



**KEANEKARAGAMAN ALEL MIKROSATELIT
DURIAN LOKAL KOLEKSI *EX SITU* HORTIMART
BAWEN JAWA TENGAH**

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh
Silviatun Nihayah
4411412042

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2017**

PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul "Keanekaragaman Alel Mikrosatelit Durian Lokal Koleksi *Ex situ* Hortimart Bawen Jawa Tengah" disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan pada bagian Daftar Pustaka. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 8 Desember 2016



Silviatun Nihayah

4411412042

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Keanekaragaman Alel Mikrosatelit Durian Lokal Koleksi *Ex situ* Hortimart

Bawen Jawa Tengah

disusun oleh

nama : Silviatun Nihayah

NIM : 4411412042

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada 15 Desember 2016

Panitia:

Ketua



Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M.Si, Akt.

NIP. 196412231988031001

Ketua Penguji

Dr. Ning Setiati, M.Si.

NIP. 195903101987032001

Anggota penguji/
Pembimbing Utama

Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si.

NIP. 19600712 1990032001

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.

NIP. 196511161991032001

Anggota penguji/
Pembimbing Pendamping

Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si.

NIP. 196009161986012001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

Kesempurnaan ilmu adalah dikembangkan dan diamalkan
untuk kemaslahatan ummat

(Penulis)

PERSEMBAHAN

Untuk almamaterku, Program Studi Biologi
Universitas Negeri Semarang, orang tuaku
(Bapak Mu'allim Fatawi dan Ibu Ummi
Salamah), kakakku Khalimatus Sa'diyah,
S.Sos., Asahedi Umoro, S.Pi., M.Si., Ahmad
Khoirul Anwar, S.Kom., adikku Salma
Fadlilatul Lailiyah, dan seluruh teman-temanku.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

ABSTRAK

Nihayah, S. 2017. *Keanekaragaman Alel Mikrosatelit Durian Lokal Koleksi Ex situ Hortimart Jawa Tengah*. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. dan Pembimbing Pendamping Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si.

Katakunci: durian, keanekaragaman alel, koleksi *ex situ*, mikrosatelit.

Durian merupakan tanaman buah asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomi penting dan mempunyai keanekaragaman tinggi. Analisis keanekaragaman genetik perlu dilakukan untuk mengungkap kekayaan aksesori durian di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi keanekaragaman alel aksesori durian lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. Sebanyak 41 aksesori durian lokal koleksi Hortimart Agrocenter Bawen di Jawa Tengah telah dianalisis. Isolasi DNA menggunakan modifikasi metode Vanijajiva. Amplifikasi DNA menggunakan *Thermal cycler* (peqSTAR 2X) pada tiga lokus mikrosatelit spesifik (mDz78B2, mDz03H9, mDz3D11). Hasil amplifikasi DNA dielektroforesis pada *Polyacrilamid Gel Electrophoresis* (PAGE) 6%. Visualisasi DNA mikrosatelit menggunakan pewarnaan perak nitrat. Keanekaragaman alel dianalisis dengan metode *Unweighted Pair-Group With Arithme Average* (UPGMA) menggunakan perangkat lunak NTSys versi 2,02. Hasil penelitian pada ketiga lokus mikrosatelit menunjukkan 92 alel dengan rata – rata alel per lokus adalah 30,6. Jumlah alel tertinggi ditemukan pada lokus mDz3D11 sebanyak 41 alel. Frekuensi alel berturut-turut pada lokus mDz3D11 adalah 1,2-12,2 %, mDz03H9 sebesar 1,2-13,4% dan mDz78B2 adalah 1,2-12,2%. Keanekaragaman durian lokal menggunakan penanda mikrosatelit menunjukkan hasil yang tinggi serta dapat mendeteksi alel spesifik. Berdasarkan analisis keanekaragaman alel mikrosatelit menunjukkan bahwa individu durian bersifat poliploid.



PRAKATA

Puji syukur dan terima kasih penulis panjatkan kepada Tuhan yang telah memberikan kasih KaruniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat selesai berkat bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor UNNES, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di UNNES.
2. Dekan FMIPA UNNES, yang memberikan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES, yang telah memberikan dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan studi di UNNES.
4. Direktorat Jenderal Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia melalui program penelitian payung hibah kompetensi yang telah mendanai penelitian ini.
5. Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang dengan sabar telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah membahas dan memberi masukan dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Dr. Ning Setiati, M.Si. selaku dosen penguji dan Kepala Laboratorium Biologi FMIPA UNNES, yang dengan sabar telah banyak memberikan dorongan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.

8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan banyak ilmunya.
9. Andin Irsadi, S.Pd., M.Si. selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis selama kuliah.
10. Ibuku Umi Salamah dan Bapakku Mu'allim Fatawi yang dengan penuh kasih sayang dan keikhlasan telah memberikan segala kebutuhan yang penulis butuhkan, memberi dorongan, dan motivasi baik material maupun spiritual.
11. Kakakku Asahedi Umoro, S.Pi., M.Si. yang selalu memberikan motivasi besar dan arahan dalam melakukan tugas skripsi molekuler ini dengan penuh kesabaran.
12. Kakak-kakakku Khalimatus Sa'diyah, S.Sos., Ahmad Khoirul Anwar dan adikku Salma Fadlilatul Lailiyah, diucapkan terima kasih atas perhatian, nasihat, dorongan, semangat, dan doanya tiada hentinya kepada penulis.
13. Ibu Hj. Ismaliyah, selaku Ibu kos serta keluarga besar Kos RHI yang setia menemaniku dalam suka dan duka.
14. Teman-teman Biologi angkatan 2012 (Dewi, Rona, Ahmad, Maya dan Fitri Laila) yang telah memberikan semangat, bantuan serta ilmunya selama perjalanan studiku.
15. Kakak-kakak dan adik-adik keluarga besar Biologi tetap semangat dan pantang mundur.
16. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis demi terselesainya skripsi ini.

Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini

dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya dan semoga skripsi ini mendapat ridho dari Allah SWT.

Amin.

Semarang, 8 Desember 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
ABSTRAK	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Penegasan Istilah	4
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Keanekaragaman Genetik Durian Berdasarkan Morfologi	6
2.2 Pentingnya Informasi Keanekaragaman Alel	7
2.3 Mikrosatelit.....	8
2.4 Penanda Mikrosatelit dalam Mengungkap Keanekaragaman Genetik	10

2.5 Teknik Molekuler dan Sumbangan Bioinformatika dalam Analisis	12
3. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	15
3.2 Subjek Penelitian.....	15
3.3 Variabel yang Diamati.....	16
3.3.1 Primer yang Digunakan.....	16
3.3.2 Fokus Penelitian.....	17
3.4 Alat dan Bahan.....	17
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.6 Prosedur Penelitian.....	21
3.6.1 Pengambilan Sampel Tanaman.....	21
3.6.2 Isolasi dan Purifikasi DNA Durian.....	21
3.6.3 Uji Kualitas DNA.....	23
3.6.4 Amplifikasi Lokus Mikrosatelit.....	24
3.6.5 Pembuatan Gel Poliakrilamid.....	25
3.6.6 <i>Loading</i> Sampel.....	27
3.6.7 Metode Pewarnaan.....	27
3.6.8 Analisis Data.....	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	
4.1 Hasil.....	31
4.1.1 Isolasi DNA.....	31
4.1.2 Optimasi Suhu <i>Annealing</i>	34
4.1.3 Keanekaragaman Alel Mikrosatelit.....	35
4.1.4 Analisis Keanekaragaman Genetik 41 Aksesori Durian menggunakan 3 Penanda Mikrosatelit.....	38

4.2 Pembahasan	40
4.2.1 Isolasi DNA.....	40
4.2.2 Optimasi Suhu <i>Annealing</i>	42
4.2.3 Keanekaragaman Alel Mikrosatelit.....	43
4.2.4 Analisis Keanekaragaman Genetik 41 Aksesori Durian menggunakan 3 Penanda Mikrosatelit.....	50
5. PENUTUP.....	56
5.1 Kesimpulan.....	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	63



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Perbandingan teknik penanda molecular RFLP, RAPD, AFLP, dan Mikrosatelit.....	9
3.1	Daftar 41 aksesi plasma nutfah durian lokal yang dianalisis.....	16
3.2	<i>Olgonukleotida</i> primer mikrosatelit.....	16
3.3	Spesifikasi dan Fungsi Alat Penelitian	17
3.4	Spesifikasi dan Fungsi Bahan Penelitian	19
3.5	Siklus PCR DNA Mikrosatelit.....	25
3.6	Komposisi bahan pembuatan gel poliakrilamid 6%	26
3.7	Komposisi bahan yang digunakan dalam pewarnaan alel lokus mikrosatelit durian	28
3.8	Contoh data biner yang diturunkan dari penilaian pita	29
4.1	Konsentrasi dan kemurnian DNA 41 aksesi durian lokal.....	32
4.2	Suhu <i>annealing</i> hasil optimasi pada 5 lokus mikrosatelit.....	35
4.3	Ukuran alel, jumlah alel dan frekuensi alel yang dihasilkan dari analisis aksesi durian pada 3 lokus mikrosatelit	37
4.4	Alel-alel spesifik yang terdeteksi pada 41 kultivar durian lokal.....	38
4.5	Hasil pengelompokan kultivar durian lokal.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Ilustrasi penanda DNA mikrosatelit (Tautz 1989)	8
2.2 Perkembangan dan aplikasi penanda mikrosatelit	9
3.1 Lokasi tempat pengambilan sampel (<i>Hortimart</i> Bawen)	15
3.2 Sampel daun durian	16
3.3 Diagram alir tahap penelitian	21
3.4 Cara penilaian pita dengan sistem skoring	29
4.1 DNA genom hasil isolasi menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi	31
4.2 Contoh besarnya pengenceran hasil isolasi DNA durian	33
4.3 Contoh pita hasil optimasi suhu <i>annealing</i> lokus mDz78B2 pada kultivar Abiyoso	34
4.4 Profil proyeksi lokus mDz03H9 pada poliakrilamid 6%	36
4.5 Profil proyeksi lokus mDz78B2 pada poliakrilamid 6%	36
4.6 Profil proyeksi lokus mDz3D11 pada poliakrilamid 6%	37
4.7 Dendrogram kekerabatan 41 aksesori durian lokal berdasarkan koefisien kemiripan genetik menggunakan 3 penanda mikrosatelit	39
4.8 Dendrogram kekerabatan 41 aksesori durian lokal berdasarkan penanda morfologi (Ika 2016).	53
4.9 Karakteristik morfologi durian unggul	54
4.10 Karakteristik morfologi durian dikatakan sinonime berdasarkan analisis mikrosatelit	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi pembuatan buffer TBE 100x.....	63
2. Komposisi pembuatan EDTA 0,5 M.....	63
3. Komposisi pembuatan buffer TE	63
4. Komposisi pembuatan buffer isolasi CTAB	63
5. Pengenceran primer mikrosatelit (Alpha DNA)	64
6. Cara pembuatan <i>loading dye</i> 6 kali (Fermentas 2011).....	64
7. Pembuatan Akrilamid 6%	64
8. Proses perbanyak DNA dengan PCR (Vierstraete 1999).....	65
9. Proses Elektroforesis Gel Poliakrilamid (Biorad- PAGE).....	66
10. Frekuensi alel per lokus dan jumlah alel homozigot, heterozigot.....	67
11. Polimerisasi monomer akrilamid dan bis akrilamid.....	69
12. Visualisasi elektroforesis gel poliakrilamid 6%.....	70



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu dari delapan pusat keanekaragaman genetik tanaman terbesar di dunia khususnya buah-buahan tropis (Siregar 2006). Di Indonesia terdapat empat marga buah-buahan asli yang mempunyai nilai ekonomi tinggi dan mempunyai keanekaragaman jenis tinggi, di antaranya marga *Mangifera* (suku Anacardiaceae), marga *Garcinia* (Clusiaceae), marga *Nephelium* (Sapindaceae) dan (suku Bombacaceae) marga *Durio*. Keempat marga tersebut telah ditetapkan sebagai “buah-buahan unggulan nasional” (Winarno 2000).

Kalimantan merupakan pusat persebaran jenis-jenis *Durio* dan hidup tersebar di wilayah tersebut. *Durio* ada 27 jenis, 18 jenis hidup di Kalimantan dan 14 jenis merupakan endemik Kalimantan. *Durio* di Indonesia yang dapat dimakan ada sembilan jenis, yaitu *Durio dulcis* (lahong), *D. excelsus* (apun), *D. grandiflorus* (sukang), *D. graveolens* (tuwala), *D. kutejensis* (lai), *D. lowianus* (teruntung), *D. oxleyanus* (kerantungan), *D. testudinarum* (durian sekura) dan *D. zibethinus* (durian). Lima jenis di antaranya telah dibudidayakan, yaitu *D. dulcis*, *D. grandiflorus*, *D. kutejensis*, *D. oxleyanus* dan *D. zibethinus* (Uji 2007).

Di Indonesia, *D. zibethinus* merupakan durian yang paling populer di kalangan masyarakat. Jumlah varietas durian lokal diketahui puluhan bahkan mencapai ratusan dan beragam baik rasa, bau, tekstur dan warna daging buah (Uji 2007). Secara umum, durian tersebut memiliki ciri morfologi yang sulit dibedakan satu sama lain. Karakteristik yang tidak jelas memungkinkan terjadinya

kekeliruan memilih durian lokal untuk tujuan komersial. Hal ini menunjukkan bahwa mempelajari keanekaragaman genetik menggunakan penanda morfologi hasilnya tidak selalu tepat karena dipengaruhi oleh lingkungan, dan interaksi antara genetik dengan lingkungan. Hasil survei Balitbu (2015) melaporkan durian di Indonesia melimpah, tetapi identitas tidak dapat dipastikan. Salah satu penyebab adalah keanekaragaman kultivar durian di Indonesia sebagian besar yang dianalisis masih terbatas menggunakan penanda morfologi. Secara umum, petani menanam durian secara konvensional bergantung dengan alam dan sampai saat ini sedikit perkebunan skala luas yang dapat memberikan kualitas baik. Hal ini karena tidak ada data informasi tentang keunggulan durian lokal. Keanekaragaman genetik pada jenis durian terutama yang ada di Indonesia belum diketahui. Oleh karena itu, analisis keanekaragaman genetik perlu dilakukan untuk mengungkap kekayaan aksesori durian di Indonesia.

Keanekaragaman yang memiliki tingkat kemiripan tinggi dapat diungkap melalui penanda molekuler. Beberapa penanda molekuler yang dapat mengungkapkan keanekaragaman genetik adalah RFLP (Tri *et al.* 2008), AFLP (Richael 2012), SSR (Tasliyah *et al.* 2013) dan ISSR (Vanijajiva 2011). Kekayaan pisang telah diungkap oleh Retnoningsih *et al.* (2009) menggunakan penanda mikrosatelit. Penanda ini merupakan salah satu penanda berbasis DNA yang *single locus*, kodominan, memiliki heterozigositas tinggi, membutuhkan jumlah DNA yang sedikit dan relatif sederhana (Kumar *et al.* 2009). Penanda ini terdistribusi secara melimpah, merata dalam genom dan memiliki variabilitas tinggi (Kalia *et al.* 2011).

Penanda mikrosatelit terbukti mampu mengidentifikasi keanekaragaman beberapa tanaman, di antaranya keanekaragaman plasma nutfah pada mangga (Pancoro 2005; Zainudin *et al.* 2010), jeruk (Novelli *et al.* 2005) dan apel (Patzak *et al.* 2012). Pada tanaman semusim, mikrosatelit juga dapat mengidentifikasi varietas gandum (Feng *et al.* 2006), padi (Rahman *et al.* 2009) dan kentang (Novakova *et al.* 2009). Mikrosatelit pada tanaman perkebunan juga dapat mengungkapkan keanekaragaman kelapa sawit (Made & Sekar 2013). Pemanfaatan mikrosatelit pada kehutanan dapat mengungkapkan keanekaragaman genetik jati arboretum (Imas 2013) dan jati sungu (Nurtjahjaningsih & Rimbawanto 2012).

Keanekaragaman genetik direpresentasikan melalui keanekaragaman alel (Frankham *et al.* 2002). Keanekaragaman merujuk pada variasi alel yang terdapat dalam lokus tertentu. Sumber variasi alel ini dikendalikan oleh faktor genetik. Selain itu, alel dikatakan bertahan atau tidak dipengaruhi oleh faktor suatu aksesori yang hidup pada lingkungan tertentu. Dua subpopulasi dari suatu spesies yang sama yang hidup pada lingkungan yang berbeda, akan mempunyai keberadaan alel yang tidak pasti sama atau berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi keberadaan aksesori pada suatu lingkungan dapat menyeleksi alel-alel pada beberapa lokus tertentu.

Hortimart Agrocenter merupakan tempat wisata agrikultur yang berlokasi di Bawen Kabupaten Semarang. Hortimart berdiri di atas tanah seluas 25 hektar dan memiliki koleksi *ex situ* durian lokal sejumlah 110 aksesori. Selama ini pembeda dari setiap aksesori belum pernah diidentifikasi. Keanekaragaman durian tersebut baru diidentifikasi secara fenotipe.

Malaysia dan Thailand telah membuat perkebunan durian dalam skala besar dan memiliki kualitas yang baik. Hal ini karena terdapat data kepastian secara genotipe. Di Indonesia terutama di Hortimart Bawen, kepastian durian belum pernah dilakukan. Identifikasi alel pada lokus untuk memastikan secara genotipe merupakan salah satu cara untuk membedakan setiap aksesori durian. Analisis keanekaragaman durian lokal menggunakan penanda mikrosatelit merupakan solusi terbaik untuk memastikan kekayaan durian lokal di Hortimart.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah bagaimana keanekaragaman alel durian lokal koleksi *ex situ* Hortimart di Jawa Tengah berdasarkan penanda mikrosatelit?

1.3 Penegasan Istilah

Beberapa istilah yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.3.1 Alel

Alel adalah anggota dari sepasang gen atau bentuk alternatif dari gen (Rifa'i 2004). Keanekaragaman alel ditentukan berdasarkan faktor genetik dan lingkungan dimana suatu aksesori tersebut berada.

1.3.2 Mikrosatelit

Mikrosatelit merupakan salah satu penanda molekuler yang berupa urutan di-nukleotida sampai tetra-nukleotida yang berulang dan berurutan, bersifat kodominan, dapat mendeteksi keanekaragaman alel pada tingkat tinggi, serta

mudah dan tidak terlalu mahal untuk dianalisis menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) (Selkoe & Toonen 2006).

1.3.3 *Ex situ*

Kegiatan konservasi di luar habitat aslinya, flora tersebut diambil dan dipelihara pada suatu tempat tertentu yang dijaga keamanan maupun kesesuaian ekologi.

1.4 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi keanekaragaman alel durian lokal koleksi *ex situ* Hortimart di Jawa Tengah berdasarkan penanda mikrosatelit.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

- 1.5.1 Memberikan informasi kepada masyarakat tentang keanekaragaman variasi alel durian lokal, sebagai modal dasar penentuan kepastian identitas durian yang berkualitas.
- 1.5.2 Memberikan data polimorfisme, variasi keanekaragaman alel mikrosatelit durian lokal.
- 1.5.3 Memberikan informasi kepastian identitas durian lokal yang bermanfaat untuk tujuan komersial.
- 1.5.4 Menjadi rujukan/referensi dalam pengembangan penelitian lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keanekaragaman Genetik Durian Berdasarkan Morfologi

Durian merupakan spesies yang memiliki nilai ekonomi penting dan mempunyai keanekaragaman tinggi. *Durio* di seluruh dunia terdapat sekitar 27 jenis, 18 jenis di antaranya tumbuh di Kalimantan, 11 jenis di Malaysia, dan 7 jenis di Sumatera. Tingginya jumlah jenis *Durio* yang tumbuh di Kalimantan memberikan gambaran bahwa kawasan ini merupakan pusat asal persebaran terpenting untuk kerabat durian (Uji 2005).

Jenis *Durio* yang hidup di Indonesia yang dapat dimakan adalah *Durio dulcis* (lahong), *D. excelsus* (apun), *D. grandiflorus* (sukang), *D. graveolens* (tuwala), *D. kutejensis* (lai), *D. lowianus* (teruntung), *D. oxleyanus* (kerantungan), *D. testudinarum* (durian sekura) dan *D. zibethinus* (durian). Jenis *Durio* yang telah dibudidayakan adalah *D. dulcis*, *D. grandiflorus*, *D. kutejensis*, *D. oxleyanus* dan *D. zibethinus*. Di Indonesia juga dapat ditemukan puluhan bahkan mencapai ratusan aksesi durian (*D. zibethinus*). Aksesi-aksesi durian lokal tersebut beragam baik dalam rasa, bau, tekstur dan warna daging buahnya, juga variasi dalam bentuk dan ukuran buah, duri-duri pada kulit buah dan bijinya. Durian yang berbiji kempes atau tidak berbiji juga ditemukan di Indonesia. Keanekaragaman jenis dan plasma nutfah yang begitu besar pada durian dan kerabat dekatnya merupakan modal dasar untuk melakukan usaha pengembangan durian di Indonesia. Pengembangan ini diharapkan mampu memperoleh bibit-bibit durian yang unggul baik kualitas maupun produksi buahnya (Uji 2007). Klasifikasi

durian menurut aturan sistem nomenklatur termasuk dalam divisi tumbuhan berbiji, kelas dikotil, ordo *Malvales*, famili *Bombacaceae*, genus *Durio*, spesies *Durio zibethinus* Murr (United States Department of Agriculture 2008).

2.2 Pentingnya Informasi Keanekaragaman Alel

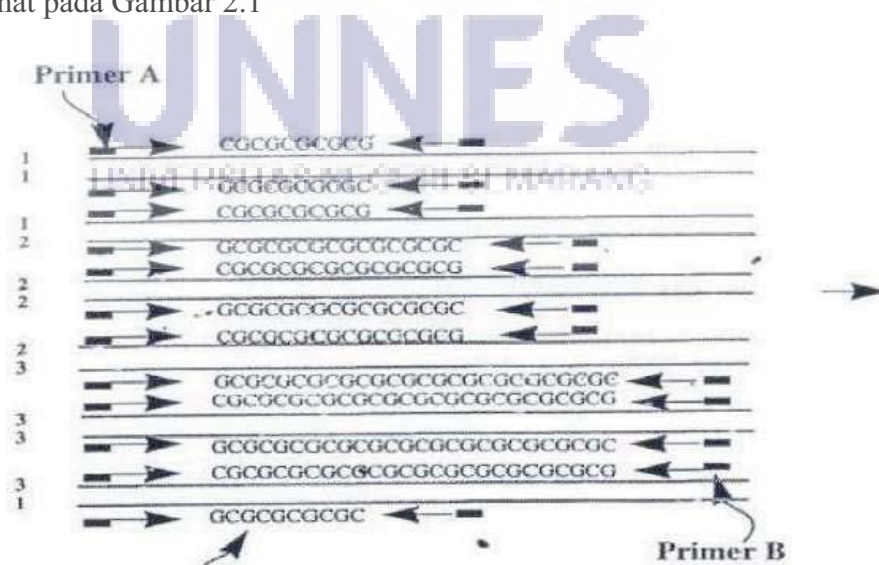
Groom & Carrol (2006) melaporkan bahwa keanekaragaman genetik yang hilang pada makhluk hidup telah diidentifikasi dan terdapat beberapa cara untuk mengukur keanekaragaman genetik atau variasi alel. Keanekaragaman genetik dan keanekaragaman hayati saling bergantung satu sama lain. Keanekaragaman genetik atau variasi alel memainkan peran yang penting dalam adaptabilitas suatu spesies. Ketika lingkungan suatu spesies berubah, variasi gen diperlukan agar spesies dapat bertahan hidup dan beradaptasi. Spesies yang memiliki tingkat keanekaragaman genetik tinggi pada suatu populasi, akan memiliki lebih banyak variasi alel yang dapat diseleksi. Variasi alel yang sedikit, memiliki risiko untuk sulit diseleksi. Analisis jumlah aksesi yang makin meningkat, maka jumlah alel juga akan meningkat (Wang *et al.* 2005). Perbandingan jumlah alel antar kelompok varietas akan lebih bermakna jika tiap kelompok varietas memiliki jumlah anggota yang sama.

Keberhasilan program penetapan identitas tanaman memerlukan keanekaragaman genetik yang cukup tinggi dari suatu populasi yang ada, sehingga seleksi yang dilakukan akan lebih optimal. Konservasi *ex situ* diperlukan sebagai populasi dasar bagi kegiatan pemuliaan dan penetapan identitas di masa yang akan datang.

2.3 Mikrosatelit

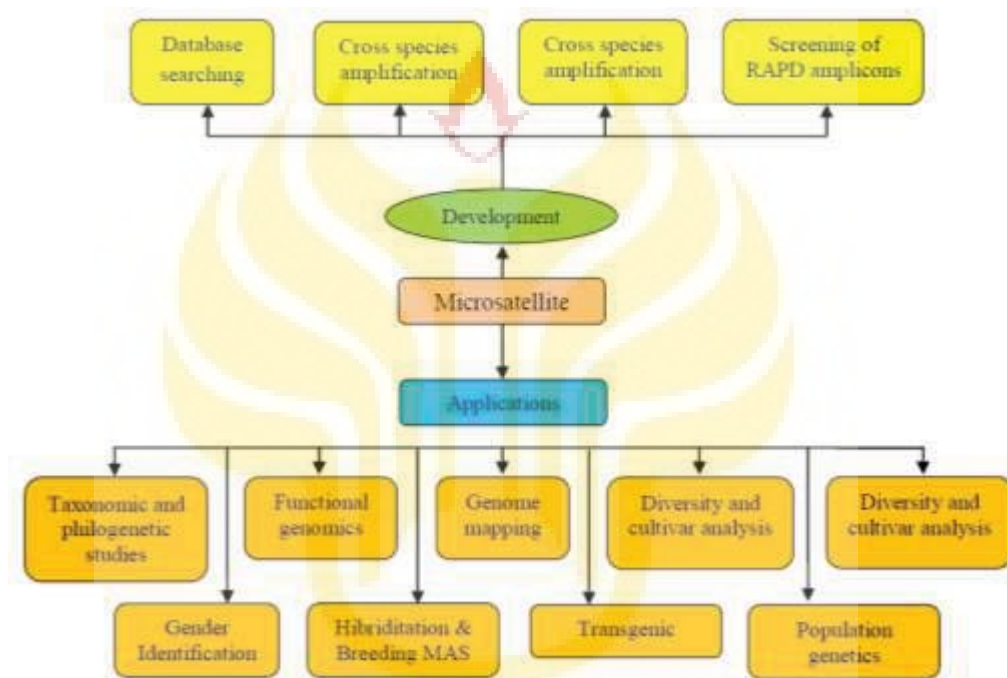
Mikrosatelit merupakan salah satu penanda molekuler yang berupa urutan di-nukleotida sampai tetra-nukleotida yang berulang dan berurutan. Mikrosatelit dikenal sebagai motif yang tersebar dan meliputi seluruh genom, baik genom inti maupun genom organel. Mikrosatelit genom organel terdiri atas *mikrosatelit kloroplas* (cpSSRs) dan *mikrosatelit mitokondria* (mtSSRs) dengan tipe dominan mononukleotida.

Mikrosatelit yang berasal dari genom organel ini banyak digunakan untuk studi antar spesies karena sifat dari genom organel ini hanya diturunkan secara uniparental. Kelebihan penanda ini adalah bersifat kodominan, memiliki tingkat heterozigositas tinggi, dapat diketahui lokasi pada DNA sehingga dapat mendeteksi keanekaragaman alel pada level yang tinggi (Kumar *et al.* 2009), mudah dan tidak terlalu mahal untuk dianalisis menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR), memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi, stabil secara somatik (Selkoe & Toonen 2006). Berikut adalah ilustrasi penanda DNA mikrosatelit dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Ilustrasi penanda DNA mikrosatelit (Tautz 1989)

Penanda ini merupakan alat bantu yang akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotipe untuk karakter yang diinginkan. Mikrosatelit menjadi penanda paling baik dalam pemetaan gen (Muladno 2006). Perbandingan beberapa teknik penanda molekuler dapat dilihat pada Tabel 2.1 Perkembangan dan aplikasi penanda mikrosatelit pada saat ini dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Perkembangan dan aplikasi penanda mikrosatelit (Kumar *et al.*2009)

Tabel 2.1 Perbandingan teknik penanda molekuler RFLP, RAPD, AFLP, dan mikrosatelit

	RFLP	RAPD	AFLP	Mikrosatelit
Prinsip	Restriksi dgn endonuklease, Southern blot, Hibridisasi	Amplifikasi DNA, Primer acak	Restriksi endonuklease, perlu pasangan primer spesifik dan adaptor	Amplifikasi DNA, perlu pasangan primer spesifik
Tipe polimorfisme terdeteksi	Perubahan basa	Perubahan basa	Perubahan basa	Perbedaan panjang pengulangan basa

Tabel 2.1 Perbandingan teknik penanda molekular RFLP, RAPD, AFLP, dan mikrosatelit (Lanjutan)

	RFLP	RAPD	AFLP	Mikrosatelit
Perlu informasi sekuens	Tidak	Tidak	Tidak	Perlu
Metode deteksi Radioisotop	Ya/tidak	Tidak	Ya/tidak	Ya/tidak
Reproducible	Tinggi	Rendah	Tinggi	Tinggi
Tingkat kesulitan	Sedang	Rendah	Sedang-Tinggi	Sedang-Tinggi
Lokus amplified terdeteksi	Kodominan	Dominan	Kodominan	Kodominan
Biaya	Sedang	Rendah	Tinggi	Tinggi
Penggunaan:				
1. Finger printing & keanekaragaman genetik	+	++	+++	+++
2. Qualitative gene tagging	++	++	+++	+++
3. QTL mapping	++	-	++	+++
4. MAS	+	+/-	++	++
5. Comparative mapping	++	+	++	++

Sumber: Kumar *et al.*(2009)

2.4 Penanda Mikrosatelit dalam Mengungkap Keanekaragaman Genetik

Aplikasi penanda mikrosatelit banyak digunakan untuk mengidentifikasi keanekaragaman genetik beberapa macam plasma nutfah tanaman. Pada bidang pertanian, penanda mikrosatelit telah digunakan untuk menganalisis keanekaragaman plasma nutfah mangga (Zainudin *et al.* 2010; Tasliah *et al.* 2013), jeruk (Novelli *et al.* 2005) dan apel (Galli *et al.* 2005). Pada tanaman semusim mikrosatelit dapat mengidentifikasi varietas gandum (Feng *et al.* 2006),

padi (Rahman *et al.* 2009), kedelai (Chaerani *et al.* 2011) dan kentang (Novakova *et al.* 2009). Pada tanaman perkebunan juga digunakan untuk menganalisis keanekaragaman kelapa sawit (Made & Sekar 2013). Pada kehutanan seperti pada jati arboretum (Imas 2013), tanaman jati sungu (Nurtjahjaningsih & Rimbawanto 2012).

Penanda mikrosatelit dalam mengungkap keanekaragaman genetik yang dilakukan oleh Tasliah *et al.* (2013) pada mangga dengan 26 primer mikrosatelit, menunjukkan variasi alel yang cukup tinggi (15-75 alel) di antara aksesori mangga dengan rata-rata jumlah alel sekitar 38,69, sedangkan rata-rata nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) sebesar 0,548 (0,021-0,949). Lima belas marka mikrosatelit memiliki nilai PIC >0,5 yang menunjukkan marka tersebut memiliki informasi yang tinggi untuk penelitian keanekaragaman genetik mangga.

Pada masa mendatang pemanfaatan mikrosatelit DNA, dalam program pengembangan tanaman akan membantu untuk (1) mempercepat mengidentifikasi penanda DNA atau gen tertentu yang berkaitan dengan suatu karakter spesifik yang bernilai ekonomi, (2) memperkecil penggunaan lahan untuk setiap satuan penelitian, (3) memperkecil biaya yang diperlukan untuk pemeliharaan tanaman mengingat tanaman termasuk dalam golongan tanaman tahunan, (4) dapat mencegah duplikasi materi koleksi. Pendekatan metode ini dilakukan dengan cara mengidentifikasi kedekatan secara genetik antar varietas. Ukuran amplifikasi alel maupun frekuensi alel berbeda untuk setiap varietas sehingga dapat digunakan sebagai analisa sidik jari (*fingerprinting*) pada tanaman. Varietas yang mempunyai struktur alel yang sama akan mengelompok, sebaliknya varietas dengan struktur alel yang berbeda akan terpisah.

2.5 Teknik Molekuler dan Sumbangan Bioinformatika dalam Analisis Keanekaragaman Genetik

Isolasi DNA adalah mengisolasi DNA dari dalam sel dan memurnikan DNA dari zat-zat pengotor. Kualitas DNA yang baik yang diperoleh dari hasil isolasi merupakan syarat dasar yang harus dipenuhi dalam studi molekuler, terutama dalam penandaan sidik jari DNA. *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) merupakan metode yang umum digunakan dalam isolasi DNA tanaman yang banyak mengandung polisakarida dan senyawa polifenol (Lumaret *et al.* 1998; Jose & Usha 2000). Langkah utama dalam isolasi DNA, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Surzycki 2000).

Metode CTAB dikembangkan oleh Doyle & Doyle (1987). CTAB merupakan detergen kation untuk melisiskan sel. Senyawa CTAB mampu membentuk kompleks dengan DNA dan larut dalam air pada konsentrasi garam NaCl lebih dari 0,5 M. Senyawa CTAB digunakan untuk mengisolasi DNA genom tanaman, kemudian DNA dimurnikan dari zat yang terdapat dalam tanaman seperti polisakarida dan senyawa fenolik (Moore & Dowhan 2002).

Durian adalah salah satu tanaman musiman yang pada daun banyak sekali mengandung senyawa polisakarida. Apabila daun digerus, polisakarida tersebut akan keluar dan akan menjadi penghambat dalam isolasi dan purifikasi DNA, sehingga hasilnya tidak baik. Pada umumnya teknik isolasi DNA pada tanaman berpolisakarida tinggi diperlukan berbagai modifikasi, seperti penambahan β -*mercaptoetanol* atau penggunaan nitrogen cair untuk membantu menghancurkan

jaringan serta penyimpanan lebih lama (*over night*) dari ekstrak daun yang telah digerus.

Prinsip kerja isolasi DNA dengan metode CTAB adalah mengekstrak DNA secara mekanik yaitu pembekuan dengan nitrogen cair, kemudian digerus dengan mortar. Buffer isolasi yang mengandung CTAB, senyawa β -*mercaptoetanol*, *Tris base*, NaCl, dan EDTA ditambahkan ke dalam sampel isolasi DNA. Senyawa β -*mercaptoetanol* berfungsi sebagai agen pereduksi dan dapat memotong ikatan disulfida pada protein. Pemisahan DNA dari protein dilakukan dengan menambahkan larutan kloroform isoamilalkohol (24:1), kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi. Pemurnian DNA dari RNA dilakukan menggunakan enzim *RNAse*. Larutan DNA kemudian diendapkan dengan isopropanol dan etanol absolut. Pelet DNA dilarutkan dengan *buffer* TE yang berfungsi untuk menjaga struktur DNA.

Sejalan dengan perkembangan biologi molekuler yang pesat, data hasil eksperimen laboratorium makin berlimpah. Bioinformatika adalah suatu ilmu yang digunakan untuk mengolah data menjadi informasi yang bermanfaat. Bioinformatika merupakan ilmu gabungan antara biologi dan teknik informatika. Tugas bioinformatika untuk memecahkan permasalahan biologi molekuler secara komputasi. Permasalahan tersebut dapat berupa hal-hal mendasar, seperti memecahkan mekanisme enzim, permasalahan biomedis, seperti desain primer, obat dan vaksin (Claverie *et al.* 2006).

Kegunaan bioinformatika dalam analisis variasi genetik di antaranya adalah membantu dalam kegiatan desain primer, sehingga mampu mendapatkan sekuen primer yang spesifik dan efisien. Rancangan suatu primer melalui

bioinformatika dapat memberikan hasil PCR yang optimal. Oleh karena itu, peran bioinformatika dibutuhkan untuk dapat memberikan data keanekaragaman genetik yang polimorfis dan akurat (Amoozegar & Rezvannejad 2014).



BAB 5

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan keanekaragaman alel mikrosatelit durian lokal koleksi *ex-situ* Hortimart tinggi dan polimorfik. Keanekaragaman alel diketahui berdasarkan nilai frekuensi alel. Frekuensi alel berturut-turut pada lokus mDz3D11 adalah 1,2-12,2 %, mDz03H9 sebesar 1,2-13,4% dan mDz78B2 adalah 1,2-12,2%. Analisis pengelompokan menunjukkan terdapat dua kelompok besar dengan tingkat kemiripan genetik berkisar 0.72-0.97. Nilai koefisien terbesar terdapat pada aksesori Romowijoyo dan Abiyoso, menunjukkan keduanya masih berkerabat dekat karena memiliki banyak persamaan karakter molekuler. Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa durian 41 aksesori yang diteliti merupakan kultivar/varietas yang berbeda.

5.2 Saran

Penelitian ini perlu dilakukan lebih lanjut untuk memastikan keanekaragaman genetik durian lokal menggunakan penanda mikrosatelit yang lebih banyak agar data yang dihasilkan lebih akurat dan komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambionet. 2004. Lokakarya Teknik Dasar Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman. Badan penelitian dan pengembangan pertanian, Indonesia.
- Amoozegar & Rezvannejad, E. 2014. Primer design using gravitational search algorithm. *Conference. Intell. System.* 1 (6): 22-28.
- Anuradha, H.J., K, Vijayan., C.V, Nair & A, Manjula. 2013. A novel and efficient protocol for the isolation of genomic DNA from mulberry (*Morus L.*). *Emirates Journal Food Agriculture* 25 (2): 124-131.
- Baack, E.J. 2005. Ecological factors influencing tetraploid establishment in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*, Ranunculaceae): minority cytotype exclusion and barriers to triploid formation. *American Journal of Botany.* 92: 1827–1835.
- Bembouza, H., Jaquemin, J.M., Baudoin, J.P & Mergeai, G. 2006. Optimization of a realible, fast, cheap and sensitive and silver staining method to detect ssr markers in polyacrilamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10 (2): 77-81.
- Bruvo, R., Michiels, N.K., D'souza, T.G & Schulenberg. 2004. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Mol. Ecol* 13: 2101–2106.
- Cahyarini, R.D, Yunus, A., Purwanto, E. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *Agrosains.* 6 (2):79-83.
- Callen, D.F., A.D. Thompson., Y. Shen., H.A. Phillips., R.I. Richard and J. C. Mulley. 1993. Incidence & origin of 'null' alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *Amer. J. Hum Gen.* 52:922–927.
- Chaerani., Hidayatun, N., & Dwinita, W., Utami. 2011. Keanekaragaman genetik 50 aksesori plasma nutfah kedelai berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen.* 7 (2): 96-105.
- Claverie., Jean, M., Notredame & Cedric. 2006. *Bioinformatics for Dummies.* John Willey and Sons, New Jersey.
- Courtouis, B. 2002. *Microsatellite markers.* Cirad-Biotrap.
- Creste, S., Neto, A.T., Silva, S.O. & Figueira, A. 2003. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa spp.*) from Brazil using microsatellite markers. *Euphytica.* 132:259-268.
- Creste, S., Neto, A.T., Vencovsky, R., Silva, S.O. & Figueira, A. 2004. Genetic diversity of *Musa* diploid and triploid accessions from the Brazilian banana breeding program estimated by microsatellite markers. *Genet. Res. Crop. Evol.* 51:723-733.

- Crowder, L.V. 1986. *Genetik Tumbuhan*. Terjemahan Kusdiarti Lilik. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Dakin & J.C. Avise. 2004. *Microsatellite null alleles in parentage analysis*. Department of Genetics, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA.
- Datta, P.C., & Chhabi Biswas. 1968. Karyotypes Study of *Durio zibethinus* L. *Genetica*. 40: 40-42.
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle. 1987. A rapid dna isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 2 (19): 11-15.
- Estoup, A., P. Jarne, & J.M. Cornent. 2002. Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetic analysis. *Molecular Ecology*. 11: 1591-1604.
- Feng, Z.Y., Liu, X.J., Zhang, Y.Z., & Ling, H.Q. 2006. Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using ssr markers. *Acta Genetica Sinica*. 33 (10): 917-928.
- Frankham, R., D. Ballou, & D.A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. New York.
- Galli, Z., Halasz, G., Kiss, E., Heszky, L., & Dobranszki, J. 2005. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *Hort Sci*. 40: 1974-1977.
- Ginot, F., I. Bordelais, S. Nguyen & G. Gyapay. 1996. Correction of some genotyping errors in automated fluorescent microsatellite analysis by enzymatic removal of obo base overhangs. *Nucleic Acid Research*. 23 (3): 540-541.
- Gous, M., Mohd, Y., Rafii, Mohd, R., Ismail, Adam, B., Puteh, Harun, A., Rahim, Kh. Nurul, I., & Mohammad, A.,L. 2013. A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 22499-22528.
- Groom, M.J., Meffe, G.K. & Carroll, C.R. 2006. *Principles of Conservation Biology (3rd ed.)*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. Website with additional information: <http://www.sinauer.com/groom/>
- Integrated DNA Technologies. 2011. Breaking PCR: A systematic investigation of intentional violations of a basic polymerase chain reaction amplification protocol.
- Ika Puspita, S. 2016. Karakterisasi morfologi dan agronomi durian (*Durio zibethinus* murr.) di kebun koleksi plasma nutfah pt. hortimart agro center, bawen, kabupaten semarang. *Skripsi*. FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Imas, C. 2013. Analisis variasi genetik varian jati arboretum dengan penanda mikrosatelit. *Jurnal Pendidikan Sains*. 1 (2): 109-114.

- Jose, J. & R. Usha. 2000. Extraction of geminiviral DNA from a highly mucilaginous plant (*Abelmoschus esculentus*). *Plant Mol. Biol.* 2 (18): 349-355.
- Kalia, R.K., Manoj, K.R., Sanjay, K., Rohtas, S. & Dhawan, A.K. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*. 177. 309-334.
- Keith, L. Adams. 2007. Evolution of duplicate gene expression in polyploid and hybrid plants. *Journal of Heredity*. 98 (2) : 136–141.
- Kristianto, N., Rerenstradika, T., Terryana, & Puji, L. 2015. Optimasi metode isolasi dna pada *Jatropha spp.* *Jurnal Agroteknologi*. 5: 15-22.
- Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R & Pandey, B.K. 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics J.* 2: 141-162.
- Lumaret, R., H. Michaud, J.P. Ripoll, & L. Toumi. 1998. *Chloroplast dna extraction procedure for species high in phenolics and polysaccharides*. p. 15-17. In A. Karp, P.G. Isaac, and D.S. Ingram (Eds.). *Molecular Tool for Screening Biodiversity*. Chapman and Hall, London.
- Made, T., & Sekar, A. 2013. Analisis diversitas genetik aksesi kelapa sawit kamerun berdasarkan marka ssr. *Jurnal Littri* 19 (4): 194-202.
- Mariya, U & Retnoningsih, A. 2010. Penanda mikrosatelit sebagai penciri jati "plus". *Floribunda*. 4(1): 5-15.
- Michiels, A., W.V., den Ende., M. Tucker., L.V. Riet & A.V. Laere. 2003. Extraction of high-quality genomic dna from latex-containing plants. *Analytical Biochemistry*. 315:85–89.
- Moore, D.D. & D. Dowhan. 2002. *Preparation and analysis of DNA*. Dalam: Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith dan K. Struhl, 1995. Current protocol in molecular biology. Vol I. John Wiley & Sons, Inc. : xxiv + 9.17.3 hlm.
- Muladno. 2002. *Teknologi Rekayasa Genetik*. Bogor. Pustaka Wirausaha Muda.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Novakova, A., Simackova, K., Barta, J. & Curn, V. 2009. Potato variety identification by molecular markers based on retrotransposon analyses. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 45 (1): 1-10
- Novelli, V.M., Cristofani, M., Souza, A.A., & Machado, M.A. 2005. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers for the sweet orange (*Citrus sinensis* L Osbeck). *Genet Mol Biol.* 29: 90-96.
- Nurtjahjaningsih, I.L.G. & A, Rimbawanto. 2012. *Identifikasi Jati Sungu Menggunakan Penanda Mikrosatelit*. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan: Bogor.

- Oliveira, E.J., J.G. Pádua, M.I. Zucchi, R., Vencovsky, & M.L.C. Vieira. 2006. Origin, evolution, and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Biol.* 29(2):294-307.
- Panca, Jarot. 2015. Komunikasi Pribadi. Balai Penelitian Buah (Balitbu) Tropika Bandung. Bandung Indonesia.
- Pancoro, A., Annisa, Suhandhono, S., & Mulyani, Y. 2005. Aplikasi penanda molekuler mikrosatelit untuk analisis keanekaragaman genetik dan heterozigositas pada mangga. *Seminar Nasional dan Kongres III Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia (PBPI)*. Malang, Indonesia.
- Patzak, J.F., Paprstein, A. Henychova & J. Sedlak. 2012. Genetic diversity of czech apple cultivars inferred from microsatellite markers analysis. *Hort. Sci. (Prague)*. 39 (4): 149-157.
- Pandin, D.S. 2010. Penanda DNA untuk pemuliaan tanaman kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Perspektif*. 9 (1): 21-35.
- Rahman, M.S., Rezwan, M., Samsul, A. & Rahman, L. 2009. DNA fingerprinting of rice (*Oriza sativa* L.) cultivars using microsatellite markers. *Australian Journal of Crop Science*. 3 (3): 122-128.
- Restu, M., Mukrimin & Gusmiaty. 2012. Optimalisasi teknik ekstraksi dan isolasi dna tanaman suren (*Toona sureni* merr.) untuk analisis keragaman genetik berdasarkan *random amplified polymorphic dna* (rapd). *Jurnal Natur Indonesia*. 14 (2): 138-142.
- Retnoningsih, A., Megia, R.. & Hartana, A. 2009. Microsatellite markers for classifying and analysing genetic relationship between banana cultivars in Indonesia. *ActaHortic*.897.16.
- Retnoningsih, A., Megia, R., & Hartana, A. 2010. Characterization and evaluation of *Musa acuminata* cultivars in Indonesia based on microsatellite markers. *Floribunda* (in press).
- Richael, S., Gusti, R.S., & Muzuni. 2012. Analisis variasi genetik jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) asal Sulawesi Tenggara menggunakan marka molekuler 'aflp' (*amplified fragment length polimorphism*). *Jurnal agronomi*. 1 (2): 164-173.
- Rifa'i, Mien.A. 2004. *Kamus biologi*. Balai Pustaka: Jakarta.
- Rohati, U.H. 2013. Keanekaragaman molekuler durian berdasarkan fragmen *internal transcribed spacers* (its) dna ribosomal melalui analisis pcr-rflp. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Negeri Semarang.
- Rohlf, F.J. 2000. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.1*. Applied Biostatistics Inc. 83 p.
- Sambrook, J. & D.W. Russel. 2001. *Molecular Cloning A Laboratory Manual*. Vol. 2. 3rd ed. Spring Harbor Laboratory Press. New York.

- Sambrook, J. & D.W. Russel. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Press. 2nd edition 165p.
- Shinde, D, Lai Y. L, Sun F. Z, and Arnheim N. 2003. Taq dna polymerase slippage mutation rates measured by pcr and quasilielihood analysis: (ca/gt)(n) and (a/t)(n) microsatellites. *Nucleic Acids Res.* 31:974–980.
- Siregar, M. 2006. Species diversity of local fruits trees in Kalimantan: problems of conservation and its development. *Biodiversitas.* 7 (1): 94-99.
- Selkoe, K.A. & R.J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters.* 9: 615-629.
- Sengbusch, P. 2004. Polyploidy. On line at [http:// Botani online.evolution-the moden synthesis-polyploidy](http://Botani online.evolution-the moden synthesis-polyploidy) [Accessed 10 September 2016].
- Small, R.L., R.C. Cronn & J.F. Wendel. 2004. The use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants. *Australian Systematic Botany.* 17:145-170.
- Stansfield, W.D. 1991. *Genetik, Edisi Kedua*. Erlangga, Jakarta.
- Steven, T., Kalinowski & Mark, L. Taper. 2006. Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetic.* 10592-006-34-19.
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Syafaruddin, E.R. & Tri, J. S. 2011. Efektivitas dan efisiensi teknik isolasi dan purifikasi dna pada jambu mete. 2011. *Buletin Ristri.* 2 (2): 151-160.
- Solihin, D.D. 2000. *Application of Microsatellite Marker in Plant Genetic Divesity*. Bogor. Bogor Agriculture University.
- Tasliah, J. Prasetyono., A. Dadang., M. Bustamam & S. Moeljopawiro. 2011. Studi agronomis dan molekuler padi umur genjah dan sedang. *Berita Biologi.* 10 (5): 663-673.
- Tasliah., Habib, R., Tri, Z.P., Hariyadi., Siti, Y., Rebin, M., & Tiur, S.S. 2013. Analisis keanekaragaman genetik 161 aksesi mangga Indonesia menggunakan marka mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen.* 9 (3):125-134.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic dna marker. *Nucl. Acids Res.* 17:6443-6471.
- Tri, J.S., Sri, H., Hidayat., M. Herman., H. Aswidinnoor., & Sudarsono. 2008. Identitas dan keanekaragaman genetik begomovirus yang berasosiasi dengan penyakit keriting pada tomat berdasarkan teknik *polymerase chain reaction (pcr)-restriction fragment length polymorphism (rflp)*. *Jurnal AgroBiogen.* 4 (1): 9-17

- Uji, T. 2005. Keanekaragaman jenis dan sumber plasma nutfah durio (*Durio spp.*) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah*. 11 (1): 28 – 33.
- Uji, T. 2007. Keanekaragaman jenis buah-buahan asli Indonesia dan potensinya. *Jurnal Biodiversitas*. 2 (8): 157-167.
- United States Department of Agriculture. 2008. Plants profile for durian. *Online at <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=DURIO>*. (accessed 30 Januari 2017).
- Utami, D.W., Sutoro, N. Hidayatun, A. Risliawati, dan I.H. Somantri. 2011. Keragaman genetik 96 aksesi plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka ssr terpaut gen pengatur waktu pembungaan (*Hd genes*). *J. AgroBiogen* 7 (2): 76-84.
- Vanijajiva, O. 2011. The application of ISSR markers in genetic variance detection among Durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi province, Thailand. *Procedia Engineering*. 32 (2012): 155 – 159.
- Vierstraete, A. 1999. Principles of PCR [Internet]. [diunduh 2016 April 9]. Tersedia pada: <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html>.
- Wandia, I.N. 2003. Mikrosatelit sebagai penanda molekul untuk mengukur polimorfisme genetik monyet ekor panjang di Sangeh, Bali. *J. Vet. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana*. 4(3):93-100.
- Wang, L., R. Guan, L. Zhangdong, R. Chang, & L. Qiu. 2005. Genetic diversity of classic cultivated soybean revealed by ssr markers. *Crop Sci*. 46 (3): 1032-1038.
- Winarno. 2000. Kebijakan pemerintah dalam pengembangan hortikultura Indonesia. *Prosiding Seminar Sehari*. Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional. Menggali potensi dan meningkatkan prospek tanaman hortikultura menuju ketahanan pangan. Pusat Konservasi Tumbuhan. Kebun Raya Bogor : 9 – 15.
- Zainudin, A., Maftuchah., Chairani, M., Tri, J.S. 2010. Keanekaragaman genetik beberapa aksesi tanaman mangga berdasarkan penanda molekuler mikrosatelit. *Laporan Program Penelitian Fundamental*. Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik, Bogor.
- Zulfahmi. 2013. Penanda dna untuk analisis genetik tanaman. *Jurnal Agroteknologi*. 3 (2): 41-52.