



APLIKASI MARKA SSR PADA KEANEKARAGAMAN GENETIK DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) DI KABUPATEN DELI SERDANG, SUMATRA UTARA

THE APPLICATION OF SSR MARKERS IN GENETIC VARIABILITY AMONG DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) IN THE DELI SERDANG REGENCY, NORTH SUMATRA PROVINCE

Rumaisha Afifatul Hafizah^{1*}, Robiatul Adawiyah¹, Rifai Muda Harahap², Saleha Hannum¹,
Panca Jarot Santoso³

¹Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera, Utara. Jl. Bioteknologi no. 1, Medan 20155

²Program studi Kehutanan Fakultas Kehutanan, Universitas Sumatera Utara, Jl. Bioteknologi no. 1, Medan 20155

³Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Jl. Raya Solok Aripian Km. 8, Solok 27356

*Corresponding author: rumaishaafifah@gmail.com

Naskah Diterima: 12 Juli 2017; Direvisi: 18 Juli 2017; Disetujui: 1 November 2017

Abstrak

Kabupaten Deli Serdang merupakan salah satu kontributor untuk produksi durian (*Durio zibethinus* Murr.) Provinsi Sumatra Utara. Durian Deli Serdang memiliki varietas yang banyak dikenal di pasar buah domestik, diantaranya; Bintana, Ginting, dan Sikapal. Pada penelitian ini, dilakukan analisis keanekaragaman genetik pada durian asal Deli Serdang untuk memperoleh informasi keragaman genetik dan hubungan antar aksesori dengan menggunakan 6 lokus *Simple Sequence Repeats* (SSR). Hasil menunjukkan bahwa 9 aksesori durian yang dikoleksi dari Kabupaten Deli Serdang berhasil diamplifikasi dan bersifat polimorfik. Hal ini dibuktikan dengan hasil visualisasi lokus SSR yang menghasilkan 23 fragmen DNA berukuran 72–255 bp yang didapat melalui bantuan piranti lunak GeneMarker V2.6.7. Hasil penelitian juga menampilkan konstruksi dendrogram yang menunjukkan kemiripan antar aksesori durian Deli Serdang yang didapat melalui bantuan perangkat lunak NTSYSpc V2.0.2. Susunan antar aksesori pada pohon dendrogram terlihat menyerupai pohon filogenetik, aksesori terpisah dan menyebar pada koefisien 0,54–0,95 yang tidak dipengaruhi oleh sebaran geografis. Data ini dapat menjadi dasar penelitian budidaya dan konservasi buah durian di Indonesia khususnya di Sumatra Utara.

Kata kunci: Deli Serdang; *Durio zibethinus*; Keanekaragaman genetik; SSR; Sumatra Utara

Abstract

Deli Serdang is one of the contributors of durian (*Durio zibethinus* Murr.) production in North Sumatra Province. The varieties of Durian in Deli Serdang have widely known in the domestic market, such as Bintana, Ginting, and Sikapal. In this study, genetic diversity analysis on durian origin of Deli Serdang was conducted to obtain information on genetic diversity and relationship among accessions by using 6 loci of *Simple Sequence Repeats* (SSR). The results showed that 9 accessions of durians collected from Deli Serdang were successfully amplified and polymorphic. It was confirmed by visualization of the SSR loci that resulted in 23 DNA fragments with 72–255 bp in size and was obtained by using GeneMarker V2.6.7 software. The research also resulted in a constructed dendrogram that showed similarities among accessions of the durian in Deli Serdang and was obtained by using NTSYSpc V2.0.2. The arrangement among accessions on the dendrogram was similar to the phylogenetic tree; the accessions looked separated and spread at 0.54–0.95 in coefficient which was not affected by geographical distribution. The results of this study are expected as the information and the basis for durian conservation and cultivation activities in Indonesia, especially in North Sumatra.

Keywords: Deli Serdang; *Durio zibethinus*; Genetic diversity; North Sumatra; SSR

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v11i1.5668>

PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dikenal sebagai 'King of fruit' dari buah tropis karena cita rasa buahnya yang unik dan aroma buahnya yang kuat dan khas (Siriphanich, 2011), selain itu durian memiliki nilai ekonomi yang cukup penting karena banyak diminati dari berbagai segmen masyarakat (Yulita, 2013).

D. zibethinus diduga berasal dari Sumatra karena banyak ditemukan tumbuh liar di kawasan ini (Brown, 1997; Kostermans, 1992).

Provinsi Sumatra Utara (86.297 ton/tahun) merupakan sentra produksi durian ke-2 terbesar di Indonesia setelah Jawa Timur (114.242 ton/tahun) khususnya di Kabupaten Deli Serdang, Tapanuli Tengah dan Tapanuli Selatan (Kementerian Pertanian, 2014). Kultivar-kultivar unggul durian di Sumatra Utara, diantaranya kultivar Bintana, Ginting, Lumapelo, dan Sikapal. Sangat terkenal dengan struktur daging buah dan cita rasanya yang legit (Sobir & Napitupulu, 2015). Tanaman endemik Provinsi Sumatra Utara ini terdapat di wilayah yang berbeda-beda dengan kekhasannya masing-masing, sehingga dapat diperkirakan terdapat keanekaragaman genetik yang tinggi.

Analisis keanekaragaman genetik dengan penanda molekuler sudah menjadi metode standar dengan hasil yang akurat, walaupun setiap penanda memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing (Weising *et al.*, 2005). Penanda molekuler merupakan suatu fragmen DNA yang berada pada suatu lokasi tertentu pada genom yang memiliki kaitan dengan suatu karakter. Penanda molekuler yang ingin digunakan bergantung pada faktor-faktor seperti kesesuaian penelitian dan konten informasi yang diinginkan (Yu, 2002). *Simple Sequence Repeat* (SSR) merupakan penanda molekuler yang mengapit daerah *non coding* dengan urutan basa pendek berulang yang terdapat pada lokus tertentu (Weising *et al.*, 2005). Penggunaan marka SSR relatif mudah (Ting *et al.*, 2010), sangat informatif, lokusnya spesifik, dan mampu membaca sifat kodominan, sehingga dapat diaplikasikan untuk analisis keanekaragaman genetik (Yu, 2002). Beberapa waktu terakhir penelitian durian dengan marka molekuler mulai banyak dilakukan, misalnya marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Hariyati *et al.*,

2013; Vanijajiva, 2011; Yulita, 2013), *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) (Vanijajiva, 2012; Widiastuti *et al.*, 2013), dan SSR (Kristianti, 2005; Nafsi, 2007; Santoso *et al.*, 2016; Wahyuningtyas *et al.*, 2009; Zainudin *et al.*, 2010). Informasi mengenai analisis keragaman genetik durian dengan penanda SSR masih jarang dijumpai. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran keragaman genetik dan menjadi landasan kegiatan budidaya dan konservasi buah durian di Indonesia khususnya di Sumatra Utara.

MATERIAL DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel tanaman yang dianalisis berupa daun muda dari 9 aksesori yang dikoleksi dari Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatra Utara (Tabel 1). Untuk menjaga kondisi daun tetap baik, maka setelah pengkoleksian sampel langsung diberikan *silica gel* dan dikemas dalam plastik (Santoso *et al.*, 2016).

Ekstraksi DNA

DNA genom diekstraksi dengan metode CTAB mengikuti prosedur Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Menggunakan sampel daun kering (0,02 g) yang digerus dengan mortar dan pistil. *Buffer* ekstraksi sebanyak 1 mL ditambahkan kemudian diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1 jam dengan membolak-balik secara regular setiap 10 menit, kemudian ditambahkan dengan 24:1 kloroform:isoamil alkohol pada suhu ruang dan dihomogenkan. Setelah disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 15 menit, supernatan dipindah ke *microtube* yang baru. Purifikasi DNA dengan kloroform dan isoamil alkohol dilakukan sekali lagi hingga batas antara dua fase menipis. Endapan DNA dihasilkan dengan penambahan 0,6 volume isopropanol yang diinkubasi semalaman pada suhu rendah dan disentrifugasi kembali. Pelet DNA dilarutkan dengan *buffer* TE dan dibersihkan dengan sodium asetat dan etanol absolut, inkubasi suhu rendah selama 30 menit, selanjutnya diendapkan dengan sentrifugasi 13.000 rpm. Pelet DNA dicuci dengan etanol 70%. Pelet akhir DNA dicampurkan dalam *buffer* TE. Kemudian DNA disimpan pada suhu -20 °C sehingga dapat digunakan untuk keperluan berikutnya.

Amplifikasi SSR-PCR

Reaksi amplifikasi dilakukan mengacu pada protokol yang diuraikan oleh Santoso *et al.* (2016) dengan menggunakan 20 μ L reaksi campuran yang terdiri dari 1X KAPA2G Fast Ready Mix (*Biosystem*), 0,25 μ M primer *forward* yang sudah digabungkan dengan urutan universal (M13), 0,5 μ M primer *reverse*, 0,5

μ M label *fluorescence*, 20 ng templat DNA, 3% DMSO, dan ddH₂O. Sekuens primer SSR yang ditampilkan pada Tabel 2 merupakan hasil pengujian dari sampel durian dengan profil SSR terbaik.

Tabel 1. Sembilan (9) aksesori durian asal Kabupaten Deli Serdang

Sampel daun	Tempat koleksi	Titik koordinat
Durian Alpukat	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E
Durian Bintana	Hampanan Perak	3.7619° N, 98.5941° E
Durian Cimpa	STM Hilir	3.3601° N, 98.7261° E
Durian Ginting	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E
Durian Kucing Titun	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E
Durian Sikapal	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E
Durian Sikesip	Tiga Juhar	3.2730° N, 98.7178° E
Durian Sikulpik	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E
Durian Silapung	Biru-biru	3.3708° N, 98.6491° E

Tabel 2. Sekuens primer SSR dan hasil optimasi suhu penempelan

Lokus	Primer <i>forward & reverse</i>	TA (°C)	Motif	Referensi
DzMTa006	ACCTTCTCCCCATTTTCACCAAACCA AGGGCACACTCATTTTTGCTTTGTTTC	56	(AT) ₁₁	Santoso (2016)
DzGCCG01	GGTGGGTTCAAGCACATCTT TCAAACCAGACCGAGGGTGA	56	(GCCG) ₂	Nafsi (2007)
DzMTa007	TCCCCAGCACTTGCAAATTTCCCT ACCCTAGCCTTTTATGCAACACCAC	62	(AG) ₁₃	Santoso (2016)
Dz844	TGGTTGAATGCCCGCACGCT TCGGACCGATCCACCCCTGC	66	(CAG) ₃	Kristianti (2005)
DzMTa005	TGGGATTTGGATGATGGGTTGTTTTCA CGGCCGCGGAATTCGATTGAT	61	(TG) ₈	Santoso (2016)
Dz621	ACCGGACCGAGGGTTGTGGT GCAAGCCGGGGATCGACCAG	61	(CTGG) ₃	Kristianti (2005)

Program PCR dijalankan dengan pengaturan suhu predenaturasi 94 °C selama 4 menit kemudian diikuti oleh 35 siklus, setiap siklus terdiri dari tiga tahap yaitu denaturasi 94 °C selama 30 detik, tahap berikutnya penempelan (*annealing*) dengan suhu disesuaikan dengan masing-masing primer pada kisaran suhu 56–66 °C selama 30 detik, kemudian tahap pemanjangan (*extension*) dengan suhu 72 °C selama 45 detik, diakhiri dengan tahapan pemanjangan akhir suhu 72 °C selama 7 menit. Hasil amplifikasi DNA kemudian divisualisasi dengan elektroforesis pada 2% gel agarosa pewarnaan etidium bromida. Setiap sumuran

gel berisi 3 μ L sampel dan 1 sumur DNA *ladder*. Elektroforesis dijalankan dengan pengaturan arus listrik 100 A selama 40 menit dalam *buffer Sodium Boric Acid* (SB) 1X. Selanjutnya pita hasil amplifikasi dapat diamati menggunakan BioDocAnalyze (BDA) digital (Biometra).

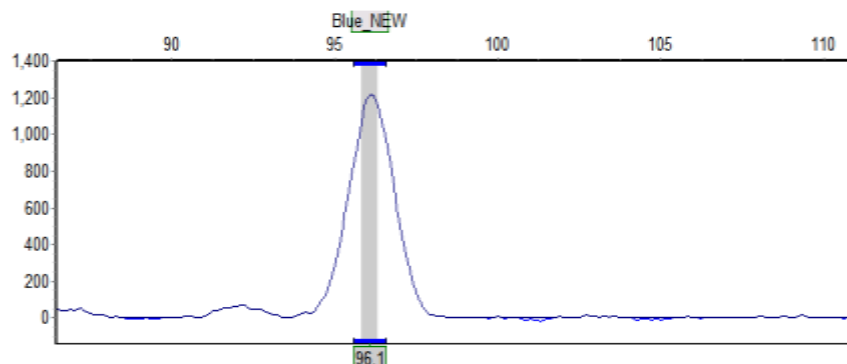
Analisis Data

Fragmen DNA hasil amplifikasi berlabel FAM, HEX, dan TAMRA dipisah dengan menggunakan *capillary sequencer* yang disediakan oleh jasa komersial MacroGen Inc. (Korea). Hasil *scanning* berupa data format

fasta (*.fsa) yang dibaca menggunakan piranti lunak GeneMarker[®] V2.6.7 (SoftGenetics, USA) (*demo version*). Alel-alel diseleksi yang dianggap memenuhi kriteria (skor, kualitas, dan nilai intensitas tertinggi), kemudian dikonversi menjadi data binerformat excel (*.xls). Hasil analisis fragmen untuk mengetahui keanekaragaman genetik aksesori durian asal Kabupaten Tapanuli Tengah, dilakukan analisis gerombol (*cluster analysis*), dengan menggunakan metode *Unweight Pair-Group Methode Arithmetic* (UPGMA) menggunakan fungsi *Similarity Qualitative* (SIMQUAL) dan rumus perhitungan koefisien *Dice* (Rohlf, 2000).

HASIL

Profil SSR



Gambar 1. Contoh grafik puncak pancaran label fluoresen (FAM) pada salah satu aksesori durian menggunakan lokus DzMTa06

Berdasarkan penggunaan 6 lokus SSR pada 9 aksesori durian Deli Serdang dihasilkan sebanyak 22 fragmen DNA (Tabel 3). Lokus dengan jumlah fragmen terbanyak adalah DZGCCG01 sebanyak 5 alel, dan lokus terendah yaitu DZMTA07 sebanyak 2 alel.

Perbanyak atau amplifikasi DNA pada saat PCR bertujuan untuk memperbanyak lokus mikrosatelit yang diinginkan guna memperjelas keberadaan lokus yang diharapkan. Keenam lokus yang digunakan berhasil diamplifikasi pada 9 aksesori durian Sumatra Utara. Hasil visualisasi yang dilakukan pada salah satu lokus yang diinginkan dapat dilihat pada elektroferogram Gambar 1 sebagai peraga. Elektroferogram menunjukkan bahwa lokus DzMTa06 berhasil diamplifikasi pada alel 96 bp berdasarkan label fluoresen FAM (biru). Amplifikasi motif mikrosatelit pada lima pasang primer lainnya juga berhasil dilakukan dengan jumlah alel yang berbeda-beda (Tabel 3).

Berdasarkan hasil amplifikasi, ukuran alel dari keseluruhan lokus berkisar dari 72–255 bp dengan frekuensi terendah 0,11 (hanya muncul pada satu aksesori) dan yang tertinggi 1,00 (muncul pada seluruh aksesori).

Tabel 3. Ukuran alel, frekuensi alel, dan jumlah alel 6 lokus SSR pada 9 aksesori durian Deli Serdang

Primer	Ukuran alel (pb)	Frekuensi alel	Jumlah alel
DZMTA06	81-255	0.11-0.78	4
DZGCCG01	73-220	0.11-0.78	5
DZMTA07	72-89	0.11-1.00	2
DZMTA05	73-96	0.11-1.00	4
DZ844	81-184	0.22-0.56	4
DZ621	89-248	0.56-0.89	3
Jumlah total alel			22

Keanekaragaman Genetik dan Hubungan Aksesori Durian Kabupaten Deli Serdang

Untuk memperkirakan keanekaragaman genetik durian Kabupaten Deli Serdang, maka diperlukan perhitungan koefisien kemiripan

genetik. Matrik kemiripan pada Tabel 4 menunjukkan jarak genetik antar aksesori yang

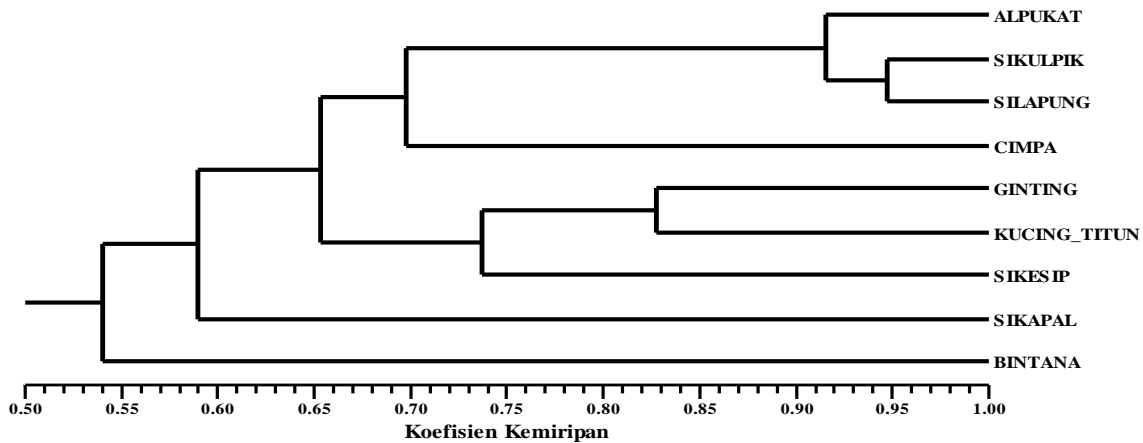
dihasilkan berdasarkan koefisien *Dice*. Jarak genetik berkisar antara 0,44 hingga 0,95 pada 9 aksesori durian Deli Serdang yang digunakan. Nilai matriks kemiripan berkorelasi negatif dengan jarak genetik, artinya semakin rendah nilai matriks kemiripan menunjukkan nilai jarak genetik yang semakin tinggi.

Tabel 4. Matriks jarak genetik 8 aksesori durian Kabupaten Tapanuli Tengah menggunakan 6 lokus SSR

Aksesori	Alpukat	Bintana	Cimpa	Ginting	Kucing-Titun	Sikapal	Sikesip	Sikulpiik
Bintana	0,59							
Cimpa	0,70	0,57						
Ginting	0,76	0,55	0,72					
KucingTitun	0,58	0,48	0,57	0,83				
Sikapal	0,71	0,53	0,44	0,63	0,55			
Sikesip	0,55	0,52	0,54	0,74	0,73	0,50		
Sikulpiik	0,89	0,53	0,73	0,78	0,69	0,63	0,67	
Silapung	0,94	0,56	0,67	0,73	0,64	0,67	0,61	0,95
0,44	Jarak genetik tertinggi							
0,95	Jarak genetik terendah							

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui nilai jarak genetik terendah (0,95) terdapat pada aksesori Silapung dan Sikulpiik, hal ini diperkirakan karena kedua aksesori berasal dari kecamatan yang sama yaitu Biru-biru. Jarak

genetik tertinggi terdapat pada aksesori Sikapal dan Cimpa yang diperkirakan karena aksesori berasal dari dua daerah yang berbeda, Sikapal berasal dari Kecamatan Biru-biru dan Cimpa berasal dari Kecamatan STM Hilir.



Gambar 2. Dendrogram 9 aksesori durian Deli Serdang berdasarkan 6 lokus SSR

Berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan marka SSR, dendrogram 9 aksesori durian asal Deli Serdang dikonstruksi menggunakan metode UPGMA pada Gambar 2. Struktur dendrogram menunjukkan kemiripan dengan struktur susunan pohon filogenetik. Dendrogram pada koefisien 0,54 memisahkan aksesori Bintana dengan 8 aksesori lainnya. Aksesori Bintana merupakan satu-satunya aksesori yang

berasal dari Kecamatan Hampan Perak, sehingga terlalu dini untuk menilai bahwa aksesori ini *out group*. Kemudian pada koefisien 0,59, aksesori Sikapal memisah dengan 7 aksesori lainnya. Sikapal berasal dari Kecamatan Biru-biru yang terpisah sendiri dari aksesori asal Kecamatan Biru-biru lainnya. Pemotongan garis pada koefisien 0,69 membagi dendrogram menjadi 4 grup dengan 2 grup besar. Grup

yang pertama berjumlah 4 aksesori, yaitu Alpukat, Sikulpik, Silapung, dan Cimpa. Pada grup ini hanya aksesori Cimpa yang terpisah. Hal ini diduga karena Cimpa merupakan satu-satunya aksesori yang berasal dari Kecamatan STM Hilir sedangkan 3 aksesori lainnya berasal dari Kecamatan Biru-biru. Pada grup kedua berjumlah 3 aksesori, diantaranya adalah aksesori Ginting, Kucing Titun, dan Sikesip. Sama halnya dengan Cimpa, aksesori Sikesip terpisah dari 2 aksesori lainnya, aksesori ini berasal dari Kecamatan Tiga Juhar sedangkan 2 aksesori lainnya berasal dari Kecamatan Biru-biru. Maka dendrogram ini tidak sepenuhnya memisahkan 9 aksesori durian Deli Serdang berdasarkan sebaran geografis. Karena aksesori asal Kecamatan Biru-biru walau ditemukan kolektif namun letaknya tersebar pada grup yang berbeda dan bergabung dengan aksesori asal daerah yang berbeda, walau tetap menunjukkan pemisahan pada tingkat sub-grup. Deskripsi data diatas menunjukkan bahwa keragaman genetik pada durian Deli Serdang tidak dipengaruhi oleh sebaran geografis melainkan perbedaan topografi lingkungan.

PEMBAHASAN

Profil SSR

Frekuensi alel yang muncul dapat menjadi ukuran sifat polimorfisme suatu lokus. Nilai polimorfisme digunakan untuk menentukan tingkat informativitas yang dihasilkan oleh suatu penanda DNA (Hildebrand *et al.*, 1992). Menurut Hartwell *et al.* (2004), suatu lokus dapat dikatakan polimorfik jika frekuensi kemunculannya kurang dari 0,99, artinya satu alel dapat muncul pada satu aksesori namun tidak muncul pada aksesori yang lain (William *et al.*, 1990). Suatu lokus juga dapat dikatakan polimorfik jika memiliki jumlah alel lebih dari satu (Goldstein & Schlotterer, 1999).

Polimorfisme atau keragaman alel yang dihasilkan dari suatu penanda merupakan gambaran keragaman atau variasi yang terjadi pada setiap gen individu (Hartwell *et al.*, 2004). Tingkat keragaman genetik pada tanaman sangat diperlukan dalam proses pemuliaan tanaman sekaligus menunjukkan bahwa populasi tanaman tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi (Matus & Hayes, 2002).

Keanekaragaman Genetik dan Hubungan Aksesori Durian Kabupaten Deli Serdang

Tampilan dendrogram di atas (Gambar 2) menjadi gambaran bahwa yang mempengaruhi keragaman genetik durian Deli Serdang adalah topografi lingkungan yang mencakup vegetasi, kondisi lingkungan, dan aktivitas manusia. Menurut Liu *et al.* (2002), heterogenitas lingkungan merupakan salah satu faktor ekologi yang sangat berpengaruh pada keragaman genetik suatu populasi dalam suatu daerah. Komponen biotik dan abiotik dalam suatu lingkungan juga memicu mekanisme epigenetik seperti metilasi DNA yang pada dasarnya turut mempengaruhi keragaman genetik, khususnya pada tanaman (Zhang *et al.*, 2009). Selain itu, Kabupaten Deli Serdang merupakan jalur perdagangan Selat Malaka. Daerah ini ramai dikunjungi untuk pelayaran, perdagangan, pariwisata dan aktivitas lainnya, kondisi ini sangat mendukung untuk pertukaran materi genetik antar komoditas yang dibawa pendatang dari daerah masing-masing (Withington, 1963).

Variasi materi genetik pada spesies menyebabkan keanekaragaman genetik yang berpengaruh pada perbedaan dalam aspek biokimia, aspek fisiologi dan aspek morfologi dalam suatu populasi (Yuwono, 2005). Pada dasarnya, penyebab keanekaragaman genetik dalam suatu populasi adalah peristiwa mutasi (perubahan dan pertukaran materi genetik). Mutasi dapat terjadi saat proses meiosis dan fertilisasi yang disebabkan oleh aktivitas pindah silang, rekombinasi, dan saat pemilahan pasangan kromosom. Rangkaian proses evolusi yang dipengaruhi oleh adanya migrasi, isolasi geografi, dan seleksi alam turut meningkatkan keanekaragaman genetik dalam populasi tersebut (Campbell *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2014). Keanekaragaman genetik lazim diketahui karena adanya peristiwa perkawinan. Perkawinan dengan tetua (*back cross*), perkawinan sekerabat (*inbreeding*), atau perkawinan bukan sekerabat (*outbreeding*) yang kemudian akan mempengaruhi komposisi genetik dalam suatu populasi (Fatchiyah *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Penelitian ini menggambarkan bahwa terdapat tingkat keanekaragaman durian yang tinggi pada 9 aksesori durian asal Deli Serdang.

Namun, berdasarkan hasil data yang didapat menerangkan bahwa sebaran geografis pada durian Deli Serdang bukan menjadi satu-satunya penyebab keanekaragaman, terdapat hal lain seperti perkawinan, migrasi, dan/atau kondisi topografi lingkungan lainnya yang masih memerlukan observasi lebih lanjut. Penelitian ini masih terbatas pada data keanekaragaman genetik yang masih perlu dikonfirmasi lebih lanjut pada kondisi aktual di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terima kasih dan apresiasi sebesar-besarnya kepada Bapak Ismail Ginting dan Bapak Sunardi Mulyatani, para penangkar benih durian Sumatra Utara. Kepada Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi melalui Program Kreativitas Mahasiswa sehingga penulis dapat menerima hibah penelitian dalam rangka menyelesaikan studi.

REFERENSI

- Brown, M. J. (1997). *Durio, a bibliographic review*. In Arora, R. K., Rao, V. R., & Rao, R. N (Eds.). New Delhi, India: International Plant Genetic Resources Institute, Office for South Asia.
- Campbell, N. A. & Reece, J. B. (2010). *Biologi*. Edisi VIII. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Fatchiyah, Estri, L. A., Sri, W., & Sri R. (2011). *Biologi molekular prinsip dasar analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Goldstein, D. B., & Schlotterer. C. (1999). *Microsatellites: Evolutions and applications*. New York: Oxford University Press, Inc.
- Hartwell, L .H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A. E., Silver, L. M., & Veres, R. C. (2004). *Genetics: From Genes to Genomes*. 2nd Edition. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Hassan, M. S., Ferial, E. W., & Soekendarsi, E. (2014). *Pengantar biologi evolusi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Hariyati, T., Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. L. (2013). Genetic diversity of hybrid durian resulted from cross breeding between *Durio kutejensis* and *Durio zibethinus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *American Journal of Molecular Biology*, 3(03), 153-157.
- Hildebrand, C. E., Torney, D. C., & Wagner, R. P. (1992). Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science*, 20, 100-102.
- Kementerian Pertanian. (2014). *Outlook komoditi durian*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretaris Jenderal Pertanian.
- Kostermans, A. J. G. H. (1992). An important economical new *Durio* species from Northern Sumatra. *Economic Botany*, 46(03), 338-340.
- Kristianti, T. (2005). *Isolasi dan karakterisasi motif mikrosatelit pada Durian (Durio zibethinus Murr.)* (Master's thesis). Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Liu, J., Zhu, Z. Q., Liu, G. S., Qi, D. M., & Li, F. F. (2002). AFLP variation analysis on the germplasm resources of *Leymus chinensis*. *Acta Botanica Sinica*, 44(7), 845-851.
- Matus, I. A., & Hayes, P. M. (2002). Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, 45(6), 1095-1106.
- Nafsi, N. I. (2007). *Analisis keanekaragaman varietas Durian (Durio zibethinus Murr.) dengan marka mikrosatelit* (Skripsi). Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rohlf, J. F. (2000). *NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. user guide*. New York: Department of Ecology and Evolution.
- Santoso, P. J., Granitia, A., Indriyani, N. L. P., & Pancoro, A. (2016). Analisis lokus dan keragaman sumber daya genetik Durian (*Durio* sp.) berdasarkan marka mikrosatelit. *Jurnal Hortikultura*, 26(1), 9-20.
- Siriphanich, J. (2011). *Durian (Durio zibethinus Murr.)*. India: Woodhead Publishing.

- Sobir & Napitupulu, R. M. (2015). *Berkebun durian unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ting, N. C., Zaki, N. M., Rosli, R., Low, E. T. L., Ithnin, M., Cheah, S. C., ... & Singh, R. (2010). SSR mining in oil palm EST database: application in oil palm germplasm diversity studies. *Journal of Genetics*, 89(2), 135-145.
- Vanijajiva, O. (2011). Genetic variability among durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi province, Thailand detected by RAPD analysis. *Journal of Agricultural Technology*, 7(4), 1107-1116.
- Vanijajiva, O. (2012). The application of ISSR markers in genetic variance detection among durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars in the Nonthaburi province, Thailand. *Procedia Engineering*, 32, 155-159.
- Wahyuningtyas, W., Retnoningsih, A., & Rahayu, E. S. (2009). Keanekaragaman genetik pisang bergenom B berdasarkan penanda mikrosatelit. *Biosaintifika*, 01(01), 1-10.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., & Kahl, G. (2005). DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and application. 2nd Edition. USA: Taylor & Francis Group.
- Widiastuti, A., Sobir, S., & Suhartanto, M. R. (2013). Analisis keragaman genetik (*Garcinia mangostana*) diiradiasi dengan sinar gamma berdasarkan penanda ISSR. *Bioteknologi*, 10(1), 15-22.
- William, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Ravalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*, 18(22), 6531-6535.
- Withington, W. A. (1963). The Distribution of population in Sumatra, Indonesia, 1961. *Journal of Tropical Geography*, 17, 203-212.
- Yu, J. K. (2002). *Simple sequence repeat marker development and mapping in cultivated unflower, Helianthus annuus L.* (Master's thesis). Post Graduate Program, Oregon State University, Oregon.
- Yulita, K. D. S. (2013). Identifikasi molekuler pohon induk beberapa varietas durian asal Jepara menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA*. *Jurnal Hotikultura*, 23(2), 99-106.
- Yuwono, T. (2005). *Biologi molekular*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Zainudin, A., Maftuchah, Martasari, C., & Santoso, T. J., (2010). *Keragaman genetik beberapa kultivar mangga berdasarkan penanda molekuler mikrosatelit*. Surabaya: Kongres Ketiga Komisi Daerah Sumber Daya Genetik
- Zhang, J. F., Kimatu, J. N., Guo, W. L., & Liu, B. (2009). Habitat fragmentation causes rapid genetic differentiation and homogenization in natural plant populations: A case study in *Leymus chinensis*. *African Journal of Biotechnology*, 8(15), 3440-3447.