

Variasi Genetik *Monascus purpureus* yang Diisolasi dari Beras Merah Cina

Nandang Suharna✉

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

Genetic Variation of *Monascus purpureus* Isolated from Chinese Red Rice. An attempt was carried out to detect genetic variation among six *Monascus purpureus* isolates by RAPD finger printing. The isolates studied were isolated from Chinese red rice (ang-kak) collected from Indonesian markets. Seven types of oligonucleotide 12-mer primers were used in this study. These primers were different from G+C ratio (42%, 50%, 68% and 75%) so as to know the best ratio for DNA amplication. Products of DNA amplication by seven primers were observed such as 158 banding patterns, comprise of 23 common fragments and 135 polimorfic fragments. The result showed that the six isolates were divided into two groups based on DNA banding patterns. The same grouping was also shown by phylogenetic analysis. This analysis indicated two cluster which were different from its genetic distance (49%) and two pairs of isolates were identical to each other. So far, this RAPD analysis proved that there was high genetic variation within the six isolat of *M. purpureus*. It was assumed that there was a tendency of species separation within those isolates. It is suggested that sequencing analysis on 18S rDNA should be carried out to ensure status of *M.purpureus* species used in ang-kak production.

Key words: *Monascus purpureus*, variation, genetic, Chinese red-rice, RAPD

PENDAHULUAN

Monascus diketahui luas keberadaannya di dunia (Young, 1930; Hawksworth & Pitt, 1983) dan pertama kali diuraikan pada tahun 1884 oleh van Tieghem (Young, 1930). Jenis-jenis *Monascus* khususnya *M. purpureus* diketahui sebagai jamur penting untuk produk-produk fermentasi, seperti beras merah Cina, bir merah, bir beras, bir kaoliang, dan keju di Asia, terutama Cina, Filipina, Jepang, Thailand dan Indonesia (Steinkraus *et al.*, 1983).

Went pertama kali mendeskripsikan *M. purpureus* pada tahun 1895 yang

diisolasi dari beras merah Cina di Jawa (Young, 1930).

Hawksworth & Pitt (1983) telah melakukan revisi jenis-jenis *Monascus* berdasarkan karakter mikroskopis dan biakan yang teramati pada pertumbuhannya pada berbagai media.

Beberapa peneliti telah melakukan pendekatan biokimia untuk identifikasi jenis-jenis *Monascus*. Sebagai contoh, Bridge dan Hawksworth (1985) menganalisa aktivitas enzim dengan menggunakan kit APIZYM dan Nishikawa *et al.* (1989) melakukan analisa komposisi asam lemak seluler.

✉ Jl. Ir. H. Juanda No. 18 Bogor 16002

Suharna

Yang terbaru Lakrodi *et al.* (2000) telah berhasil mengaplikasikan Amplikasi random DNA polimorfik (*Random Amplified Polymorphic DNA*=RAPD) untuk mengetahui adanya variasi genetik pada 25 isolat *Monascus* yang diperoleh dari beras merah Cina dan sof. Mereka memperkirakan adanya sumber genetik yang relatif sempit pada isolat-isolat *Monascus* yang digunakan pada produk-produk makanan di Asia.

Seperti juga dengan teknik analisis biologi molekuler lainnya seperti analisis profil protein, kandungan asam lemak, isozyme, PCR, AFLP dan RFLP (Lakrodi *et al.*, 2000), RAPD dapat digunakan untuk mengetahui hubungan genetic dengan cepat dan akurat, sehingga teknik ini dapat digunakan untuk deteksi polimorfisme DNA pada banyak jenis dari berbagai organisme (tumbuhan, binatang, manusia, bakteri dan jamur). Implikasi dari teknik ini adalah petanda genetik sejak teknik ini dapat digunakan sebagai petanda-petanda molekuler yang membuat dampak yang berarti pada berbagai bidang ilmu biologi (Gawel & Barlett, 1993).

Polimorfisme yang terdeteksi dengan teknik RAPD yang menggunakan primer-primer pendek diwariskan dalam perilaku *Mendelian* dan dapat dibuat untuk setiap jenis tanpa informasi urutan DNA. Polimorfisme yang sering berguna sebagai petanda genetik dapat dengan mudah dideteksi dengan pelacak yang dilabel dengan menggunakan pewarna-pewarna berpendar (*fluorescent*) atau dengan penambahan alpa-[33P] dCTP pada reaksi polimerase berantai (*Polimerase Chain Reaction*=PCR). Deteksi polimorfisme dengan menggunakan RAPD bersifat cepat dan tidak sulit (Welsh *et al.*, 1991). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik pada isolat-isolat *Monascus* dari beras merah Cina

yang diperoleh dari pasar-pasar di beberapa tempat di Indonesia menggunakan RAPD.

BAHAN DAN CARA KERJA

Isolat *Monascus purpureus* yang digunakan

Enam isolat digunakan dalam penelitian dan merupakan hasil isolasi dari beras merah Cina dari beberapa daerah di Indonesia, yaitu dengan nomor koleksi BDG10.2F (Bandung), BGR4.1F (Bogor), NGK (Bogor), SRB2.1.6 (Surabaya) dan SRB2.1F (Surabaya). Enam isolat ini dipelihara pada media Agar Ekstrak Taoge (AET) 6%. Pembuatan media AET mengacu Saono *et al.* (1970).

Media Pertumbuhan dan Purifikasi *Monascus*

Media agar untuk pertumbuhan digunakan media agar YMPD (Yeast Malt Pepton Dekstrosa) yang dikomposisikan ekstrak yeast, 3g; ekstrak malt, 3g; bakto pepton, 5 g; glukosa, 10 g; agar, 15 g; dan air sampai 1000 ml). Untuk keperluan purifikasi media tersebut ditambah ampisilin (20ug/ml). Cara pembuatannya adalah sebagai berikut: media (tanpa ampisilin) disterilisasi dengan otoklap (*autoclave*) pada suhu 121°C, selama 15'. Kemudian, ampisilin ditambahkan ke agar setelah didinginkan terlebih dahulu ($\pm 50^\circ\text{C}$), kemudian digoyang-goyang dengan menggunakan tangan secara hati-hati. Selanjutnya, media dituangkan ke cawan Petri dan dibiarkan memadat dalam waktu 20 menit.

Kultivasi, Purifikasi dan Persiapan Massa Miselia untuk Ekstraksi DNA

Awalnya, setiap isolat dikultivasi pada media agar cawan YMPD pada suhu 30°C selama 1-3 hari. Selanjutnya sejumlah kecil miselia dari koloni tunggal dicuplik dengan menggunakan tusuk gigi steril kemudian dipindahkan ke dalam 1 ml tabung Effendorf ukuran 1 ml yang berisikan kaldu YMPD 1 ml. Setiap tabung biakan tersebut diaduk menggunakan *tube mixer* (Tomy MT-360) pada kecepatan tinggi selama beberapa menit. Kemudian, pengenceran dilakukan pada setiap suspensi jamur ke beberapa tingkat pengenceran. Suspensi jamur dari masing-masing tingkat pengenceran diinokulasikan (200 µl) ke media agar YMPD + ampicilin (50 µg/ml). Semua biakan dari pada agar cawan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 3 hari setelah inokulasi. Miselia dari koloni tunggal yang tumbuh dicuplik dengan tusuk gigi steril dan dimasukkan ke tabung 10 ml yang berisikan 10 ml media kaldu YMPD. Kemudian diinkubasikan pada suhu 30°C selama 1-3 hari. Setelah itu sejumlah massa miselia dari setiap jamur dicuplik dan dipindahkan ke dalam tabung Effendorf 5 ml. Selanjutnya, massa miselia tersebut dicuci dengan cara menambahkan TE buffer pH 8,0 (10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA) dan diputar pada 15.000 putaran selama beberapa menit. Kemudian, supernatannya dibuang.

Primer 12-mer yang digunakan

Tujuh tipe 12-mer primer (Wako Ltd., Japan) digunakan untuk setiap reaksi yaitu primer A01 (5'-TGCACTACAACA-3'), A05 (5'-AGCAGCGCCTCA-3'), A08 (5'-GCCCCGTTAGCA-3'), A09 (5'-CCGAGTTTGAT-3'), A10 (5'-ACTGGCCGAGGG-3'), A11 (5'-GATGGATTTGGG-3') dan A12 (5'-TTCGGACGAATA-3'). Primer-primer yang digunakan tersebut memiliki rasio

G+C berbeda-beda yaitu dengan rasio 42% (primer A01 dan A12), 50% (A09 dan A11), 67% (A05 dan A08) dan 75% (A10). Perbedaan rasio tersebut dimaksudkan juga untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produk DNA amplikasi pada saat PCR dijalankan.

Ekstraksi DNA

Massa miselia setiap jamur diproses untuk ekstraksi DNA dengan menambahkan *buffer* lisis (20% SDS, 500 mM EDTA), nitrogen cair, *mortar* dan *pestle*. Larutan Proteinase K ditambahkan untuk melengkapi proses lisis pada suhu 55°C. Kemudian 200 µl *buffer* AL ditambahkan dan dicampur sempurna dengan menggunakan vortex, dan diinkubasikan pada suhu 70°C selama 10 menit. Selanjutnya DNA diekstraksi dengan menggunakan Kit *Qiamp Blood* (QIAGEN). Agar terbebas dari RNA, ekstrak DNA dicuci dengan RNase A 20 mg/ml selama 2 menit pada suhu ruang. Ekstrak DNA dimurnikan dengan elusi dengan 50 µl *buffer* AE sebanyak dua kali. Ekstrak DNA dipadatkan dengan sentrifusi pada 6000 x g (8000 rpm) selama 1 menit.

Analisis RAPD

Total DNA genom dari setiap isolat dikuantifikasi secara spektrofotometri dengan menggunakan spektrofotometer BECKMAN DU 7400 pada 260-280 nm. Kemudian sampel DNA diencerkan sampai ke 20 µg/ml sebelum digunakan sebagai *templat* DNA dalam esei RAPD. Reaksi RAPD dilakukan pada volume 5 µl dalam tabung *microfuge* 0,5 ml yang masing-masing berisikan 0,5 µl x10 LA-buffer (bebas dari Mg⁺⁺), 0,5 µl 25 mM MgCl₂; 1 µl 1 mM dNTPs, 0,5 µl Primer; 1,5 µl air *nanopure* steril, 0,025 µl Taq DNA polimerase (Boehringer-Mannheim)

dan 1 µl templat DNA. Sebelum reaksi RAPD dilakukan, ditambahkan sebanyak 50 µl minyak mineral steril ke setiap larutan reaksi. Reaksi RAPD dilakukan pada *Dry Thermo Unit DTU-2c DNA Thermal cycler* (Perkin Elmer) sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, kemudian tiga tahap amplikasi DNA selama 40 siklus: (1) denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit. (2) *primer annealing* pada suhu 40°C selama 1 menit, dan (3) *primer extension* pada suhu 60°C selama 3 menit, dan dilanjutkan lagi pada suhu 60° selama 3 menit.

Produk-produk RAPD dipisahkan pada jel agarosa 1 x TAE 1.8%. Fragmen-fragmen RAPD diwarnai dengan etidium bromida dan ditransmisi sinar UV. Jel-jel difoto dengan menggunakan kamera Polaroid. Film yang digunakan adalah film Polaroid Tipe 667. Fragmen-fragmen RAPD diberi tanda skor + untuk ada atau - untuk tidak ada. Seluruh data hasil pemberian skor disatukan menjadi satu set data. Berat molekul setiap pita DNA diukur dengan membandingkan dengan petanda berat molekul berukuran 50-2000-bp.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan program DNAdist pada PHYLIP (*Phylogeny Inference Package*) versi 3.57c (Joseph Felsenstein, the University of Washington, USA). DNAdist adalah program untuk menghitung jarak matrik. Metode UPGMA dari program Neighbor selanjutnya digunakan untuk memperoleh pohon filogenetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis RAPD

Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa rasio G+C yang berbeda-beda pada primer dapat menghasilkan total fragmen DNA amplikasi yang berbeda-beda. Primer yang berasio G+C 42% yaitu A01 dan A12 menghasilkan 28 dan 22 fragmen, kemudian yang berasio 50% yaitu A09 dan A11 menghasilkan 36 dan 54, yang berasio 67% yaitu A05 dan A08 menghasilkan 54 dan 39 dan yang berasio 75% yaitu A10 menghasilkan 40 fragmen. Dengan demikian primer yang berasio 50% dan 67% menghasilkan jumlah fragmen yang hampir sama dan terbanyak, diikuti yang berasio 75% dan 42% secara berurutan.

Dari hasil yang diperoleh ini dapat diketahui bahwa rasio G+C pada primer 12-mer berpengaruh terhadap banyaknya fragmen DNA yang dihasilkan dan primer dengan rasio G+C 50% dan 67% merupakan primer dengan rasio G+C terbaik untuk digunakan dalam analisis sidik jari RAPD. Williams *et al.* (1990) dan Kubelik & Szabo (1995) melaporkan bahwa rasio G+C pada primer yang digunakan dalam analisis RAPD berpengaruh terhadap hasil amplikasi DNA.

Berdasarkan pola pita DNA yang dihasilkan diketahui terdapat dua kelompok isolat. Yang termasuk kelompok pertama adalah NGK, SBR2.1F dan BDG10.2F dan kelompok yang kedua adalah BGR4.1F, SRB2.4F dan SRB2.1.6. Pengelompokan tersebut dapat terlihat dengan jelas pada gambar 1.

Dari hasil observasi pada produk RAPD oleh tujuh primer diperoleh 158 pola pita DNA, 23 fragmen DNA yang umum dan 135 fragmen DNA yang polimorfik (Tabel 2,4,5,6,7,8,9 dan 10). Pada gambar 1 dan gambar 2 dapat dilihat adanya fragmen yang umum dan polimorfik. Pada kedua gambar tersebut terlihat juga adanya fragmen-fragmen yang

tidak jelas.

Jumlah DNA polimorfik yang ditemukan jauh lebih banyak daripada DNA yang umum pada keenam isolat *M. purpureus* menunjukkan bahwa variasi genetik pada ke enam isolat jamur *M. purpureus* termasuk tinggi. Polimorfisme DNA yang terdeteksi ini berguna sebagai petanda genetik, sehingga selanjutnya dapat dianalisis untuk mengetahui jarak genetiknya. Menurut William *et al.* (1990), polimorfisme di antara produk amplikasi yang sering kali terdeteksi berguna sebagai petanda genetik. Dengan beberapa kombinasi primer dan DNA genom *template*, pada kisaran produk amplikasi yang tidak jelas ukurannya yang bentuknya terlihat berupa pulasan pada jel dapat diubah menjadi pita-pita yang jelas dengan cara mengurangi konsentrasi pada enzim polimerase dan DNA genom atau kombinasi komposisi keduanya. Sedangkan sumber-sumber lain polimorfisme dapat meliputi penghapusan tempat *priming*, penselipan yang disebabkan tempat *priming* terlalu jauh untuk mendukung amplikasi; atau penselipan yang mengubah ukuran dari segmen DNA tanpa menghalangi amplifikasinya. Sebagaimana dengan petanda genetik lainnya, beberapa polimorfisme terdeteksi jelas dan mudah untuk diberi skor, sedangkan yang lain tampak kurang jelas (*ambiguous*) sehingga tidak dapat digunakan sebagai petanda genetik. Polimorfisme yang tidak jelas dapat diakibatkan dari perbedaan yang payah oleh suatu primer di antara *priming site* alternatif yang sedikit berbeda pada sekuen nukleotidanya.

Analisis filogenetik

Pada gambar 3 diperlihatkan adanya pengelompokan isolat dengan komposisi sama dengan yang berdasarkan

pola pita DNA. Pengelompokan tersebut terdiri dari dua kluster yang berbeda jarak genetik antara keduanya mencapai 33%. Dua kluster tersebut adalah kluster 1 yang terdiri dari NGK, SRB2.1F dan BDG10.2F dan kluster 2 yang terdiri dari BGR4.1F, SRB2.4F dan SRB.2.1.6F. Pada kluster 1 tersebut NGK, SRB2.1F berada dalam kluster 3 terpisah dengan BDG10.2F (kluster 4). Sedangkan pada kluster 2 BGR4.1F dan SRB2.4F berada pada kluster 5 terpisah dengan SRB.2.1.6F (kluster 6). Antara kluster 3 dan 4 berbeda jarak 47%. Antara kluster 5 dan 6 berbeda 51%. NGK dan SRB2.1F masing-masing memiliki kemiripan 100% atau berjarak antara keduanya 0%. Demikian pula halnya dengan kedua isolat BGR4.1F dan SRB2.4F yang juga memiliki kemiripan 100% atau berjarak antara keduanya 0%.

Dengan demikian dari hasil analisis filogenetik paling tidak menunjukkan adanya dua kluster yang berbeda profil genetik yang cukup tinggi. Hal ini berarti terdapat variasi genetik yang juga cukup tinggi pada keenam isolat *M. purpureus* walaupun pada hasil analisis ini ditemukan dua pasangan isolat yang masing-masing berjarak genetik sama. Sedangkan ditemukannya dua pasangan isolat yang masing-masing berjarak genetik sama memunculkan dua kemungkinan yaitu yang pertama adalah sampel produk berasal dari sumber yang sama dan yang kedua adanya penggunaan isolat yang sama pada produksi beras merah Cina ini. Hal ini diperkuat dengan diperolehnya informasi bahwa produk-produk jenis beras yang dipasarkan di Indonesia berasal dari sumber yang sama yaitu dari Cina. Lakrodi *et al.* (2000) juga

mengungkapkan adanya penggunaan isolat *Monascus* yang berasal dari Cina berdasarkan analisis RAPD yang dilakukan.

Yang selanjutnya dapat dilakukan setelah pencapaian analisis RAPD ini dalam pendeteksian variasi genetic pada keenam isolat *M. purpureus* adalah pada pemanfaatan penanda-penanda genetik RAPD yang diarahkan ke pencarian galur yang lebih potensial. Selanjutnya galur yang paling potensial saja yang digunakan dalam produksi beras merah ini. Lakrodi *et al.* (2000) mengemukakan bahwa sebaiknya hanya satu galur saja yang digunakan dalam produksi beras merah Cina yang sebelumnya telah terbukti sangat potensil untuk tujuan ini sehingga dapat diperoleh kualitas produk yang dapat dipertahankan. Penggunaan inokulum campuran jamur *Monascus* dapat menghasilkan produk bermutu lebih rendah sebagai akibat timbulnya gangguan pertumbuhan *Monascus* lain, yang mungkin tidak potensil.

Walaupun tidak memberikan kemungkinan pemisahan jenis dikarenakan tidak adanya tipe galur jenis-jenis lain yang telah dikenal, namun penelitian ini memberikan indikasi adanya kecenderungan pemisahan jenis pada isolat-isolat *Monascus* yang digunakan pada produksi beras merah Cina. Sedangkan Lakrodi *et al.* (2000) yang melakukan analisis RAPD pada 25 isolat *Monascus* melaporkan adanya satu isolat yang kemungkinan bukan termasuk *M. purpureus* dan hasil karakterisasi morfologis yang telah dilakukan mereka mendukung hal tersebut; isolat tersebut diketahui berbeda secara morfologis berdasarkan hasil pengamatan pada pertumbuhannya pada media agar. Berdasarkan hasil tersebut mereka kemudian mensinyalir kemungkinan

adanya jenis lain selain *M. purpureus* yang digunakan dalam produksi beras merah Cina. Oleh karena itu, walaupun terdapat perbedaan pada isolat yang dianalisa, namun tetap merupakan hal yang menarik apabila penelitian lebih lanjut diarahkan pada analisis sekuensing pada 18S rDNA untuk memastikan pemisahan jenis sehingga diperoleh kepastian status keberadaan jenis *Monascus* yang digunakan dalam produksi beras ini.

Selain mengungkapkan adanya variasi genetik yang tinggi pada ke enam isolat *M. purpureus* hasil analisis filogenetik juga menunjukkan adanya dua kelompok isolat yang sangat berbeda jarak genetiknya dan memunculkan kemungkinan penggunaan isolat yang sama atau produk yang bersumber sama.

KESIMPULAN

Hasil analisis RAPD yang dilakukan menunjukkan adanya variasi genetik yang tinggi pada keenam isolat *Monascus purpureus* yang berasal dari produk beras merah Cina yang dipasarkan di Indonesia. Sedangkan komposisi kandungan G+C pada sekuen primer berpengaruh pada produk DNA amplikasi yang dihasilkan. Kandungan G+C antara 50-70% pada primer 12-mer merupakan komposisi terbaik untuk mendapatkan produk DNA amplikasi terbanyak pada isolat-isolat *M. purpureus*.

Hasil analisis filogenetik menunjukkan adanya dua kelompok yang sama dengan pengelompokan berdasarkan pola pita DNA. Hasil analisis filogenetik menunjukkan adanya dua pasang isolat bertipe genetik sangat berbeda dan yang identik. Analisis 18S rDNA perlu dilakukan memastikan pemisahan jenis sehingga diperoleh kepastian status keberadaan jenis *Monascus* yang diguna-

kan dalam produksi beras ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari kerjasama *The Sustainable use of Tropical Microbe Bioresources* disponsori oleh *Ministry of International Trade and Industry*, Jepang, yang dilaksanakan di *National Institute of Bioscience and Human (NIBH)-Technology (NIBH)-Agency of Industrial Science and Technology (AIST)*, Tsukuba, Japan. Ucapan terimakasih yang tulus disampaikan penulis kepada Dr. Hiroshi Kuriyama dan Dr. Takema Fukatsu dari NIBH-AIST, Tsukuba, Japan yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bridge & Hawksworth. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus* species. *Let. Appl. Microb.* 1: 25-29
- Cannon, P.F. , S.K. Abdullah & B.A. Abbas. 1995. Two new species of *Monascus* from Iraq, with a key to known species of the genus. *Mycol. Res.* 99: 659-662
- Gawel N.J. & A.C. Barlett. 1993. Characterization of differences between whiteflies using RAPD-PCR. *Insect Molecular Biology.* 2 (1): 33-38
- Hawksworth, D.L. & J.I. Pitt. 1983. A New Taxonomy for *Monascus* based on cultural and microscopic characters. *Aust. J. Bot.* 31: 51-61
- Kubelik, A.R. & L.J. Szabo 1995. High-GC primers are useful in RAPD analysis of fungi. *Curr. Genet.* 28:284-389.
- Lakrodi, K., C. Chaisrisook, B. Yongsmith & D. Z. Skinner. 2000. RAPD analysis of genetic variation within a collection of *Monascus* spp. isolated from red rice (ang-kak) and sofú. *Mycol. Res* 104 (4) 403-408
- Nishikawa, J., Y. Sato, J. Kashimura, & H. Iizuka. 1989. Cellular fatty acids composition of the Genus *Monascus*. *J. Basic Microbial* 29 (6): 369-374
- Saono, S., I. Gandjar, T. Basuki, & H. Karsono. 1974. Mycoflora of ragi and some other traditional fermented food of Indonesia. *Annales Bogoriense* 5(IV) : 187-204
- Steinkraus, K.H. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker, Inc. New York p.: 547-553
- Welsh J., R.J.Honeycutt, M. McClelland & B.W.S. Sobral. 1990. Parentage determination in maize hibrids using the arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR). *Theor.Appl.Genet.* 82: 473-476
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, & S.V. Tingey.1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrarily primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research.* 18(22): 6531-6535g,
- Young, E.M. 1930. Physiological studies in relation to the taxonomy of *Monascus* spp. *Trans. Wis. Acad. Sci. Arts. Lett.* 25 : 227-244.

Tabel 1. Pengaruh rasio G+C pada primer uligonukleotida terhadap amplikasi DNA

Nomor Isolat	Jumlah Fragmen DNA amplikasi						
	Rasio G+C						
	42%		50%		67%		75%
	A01	A12	A09	A11	A05	A08	A10
NGK	8	5	5	2	7	3	5
SRB2.1F	5	3	6	5	11	7	6
BDG10.2F	5	4	6	9	15	5	6
BGR4.1F	4	2	9	13	7	9	6
SRB2.4.F	4	4	8	15	13	9	6
SRB2.1.6	2	4	2	10	1	6	11
Total	28	22	36	54	54	39	40

Keterangan : Sekuen uligonukleotida masing-masing pada pada primer A01: 5'-TGCACTACAACA-3', A05: 5'-AGCAGCGCCTCA-3', A08: 5'-GCCCCGTTAGCA-3', A09: 5'-CCGCAGTTTGAT-3', A10: 5'-ACTGGCCGAGGG-3', A11: 5'-GATGGATTTGGG-3' dan A12: 5'-TTCGGACGAATA-3'

Tabel 2. Jumlah Fragmen DNA yang Diamplifikasi dari Keenam isolat *Monascus purpureus* oleh tujuh primer.

	Primer							Total
	A01	A05	A08	A09	A10	A11	A12	
Jumlah fragmen DNA umum yang terdeteksi	1	4	3	2	6	5	2	23
Jumlah fragmen DNA polimorfik	18	25	19	18	15	26	14	135

Sekuen uligonukleotida masing-masing pada pada primer: A01: 5'-TGCACTACAACA-3', A05: 5'-AGCAGCGCCTCA-3', A08: 5'-GCCCCGTTAGCA-3', A09: 5'-CCGCAGTTTGAT-3', A10: 5'-ACTGGCCGAGGG-3', A11: 5'-GATGGATTTGGG-3' dan A12: 5'-TTCGGACGAATA-3'

Tabel 3. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diamplifikasi Primer A01

Isolat	Nomor Fragmen DNA																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	11	12	13	14	15	16	17	18	19
NGK	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
SBR21F	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BDG10.2F	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
BGR41F	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
SRB24F	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
SRB216	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

☐ = Fragmen DNA Umum

Tabel 4. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diamplifikasi Primer A05

Isolat	Nomor Fragmen DNA																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
NGK	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
SBR21F	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BDG10.2F	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
BGR41F	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
SRB24F	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	
SRB216	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

☐ = Fragmen DNA Umum

Tabel 5. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diamplifikasi Primer A08

Isolat	Nomor Fragmen DNA																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
NGK	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
SBR21F	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
BDG10.2F	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
BGR41F	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
SRB24F	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
SRB216	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+

☐ = Fragmen DNA Umum

Tabel 6. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diamplifikasi Primer A09

Isolat	Nomor Fragmen DNA																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
NGK	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
SBR21F	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
BDG10.2F	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
BGR41F	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
SRB24F	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
SRB216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

☐ = Fragmen DNA Umum

Tabel 7. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diamplifikasi Primer A10

Isolat	Nomor Fragmen DNA																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
NGK	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
SBR21F	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
BDG10.2F	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
BGR41F	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
SRB24F	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
SRB216	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-

☐ = Fragmen DNA Umum

Tabel 8. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diampifikasi Primer A11

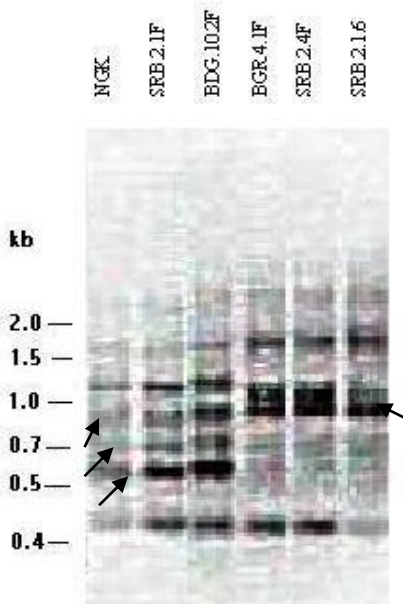
Isolat	Nomor Fragmen DNA																															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
NGK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
SBR21F	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
BDG10.2F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
BGR41F	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
SRB24F	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
SRB216	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-

☐ = Fragmen DNA Umum

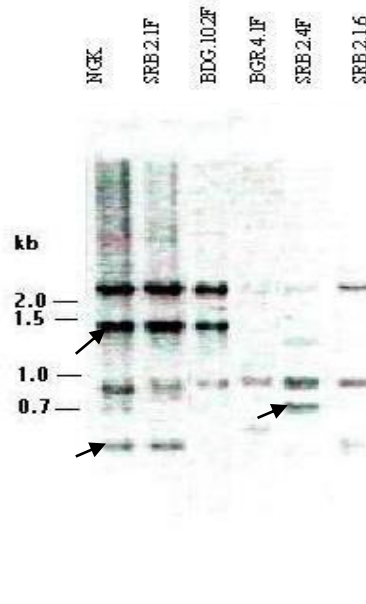
Tabel 9. Fragmen DNA yang Terdeteksi yang Diampifikasi Primer A12

Isolat	Nomor Fragmen DNA															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
NGK	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
SBR21F	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
BDG10.2F	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
BGR41F	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
SRB24F	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
SRB216	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-

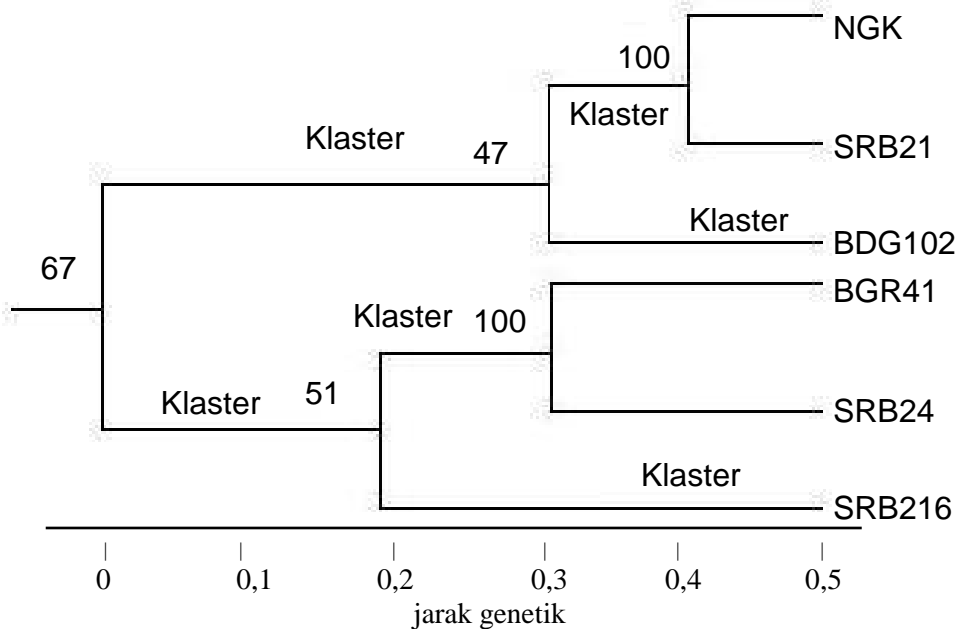
☐ = Fragmen DNA Umum



Gambar 1. Pola pita RAPD yang dihasilkan dengan menggunakan primer A10. Tanda panah menunjukkan fragmen DNA polimorfik.



Gambar 2. Pola pita RAPD yang dihasilkan dengan menggunakan primer A12. Tanda panah menunjukkan fragmen DNA polimorfik.



Gambar 3. Dendrogram filogenetik dari keenam isolat *Monascus*