

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

Endang Yuniastuti, Supriyadi, Ismi Puji Ruwaida

Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian UNS

Email: is_me_cute@yahoo.co.id

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 Ranukitri 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 Ranukitri 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 Ranukitri Karanganyar dan durian sukun dari Jepara.

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



ABSTRACT

Durio (*Durio zibenthinus* 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 Ranukitri 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 Ranukitri, 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 Ranukitri seed garden Karanganyar and the one from Jepara.

Key word : variability analysis, DNA, *Durio zibenthinus* Murr, RAPD

PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibenthinus* Murr.) merupakan buah-buahan tropis yang berasal dari Asia Tenggara. Durian ditemukan oleh Murray dan disebut "*The King of the Fruit*" oleh Wallace. Durian lokal disukai konsumen dalam negeri karena rasa yang manis, beraroma sedang hingga kuat, warna kuning menarik, daging tebal dan produktivitas buah tinggi (Baswarsiati *et al.*, 2007). Pusat keragaman genetik durian di Indonesia berada di Kalimantan (Sarwono, 1995 *dalam* Sumarsono *et al.*, 2002) dan sebanyak 27 kultivar durian lokal telah dilepas menjadi varietas dan diakui keunggulannya, namun masih diperlukan kajian terhadap keragamannya.

Beberapa penelitian durian yang sudah dilakukan diantaranya identifikasi dan keragaman genetik pohon induk durian di Jawa Tengah berdasarkan penanda morfologi dan isozim (Sriyono, 2006) dan identifikasi morfologi durian sukun



(Yuniastuti, 2008). Penggunaan karakter morfologi merupakan metode yang mudah dan cepat, namun terdapat kendala karena pengaruh faktor lingkungan (Khanuja *et al.*, 2005 dalam Nandariyah, 2007). Alternatif untuk mengkaji keragaman durian adalah dengan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) yang mudah dilakukan dan memerlukan sedikit DNA cetakan.

Penelitian ini mengungkapkan informasi tentang keragaman DNA antar varietas durian sukun, kani, monthong, sunan, petruk dan keragaman DNA pada durian sukun yang ditanam pada wilayah berbeda berdasarkan penanda RAPD. Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan informasi keragaman DNA pada durian varietas sukun, sunan, kani, monthong dan petruk berdasarkan penanda RAPD dan mendapatkan penanda untuk membedakan karakter-karakter tertentu pada tanaman durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan di Sleman, Yogyakarta pada bulan November 2008 sampai Januari 2009. Bahan penelitian adalah daun tanaman durian varietas sukun, sunan, kani, monthong, dan petruk di kebun benih Ranukitri, Karanganyar, daun durian sukun dari desa Gempolan, Kerjo, Karanganyar, daun durian sukun dari desa Tahunan, Jepara, dan daun durian sukun dari desa Brongkol, Salatiga.

Pelaksanaan penelitian meliputi: 1) isolasi DNA yang meliputi ekstraksi DNA dengan metode CTAB dan pemurnian DNA dengan metode Gene Clean Kit III, 2) Uji Kualitas Dan Kuantitas DNA, 3) Seleksi primer, 4) Reaksi Amplifikasi dengan menggunakan mesin PCR *Applied Biosystem GeneAmp PCR System 9700* sebanyak 45 siklus yang terdiri denaturasi, annealing dan ekstension, dan 5) Reaksi Elektroforesis dengan 1% gel agarose yang mengandung etidium bromide. Analisis keragaman DNA didasarkan pada ada atau tidaknya pita DNA dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan 1 untuk adanya pita DNA. Analisis dilakukan menggunakan program NTSYSpc versi 2.02i.

HASIL DAN PEMBAHASAN

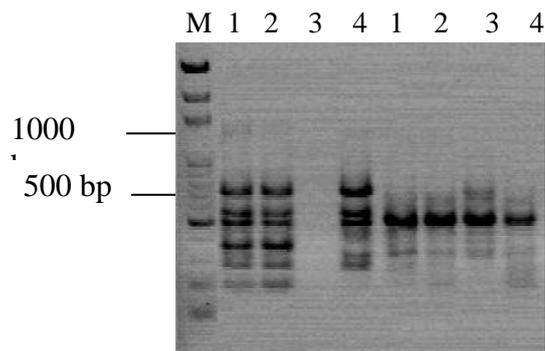
Seleksi Primer

Seleksi primer didasarkan pada kemampuan primer menghasilkan produk amplifikasi. Seleksi 20 primer ini menghasilkan 6 primer (Tabel 1.).

Tabel 1. Tingkat polimorfisme 6 primer berdasarkan pola pita DNA

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%

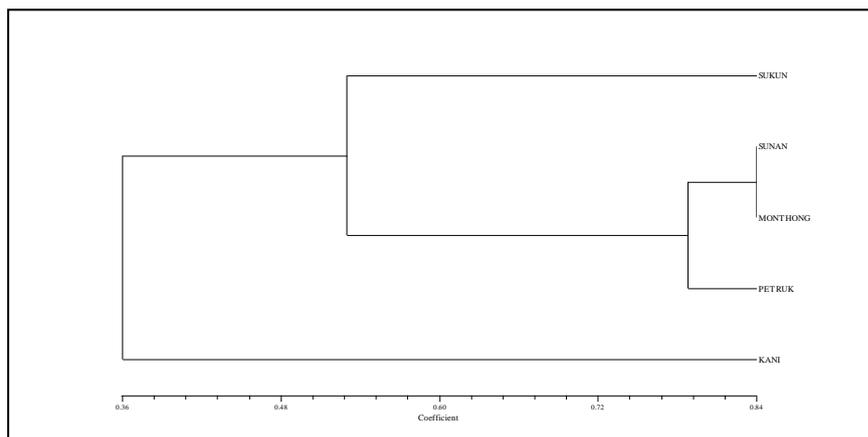




Gambar 1. Amplifikasi pada Seleksi Primer OPA-16 dan OPA-17 menggunakan sampel DNA durian sukun (1), sunan (2), monthong (3) dan petruk (4)

Keragaman DNA Varietas Durian Berdasarkan Enam Primer Operon

Hasil amplifikasi pada lima varietas durian menunjukkan terdapat keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Dendrogram pengelompokan berdasarkan matriks kemiripan genetik menunjukkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun, sunan, monthong, dan petruk, sedangkan kelompok II hanya durian varietas kani. Dendrogram menunjukkan bahwa durian varietas sunan dan monthong mempunyai tingkat kemiripan 84 %, kemudian mengelompok dengan durian petruk pada koefisien kemiripan 0,83 dan mengelompok dengan durian sukun dan durian kani pada koefisien kemiripan 0,52 dan 0,36.



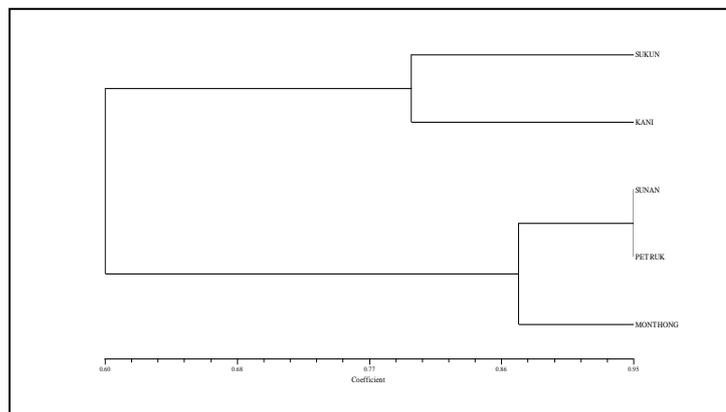
Gambar 2. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, OPA-19

Interpretasi data hasil amplifikasi primer OPA-01 menunjukkan keragaman pola pita DNA lima varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Keragaman tersebut dapat dilihat pada pita pada 180 bp yang dimiliki oleh durian sukun, kani dan monthong. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian menunjukkan pada koefisien kemiripan 0,49 terdapat dua kelompok, yaitu



kelompok I terdiri durian sukun, dan kelompok II terdiri durian sunan, petruk, kani dan monthong.

Amplifikasi menggunakan primer OPA-02 menghasilkan interpretasi data yang menunjukkan keragaman pola pita DNA yaitu pita DNA yang berbeda pada ukuran 1100 dan 350 bp yang dimiliki oleh durian sunan, dan ukuran 900 bp yang dimiliki oleh durian monthong. Sedangkan pita DNA yang membedakan durian sukun dan durian petruk yaitu ukuran 750, 800, 900 dan 1100 bp yang hanya dimiliki oleh durian petruk. Dendrogram pengelompokan menunjukkan ada dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian kani, sedangkan kelompok II terdiri dari durian sukun, sunan, monthong dan petruk. Sementara itu amplifikasi dengan primer OPA-07 menunjukkan keragaman antar varietas durian sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Pita DNA pada ukuran 300 bp merupakan pita DNA yang membedakan durian varietas sukun dengan varietas lain. Hasil pengelompokan 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.



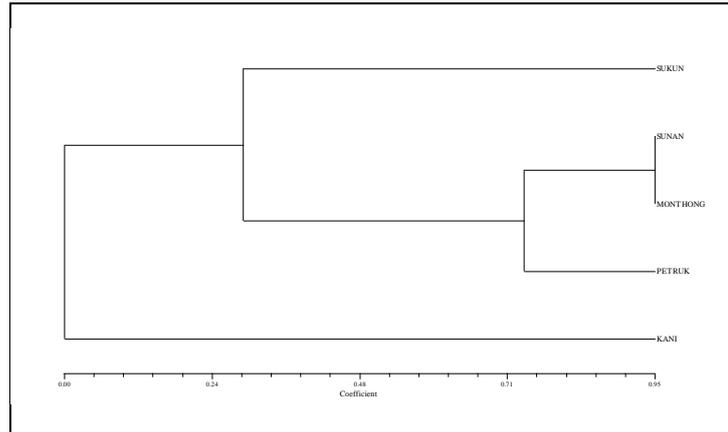
Gambar 3. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-07

Pita pada ukuran 1400 bp, 380 bp dan 300 bp hasil amplifikasi dengan menggunakan primer OPA-16 dapat digunakan untuk membedakan durian varietas sukun, sunan, kani, monthong dan petruk. Pita pada ukuran 600 bp merupakan pita pembeda durian varietas monthong dengan varietas lain. Berdasarkan dendrogram pengelompokan, diperoleh dua kelompok. Kelompok I terdiri dari durian sukun, sunan, petruk, dan monthong, sedangkan kelompok II terdiri dari durian kani. Sedangkan dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-18 juga menunjukkan pengelompokan yang sama dengan pengelompokan berdasarkan primer OPA-16.

Hasil amplifikasi dengan primer OPA-19 menunjukkan bahwa durian sunan dan monthong mempunyai pola pita yang hampir sama. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian juga menunjukkan durian sunan dan monthong mempunyai tingkat kemiripan 95 %. Selain itu, diperoleh dua



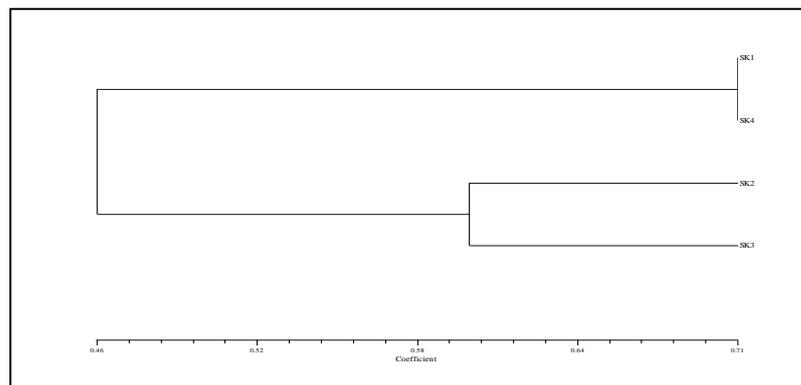
kelompok yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun, sunan, monthong dan petruk. Kelompok II terdiri dari durian kani.



Gambar 4. Dendrogram pengelompokan lima varietas durian berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-19

Keragaman Varietas Durian Sukun Pada Wilayah Penanaman Berbeda Berdasarkan Enam Primer Operon

Dendrogram pengelompokan berdasarkan matriks kemiripan genetik menunjukkan dua kelompok, kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan dan durian sukun dari Salatiga. Hal ini menunjukkan bahwa durian dari Salatiga yang berdasarkan keterangan BPSB merupakan durian sukun diduga memang durian varietas sukun seperti yang ada di Kebun Benih Ranukitri. Selain itu, pengelompokan ini juga menunjukkan meskipun ditanam pada daerah yang berbeda tidak ada pengaruh faktor lingkungan. Kelompok II terdiri durian sukun dari Kebun Benih Ranukitri dan durian sukun dari Jepara.

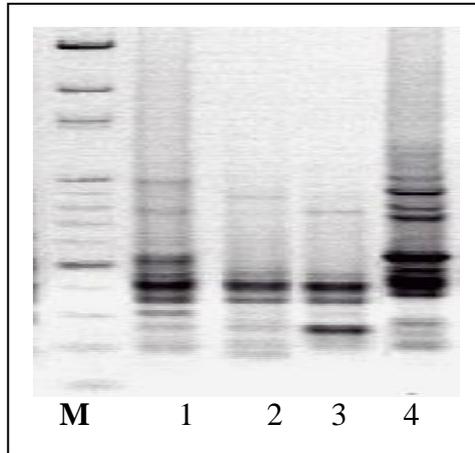


Gambar 5. Dendrogram pengelompokan durian sukun berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-16, OPA-18, OPA-19

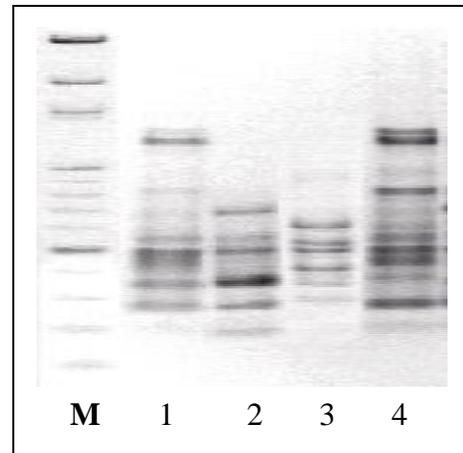
Amplifikasi dengan primer OPA-01 menunjukkan bahwa pita pada ukuran 750 bp hanya dimiliki durian sukun dari Gempolan dan pita pada ukuran 150 bp dan 700 bp yang dimiliki oleh durian sukun dari Salatiga.. Pita pada ukuran 400 bp lebih tebal daripada pita-pita DNA lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan



kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan salah satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen lain dalam jumlah sedikit, sehingga hanya beberapa saja yang terdeteksi (Grattapaglia *et al.*, 1992). Dendrogram menunjukkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan, durian sukun dari Ranukitri, dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Jepara. Pengelompokan tersebut sama dengan pengelompokan berdasarkan primer OPA-02.



Gambar 6. Pola pita DNA Durian Sukun berdasarkan primer OPA-07



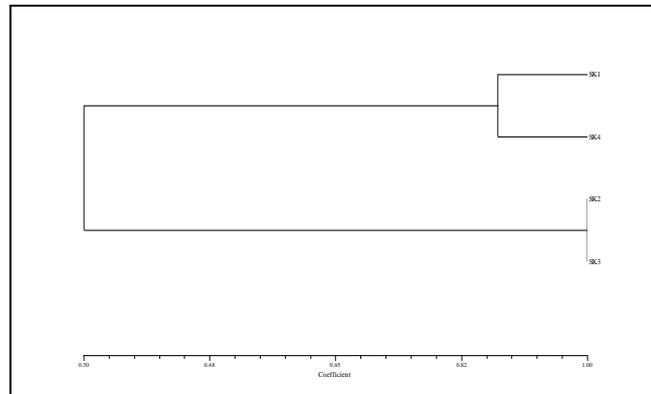
Gambar 7. Pola pita DNA Durian Sukun berdasarkan primer OPA-16

Gambar 6. menunjukkan hasil amplifikasi dengan primer OPA-07, dimana pita ukuran 1200 bp, 1100 bp dan 750 bp dihasilkan oleh durian sukun dari Salatiga. Pita-pita inilah yang membedakan dengan durian sukun yang lain. Dendrogram pengelompokan berdasarkan metode UPGMA menghasilkan dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan, durian sukun dari Jepara dan durian sukun dari Kebun benih Ranukitri. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Salatiga. Sedangkan dendrogram pengelompokan berdasarkan primer OPA-16 mengelompokkan empat sampel durian sukun menjadi dua, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari gempolan, durian sukun dari Salatiga dan durian sukun dari kebun benih Ranukitri. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Jepara. Pada amplifikasi dengan primer OPA-16 ini semua sampel mampu menghasilkan produk amplifikasi. Menurut Grattapaglia *et al.* (1992), 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.

Berdasarkan dendrogram pengelompokan durian sukun hasil amplifikasi dengan primer OPA-18 diperoleh dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan, durian sukun dari Ranukitri dan durian sukun dari Jepara. Kelompok II terdiri dari durian sukun dari Salatiga. Durian sukun dari Ranukitri mengelompok dengan durian sukun dari Jepara pada koefisien 0,91. Hal ini menunjukkan bahwa bibit durian sukun dari Jepara yang berasal dari kebun benih Ranukitri setelah ditanam di daerah lain, yaitu Jepara masih tetap mempunyai kemiripan dengan durian sukun dari Ranukitri. Hal ini diasumsikan bahwa faktor lingkungan tidak berpengaruh.



Reaksi amplifikasi dengan primer OPA-19 menghasilkan pita DNA ukuran 200-1400 bp dengan jumlah total pita DNA yang dihasilkan sebanyak 20 pita. Pita pada ukuran 200 bp membedakan durian sukun dari Salatiga dengan durian sukun dari Gempolan, sedangkan pita ukuran 250 bp dimiliki oleh durian sukun dari Ranukitri. Dendrogram pengelompokan menunjukkan terdapat dua kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari durian sukun dari Gempolan dan durian sukun dari Salatiga. Kelompok II terdiri durian sukun dari Ranukitri dengan durian sukun dari Jepara.



Gambar 8. Dendrogram pengelompokan durian sukun berdasarkan matriks kemiripan genetik dengan primer OPA-19

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.

Dendrogram pengelompokan dengan metode UPGMA pada lima varietas durian cenderung memisah, yaitu durian sukun, sunan, monthong dan petruk merupakan satu kelompok yang memisah dengan durian kani.

Dendrogram pengelompokan 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 Ranukitri, Karanganyar dan durian sukun dari Jepara.

DAFTAR PUSTAKA

- 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. Diakses tanggal 9 Agustus 2008.
- 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.

Nandariyah. 2007a. Identifikasi Keragaman Genetik Kultivar Salak Jawa Berdasarkan Analisis RAPD. *Agrosains*. Vol 9 (2) : 70-76.

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.

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.

