

Analisis Locus dan Keragaman Sumber Daya Genetik Durian (*Durio* sp.) Berdasarkan Marka Mikrosatelit

[Loci Analysis and Diversity of Durian (*Durio* sp.) Germplasm Based on Microsatellite Markers]

Panca Jarot Santoso¹⁾, Andisa Granitia²⁾, Ni Luh Putu Indriyani¹⁾, dan Adi Pancoro²⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jln. Raya Solok-Aripan Km.8, P.O. Box 5, Solok, Sumatera Barat, Indonesia 27301

²⁾Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati-ITB, Jln. Ganeca 10 Bandung, Jawa Barat, Indonesia

E-mail: 70pjsantos@gmail.com

Naskah diterima tanggal 26 Juni 2015 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 11 Januari 2016

ABSTRAK. Durian merupakan salah satu tanaman buah asli Indonesia dengan tingkat keragaman genetik yang tinggi. Informasi keragaman genetik durian diperlukan untuk mendukung kegiatan perbaikan varietas. Penelitian ini bertujuan mempelajari karakteristik 10 locus mikrosatelit dan keragaman genetik tujuh populasi durian menggunakan marka mikrosatelit. DNA genom durian diisolasi dari sampel daun muda menggunakan protokol berbasis CTAB. Amplifikasi locus mikrosatelit menggunakan teknik PCR berlabel *fluorescent* 6-FAM dan HEX. Analisis data dilakukan menggunakan program Genemarker 2.4.0, GenAlex 6.5, dan Cervus 3.0.3. Hasil analisis menunjukkan bahwa 10 locus mikrosatelit yang diuji memiliki polimorfisme dan tingkat informatifitas beragam dari tingkat rendah sampai tinggi. Dua locus DzMTa005 dan DzMTa006 memiliki nilai *PIC* yang tinggi sehingga keduanya berpotensi sebagai penanda molekuler yang informatif. Analisis PCO secara intra-populasi menunjukkan distribusi alel cukup merata di antara 94 SDG durian yang digunakan. Sebaliknya, secara inter-populasi menunjukkan variasi genetik yang cukup tinggi, dan membuktikan bahwa Kalimantan sebagai pusat asal durian yang kemudian menyebar pada wilayah lainnya.

Kata kunci: Durian; Marka mikrosatelit; Keragaman genetik; *Durio* sp.

ABSTRACT. Durian is one of the fruit crops native to Indonesia which consists of highly genetic variation. Information regarding genetic variation of durian germplasm is required to support efforts of varietal improvement. This research was aimed to study the characteristic of 10 microsatellite loci and diversity of seven populations of durian germplasm using microsatellite markers. Durian genomic DNA was isolated from young leaf using CTAB based protocol. Amplification of microsatellite loci was conducted through 6-FAM and HEX fluorescent labeled PCR. Data were analysed using PC-software Genemarker 2.4.0, GenAlex 6.5, and Cervus. The result showed that 10 microsatellite loci tested demonstrated polymorphism with informativity values varied from low to high. Two loci, DzMTa005 and DzMTa006, have high *PIC* value, therefore both loci are potential as informative molecular markers. PCO analysis at intra-population showed allele distribution evenly amongst 94 durian germplasms used. At inter-population, however, they possessed high genetic variation and indicated that Kalimantan as the center of origin of durian which were then distributed to the other regions.

Keywords: Durian; Microsatellite marker; Genetic diversity; *Durio* sp.

Durian (*Durio* sp.) merupakan salah satu sumber daya genetik tanaman buah tropika asli Indonesia yang populer dan bernilai ekonomi tinggi. Genus *Durio* termasuk ke dalam famili Malvaceae dan tercatat ada sekitar 29 spesies yang tersebar di wilayah Asia Tenggara, terutama di Kalimantan, Sumatera, dan Semenanjung Malaya (Uji 2005). Di Indonesia ditemukan sebanyak 20 spesies, 18 di antaranya tumbuh di Kalimantan, dan tujuh di Sumatera (Kostermans 1958, Uji 2005). Di antara spesies yang ada, *D. zibethinus* merupakan yang paling banyak sebarannya dan paling banyak diusahakan oleh masyarakat sehingga kata 'durian' selalu merujuk pada spesies ini.

Dua spesies lain yang juga mulai mendapat perhatian untuk dikomersialisasi antara lain *D. kutejensis* yang dikenal dengan nama lai, dan *D. oxleyanus* atau kerantungan yang di Kepulauan Riau disebut durian daun (Santoso & Priyono 2013). Sampai awal tahun 2015 pemerintah Indonesia telah mendaftarkan 93 varietas

durian unggul dari berbagai daerah yang meliputi ketiga spesies ini (Dit. Perbenihan dan Sarana, Dirjen Hortikultura, komunikasi pribadi). Di samping itu, masih banyak sumber daya genetik durian yang tersebar dan masih dalam kondisi liar.

Sumber daya genetik durian memiliki peranan penting untuk perbaikan varietas di masa depan. Perubahan preferensi konsumen dan kebutuhan pasokan buah yang terus meningkat memerlukan adanya varietas baru yang berkualitas dan berproduksi tinggi. Oleh karena itu, sumber daya genetik durian perlu dilestarikan dan dikelola dengan baik, selanjutnya dimanfaatkan untuk perbaikan varietas melalui kegiatan pemuliaan.

Durian merupakan tanaman tahunan yang memerlukan periode waktu yang panjang untuk satu siklus pemuliaan sehingga untuk efisiensi diperlukan metode untuk memperpendeknya. Pengalaman kegiatan pemuliaan yang dilakukan di Malaysia untuk

mendapatkan progeni F_1 diperlukan waktu lebih dari 30 tahun (Abidin *et al.* 2000). Oleh karena itu kegiatan pemuliaan ke depan perlu memanfaatkan kemajuan bioteknologi dalam bidang penanda molekuler berbasis DNA untuk membantu seleksi tetua maupun progeni. Aplikasi marka molekuler pada komoditas durian sejauh ini telah dilaksanakan menggunakan marka RAPD untuk identifikasi keragaman antaraksesi plasma nutfah dan variasi hasil persilangan (Hariyati *et al.* 2013, Somsri *et al.* 2008), serta marka ITS untuk identifikasi kekerabatan (Nyffeler & Baum 2000, Santoso *et al.* 2005). Namun demikian, untuk seleksi progeni diperlukan marka molekuler yang mampu mendeteksi alel-alel spesifik yang diturunkan dari tetua kepada keturunan hasil persilangan secara dini. Salah satu penanda yang dapat memenuhi kebutuhan seleksi dini ialah mikrosatelit (Selkoe & Toonen 2006).

Mikrosatelit berupa urutan pendek berulang yang tiap ulangnya terdiri dari satu sampai enam nukleotida (Liu *et al.* 2000). Marka ini juga sering disebut dengan istilah *simple sequence repeats* (SSR) atau *short tandem repeats* (STR) (Selkoe & Toonen 2006). Mikrosatelit sangat populer digunakan karena karakter lokusnya bersifat co-dominan, tingkat variabilitasnya tinggi, mudah diulang, dan stabil (Ritschel *et al.* 2004). Dengan variabilitas tinggi memungkinkan penghitungan secara akurat pada setiap individu untuk mendeteksi kontribusi paternal pada populasi alami (Ottewell *et al.* 2005).

Penanda DNA mikrosatelit telah banyak digunakan untuk keperluan identifikasi keragaman tanaman, antara lain studi progeni F_1 hasil persilangan mangga Arumanis 143 x mangga merah (Santoso *et al.* 2014), identifikasi *quantitative trait loci* (QTL) sifat pembungaan pada mawar (Oyant *et al.* 2008), *mapping* gen pada beberapa tanaman seperti jeruk (Luro *et al.* 2008), melon (Ritschel *et al.* 2004), dan kelapa sawit (Billotte *et al.* 2005, Singh *et al.* 2007), sedangkan untuk studi genetik tanaman durian, beberapa kegiatan pendahuluan telah dilakukan, yaitu isolasi dan karakterisasi motif mikrosatelit (Kristianti 2005), yang berhasil mengisolasi 38 motif mikrosatelit dan merancang 41 pasangan primer, kemudian sebagian primernya digunakan untuk analisis keragaman genetik durian koleksi Kebun Percobaan Cipaku (Nafsi 2007).

Penelitian ini bertujuan melakukan analisis potensi 10 lokus mikrosatelit sebagai marka molekuler dan analisis keragaman populasi sumber daya genetik durian di Indonesia berdasarkan marka mikrosatelit DNA.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Agustus 2012 sampai Mei 2013 di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Bahan penelitian yang digunakan ialah 94 varietas durian yang berasal dari berbagai lokasi di Indonesia dan introduksi dari Thailand dan Malaysia. Sampel dibagi ke dalam tujuh populasi berdasarkan asal lokasi yaitu Sumatera, Kalimantan, Jawa, Bali Nusa Tenggara, Sulawesi, Papua, dan introduksi. Daftar varietas durian yang digunakan ditampilkan pada Tabel 1.

DNA genom durian diisolasi dari daun yang masih muda menggunakan protokol berbasis CTAB yang dimodifikasi untuk tanaman buah tropika (Santoso 2006). Sebanyak 10 lokus mikrosatelit digunakan untuk amplifikasi, empat lokus diunduh dari *gene bank* NCBI dan enam lokus sisanya merupakan hasil isolasi Kristianti (2005). Lokus ini diamplifikasi menggunakan 10 pasang primer yang dirancang/didesain menggunakan program Primer-3 (Tabel 2). Amplifikasi lokus mikrosatelit menggunakan label *fluorescent* agar dapat dibaca oleh perangkat *gene-scanning*. Pelaksanaan PCR menggunakan tiga macam primer, yaitu primer *forward* yang telah ditempel oleh primer universal M13, primer *reverse*, dan primer universal M13 yang membawa *fluorescent* FAM atau HEX. Suhu *annealing* tiap primer dioptimasi menggunakan mesin *Veriti[®] Thermal Cycler* (Applied Biosystems), sedangkan amplifikasi DNA dilakukan dengan *Thermal Cycler GeneAMP2400*. Total reaksi amplifikasi yang dilakukan ialah 25 μ L, terdiri atas 0,125 μ M primer *forward*, 0,5 μ M primer *reverse*, 0,5 μ M 6-FAM/6-HEX, 1 unit KAPA2G *Fast ReadyMix*, DMSO 5%, 5ng DNA *template*, dan air deion steril hingga volume total 25 μ L.

Amplifikasi menggunakan protokol yang dikembangkan oleh Schuelke (2000), dimulai dengan predenaturasi pada suhu 94°C selama 3 menit, dilanjutkan sebanyak 30 siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu sebagaimana hasil optimasi masing-masing primer selama 30 detik, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 45 detik. Pada tahap kedua diamplifikasi sebanyak delapan siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan 6-FAM atau HEX pada suhu 53°C selama 30 detik, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 45 detik. PCR diakhiri dengan pemanjangan pada suhu 72°C selama 7 menit.

Analisis fragmen (*gene-scanning*) untuk identifikasi alel-alel hasil amplifikasi dilaksanakan oleh pihak ketiga

Tabel 1. Daftar SDG durian yang digunakan dalam penelitian (*List of durian germplasms used in the research*)

Akses (Accession)	Asal (Origin)	Populasi (Population)
Asoekaya	Aceh Besar – NAD	Sumatera
Phagajah	Aceh Besar – NAD	Sumatera
Bustawang	Sumatera Utara	Sumatera
Bintana	Deli Serdang – Sumatera Utara	Sumatera
Ginting	Sumatera Utara	Sumatera
Kucing Titun	Sumatera Utara	Sumatera
Sikapal	Sumatera Utara	Sumatera
Salsa	Solok – Sumatera Barat	Sumatera
Lg. Kamang	Agam – Sumatera Barat	Sumatera
Niden 2	Solok – Sumatera Barat	Sumatera
Parak Kopi	Solok – Sumatera Barat	Sumatera
Kunyik UJ	Solok – Sumatera Barat	Sumatera
Salsa UJ	Solok – Sumatera Barat	Sumatera
Selat	Selat – Jambi	Sumatera
Tembaga Jambi	Jambi	Sumatera
Teluk	Teluk – Jambi	Sumatera
Bakul ME	Muara Enim – Sumatera Selatan	Sumatera
Bantal Mas	Kikim – Sumatera Selatan	Sumatera
Semenguk	Baturaja – Sumatera Selatan	Sumatera
Bentara	Bengkulu Utara	Sumatera
Dahlan	Pekalongan – Lampung	Sumatera
Kajang	Tanggamus – Lampung	Sumatera
Namlung Petaling	Bangka – Bangka Belitung	Sumatera
Putri Dewa	Bangka – Bangka Belitung	Sumatera
Super Tembaga	Bangka – Bangka Belitung	Sumatera
Sidodol	Karang Intan – Kalimantan Selatan	Kalimantan
Sihijau	Karang Intan – Kalimantan Selatan	Kalimantan
Sijapang	Karang Intan – Kalimantan Selatan	Kalimantan
Gelapir	Katingan – Kalimantan Selatan	Kalimantan
Bibir Merah	Muara Kewe – Kalimantan Tengah	Kalimantan
Gantar Bumi	Barito Utara – Kalimantan Tengah	Kalimantan
Aspar	Mabah – Kalimantan Barat	Kalimantan
Rinbud	Sanggau – Kalimantan Barat	Kalimantan
Salisun	Nunukan – Kalimantan Timur	Kalimantan
Batuah	Kukar – Kalimantan Timur	Kalimantan
Kutai	Kukar – Kalimantan Timur	Kalimantan
Mahakam	Kukar – Kalimantan Timur	Kalimantan
Aji Kuning	Sebatik – Kalimantan Timur	Kalimantan
Ligit	Kutai – Kalimantan Timur	Kalimantan
Mawar	Kutai – Kalimantan Timur	Kalimantan
Lae Mas	Koleksi KP Subang	Kalimantan
Lameuru Putih	Kendari – Sulawesi Tenggara	Sulawesi
Lameuru Kuning	Kendari – Sulawesi Tenggara	Sulawesi
Lalong	Luwu – Sulawesi Selatan	Sulawesi
Sawerigading	Luwu – Sulawesi Selatan	Sulawesi
Gola-golae	Bulukumba – Sulawesi Selatan	Sulawesi
Otong Palopo	Palopo – Sulawesi Selatan	Sulawesi

Tabel 1. Lanjutan (Continue)

Akresi (Accession)	Asal (Origin)	Populasi (Population)
Sibening	Pandeglang – Banten	Jawa
Siradio	Pandeglang – Banten	Jawa
Siseupah	Pandeglang – Banten	Jawa
Siriwig	Majalengka – Jawa Barat	Jawa
Perwira	Majalengka – Jawa Barat	Jawa
Bokor	Majalengka – Jawa Barat	Jawa
Matahari	Cimahpar, Bogor – Jawa Barat	Jawa
Hepi (Hepe)	Jonggol, Bogor – Jawa Barat	Jawa
Sitokong	Ragunan – DKI Jakarta	Jawa
Ajimah	Bogor – Jawa Barat	Jawa
Mas Rancamaya	Bogor – Jawa Barat	Jawa
Gundul Tanjung Wangi	Subang – Jawa Barat	Jawa
Petruk	Jepara – Jawa Tengah	Jawa
Sukun	Karanganyar – Jawa Tengah	Jawa
Sunan	Boyolali – Jawa Tengah	Jawa
Menoreh Jambon	Kulonprogo – DI Yogyakarta	Jawa
Menoreh Kuning	Kulonprogo – DI Yogyakarta	Jawa
Senggon	Banyuwangi – Jawa Timur	Jawa
Kemiren	Banyuwangi – Jawa Timur	Jawa
Dugol	Blitar – Jawa Timur	Jawa
Kemiren Biji	Banyuwangi – Jawa Timur	Jawa
Gapu	Kediri – Jawa Timur	Jawa
Kelud	Kediri – Jawa Timur	Jawa
Ripto	Trenggalek – Jawa Timur	Jawa
Denpasar	Bali	Bali Nusra
Sopian Buleleng	Bali	Bali Nusra
Sedapir	Sumbawa – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
Sipakem	Lombok – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
Sipayuk	Lombok – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
Sigundul	Lombok – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
Tong Medaye	Lombok – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
Kepala Gajah	Sumbawa – Nusa Tenggara Barat	Bali Nusra
NTT	Nusa Tenggara Timur	Bali Nusra
Dosai	Jayapura – Papua	Papua
Salapesi	Jayapura – Papua	Papua
Katiman	Manokwari – Papua Barat	Papua
Mentega Simson	Manokwari – Papua Barat	Papua
Pelangi	Manokwari – Papua Barat	Papua
Prafi SP4	Manokwari – Papua Barat	Papua
Merah Amban	Manokwari – Papua Barat	Papua
Mentega Kaimana	Kaimana – Papua Barat	Papua
Sun	Kaimana – Papua Barat	Papua
Chanee/Kani	Thailand	Introduksi
Monthong	Thailand	Introduksi
Musang King	Malaysia	Introduksi
D24	Malaysia	Introduksi
D13	Malaysia	Introduksi

Tabel 2. Daftar lokus yang digunakan dalam penelitian (*List of loci used in the research*)

Lokus (Locus)	Primer (Forward)	Primer (Reverse)	TA (°C)	Motif (Motif)	Sumber (Resources)
DzMTa005	TGGGATTGGATGATGGGTTGTTTTCA	CGGCCGCGGGAATTTCGATTGAT	61	(TG) ₈	Gene bank NCBI
DzMTa006	ACCTTCTCCCCATTTACCAAACCA	AGGGCACACTCATTTTTGCTTTGTTTC	56	(AT) ₁₁	Gene bank NCBI
DzMTa007	TCCCCAGCACTTGCAAATTTCCCT	ACCCTAGCCTTTTATGCAACACCAC	62	(AG) ₁₃	Gene bank NCBI
DzMTb021	ATTGACCCATTCGAAATGTCCCCTT	TGCGCGGGAAATTGGTGTTTCA	55	(TC) ₆	Gene bank NCBI
Dz621	ACCGGACCGAGGGTGTGGT	GCAAGCCGGGGATCGACCAG	61	(CTGG) ₃	Kristianti (2005)
Dz535	GACTGAGCGCCCCGTATGCC	GTCCCCTCTGCGTGCTGTCTG	60	(CTGG) ₃	Kristianti (2005)
Dz504	CTCGGTCCGGCTGGGGCTTA	CCTCTCCGGTTGGCTGAGCG	66	(CCAA) ₃	Kristianti (2005)
Dz844	TGGTTGAATGCCCGCACGCT	TCGGACCGATCCACCCCTGC	66	(CAG) ₃	Kristianti (2005)
DzGCCG01	GGTGGGTTCAAGCACATCTT	TCAAACCAGACCGAGGGTTA	56	(GCCG) ₂	Nafsi (2007)
DzGCAG01	GTTGAGCACCCGTACTCA	GAGAGGCAAAATACGCAAGC	59	(CAG) ₂ GAC (CAG) ₃	Nafsi (2007)

1st Base Inc. Singapore. Hasil analisis fragmen berupa format data *.fsa kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak GeneMarker 2.4.0. Analisis tingkat heterozigositas (He), sebaran frekuensi alel, dan *Principle Coordinate Analysis* (PCO) dilakukan menggunakan program GeneA1Ex ver.6., serta *Polymorphic Information Content* (PIC) atau tingkat polimorfisme dari lokus mikrosatelit dianalisis menggunakan program Cervus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Lokus Mikrosatelit

Analisis fragmen dilakukan terhadap 940 produk PCR dari 94 aksesori durian yang diamplifikasi menggunakan 10 lokus mikrosatelit. Hasil pengukuran alel dari tiap lokus per populasi ditampilkan pada Tabel 3, sedangkan frekuensinya ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa terdapat total 202 alel dengan nilai rerata 2,475. Nilai rerata alel tersebut menunjukkan adanya polimorfisme pada setiap lokus. Berdasarkan data tersebut juga diketahui bahwa jumlah alel dari masing-masing lokus di tiap populasi juga beragam. Jumlah alel paling banyak ialah sembilan pada lokus DzMTa005 untuk populasi Jawa, dan jumlah paling sedikit ialah satu alel pada beberapa lokus dan berbagai populasi. Jumlah frekuensi alel dari tiap lokus berhubungan dengan variasi yang akan muncul dari jarak genetik antarpopulasi yang digunakan. Lokus Dzmta005 memiliki jumlah rerata alel yang paling banyak, yaitu 5,43. Hal tersebut menandakan bahwa lokus ini memiliki potensi untuk memberikan informasi yang lebih baik sebagai marka molekul.

Gambar 1 memberikan informasi tentang nilai frekuensi kemunculan alel pada masing-masing lokus untuk semua populasi. Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa lokus DzMTa007 menghasilkan dua alel

berukuran panjang 98 dan 162 pb. Frekuensi alel yang sering muncul dari lokus ini ialah alel berukuran 98 pb dengan nilai frekuensi berbeda untuk tiap-tiap populasi, berkisar 86% untuk populasi Sumatera sampai 100% untuk populasi yang lainnya. Lokus DzGCAG01 menghasilkan empat alel berukuran 83, 93, 98, dan 165 pb. Alel yang paling sering muncul dari lokus ini adalah alel berukuran 83 pb dengan nilai frekuensi 75% untuk populasi Sulawesi dan yang lainnya lebih tinggi sampai 100%. Demikian juga untuk delapan lokus sisanya menunjukkan satu sampai dua lokus dominan terhadap lokus yang lain pada setiap populasi yang berbeda.

Beberapa lokus juga menunjukkan adanya *null allele* atau kondisi dimana tidak adanya alel mikrosatelit yang dihasilkan oleh amplifikasi DNA. *Null allele* umumnya disebabkan karena adanya mutasi pada sisi penempelan lokus di DNA. Kemunculan *null allele* dapat menyebabkan penurunan tingkat heterozigositas dalam populasi (Gupta & Varshney 2000).

Tingkat Informatif Lokus Mikrosatelit

Besarnya nilai *PIC* terukur dari lokus yang digunakan dalam amplifikasi DNA menunjukkan besarnya tingkat informatif dari lokus tersebut. Menurut Botstein *et al.* (1980), lokus dikatakan memiliki tingkat informatif yang tinggi bila nilai *PIC* yang dimilikinya >0,500 dan memiliki tingkat informatif yang sedang bila nilai *PIC* berada di antara 0,250 dan 0,500. Lokus yang menghasilkan alel lebih banyak cenderung untuk memiliki nilai *PIC* yang tinggi dan dikatakan lokus tersebut bersifat lebih informatif (Hildebrand *et al.* 1992). Nilai *PIC* dari 10 lokus yang digunakan dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 4.

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa *PIC* dari 10 lokus yang digunakan memiliki nilai antara 0,053 hingga 0,760 dengan nilai rerata sebesar 0,422. Lokus

Tabel 3. Hasil perhitungan alel dari 10 lokus mikrosatelit di tiap populasi (Results of allele calculation of 10 microsatellite loci for each population)

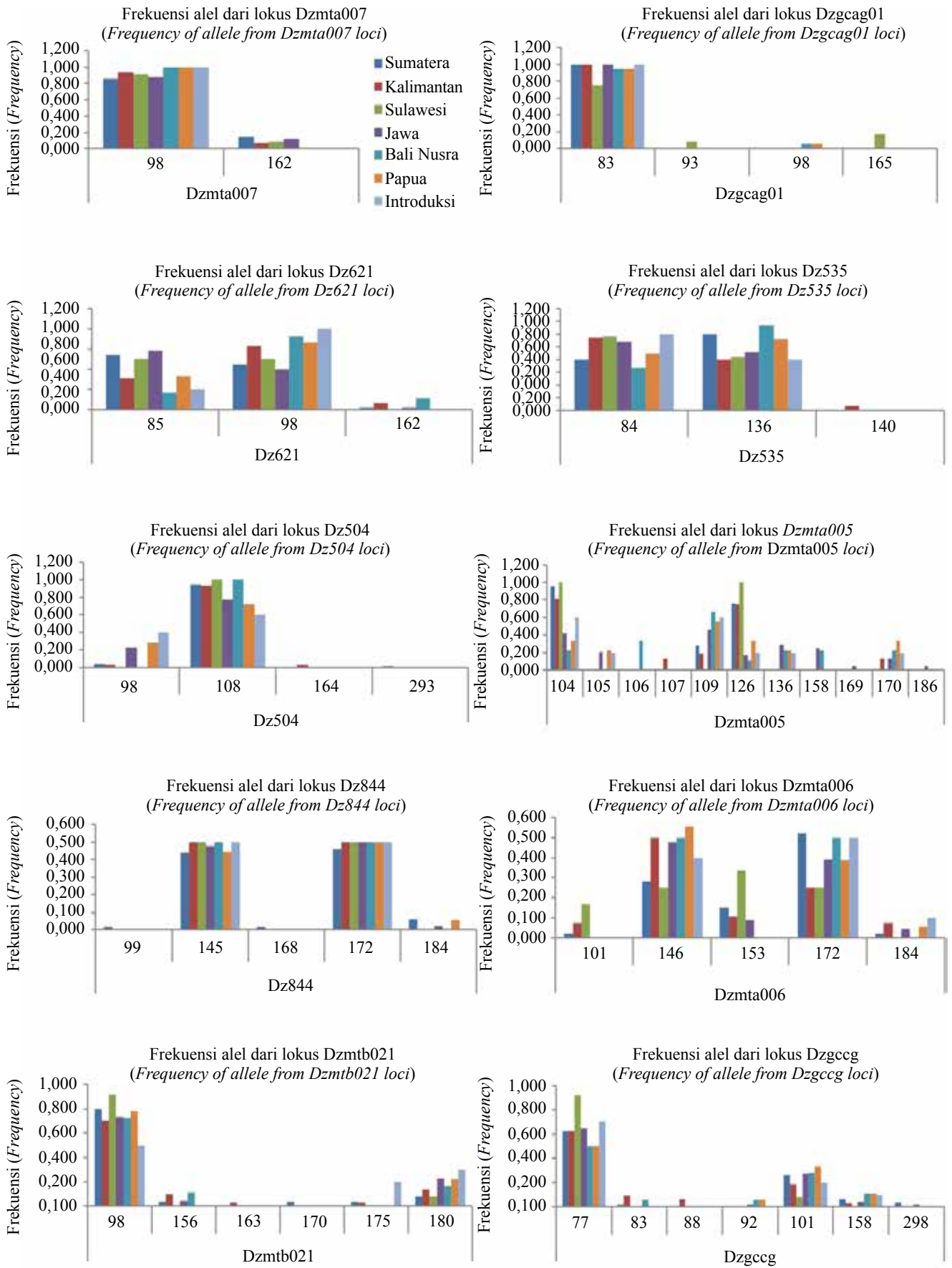
Pop		Dzmta007	Dzgcag01	Dz621	Dz535	Dz504	Dzmta005	Dz844	Dzmta006	Dzmtb021	Dzgccg
Sumatera	N	25	25	25	25	25	25	25	23	25	25
	Na	2	1	3	2	3	3	5	5	5	5
	Ho	0,200	0,000	0,440	0,320	0,120	0,880	1,000	0,652	0,240	0,680
	He	0,241	0,000	0,514	0,480	0,114	0,606	0,590	0,624	0,349	0,542
	F	0,169	-	0,145	0,333	-0,049	-0,453	-0,694	-0,045	0,312	-0,254
Kalimantan	N	16	16	16	15	16	16	16	14	15	16
	Na	2	1	3	3	3	5	2	5	5	5
	Ho	0,125	0,000	0,250	0,400	0,063	0,813	1,000	0,786	0,467	0,438
	He	0,117	0,000	0,508	0,518	0,119	0,678	0,500	0,666	0,480	0,561
	F	-0,067	-	0,508	0,227	0,475	-0,199	-1,000	-0,180	0,028	0,220
Sulawesi	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Na	2	3	2	2	1	2	2	4	2	2
	Ho	0,167	0,167	0,667	0,500	0,000	1,000	1,000	0,833	0,167	0,167
	He	0,153	0,403	0,500	0,486	0,000	0,500	0,500	0,736	0,153	0,153
	F	-0,091	0,586	-0,333	-0,029	-	-1,000	-1,000	-0,132	-0,091	-0,091
Jawa	N	24	22	24	24	24	24	24	23	24	24
	Na	2	1	3	2	2	9	3	4	3	5
	Ho	0,000	0,000	0,333	0,167	0,292	0,875	1,000	1,000	0,542	0,708
	He	0,219	0,000	0,503	0,497	0,353	0,845	0,520	0,609	0,414	0,507
	F	1,000	-	0,337	0,664	0,174	-0,036	-0,923	-0,643	-0,308	-0,397
Bali Nusra	N	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9
	Na	1	2	3	2	1	7	2	2	3	5
	Ho	0,000	0,111	0,333	0,667	0,000	1,000	1,000	1,000	0,111	1,000
	He	0,000	0,105	0,438	0,444	0,000	0,809	0,500	0,500	0,438	0,654
	F	-	-0,059	0,239	-0,500	-	-0,237	-1,000	-1,000	0,746	-0,528
Papua	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	Na	1	2	2	2	2	6	3	3	2	4
	Ho	0,000	0,111	0,222	0,444	0,333	1,000	1,000	0,889	0,444	1,000
	He	0,000	0,105	0,444	0,494	0,401	0,815	0,549	0,537	0,346	0,623
	F	-	-0,059	0,500	0,100	0,169	-0,227	-0,820	-0,655	-0,286	-0,604
Introduksi	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Na	1	1	2	2	2	6	2	3	3	3
	Ho	0,000	0,000	0,400	0,400	0,800	1,000	1,000	1,000	0,600	0,600
	He	0,000	0,000	0,320	0,480	0,480	0,780	0,500	0,580	0,620	0,460
	F	-	-	-0,250	0,167	-0,667	-0,282	-1,000	-0,724	0,032	-0,304

N=Jumlah individu; Na= Jumlah alel; Ho=Nilai heterozigositas yang diamati; He = Nilai heterozigositas yang diharapkan; F=Indeks fiksasi

Tabel 4. Nilai Ho, He, dan PIC tiap lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian (PIC value of each microsatellite loci used in the research)

Lokus (Locus)	Alel (Allele)	Ho	He	PIC
DzMTa005	11	0,904	0,793	0,760
DzMTa006	5	0,852	0,647	0,575
DzMTa007	2	0,085	0,157	0,144
DzMTb021	6	0,376	0,415	0,379
Dz621	3	0,362	0,529	0,417
Dz535	3	0,355	0,508	0,383
Dz504	4	0,191	0,234	0,211
Dz844	5	1,000	0,539	0,428
DzGCAG01	4	0,033	0,054	0,053
DzGCCG01	7	0,670	0,544	0,490
	5	0,483	0,442	0,384

Ho=Nilai heterozigositas yang diamati; He = Nilai heterozigositas yang diharapkan; PIC= Tingkat polimorfisme alel



Gambar 1. Frekuensi alel pada 10 lokus mikrosatelit per populasi (*Frequency of allele on 10 microsatellite loci for each population*)

DzMTa005 dan DzMTa006 memiliki nilai *PIC* yang tinggi, yaitu 0,760 dan 0,575. Locus DzGCCG01, Dz844, Dz621, Dz535, dan DzMTb021 masuk dalam kategori menengah memiliki nilai berturut-turut 0,490; 0,428; 0,417; 0,383, dan 0,379, sedangkan tiga locus sisanya, yaitu DzGCAG01, DzMTa007, dan Dz504 masuk dalam kategori rendah dengan nilai berturut-turut 0,053; 0,144; dan 0,211. Locus yang memiliki nilai *PIC* tinggi memiliki potensi sebagai penanda molekuler yang informatif. Penanda tersebut nantinya dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk mengetahui keragaman genetik dari populasi durian. Locus yang memiliki nilai *PIC* yang tinggi berarti memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengukur jarak genetik dari suatu populasi dibandingkan dengan locus lainnya (Kalinowski 2002).

Analisis Keragaman Genetik Antarpopulasi

Keragaman genetik antarpopulasi dapat diketahui dengan membandingkan jarak genetik, yaitu perbandingan frekuensi alel atau heterozigositas antar

populasi. Jarak genetik dapat dianalogikan sebagai jarak geometris, yaitu jarak nol mengindikasikan tidak adanya perbedaan antarpopulasi sementara jarak satu mengindikasikan adanya fiksasi alel dalam subpopulasi (Frankham *et al.* 2002). Tabel 5 menyajikan hasil pengukuran nilai heterozigositas durian enam populasi dari Indonesia dan satu populasi introduksi.

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa rerata nilai *He* untuk seluruh populasi durian bervariasi antara 0,358 dan 0,447. Nilai terendah ada pada populasi durian asal Sulawesi dan nilai tertinggi ada pada populasi durian asal Jawa. Secara keseluruhan tingkat keragaman genetik populasi durian dari tujuh lokasi berdasarkan nilai *He* dapat dikatakan memiliki keragaman genetik yang menengah berdasarkan kriteria yang diajukan oleh Frankham *et al.* (2002).

Keragaman genetik antarpopulasi juga dapat diketahui dengan melihat sebaran frekuensi alel dalam populasi dengan cara mengukur perbedaan

Tabel 5. Nilai *He* dari tiap locus antarpopulasi (*He value of every locus at inter-population*)

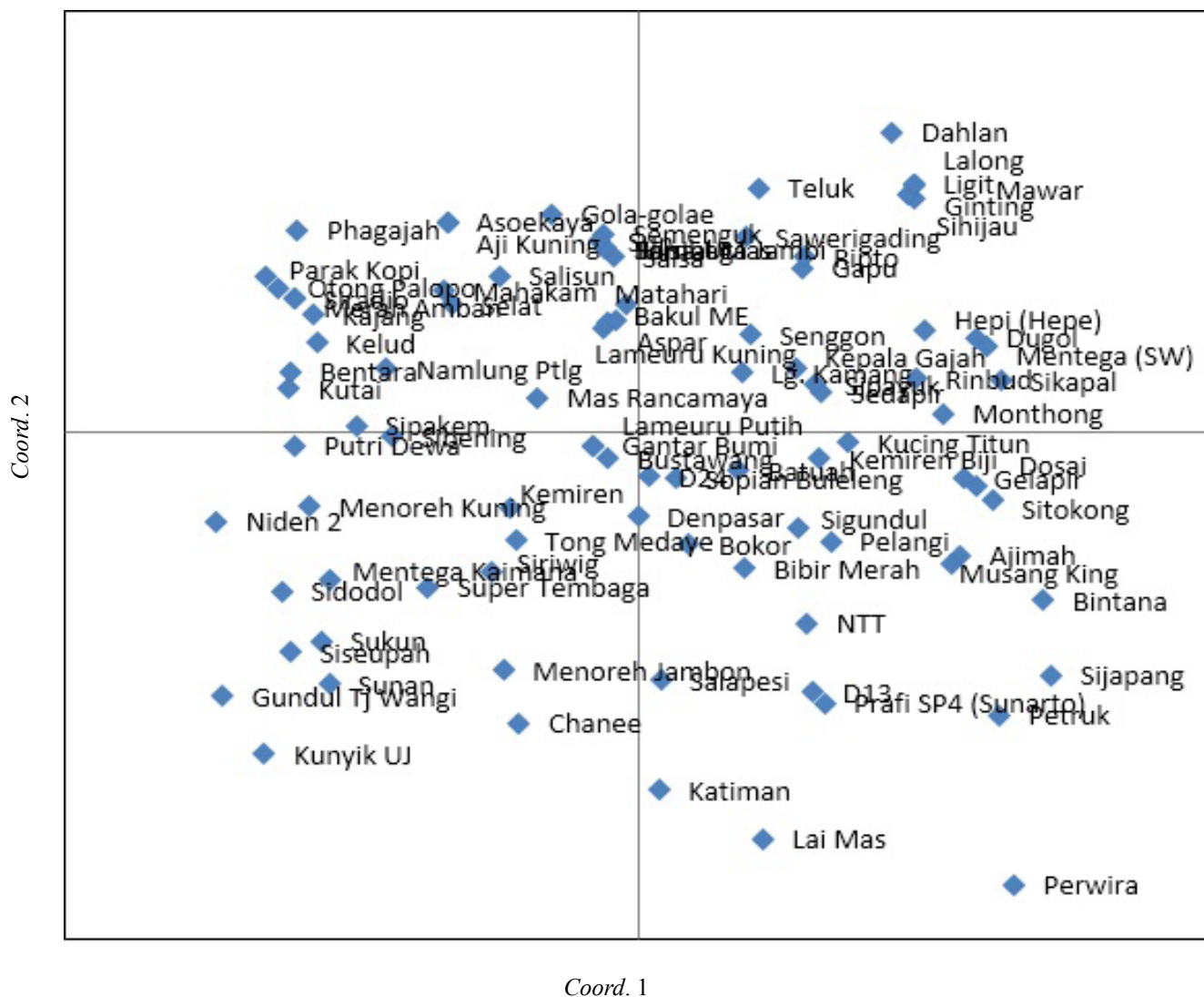
Lokus (<i>Loci</i>)	Populasi (<i>Population</i>)						
	Sumatera	Kalimantan	Sulawesi	Jawa	Bali Nusra	Papua	Introduksi (<i>Introduction</i>)
Dzmta007	0,241	0,117	0,153	0,219	0,000	0,000	0,000
Dzgcag01	0,000	0,000	0,403	0,000	0,105	0,105	0,000
Dz621	0,514	0,508	0,500	0,503	0,438	0,444	0,320
Dz535	0,480	0,518	0,486	0,497	0,444	0,494	0,480
Dz504	0,114	0,119	0,000	0,353	0,000	0,401	0,480
Dzmta005	0,606	0,678	0,500	0,845	0,809	0,815	0,780
Dz844	0,590	0,500	0,500	0,520	0,500	0,549	0,500
Dzmta006	0,624	0,666	0,736	0,609	0,500	0,537	0,580
Dzmtb021	0,349	0,480	0,153	0,414	0,438	0,346	0,620
Dzgccg	0,542	0,561	0,153	0,507	0,654	0,623	0,460
Mean values	0,406	0,415	0,358	0,447	0,389	0,431	0,422
SE values	0,070	0,077	0,073	0,072	0,086	0,076	0,080

Tabel 6. Nilai pasangan *FST* dan jarak genetik Nei (*Value of *FST* pair and Nei genetic distance*)

	Sumatera	Kalimantan	Sulawesi	Jawa	Bali-Nusra	Papua	Introduksi (<i>Introduction</i>)
Sumatera	0,000	0,031	0,040	0,038	0,065	0,056	0,090
Kalimantan	0,019	0,000	0,041	0,042	0,052	0,042	0,060
Sulawesi	0,034	0,034	0,000	0,078	0,124	0,106	0,130
Jawa	0,023	0,026	0,056	0,000	0,056	0,026	0,053
Bali Nusra	0,041	0,031	0,077	0,045	0,000	0,029	0,066
Papua	0,039	0,029	0,071	0,021	0,027	0,000	0,033
Introduksi	0,064	0,042	0,089	0,038	0,053	0,023	0,000

Jarak genetik Nei berada di atas arsiran abu-abu dan nilai *FST* berada di bawahnya

Participal Coordinates (PCoA)



Gambar 2. PCO terhadap 94 sumber daya genetik durian (PCO of 94 durian germplasm)

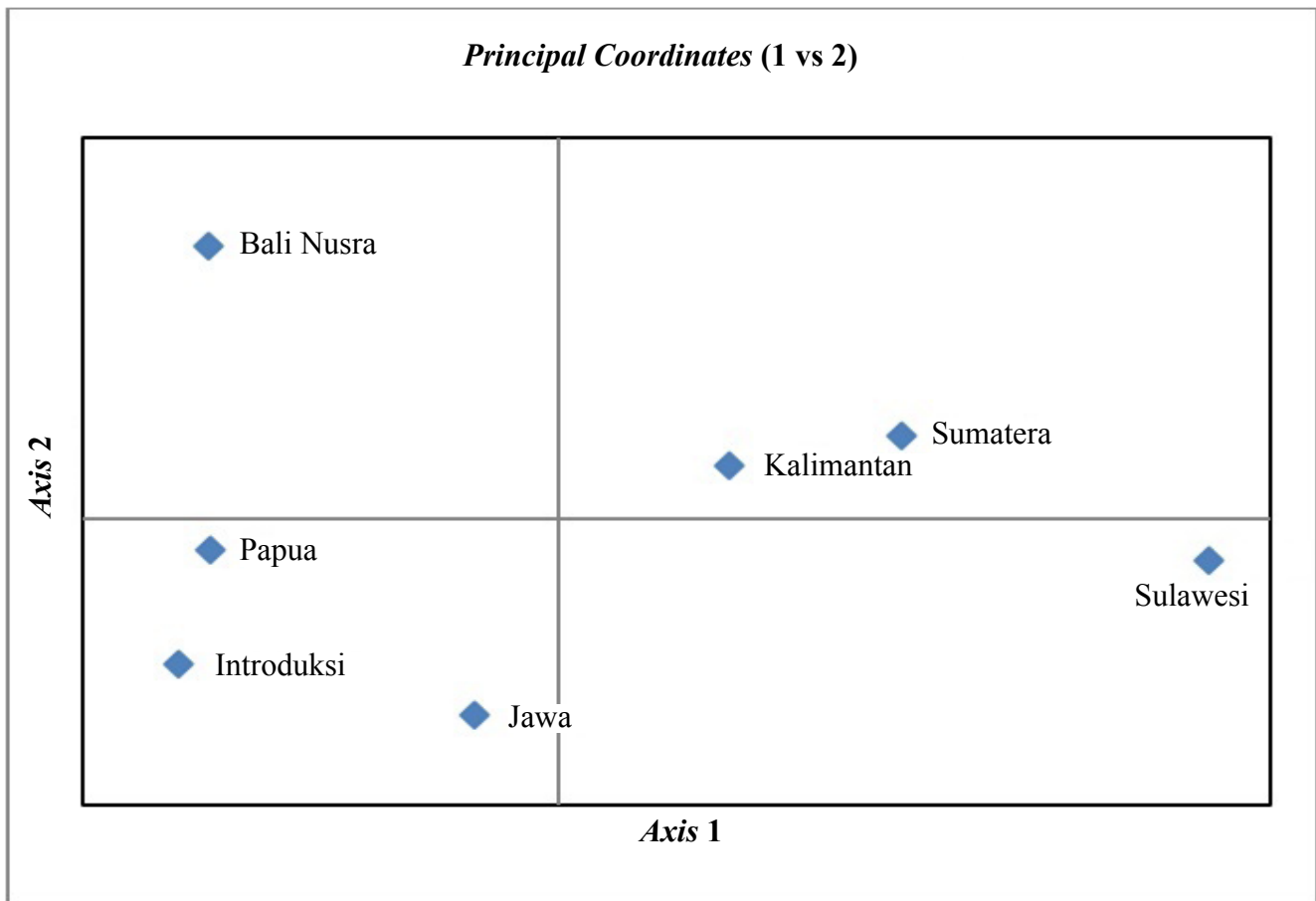
genetik yang dihasilkan masing-masing lokus di setiap populasi. Untuk mengukur keragaman genetik antarpopulasi dan di dalam populasi digunakan pendekatan metode *Fixation Statistic Test (FST)*. Tabel 6 menunjukkan hasil pengukuran terhadap nilai *FST* dan jarak genetik Nei. Berdasarkan data hasil pengukuran nilai *FST* dari setiap populasi durian pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa sebagian besar nilai pasangan *FST* antarpopulasi lebih besar dari nol. Dengan demikian, maka variasi genetik antarpopulasi dianggap bernilai tinggi (Hendrick 2000).

Dari dua kaidah perhitungan di atas menunjukkan adanya hasil yang berbeda. Berdasarkan nilai *He* dinyatakan variasi genetiknya tidak tinggi, sedangkan berdasarkan *FST* dikatakan memiliki variasi yang

tinggi. Bila dilihat satu persatu nilai *He* terdapat perbedaan yang cukup tinggi antarlokus yang digunakan. Lokus *Dzmta007* dan *Dzgcag01* memiliki nilai yang rendah berkisar antara 0,00 sampai 0,219, sedangkan lokus yang lain cukup memiliki nilai *He* dalam kategori tinggi > 0,600 sehingga rendahnya nilai rerata *He* dalam setiap populasi diduga lebih disebabkan oleh penggunaan kedua lokus ini daripada keragaman populasi. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa antarpopulasi terdapat variasi genetik yang tinggi sebagaimana ditunjukkan oleh nilai *FST*.

Principal Coordinate Analysis (PCO)

Hasil analisis *PCO* terhadap sebaran alel dari setiap individu dan populasi durian yang digunakan dalam penelitian ini ditampilkan pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 3. PCO antarpopulasi durian yang menggambarkan alel dari populasi Kalimantan sebagai pusat asal durian dan menyebar ke daerah sekitarnya (*PCO of inter-population of durian figuring out the allele flow from Kalimantan population as center of origin to distribution area*)

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui bahwa secara umum semua sampel SDG durian tersebar secara merata di keempat kuadran diagram kartesian tanpa membentuk kelompok berdasarkan populasi. Hal ini menunjukkan bahwa sebaran frekuensi alel cukup merata pada semua individu antarpopulasi, sedangkan pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa persebaran frekuensi alel membentuk pola yang menunjukkan populasi Kalimantan berada di tengah dan dikelilingi oleh populasi yang lain. Diagram ini membuktikan bahwa Kalimantan merupakan pusat asal durian dan kemudian menyebar ke lokasi-lokasi di sekelilingnya.

Di antara tujuh populasi yang dianalisis, populasi Sumatera menunjukkan kedekatan dengan populasi Kalimantan sesuai dengan dugaan bahwa Sumatera merupakan salah satu bagian dari pusat asal durian dan tempat ditemukannya spesies durian cukup banyak setelah Kalimantan (Kosterman 1958, Uji 2005). Populasi Sulawesi, Jawa, Papua, dan Bali Nusra berada pada jarak yang sepadan satu sama lain terhadap populasi Kalimantan, sedangkan populasi

introduksi (Thailand dan Malaysia) berada paling jauh yang menunjukkan bahwa aksesori dari kedua lokasi ini telah mengalami perkembangan genetik lebih maju daripada populasi lain di tempat asalnya di Indonesia.

KESIMPULAN DAN SARAN

Lokus mikrosatelit yang diuji memiliki polimorfisme dan tingkat informatifitas yang beragam dari tingkat rendah sampai tinggi. Dua lokus DzMTa005 dan DzMTa006 memiliki nilai PIC yang tinggi, yaitu 0,760 dan 0,575 sehingga berpotensi sebagai penanda molekuler yang informatif untuk analisis keragaman durian. Sumber daya genetik durian antarpopulasi yang digunakan memiliki keragaman yang tinggi. Analisis PCO antarindividu durian menunjukkan alel-alel mikrosatelit tersebar secara merata di antara 94 SDG durian yang diamati. Secara antarpopulasi menunjukkan suatu pola sebaran alel yang membuktikan bahwa populasi Kalimantan

merupakan pusat asal durian dan menyebar ke lokasi di sekitarnya dengan populasi Sumatera paling dekat terhadap populasi Kalimantan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh kegiatan Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) Tahun 2012, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian Republik Indonesia, serta Riset dan Inovasi KK ITB Tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abidin, MZ, Mohammad, AG, Shamsudin, MO, Masdek, NHN & Ghazali, NM 2000, 'Klon durian berpotensi untuk alaf baru', *Prosiding Seminar Durian 2000: Kearah Menstabilkan Pengeluaran Kualiti dan Pasaran*, 1-3 Ogos 2000. Ipoh, Perak, Malaysia, hlm. 26-36.
2. Billotte, N, Marseillac, N, Risterucci, AM, Adon, B, Brottier, P, Baurens, FC, Singh, R, Herra'n A, Asmady H, Billot C, Amblard, P, Durand-Gasselin, T, Courtois, B, Asmono D, Cheah, SC, Rohde, W, Ritter, E & Charrier, A 2005, 'Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)', *Theor Appl Genet*, vol. 110, pp. 754-65.
3. Botstein, D, White, RL, Skolnick, M & Davis, RW 1980, 'Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms', *American Journal of Human Genetics*, vol. 32, pp. 314-31.
4. Frankham, R, Ballou, JD & Briscoe, DA 2002, *Introduction to Conservation Genetics*, Cambridge, Cambridge University Press.
5. Gupta, PK & Varshney, RK 2000, 'The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat', *Euphytica*, vol. 113, pp. 163-85.
6. Hariyati, T, Kusnadi, J & Arumingtyas, EL 2013, 'Genetic diversity of hybrid durian resulted from cross breeding between *Durio kutejensis* and *Durio zibethinus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs)', *American Journal of Molecular Biology*, vol. 3, pp. 153-7, doi:10.4236/ajmb.2013.33020
7. Hendrick, PW 2000, *Genetics of Population 2nd ed*, Jones and Barlett, Boston.
8. Hildebrand, CE, Torney, DC & Wagner, RP 1992, 'Informativeness of Polymorphic DNA Markers', *Los Alamos Science*, vol. 20, pp. 100-2.
9. Kalinowski, ST 2002, 'How many alleles per locus should be used to estimate genetic distance', *Heredity*, vol. 88, pp. 62-5.
10. Kostermans, AJGH 1958, 'The genus *Durio* Adans. (Bombac.)', *Reinwardtia*, vol. 4, no. 3, pp. 47-153.
11. Kristianti, T 2005, 'Isolasi dan karakterisasi motif mikrosatelit pada durian (*Durio zibethinus* Murr.)', Tesis Magister, Pasca Sarjana Institut Teknologi Bandung.
12. Liu, S, Cantrell, RG, McCarty, Jr., JC & Stewart, J 2000, 'Simple sequence repeat based assessment of genetic diversity in cotton race stock accession', *Crop Sci.*, vol. 40, pp. 1459-69.
13. Luro, FL, Costantino, G, Terol, J, Argout, X, Allario, T, Wincker, P, Talon, M, Ollitrault, P & Morillon, R 2008, 'Transferability of the EST-SSRs developed on Nules Clementine (*Citrus clementina* Hort. ex Tan) to other *Citrus* species and their effectiveness for genetic mapping', *BMC Genomics*, vol. 9, pp. 287.
14. Meulman, JJ 1993, 'Principles coordinates analysis with optimal transformations of the variables', *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, vol. 46, pp. 287-300.
15. Nafsi, NI 2007, 'Analisis keanekaragaman varietas durian (*Durio zibethinus* Murr.) dengan marka mikrosatelit', Skripsi Sarjana, Institut Teknologi Bandung.
16. Nei, M 1975, *Molecular population genetics and evolution*, Oxford University Press, Oxford.
17. Nyffeler, R & Baum, DA 2000, 'Phylogenetic relationships of the durians, based on chloroplast and nuclear ribosomal DNA sequences', *Plant Systematics and Evolution*, vol. 224, no. 1-2, pp. 55-82.
18. Ottewell, KM, Donnellan, SC, Moran, GF & Paton, DC 2005, 'Multiplexed microsatellite markers for the genetic analysis of *Eucalyptus leucoxylon* (Myrtaceae) and their utility for ecological and breeding studies in other *Eucalyptus* species', *Journal of Heredity*, vol. 96, pp. 445-51.
19. Oyant, LH, Crespel, L, Rajapakse, S, Zhang, L & Foucher, F 2008, 'Genetic linkage maps of rose constructed with new microsatellite markers and locating QTL controlling flowering trait', *Tree Genetics and Genome*, vol. 4, pp. 11-23.
20. Ritschel, PS, Lins, TCL, Tristan, RL, Buso, GSC, Buso, JA & Ferreira, ME 2004, 'Development of microsatellite markers from an anchored genomics library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.)', *BMC Plant Biology*, vol. 4, pp. 9.
21. Santoso, PJ, Saleh, GB, Saleh, NM & Napis, S 2005, 'Phylogenetic relationships amongst 10 durio species based on PCR-RFLP analysis of two chloroplast genes', *Indonesian Journal of Agricultural Science*, vol. 6, no. 1, pp. 20-7.
22. Santoso, PJ 2006, 'Modified CTAB-based DNA isolation procedure for fruit crops', *Journal Stigma*, vol. 14, no. 1, pp. 1-4.
23. Santoso, PJ & Priyono, A 2013, 'Potensi dan status komersialisasi tiga kerabat durian: Lai, Mandong, dan Kerantungan', *Seminar Nasional PERHORTI 2013*, IICC Bogor, 9 Oktober 2013.
24. Santoso, PJ, Djamas, N, Rebin & Pancoro, A 2014, 'Analisis diversitas dan paternitas progeni F₁ hasil persilangan Arumanis 143 x Mangga Merah menggunakan Marka Mikrosatelit', *J. Hort.*, vol. 24, no. 3, hlm. 210-19.
25. Schuelke, M 2000, 'An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments', *Nature Biotechnology*, vol. 18, pp. 233-34.
26. Selkoe, KA & Toonen, RJ 2006, 'Microsatellites for ecologists, A practical guide to using and evaluating microsatellite markers', *Ecology Letters*, vol. 9, pp. 615-29
27. Singh, R, Nagappan, J, Tan, SG, Panandam, JM & Cheah, SC 2007, 'Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones', *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, vol. 15, no. 3, pp. 121-31.

28. Somsri, S, Vichitrananda, S, Kengkat, P, Koonjanthuk, P, Chunchim, S, Sesuma, S, Jintanawongse, S & Salakphet, S 2008, 'Three decades of durian breeding program in Thailand and its three newly recommended F₁ hybrids', *Acta Hort.* (ISHS), vol. 787, pp. 77-88.
29. Uji, T 2005, 'Keanekaragaman jenis dan sumber plasma nutfah *Durio* (*Durio* spp.) di Indonesia', *Buletin Plasma Nutfah*, vol. 11, no. 1, hlm. 28-33.