Lobelia rhynchopetalum* (Campanulaceae). *Hereditas* 146:122–130.
- Handayani F & Rahayu SP. 2017. Assessment of genetic diversity in lai (*Durio kutejensis*) local cultivars of Batuah (Indonesia) using ISSR marker. *Biodiversitas* 18(2): 525–528.
- Indriani FC, Sudjindro AN, Sugiharto & Soetopo L. 2008. Keragaman genetik plasma nutfah kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan beberapa spesies yang sekerabat berdasarkan analisis isozim. *Agritek* 6(9): 1793–1802.
- Kimman P. 2002. *Biodiversity survey of the proposed Kelian protection Forest*. PT. Kelian Equatiroal mining.
- Kumar P, Gupta VK, Misra AK, Modi DR & Pandey BK. 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics Journal Southern Cross Journal* 2(4): 141–162.
- Lim TK & Luders L. 2009. *Boosting Durian Productivity*. Darwin. Rural Industries Research and Development Corporation.
- Mursyidin DH & Daryono BS. 2016. Genetic diversity of local durian (*Durio zibethinus* Murr.) Cultivars of South Kalimantan's Province Based on RAPD Markers. *Advances of Science and Technology for Society*. AIP Conf. Proc. 1755:1–7.
- Nei M & Li WH 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 76: 5269–5273.
- Retnoningsih A, Megia R & Hartana A. 2010. Molecular verification and diversity analysis of Indonesian BB, AAB and ABB banana cultivars. *Tree and Forestry Science and Biotechnology* 4: 69–76.
- Retnoningsih A. 2016. Kebun Benih Durian Unggul Indonesia: Menyediakan Benih Unggul Bersertifikat untuk Pengembangan Kawasan Durian Unggul. Dalam: *Rumah Ilmu Inovatif dan Membumi*. Mastur Z, Cahyono E, Sudarmin & Kurniawan C. (eds.). FMIPA UNNES.
- Retnoningsih A, Rahayu ES & Sari IP. 2017. Characterization of local durian germplasm based on the morphology of fruit. *Jurnal Sains dan Teknologi* 14(2): 89–94.
- Rohlf FJ. 1998. NTSYSpc. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. User Guide*. Departement of Ecology and Evolution. State University of New York. New York.
- Saha K, Sinha RK, Basak S & Sinha S. 2016. ISSR Fingerprinting to Ascertain the Genetic Relationship of *Curcuma* sp. of Tripura. *American Journal of Plant Science's* 7: 259–266.
- Semagn K, Bjornstad A & Ndjiondjop MN. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5(25): 2540–2568.
- Stuessy TF, Takayama K, Sepulveda PL & Crawford DJ. 2014. Interpretation of patterns of genetic variation in endemic plant species of oceanic islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 174: 276–288.
- Syahrudin K. 2012. Analisis keragaman beberapa genotipe durian (*Durio zibethinus* Murr.) menggunakan penanda morfologi dan molekuler (ISSR). *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tirtawinata MR, Santoso PJ & Apriyanti LH. 2016. Durian: Pengetahuan Dasar untuk Pecinta Durian. Agro Flo.
- Udupa SM & Baum M. 2001. High mutation rate and mutational bias at microsatellite in loci chickpea (*Cicer arietium* L.). *Molecular Genet. Genomics* 265: 1097–1103.
- Uji T. 2005. Keanekaragaman jenis dan sumber plasma nutfah durian (*Durio spp.*) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah* 11: 28–33.
- Vanijajiva O. 2011. Genetic variability among durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi province, Thailand detected by RAPD analysis. *Journal of Agricultural Technology* 7(4): 1107–1116.
- Vanijajiva O. 2012. The application of ISSR markers in genetic variance detection among durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi Province, Thailand. *Procedia Engineering* 32: 155–159.
- Wang Y, Wang X & Paterson AH. 2012. Genome and gene duplications and gene expression divergence: a view from plants. *Annals of The New York Academy of Sciences* 1: 1–14.
- Widiastuti A, Sobir & Suhartanto MR. 2013. Analisis keragaman genetik manggis (*Garcinia mangostana*) diradiasi dengan sinar gamma berdasarkan penanda ISSR. *Bioteknologi* 10(1): 15–22.
- Yulianti F, Marasari C, Karsinah & Hartono T. 2010. Variasi genetik jeruk keprok SoE

- (*Citrus reticulata* Blanco) hasil radiasi sinar gamma menggunakan penanda ISSR. *Buletin Plasma Nutfah* 16(2): 134–139.
- Yulita KS & Murnianjari. 2010. Keragaman genetic beberapa klon durian (*Durio zibethinus* Murray.) asal Jawa Barat berdasarkan sidik jari *random amplified polymorphic DNA*. *Berita Biologi* 10(3): 269–275.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk analisis genetik tanaman. *Jurnal Agroteknologi* 3(2): 41–52.