

Analisis Progeni F₁ Hasil Persilangan Intra dan Inter-Spesies Durian (*Durio* sp.) Menggunakan Marka Mikrosatelit [Analysis of F₁ Progenies of Intra and Inter-Species Crossing of Durian (*Durio* sp.) using Microsatellite Markers]

Adi Pancoro¹⁾, Tri Annisa Septiyani¹⁾, Ni Luh Putu Indriyani²⁾, dan Panca Jarot Santoso²⁾

¹⁾Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB, Jln. Ganesha 10 Bandung Jawa Barat, Indonesia 40132

²⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jln. Raya Solok-Aripan Km. 8, PO Box 5, Solok, Sumatera Barat, Indonesia 27301
E-mail: 70pjsantos@gmail.com

Diterima: 27 November 2015 ; direvisi: 24 November 2016; disetujui: 30 November 2016

ABSTRAK. Keragaman genetik tetua dan progeni menjadi informasi dasar untuk pelaksanaan kegiatan seleksi dan persilangan lanjutan dalam program pemuliaan durian. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi keragaman genetik enam tetua dan empat populasi progeni F₁ hasil persilangan intra- dan inter-spesies durian di Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. DNA diisolasi dari daun berdasarkan protokol berbasis CTAB. Amplifikasi 10 lokus mikrosatelit dilaksanakan menggunakan teknik PCR berlabel *fluoresense*. Analisis hasil dilakukan menggunakan perangkat lunak *Genemarker 2.20*, *Cervus 3.0.3* dan *GenAlex 6.3*. Enam dari 10 lokus yang digunakan menunjukkan kemampuan tinggi sebagai penanda yang informatif untuk analisis tetua dan populasi progeni F₁ hasil persilangan intra- dan inter-spesies durian. Lima tetua dari spesies *Durio zibethinus* terbagi menjadi dua kelompok, yaitu Otong, Kani, dan Sitokong berada dalam satu kelompok, serta Matahari dan Petruk di satu kelompok lainnya, sedangkan Lai Mas (*D. kutejensis*) berada diluar kedua kelompok. Empat populasi progeni F₁ memiliki perbedaan genetik yang signifikan antarpopulasi dan antarindividu dalam populasi. Populasi progeni F₁ hasil persilangan inter-spesies Lai Mas x Matahari menunjukkan heterozigositas yang paling tinggi dibandingkan populasi lainnya. Sebaliknya, populasi-populasi persilangan intra-spesies cenderung memiliki heterozigositas yang rendah. Hasil ini dapat dijadikan acuan dalam melaksanakan seleksi dan kegiatan persilangan berikutnya.

Katakunci: *Durio* sp.; Intra- dan inter-species; Progeni F₁; Marka mikrosatelit

ABSTRACT. Genetic diversity of parent and progeny is a fundamental information for selection and subsequent activities in durian breeding program. This research was aimed to obtain information regarding genetic diversity of six parents and four F₁ populations of intra-and inter-species crossing of durian at Indonesian Tropical Fruit Research Institute (ITFRI). DNA was isolated from young shoot leaf by using CTAB based method. Amplification of 10 microsatellite loci was conducted using fluorescent labelled PCR technique. Result analysis was conducted by using PC-software Genemarker 2.20, Cervus 3.0.3 and GenAlex 6.3. Six of 10 loci used in the study demonstrated high capability as informative markers for analysis of parent and F₁ progeny populations of intra and inter-species crossing of durian. Five parent trees of *D. zibethinus* species were divided into two groups. Otong, Kani, and Sitokong stand together as a group, whilst Matahari and Petruk stand as another group. One parent tree of *D. kutejensis* (Lai Mas) stands alone out of both groups. Four F₁ progeny populations demonstrated significantly genetic dissimilarity amongst population and amongst individu within population. F₁ progeny population of inter-species crossing of Lai Mas x Matahari indicated highest heterozygosity compared to other populations. However, populations of intra-species crossing had low heterozygosity. The results could be used as reference for further selection and crossing activity.

Keywords: *Durio* sp.; Intra- and inter-species, F₁; Progeny; Microsatellite markers

Durian (*Durio* sp.) merupakan komoditas buah yang digemari banyak kalangan karena cita rasa dan aromanya unik dan mengesankan. Permintaan yang terus meningkat dan harga yang tinggi menjadikan tanaman durian banyak diminati untuk dikedarkan. Namun demikian, Indonesia belum memiliki varietas durian yang populer dan diproduksi secara besar-besaran seperti di dua negara tetangga Thailand dan Malaysia.

Total produksi buah durian di tahun 2011 mencapai 883.969 ton dari luas areal 69.045 ha (Anonymous 2012). Produksi ini belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri baik dari jumlah maupun kualitasnya, karena umumnya buah durian di Indonesia dipanen

dari pohon yang tumbuh di pekarangan dan semi hutan, berasal dari biji dan terdiri atas ribuan aksesi yang tidak dikenal secara spesifik. Umumnya produk buah durian ini disebut dengan nama daerah asalnya, bukan nama varietasnya (Santoso & Hermanto 2012). Sebaliknya, durian-durian unggul nasional yang didaftar dari unggulan spesifik daerah mengalami banyak kendala dalam pengembangannya. Selain itu, pengembangan durian introduksi yang lebih digemari para pekebun seperti Monthong (Thailand) juga terbukti tidak mampu memasok pasar karena terkendala kerentanan terhadap serangan penyakit (Santoso et al. 2014).

Ketersediaan varietas yang memenuhi kebutuhan konsumen merupakan salah satu kunci keberhasilan

dalam agribisnis tanaman buah, khususnya durian. Karakter yang dikehendaki oleh konsumen yang harus ada pada durian adalah buah berbobot sedang, warna kuning menarik, rasa manis legit atau sedikit pahit dengan tekstur lembut dan kering, biji kecil, dan daging tebal (Santoso *et al.* 2008). Di samping itu, untuk memenuhi keinginan pekebun maupun pedagang maka durian harus juga bersifat adaptasi luas, produktif, tahan penyakit, dan tahan simpan (Santoso & Nasution 2014). Demikian juga, bagian yang dikonsumsi (*edible portion*) harus tinggi sebagai salah satu unsur untuk efisiensi distribusi khususnya dalam bentuk olahan segar tanpa kulit (*frozen*).

Pada kondisi riil di lapangan, karakter-karakter unggul ini ada pada beberapa varietas durian introduksi yang menjadi kegemaran konsumen seperti pada durian Montong dari Thailand dan durian Musang King dari Malaysia. Durian Monthong mewakili beberapa karakter unggul misalnya daging buah yang tebal, berbiji kempes, dan sangat produktif. Musang King mewakili cita rasa yang sangat digemari kebanyakan konsumen, yaitu kombinasi antara rasa manis sedikit pahit dan tekstur yang lembut dan kering. Namun demikian, kedua varietas ini memiliki kelemahan yang sama, yaitu sangat rentan terhadap penyakit (Santoso *et al.* 2014).

Untuk memperoleh varietas ideal yang memiliki karakteristik sebagaimana tersebut di atas, banyak sifat unggul yang diperlukan program pemuliaan yang terstruktur dan berkesinambungan. Oleh karena itu Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika sejak tahun 2009 telah melakukan program pemuliaan yang dilaksanakan secara *inter* dan *intra-spesies*. Sampai tahun 2012, kegiatan persilangan yang dilakukan telah menghasilkan 27 populasi persilangan yang terdiri atas 896 progeni (Indriyani *et al.* 2012). Populasi progeni ini selanjutnya perlu dievaluasi dan diseleksi berdasarkan kriteria karakter unggul.

Sebagai tanaman pohon tahunan, satu siklus kegiatan pemuliaan tanaman durian memerlukan rentang waktu yang panjang dan biaya yang tinggi karena melibatkan populasi tanaman yang sangat besar. Pengalaman kegiatan pemuliaan yang dilakukan di Malaysia untuk mendapatkan progeni F_1 diperlukan waktu lebih dari 30 tahun (Abidin *et al.* 2000), dan di Thailand lebih dari 25 tahun dengan melibatkan 10.377 progeni (Somsri *et al.* 2008). Oleh karena itu kegiatan pemuliaan durian perlu dilaksanakan menggunakan pendekatan pemuliaan molekuler (*molecular assisted selection - MAS*) dengan memanfaatkan marka molekuler dalam menyeleksi tetua dan progeni (Moose & Mumm 2008). Dengan pendekatan ini diharapkan dapat meningkatkan probabilitas dalam memilih

progeni unggul sehingga proses seleksi menjadi lebih efisien. Salah satu marka yang dapat digunakan untuk keperluan MAS pada durian adalah mikrosatelit atau *simple sequence repeats* (SSR) (Selkoe & Toonen 2006).

Mikrosatelit berupa urutan DNA pendek berulang yang tiap ulangnya terdiri dari satu sampai enam nukleotida (Liu *et al.* 2000). Marka ini sangat populer karena memiliki karakter lokus co-dominan dan tingkat variabilitasnya tinggi, mudah diulang dan stabil (Ritschel *et al.* 2004) serta dapat diotomatisasi (Schuelke 2000). Variabilitas tinggi memungkinkan penghitungan secara akurat pada setiap individu untuk mendeteksi kontribusi paternal pada progeni (Ottewell *et al.* 2005). Marka mikrosatelit telah terbukti dapat membantu di dalam mendeteksi alel-alel yang diharapkan sedini mungkin dan efisien dalam seleksi progeni (Luro *et al.* 2008, Ritschel *et al.* 2004). Aplikasi penanda molekuler juga dapat digunakan untuk melihat tingkat keragaman genetika turunan hasil persilangan, analisis penurunan sifat, pemetaan gen, dan studi QTL (Billotte *et al.* 2005, Gupta & Varshney 2000, Luro *et al.* 2008, Singh *et al.* 2007, Oyant *et al.* 2008, Collard *et al.* 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan penurunan sifat tetua dan progeni F_1 hasil persilangan intra- dan inter-spesies durian menggunakan marka mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret 2012 sampai bulan April 2013 di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Bahan penelitian yang digunakan adalah enam tetua dan 90 progeni F_1 dari empat populasi persilangan durian (Tabel 1 dan 2). Tanaman sampel diperoleh dari Kebun Percobaan Subang, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Tanaman tetua merupakan koleksi KP Subang yang telah berumur >25 tahun, sedangkan progeni yang digunakan merupakan hasil persilangan tahun 2009 dan 2010 (Indriyani *et al.* 2012) yang ditanam dalam *planterbag* volume 35 l. Sampel daun muda disiapkan dalam bentuk spesimen kering dalam silica gel. DNA diisolasi dari daun durian menggunakan metode berbasis CTAB yang telah dimodifikasi untuk tanaman yang banyak mengandung polifenol dan berlendir (Santoso 2006).

Amplifikasi lokus mikrosatelit DNA menggunakan 10 pasang primer (Tabel 3) dilaksanakan berdasarkan protokol Schuelke (2000). Primer yang digunakan terdiri atas tiga macam, yaitu primer *forward* yang telah ditemplei sekuen M13 pada ujung 5', primer *reverse*, dan primer universal M13

(TGTAACGACGGCCAGT) yang membawa label *fluorescent* 6-FAM atau HEX.

Amplifikasi dimulai dengan kondisi predenaturasi pada suhu 94°C selama 3 menit yang diikuti oleh dua tahap amplifikasi. Pada tahap pertama dilakukan sebanyak 30 siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan pada suhu spesifik masing-masing primer selama 30 detik, kemudian pemanjangan pada suhu 72°C selama 45 detik. Pada tahap kedua amplifikasi sebanyak delapan siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan label *fluorescent* pada suhu 53°C selama 30 detik dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 45 detik. PCR diakhiri dengan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 7 menit.

Hasil amplifikasi diukur secara kualitatif dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 2% menggunakan TAE buffer 1x.

Tabel 1. Daftar tanaman tetua yang digunakan dalam penelitian (List of parent tree used in this research)

| Tetua (Parent) | Spesies (Species) |
|----------------|---------------------------|
| Matahari | <i>Durio zibethinus</i> |
| Sitokong | <i>Durio zibethinus</i> |
| Petruk | <i>Durio zibethinus</i> |
| Otong | <i>Durio zibethinus</i> |
| Kani | <i>Durio zibethinus</i> |
| Lai Mas | <i>Durio kutejenensis</i> |

Tabel 2. Daftar populasi progeni F_1 yang digunakan dalam penelitian (List of F_1 progeny population used in this research)

| Populasi (Population) | Kombinasi tetua (betina x jantan) (Parent combination (female x male)) | Progeni (Progeny) | |
|-----------------------|---|-------------------|-------------|
| | | Jumlah (Total) | Kode (Code) |
| Populasi 1 | Lai Mas x Matahari | 21 | LM |
| Populasi 2 | Kani x Otong | 18 | KO |
| Populasi 3 | Matahari x Sitokong | 31 | MS |
| Populasi 4 | Matahari x Petruk | 20 | MP |

Tabel 3. Karakteristik dan sumber lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian (Characteristic and sources of microsatellite loci used in the research)

| Lokus (Loci) | Motif (Motif) | Primer forward & reverse | TA (°C) | Sumber (Source) |
|--------------|---------------------|---|---------|------------------|
| Dz844 | (CAG) ₃ | F: TGGTTGAATGCCCGCACGCT R: TCGGACCGATCCACCCCTGC | 66 | Kritianti (2005) |
| Dz621 | (CTGG) ₃ | F: ACCGGACCGAGGGTTGTGGT R: GCAAGCCGGGGATCGACCAG | 62 | Kritianti (2005) |
| Dz535 | (CTGG) ₃ | F: GACTGAGCGCCCGTATGCC R: GTCCCCTCTGCGTGCTGTCG | 60 | Kritianti (2005) |
| Dz504 | (CCAA) ₃ | F: CTCGGTCCGGCTGGGGCTTA R: CCTCTCCGGTTGGCTGAGCG | 66 | Kritianti (2005) |
| DzCag01 | | F: GTTGAGCACCCGTACTCA R: GAGAGGCAAATAACGCAAGC | 59 | Nafsi (2007) |
| DzGccg01 | (GCCG) ₂ | F: TGTAACGACGGCCAGT R: TCAAACCGACCGAGGGTTA | 56 | Nafsi (2007) |
| DzMTa005 | (TG) ₈ | F: TGGGATTTGGATGATGGGTTGTTTTCA R: CGGCCGCGGGAATTCGATTGAT | 61 | Gene bank NCBI |
| DzMTa006 | (AT) ₁₁ | F: ACCTTCTCCCCATTTACCAAACCA T: AGGGCACACTCATTTTTGCTTTGTTTC | 56 | Gene bank NCBI |
| DzMTa007 | (AG) ₁₃ | F: TCCCCAGCACTTGCAAATTTCCCT R: ACCCTAGCCTTTTATGCAACACCAC | 62 | Gene bank NCBI |
| DzMTb021 | (TC) ₆ | F: ATTGACCCATTTCGAAATGTCCCCTTT R: TGCGCGGGAAATTGGTGTTTCA | 55 | Gene bank NCBI |

Hasil amplifikasi dari lokus-lokus mikrosatelit pada genom durian disekuensing menggunakan jasa pihak ketiga (1st BASE, Singapore). Hasil sekuensing didapatkan dalam bentuk format *.fsa yang kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak GeneMarker® versi 2,20 trial (SoftGenetics, USA) dengan ukuran standar ROX500, warna standar merah. Analisis tingkat heterozigositas (He), sebaran frekuensi alel dan *principle coordinate analysis* (PCO) dilakukan menggunakan program GeneAIEx ver.6.3 (Peakall & Smouse 2006), serta *polymorphic information content* (PIC) atau tingkat polimorfisme dari lokus mikrosatelit dianalisa menggunakan program Cervus 3,0. Analisis AMOVA dilakukan untuk memperkirakan diferensiasi pada suatu populasi dengan menganalisis signifikansi perbedaan sekuens dari data molekuler secara langsung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Lokus dan Keragaman Genetik Antar Populasi

PCR telah berhasil mengamplifikasi sebanyak 196 alel dengan rerata 4,9 alel per lokus. Lokus yang memiliki jumlah alel paling banyak adalah DzGccg01 sebanyak 10 alel, dan yang paling sedikit adalah Dz504 dan Dz535 sebanyak satu alel per lokus (Tabel 4). Jumlah alel yang berbeda pada setiap lokus dapat digunakan untuk mengetahui tingkat polimorfisme. Semakin banyak alel yang dimiliki oleh suatu lokus maka lokus tersebut dapat memberikan informasi yang

lebih baik tentang polimorfisme yang menggambarkan kecepatan perubahan genetik atau mutasi yang terjadi (Kalinowski 2002).

Berdasarkan hasil pengukuran nilai PIC (Tabel 5), bila merujuk pada Hildebrand *et al.* (1992) maka ada enam dari sepuluh lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini, memiliki tingkat informatif yang tinggi dengan nilai PIC lebih besar dari 0,5, yaitu lokus Dz844 (0,748), DzGccg01 (0,733), Dz621 (0,773), DzMta005 (0,587), DzMta007 (0,554), dan DzMtb021 (0,521). Tiga lokus bertingkat informatif moderat dengan kisaran nilai PIC 0,25–0,50, yaitu DzCag01 (0,499), DzMta006 (0,455), dan Dz 54 (0,262), serta satu lokus bertingkat informatif rendah dengan nilai PIC <0,25 yaitu lokus Dz535 (0,170).

Nilai PIC tinggi pada enam lokus Dz844, DzGccg01, Dz621, DzMta005, DzMta007, dan DzMtb021, menunjukkan kemampuan lokus tersebut sebagai penanda yang informatif karena memiliki polimorfisme yang tinggi untuk analisis populasi tetua dan progeni F₁ durian sehingga dapat digunakan kembali untuk kegiatan penelitian selanjutnya. Menurut Kalinowski (2002), lokus yang memiliki nilai PIC yang tinggi memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengukur jarak genetik suatu populasi.

Tabel 6 menampilkan hasil pengukuran nilai heterozigositas alel pada lima populasi pemuliaan. Nilai tertinggi (0,560) dimiliki oleh populasi progeni F₁ hasil persilangan inter-spesies Lai Mas x Matahari dan nilai terendah (0,462) dimiliki populasi progeni F₁ hasil persilangan intra-spesies Matahari x Petruk. Tingginya nilai heterozigositas pada populasi Lai Mas x Matahari dibandingkan dengan populasi lainnya

Tabel 4. Jumlah alel mikrosatelit dari tiap lokus pada lima populasi pemuliaan (*Number of microsatellite allele of each locus of five breeding populations*)

| Populasi (<i>Population</i>) | | Dz504 | Dz535 | DzCag01 | DzMta005 | Dz844 | DzGccg01 | DzMta007 | DzMtb021 | DzMta006 | Dz621 |
|--------------------------------|----|-------|-------|---------|----------|-------|----------|----------|----------|----------|-------|
| Tetua (<i>Parent</i>) | N | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | Na | 1 | 1 | 3 | 3 | 6 | 5 | 3 | 5 | 4 | 3 |
| Progeni 1 (<i>Progeny 1</i>) | N | 21 | 21 | 21 | 21 | 16 | 17 | 21 | 20 | 20 | 13 |
| | Na | 4 | 3 | 4 | 3 | 6 | 5 | 3 | 3 | 2 | 6 |
| Progeni 2 (<i>Progeny 2</i>) | N | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 16 | 18 | 16 | 13 | 8 |
| | Na | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Progeni 3 (<i>Progeny 3</i>) | N | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 27 | 29 | 29 | 21 | 28 |
| | Na | 3 | 2 | 4 | 4 | 7 | 9 | 3 | 5 | 3 | 7 |
| Progeni 4 (<i>Progeny 4</i>) | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 19 | 20 | 19 | 16 | 18 |
| | Na | 1 | 1 | 4 | 4 | 9 | 10 | 3 | 3 | 3 | 5 |

N=Jumlah Individu; Na=Jumlah Alel

Tabel 5. Nilai H_o , H_e , dan PIC dari 10 lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian (*Value of H_o , H_e , and PIC of 10 microsatellite loci used in the research*)

| Lokus (Locus) | H_o | H_e | PIC |
|---------------|-------|-------|-------|
| Dz504 | 0,084 | 0,275 | 0,262 |
| Dz535 | 0,042 | 0,182 | 0,170 |
| DzCag01 | 0,375 | 0,549 | 0,499 |
| DzMta005 | 0,917 | 0,648 | 0,587 |
| Dz844 | 0,736 | 0,778 | 0,748 |
| DzGccg01 | 0,682 | 0,768 | 0,733 |
| DzMta007 | 0,723 | 0,631 | 0,554 |
| DzMtb021 | 0,600 | 0,596 | 0,521 |
| DzMta006 | 0,342 | 0,556 | 0,455 |
| Dz621 | 0,493 | 0,806 | 0,773 |

diduga disebabkan tetua yang disilangkan berasal dari spesies yang berbeda. Karena kedua tetuanya memiliki jarak genetik yang jauh sehingga variasi heterozigositas keturunannya menjadi lebih tinggi. Alel yang berbeda dibawa oleh masing-masing tetua berpotensi untuk menghasilkan keturunan yang lebih unggul.

Analisis Sebaran Frekuensi Alel Antarindividu dan Populasi

Indeks fiksasi (F) di tiap lokus pada keempat populasi secara umum memiliki nilai rerata sebesar 0,120 atau >0 (Tabel 7). Hal ini menunjukkan bahwa populasi progeni F_1 yang diamati pada penelitian ini memiliki perbedaan genetik antarpopulasi yang signifikan dan individu dari masing-masing populasi hasil persilangan memiliki defisiensi heterozigot yang rendah.

Tabel 6. Nilai H_e tiap lokus pada semua populasi (*H_e value of each locus of all population*)

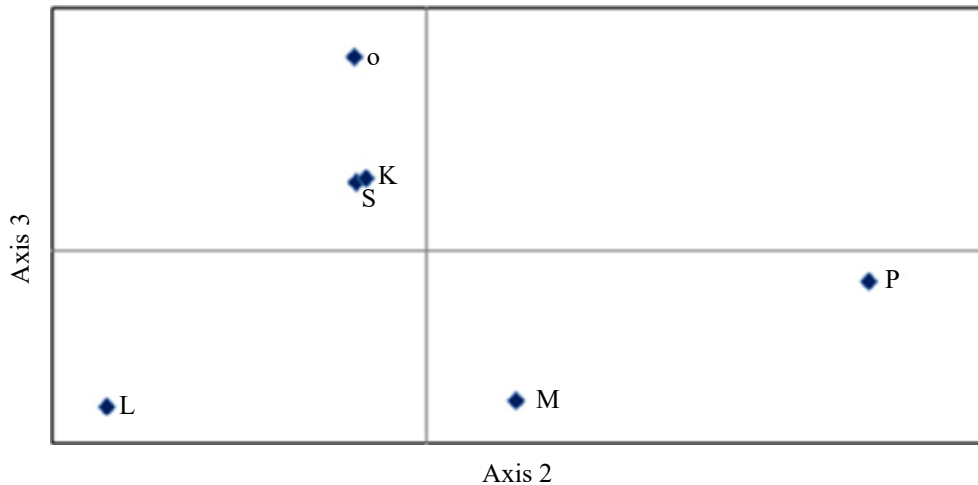
| Lokus (Locus) | Populasi (Population) | | | | |
|------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Tetua (Parent) | Pop 1 | Pop 2 | Pop 3 | Pop 4 |
| Dz504 | 0,000 | 0,459 | 0,519 | 0,150 | 0,000 |
| Dz535 | 0,000 | 0,431 | 0,285 | 0,032 | 0,000 |
| DzCag01 | 0,569 | 0,482 | 0,292 | 0,659 | 0,344 |
| DzMta005 | 0,611 | 0,632 | 0,586 | 0,621 | 0,646 |
| Dz844 | 0,819 | 0,787 | 0,691 | 0,810 | 0,611 |
| Dzgccg01 | 0,722 | 0,766 | 0,627 | 0,757 | 0,724 |
| DzMta007 | 0,625 | 0,577 | 0,554 | 0,654 | 0,596 |
| DzMtb021 | 0,722 | 0,471 | 0,557 | 0,546 | 0,543 |
| DzMta006 | 0,653 | 0,375 | 0,568 | 0,452 | 0,486 |
| Dz621 | 0,611 | 0,615 | 0,539 | 0,751 | 0,668 |
| Rerata (Average) | 0,533 | 0,560 | 0,522 | 0,543 | 0,462 |

Tabel 7. Nilai F dari tiap lokus pada empat populasi progeni F_1 (*F value of each locus of four F_1 progeny populations*)

| Populasi (Population) | Lokus (Locus) | | | | | | | | | |
|---------------------------|---------------|--------|---------|----------|--------|----------|----------|----------|----------|-------|
| | Dz504 | Dz535 | DzCag01 | DzMta005 | Dz844 | DzGccg01 | DzMta007 | DzMtb021 | DzMta006 | Dz621 |
| Populasi 1 (Population 1) | 0,695 | 1,000 | 0,438 | -0,508 | -0,042 | 0,251 | -0,381 | -0,085 | -0,375 | 0,335 |
| Populasi 2 (Population 2) | 0,563 | 0,426 | 0,392 | -0,472 | 0,018 | -0,016 | -0,307 | 0,041 | 0,782 | 0,854 |
| Populasi 3 (Population 3) | 0,786 | -0,015 | 0,143 | -0,355 | 0,029 | 0,144 | -0,177 | 0,137 | 0,532 | 0,313 |
| Populasi 4 (Population 4) | 0,000 | 0,000 | 0,275 | -0,564 | 0,048 | -0,178 | 0,127 | -0,226 | 0,015 | 0,174 |
| Rerata (Average) | | | | | 0,120 | | | | | |

Tabel 8. Hasil AMOVA antar dan dalam populasi progeni F₁ hasil persilangan intra- dan inter-spesies durian (Result of AMOVA amongst and within F₁ progeny population of intra- and inter-crossing of durian)

| Sumber (Source) | df | SS | MS | Est, Var, | % | Nilai (Value) | P |
|------------------------------|-----|---------|--------|-----------|-----|---------------|-------|
| Antar populasi (Among pops) | 3 | 30,091 | 10,030 | 0,147 | 5 | 0,048 | 0,001 |
| Dalam populasi (Within Pops) | 192 | 564,516 | 2,940 | 2,940 | 95 | | |
| Keseluruhan (Total) | 195 | 594,607 | | 3,087 | 100 | | |



Gambar 1. Diagram PCO antartetua (PCO diagram among parents) (L = Lai Mas, M = Matahari, S = Sitokong, P = Petruk, O = Otong dan K = Kani)

Hasil AMOVA populasi progeni F₁ hasil persilangan intra- dan inter-spesies durian (Tabel 8) menunjukkan bahwa variasi genetik antar dan dalam populasi progeni F₁ bervariasi signifikan. Nilai variasi antarpopulasi sebesar 5% dan variasi dalam populasi mencapai 95%. Nilai sebesar 0,048 pada pengukuran ini menunjukkan bahwa terdapat keragaman genetik sebesar 4,8% yang disebabkan perbedaan genetik antarpopulasi.

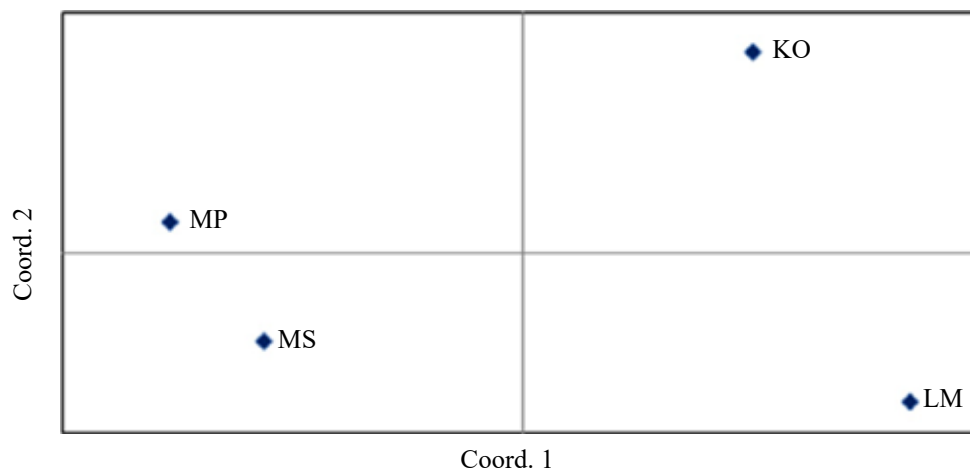
Jarak genetik berdasarkan sebaran frekuensi alel antarindividu tetua menggunakan diagram PCO ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan diagram ini dapat diketahui bahwa tetua dari masing-masing populasi tersebar di tiga kuadran pada diagram kartesius. Varietas Otong, Kani, dan Sitokong berada di dalam satu kuadran yang sama, yaitu pada kuadran dua, sedangkan varietas lainnya, yaitu Matahari dan Petruk berada di kuadran empat. Tetua durian Lai Mas yang berasal dari spesies yang berbeda, yaitu *D. kutejensis* terletak di kuadran ketiga dan satu-satunya titik pada kuadran tersebut. Perbedaan di tingkat spesies ini memunculkan jarak genetik yang cukup jauh dibandingkan tetua lainnya yang hanya memiliki perbedaan di tingkat varietas.

PCO untuk melihat sebaran genetik populasi progeni F₁ hasil persilangan durian ditampilkan pada Gambar 2. Berdasarkan diagram PCO tersebut dapat diidentifikasi bahwa setiap populasi F₁ memiliki jarak genetik yang

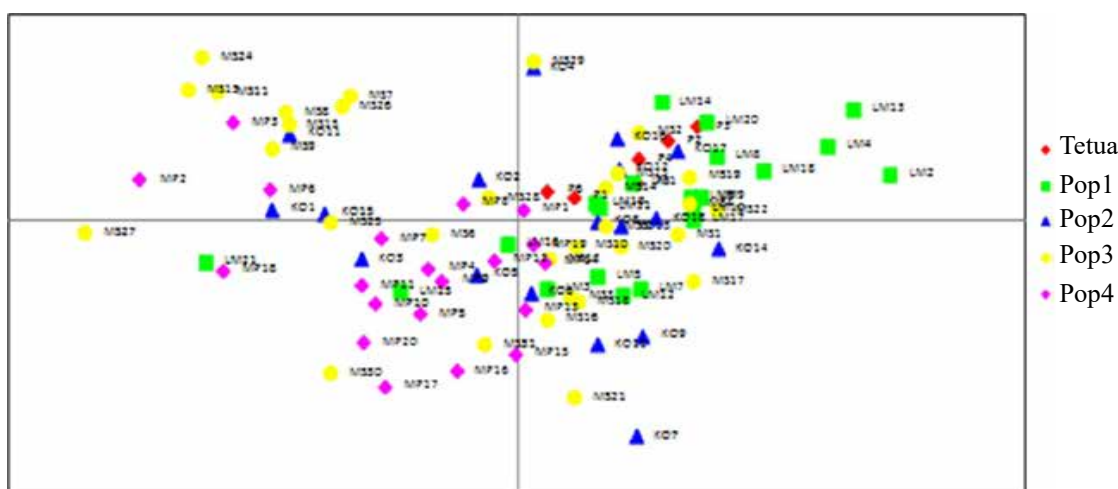
cukup berjauhan. Hal ini ditunjukkan dengan posisi setiap titik sebagai representasi setiap populasi yang tersebar di setiap kuadran pada bidang kartesius. Perbedaan jarak genetik antarpopulasi progeni F₁ ini muncul akibat kombinasi tetua yang berbeda-beda untuk setiap populasi. Masing-masing tetua akan menurunkan alel-alel yang bervariasi terhadap progeninya.

Populasi Lai Mas x Matahari (LM) merupakan populasi progeni F₁ hasil persilangan inter-spesies *D. kutejensis* x *D. zibethinus*. Perbedaan tetua pada tingkatan spesies memberikan peluang lebih tinggi untuk menghasilkan progeni F₁ dengan alel-alel yang lebih bervariasi sehingga sebaran frekuensi alel lebih tinggi dan memunculkan perbedaan jarak genetik yang jauh dibandingkan populasi lainnya.

Pada populasi yang memiliki salah satu tetua yang sama cenderung memiliki jarak genetik yang berdekatan. Hal ini terlihat antara populasi Matahari x Petruk (MP) dan Matahari x Sitokong (MS), posisi kedua titik populasi (MP dan MS) di bidang kartesius cenderung berdekatan dibandingkan dengan titik populasi lainnya. Keberadaan salah satu tetua yang sama memberikan kemiripan variasi alel yang diturunkan kepada progeninya. Sebaliknya, populasi yang memiliki kedua tetua yang berbeda seperti Kane x Otong (KO) cenderung memiliki jarak genetik yang jauh terhadap ketiga populasi MP, MS, dan LM.



Gambar 2. Diagram PCO antarpopulasi progeni F_1 (PCO diagram amongst F_1 progeny populations) (MP= Matahari x Petruk, MS = Matahari x Sitokong, KO = kani x Otong, LM = Lai Mas x Matahari)



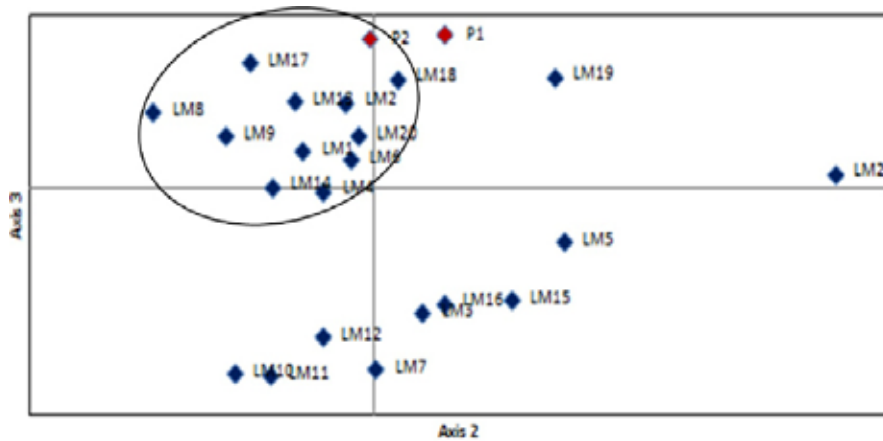
Gambar 3. Diagram PCO antarsemua tetua dan progeni F_1 (PCO diagram amongst all parents and F_1 progenies) (P1=Lai Mas, P2=Matahari, P3=Sitokong, P4=Petruk, P5=Otong dan P6=Kani: Pop1=LM, Pop2=KO, Pop3=MS, Pop4=MP)

Diagram PCO antarindividu di dalam populasi tetua dan populasi progeni F_1 berdasarkan jarak genetik antarindividu secara keseluruhan ditampilkan pada Gambar 3. Diagram ini menunjukkan posisi setiap titik individu pada populasi tetua (P1-P6) saling berdekatan berada pada kuadran pertama di bidang kartesius, yang menunjukkan bahwa jarak genetik keenam tetua berdasarkan 10 lokus yang digunakan cukup dekat. Demikian juga posisi titik individu dari masing-masing populasi progeni F_1 secara umum cenderung berdekatan dengan tetuanya, tetapi ada beberapa individu tersebar di keempat kuadran pada bidang kartesius. Populasi-populasi yang mengelompok menunjukkan mereka memiliki jarak genetik yang saling berdekatan.

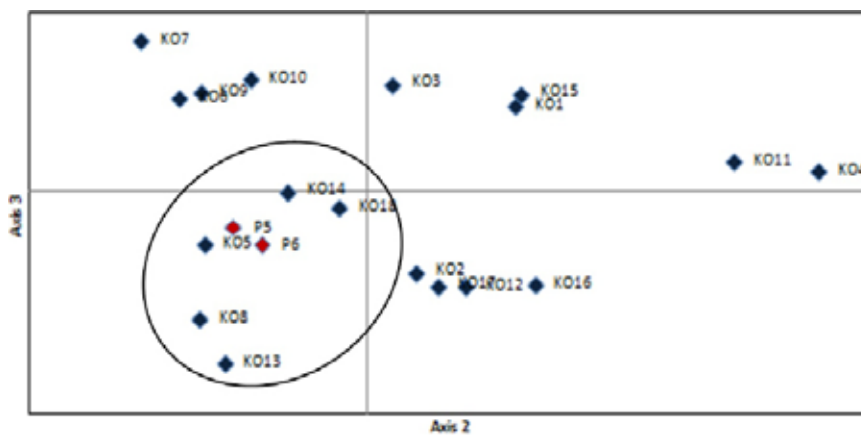
Populasi progeni LM (populasi 1) cenderung mengelompok pada kuadran 1 dan 4. Namun, beberapa individu seperti LM 15, LM 16, dan LM 21, tersebar di kuadran 3. Populasi progeni KO (populasi 2) cenderung

tersebar di semua kuadran. Hanya beberapa individu yang berada pada posisi berdekatan dengan tetuanya di antaranya KO 8, KO 12, KO 13, KO 16, KO 17, dan KO 18. Progeni-progeni pada populasi MS (populasi 3) menyebar di keempat kuadran, namun cenderung mengelompok di antara kuadran 1 dan 4, sedangkan progeni pada populasi MP (populasi 4) tersebar di keempat kuadran namun cenderung mengelompok pada kuadran ke-3. Posisi setiap individu progeni F_1 pada populasi MP berjauhan dengan tetuanya yang terletak di kuadran 1.

Secara umum terdapat individu progeni F_1 yang mengelompok berdekatan dengan tetuanya. Hal ini menunjukkan jarak genetik progeni F_1 yang dihasilkan dekat dengan tetuanya. Beberapa individu progeni F_1 lainnya menunjukkan pola tersebar atau jauh dari tetuanya. Hal ini menunjukkan jarak genetik progeni F_1 yang dihasilkan cukup jauh dengan tetuanya. Dari



Gambar 4. Diagram PCO tetua dan progeni F_1 persilangan Lai Mas x Matahari (*PCO diagram of parent and F_1 progeny of crossing Lai Mas x Matahari*)



Gambar 5. Diagram PCO tetua dan progeni F_1 persilangan Kani x Otong (*PCO diagram of parent and F_1 progeny of crossing Kani x Otong*)

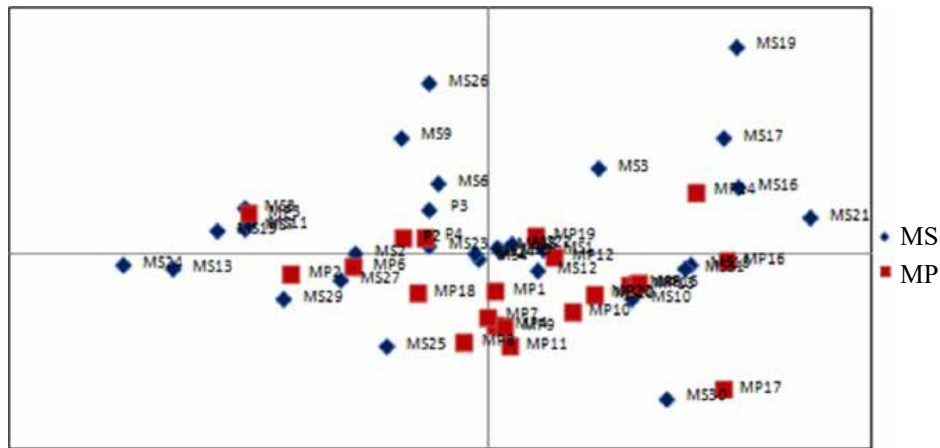
diagram ini menunjukkan bahwa penyebaran atau pengelompokan individu progeni F_1 pada diagram PCO sangat dipengaruhi oleh karakteristik masing-masing tetua yang digunakan.

Gambar 4 menunjukkan diagram PCO untuk tetua dan populasi progeni F_1 persilangan Lai Mas (P1) x Matahari (P2). Berdasarkan diagram dapat diketahui bahwa tetua betina (Lai Mas) berada pada kuadran satu, sedangkan tetua jantan (Matahari) berada antara kuadran satu dan empat, sedangkan individu progeni F_1 tersebar di keempat kuadran. Namun, dapat dilihat kecenderungan beberapa individu progeni F_1 yang terletak di kuadran kedua berdekatan dengan tetua jantannya.

Pada Gambar 5 diagram PCO menunjukkan bahwa tetua betina Kani dan tetua jantan Otong berada pada satu kuadran yang sama di kuadran tiga. Kecenderungan individu progeni F_1 menyebar di semua kuadran. Hanya terdapat beberapa individu progeni F_1 yang posisinya berada pada kuadran yang sama dengan tetua, yaitu KO5, KO8, KO13, KO14, dan KO18.

Gambar 6 menunjukkan diagram PCO untuk populasi progeni 3 (Matahari x Sitokong) dan populasi progeni 4 (Matahari x Petruk). Diagram PCO kedua populasi ini digabungkan untuk melihat jarak genetik antarindividu di antara kedua populasi yang memiliki tetua betina yang sama, yaitu Matahari.

Individu progeni F_1 hasil persilangan Matahari x Petruk yang memiliki jarak genetik relatif dekat menunjukkan pola persebaran yang cenderung mengelompok di antara kuadran ketiga dan keempat. Individu progeni F_1 hasil persilangan Matahari x Sitokong yang memiliki jarak genetik relatif lebih jauh menunjukkan posisinya yang tersebar di keempat kuadran. Hanya terdapat beberapa progeni yang berdekatan dengan tetua, yaitu MS2, MS6, MS9, MS23, MS4, dan MS14. Posisi progeni F_1 yang cenderung tersebar dan tidak membentuk kelompok pada bidang kartesian menggambarkan keragaman alel yang dimilikinya. Keragaman alel ini berpotensi untuk mengandung alel-alel unggul yang berasal dari masing-masing tanaman tetua. Keragaman alel yang dimiliki



Gambar 6. Diagram PCO tetua dan progeni F₁ persilangan Matahari x Sitokong (MS) dan Matahari x Petruk (MP) [PCO diagram of parents and F₁ progenies of crossing Matahari x Sitokong (MS) and Matahari x Petruk (MP)]

progeni F₁ durian ini muncul disebabkan oleh tingkat heterozigositas pada masing-masing tanaman tetua.

Secara umum dari kegiatan penelitian ini dapat ditarik dua hal, pertama bahwa progeni hasil persilangan menunjukkan adanya variasi yang terjadi akibat penggabungan alel secara acak antara pasangan tetua. Hal ini mengindikasikan pelaksanaan persilangan berjalan dengan baik, sebagai hasilnya diharapkan dapat diperoleh progeni yang memiliki gabungan karakter unggul dalam satu individu progeni. Kedua, marka SSR yang dapat mengelompokkan progeni berdasarkan tetua yang digunakan mengindikasikan lokus tersebut berkaitan (berasosiasi) dengan karakter-karakter fenotipe terutama karakter unggul yang menjadi target pemuliaan sehingga dari hasil penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk melakukan pemetaan marka SSR yang berkaitan dengan karakter unggul yang selanjutnya dapat digunakan sebagai marka spesifik untuk seleksi dini progeni yang memiliki karakter unggul.

KESIMPULAN DAN SARAN

Enam dari 10 lokus yang digunakan untuk analisis keragaman tetua dan progeni durian memiliki nilai PIC tinggi >0,5 menunjukkan kemampuan lokus tersebut sebagai penanda polimorfisme pada populasi pemuliaan intra- dan inter-spesies durian. Lima tetua yang merupakan spesies *D. zibethinus* terbagi dalam dua kelompok berdasarkan jarak genetik, yaitu varietas Otong, Kani, dan Sitokong berada di dalam satu kelompok, Matahari dan Petruk dalam satu kelompok lainnya, dan Lai Mas (*D. kutejensis*) berada sendiri di luar kedua kelompok sebelumnya. Empat populasi progeni F₁ durian memiliki perbedaan genetik yang signifikan

antarpopulasi dan antarindividu dalam populasi. Populasi progeni F₁ hasil persilangan inter-spesies Lai Mas x Matahari memiliki heterozigositas yang paling tinggi di antara populasi lainnya. Sebaliknya, populasi-populasi persilangan intra-spesies apalagi yang memiliki salah satu tetua yang sama cenderung memiliki jarak genetik yang berdekatan.

Perlu dilakukan kegiatan pemetaan marka SSR yang berasosiasi dengan karakter unggul yang menjadi target kegiatan pemuliaan durian sehingga dapat digunakan untuk seleksi dini progeni hasil persilangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui kegiatan Riset dan Inovasi KK ITB Tahun 2012 dan Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian TA 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: Kearifan Menstabilkan Pengeluaran Kualiti dan Pasaran*, 1-3 Ogos 2000, Ipoh, Perak, Malaysia, hlm. 26-36.
2. Anonymous 2012, *Statistik pertanian tahun 2011*, Kementerian Pertanian, Republik Indonesia, Jakarta.
3. 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.

4. Collard, BCY, Jahufer MZZ, Brouwer, JB & Pang, ECK 2005, 'An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts', *Euphytica*, vol. 142, pp. 169-96.
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. Hildebrand, CE, Torney, DC & Wagner, RP 1992, 'Informativeness of polymorphic DNA markers', *Los Alamos Science*, vol. 20, pp. 100-2.
7. Indriyani, NLP, Santoso, PJ & Hermanto, C 2012, 'Pembentukan populasi pemuliaan durian (*Durio* sp.) melalui persilangan *Intra-* dan *Inter-Species*', Seminar Nasional PERIPI 2012, Bogor, 6-7 Nopember 2012.
8. Kalinowski, ST 2002, 'How many alleles per locus should be used to estimate genetic distance?', *Heredity*, vol. 88, pp. 62-5.
9. Kristianti, T 2005, 'Isolasi dan karakterisasi motif mikrosatelit pada durian (*Durio zibethinus* Murr.)', Tesis Magister, Pasca Sarjana Institut Teknologi Bandung, Bandung.
10. 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.
11. 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.
12. Moose, SP & Mumm, RH 2008, 'Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement', *Plant Physiology*, vol. 147, pp. 969-77.
13. Nafsi, NI 2007, 'Analisis keanekaragaman varietas durian (*Durio zibethinus* Murr.) dengan marka mikrosatelit', Skripsi Sarjana, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
14. 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.
15. 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.
16. Peakall, R & Smouse, PE 2006, 'GENEALEX 6: Genetic analysis in excel, population genetics software for teaching and research', *Molecular Ecology Notes*, vol. 6, pp. 288-95.
17. 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, no. 9, pp. 1-14.
18. Santoso, PJ 2006, 'Modified CTAB-based DNA isolation procedure for fruit crops', *Journal Stigma*, vol. 14, no. 1, pp. 1-4.
19. Santoso, PJ, Novaril, Syah, MJA, Wahyudi, T & Hasyim, A 2008, 'Idiotipe durian nasional berdasarkan preferensi konsumen', *J. Hort.*, vol. 18, no. 4, hlm. 395-401.
20. Santoso, PJ & Hermanto, C 2012, 'Keragaan budidaya dan sebaran musim panen durian di Indonesia', *Seminar Nasional PERHORTI 2012*. UPN Veteran Surabaya, 13-14 Nopember 2012.
21. Santoso, PJ & Nasution, F 2014, 'Status budidaya dan harapan pelaku usaha durian terhadap idiotipe durian nasional', *Seminar nasional Buah Nusantara II*, Bukit Tinggi, 23-25 September 2014.
22. Santoso, PJ, Pancoro, A, Suhandono, S & Aryantha, INP 2014, 'Virulensi isolate Pythiaceae dan ketahanan varietas durian terhadap *Pythium* sp. berdasarkan *detached leaf bioassay*', *Prosiding Seminar Nasional PERHORTI 2014*, Malang 5-7 November 2014, hlm. 121-7.
23. Schuelke, M 2000, 'An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments', *Nature Biotechnology*, vol. 18, pp. 233-4.
24. Selkoe, KA & Toonen, RJ 2006, 'Microsatellites for ecologists, A practical guide to using and evaluating microsatellite markers', *Ecology Letters*, vol. 9, pp. 615-29.
25. 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.
26. 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', *Proceeding IW on TSF*, *Acta Hort.*(ISHS), vol. 787, pp. 77-88.