

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK MANGGIS BERDASARKAN KARAKTER FENOTIPE
DAN MARKA MOLEKULER MIKROSATELIT PADA EMPAT SENTRA PRODUKSI DI PULAU JAWA**
(*Genetic Variability Analysis of Mangosteen based on Phenotype Characters and Microsatellite Molecular Marker
in Four Production Center in Java Island*)

Deden Derajat Matra¹, Roedhy Poerwanto², dan Edi Santosa²

¹Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB (A24052075)

²Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

Abstract

Mangosteen is one of the tropical fruits native plant from Indonesia that known as the queen of tropical fruits. The molecular approach like microsatellite that has hypervariability, reproducibility, codominant inheritance, abundance in genome applied to analyze genetic variability of mangosteen. We conducted selective hybridization method to construct SSR marker of mangosteen from Kaligesing cultivar as genomic library and then called IGMB. We collected 48 % colony that containing SSR fragments, only 5 % has flanking region and made five primer pairs good amplified. Four population of mangosteen were analyzed from Leuwiliang, Kaligesing, Puspahiang, and Wanayasa. Base on phenotype characters, mangosteen variability was most narrow. Only three vegetative characters and six production characters have been broad. Multivariate analysis using principle component analysis (PCA) then clustered by cluster analysis (CA) estimated 55% similarity and then corrected by discriminant analysis were good clustering of mangosteen group. Aril weight and exocarp weight have positive correlation and direct effect to total fruit weight with path coefficient 0.87 and 0.97 respectively. Base on microsatellite analysis, mangosteen that has genetic variability on genotype level and has specific allele by IGMB006 such as in Puspahiang Population. Based on sum of microsatellite allele showed mangosteen is tetraploid.

Key words: Mangosteen, Genetic Variability, Apomixis, Microsatellite

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Manggis merupakan salah satu buah tropika Indonesia yang mempunyai nilai ekonomi tinggi untuk konsumsi di dalam negeri maupun tujuan ekspor. Berbagai keunggulan manggis selain mempunyai rasa, tekstur, aroma yang khas adalah sebagai anti oksidan (Xanthone) yang banyak terkandung dalam kulit buahnya. Manggis sebagian besar dibudidayakan dari tanaman hutan liar atau polikultur tanaman buah yang salah satu sentra produksi terbesarnya adalah Jawa Barat dengan nilai produksi 28.145 ton pada tahun 2006 atau 37.58% terhadap produksi nasional (Deptan, 2009).

Tanaman manggis secara alami berkembang biak dengan pembiakan aseksual apomiktik. Jenis tanaman yang berkembangbiak dengan apomiktik mempunyai keragaman genetik yang sempit karena tidak terjadi persilangan. Akan tetapi, Sobir and Poerwanto (2007) dalam observasinya di lapang menunjukkan terdapat keragaman manggis dari warna sepal, ukuran buah, ukuran biji, dan jumlah aril. Keragaman fenotipe yang timbul merupakan interaksi antara faktor genetik dan faktor lingkungan sehingga faktor genetik manggis yang beragam pada lingkungan tumbuh yang sama perlu diidentifikasi. Induksi keragaman genetik telah dilakukan pada manggis dengan penggunaan mutagen EMS-ethyl methanesulphonate (Te-chato and Lim, 2005) dan iradiasi sinar gamma (Qosim *et al.*, 2008).

Marka molekuler mikrosatelit merupakan rangkaian nukleotida pendek 1-6 base pair yang berulang dalam genom. Marka mikrosatelit bersifat kodominan, keterwarisan hukum mendel, tingkat polimorfik tinggi dan berlimpah dalam genom. Marka mikrosatelit tidak tersedia pada setiap tanaman sehingga diperlukan isolasi marka yang menjadikan marka mikrosatelit mempunyai keakuratan tinggi yang spesifik pada tanaman tersebut.

Penggunaan marka molekuler pada manggis telah dilakukan mulai dari isoenzim, RAPD dan AFLP (Sinaga *et al.*, 2007) yang menunjukkan adanya keragaman pada manggis. Penggunaan marka mikrosatelit yang mempunyai kepercayaan tinggi diharapkan mampu mengidentifikasi keragaman genetik manggis sebagai seleksi klon-klon harapan dari populasi alami atau hasil induksi melalui aplikasi bioteknologi. Mikrosatelit umumnya dipakai pada tanaman diploid, sedangkan manggis merupakan tanaman poliploid, oleh karena itu, kajian penggunaan marka mikrosatelit dapat menjadi model untuk kajian genetik tanaman yang memiliki ploidi mirip.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari keragaman genetik manggis menggunakan marka molekuler mikrosatelit di empat sentra produksi manggis.

Hipotesis

1. Diduga adanya keragaman genetik manggis sebagai buah apomiktik.
2. Diduga adanya keragaman genetik manggis diberbagai populasi manggis pada sentra produksi di pulau Jawa.
3. Diduga adanya hubungan-*linkage* antara pasang primer mikrosatelit dengan salah satu karakter morfologi manggis

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Pembuatan marka mikrosatelit dilaksanakan pada bulan April 2008 – Februari 2009 di Laboratorium Hortikultura, Departemen Bioproduksi Tanaman, dan *Gene Research Center*, Universitas Ibaraki, Jepang.

Penelitian lanjutan dilaksanakan pada bulan September 2009 – Februari 2010. Analisis mikrosatelit dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Kajian Buah Tropika, Institut Pertanian Bogor dan *Gene Research Center*, Universitas Ibaraki, Jepang. Penelitian lapang dilaksanakan di sentra Leuwiliang Kabupaten Bogor, sentra Wanayasa Kabupaten Purwakarta, sentra Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya Provinsi Jawa Barat, dan sentra Kaligesing Kabupaten Kaligesing Provinsi Jawa Tengah.

Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan sebagai pustaka genom adalah manggis asal Wanayasa dan Kaligesing. Bahan yang digunakan untuk isolasi mikrosatelit meliputi, larutan ekstraksi DNA, larutan enzim restriksi, larutan ligasi adaptor, bahan filter hibridisasi, larutan ligasi vektor, bahan transformasi, bahan isolasi plasmid, bahan larutan sekuen, dan bahan larutan analisis mikrosatelit, berserta peralatan standar laboratorium genetika.

Bahan yang digunakan untuk pengamatan kualitas buah meliputi larutan titrasi. Peralatan untuk pengamatan morfologi manggis adalah meteran, jangka sorong, timbangan digital, refraktometer, GPS 60 Garmin, peralatan titrasi.

Metode Penelitian

Penelitian konstruksi dan karakterisasi mikrosatelit pada tanaman manggis mengikuti prosedur dari Zane *et al.* (2002) dengan metode *selective hybridization* yang dimodifikasi oleh Inoue *et al.* (2007).

Penelitian lapang manggis menggunakan metode pengambilan contoh berencana (*Purposive Sampling Method*) dengan jarak sampel 50-200 m antara tanaman contoh lainnya dengan lingkaran batang lebih dari 50 cm. Tanaman contoh yang diamati sebanyak 20 tanaman yang mewakili arah mata angin pada masing-masing sentra produksi. Pengamatan buah diambil 10 buah per pohon secara acak dari 10 pohon per lokasi. Data pengamatan lapang diolah dengan menguji kehomogenan ragam (uji Bartlett) :

$$X^2 = \frac{(2.3026)(f)(k \cdot \log_s^2) - \sum_{i=1}^k \log_s^2}{1 + \left[\frac{k+1}{3kf}\right]}$$

Dimana : s_i^2 = penduga ragam ke-i ; s_p^2 = penduga ragam gabungan; k = jumlah ragam, f = derajat bebas untuk setiap s_i^2 . Dengan asumsi bahwa P value < 0.05 diasumsikan karakter tersebut beragam, sedangkan Apabila P value > 0.05 diasumsikan karakter tersebut tidak nyata beragam (homogen). Untuk karakter yang homogen, maka dilanjutkan dengan uji Fisher's. Untuk mengelompokkan individu dan mengetahui karakter yang membedakan populasi digunakan analisis komponen utama (AKU), analisis kluster dan analisis diskriminan. Untuk mengetahui karakter yang berpengaruh terhadap bobot buah digunakan analisis lintas. Semua analisis statistik dioperasikan dalam *software* Minitab 14.

Untuk analisis alel mikrosatelit data diolah dengan *software* Peak Scanner 1.0 (ABI) kemudian dilanjutkan dengan mengkonversi kemunculan alel dengan bilangan biner. Untuk menghitung *expected heterozygosity* (He) dan *observed heterozygosity* (Ho) pada masing-masing primer digunakan *software* TETRASTAT.

Pelaksanaan Penelitian

Konstruksi Mikrosatelit Manggis

Tahapan penelitian dimulai dari ekstraksi DNA dari bahan pustaka genom, pemotongan genom DNA dan ligasi adaptor ke fragmen, filter hibridisasi dengan metode *selective hybridization*, fragmen diligasi ke vektor dan ditransformasikan, koloni di-*skringing* biru-putih dan diisolasi koloni berfragmen mikrosatelit dengan amplifikasi pengapit, koloni diisolasi plasmidnya dan diproses sekuen, fragmen bermikrosatelit dirancang dan dikarakterisasi primernya, serta analisis lokus mikrosatelit dengan teknik *Poor Man's approach* (Schuelke, 2000).

Observasi Lapang

Setiap lokasi sentra produksi manggis dilakukan pengamatan morfologi pohon secara acak pada 20 pohon dan mengambil contoh sampel daun dari setiap pohon untuk digunakan sebagai bahan untuk analisis mikrosatelit. Pengamatan buah dilakukan dengan mengambil sampel buah dari setiap lokasi dan berbeda dari sampel yang digunakan dalam pengamatan vegetatif.

Pengamatan

Pengamatan tanaman manggis meliputi pengamatan ekologi tanaman dan morfologi meliputi : koordinat bumi (lintang dan bujur), elevasi, lingkaran batang, panjang (PRD) dan diameter ruas (DRD) daun, panjang (PPD) dan diameter (DPD) petiole, panjang (PDD), lebar (LDD), dan tebal (TDD) daun, jumlah lokul (JLB), panjang tangkai (PTB), panjang buah (PB) dan diameter (DB), rasio diameter buah (RDD) dan panjang/diameter buah (RPDB), bobot buah total (BTB), daging+biji (BDB), kulit (BKB), dan proporsi daging (PDB), padatan total terlarut (PTT), total asam tertirasi (TAT), rasio PTT/TAT (RPT), derajat kemasaman (PHB)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konstruksi Mikrosatelit Manggis

Isolasi DNA dari seluruh genom dari dalam sel dapat dilakukan dengan metode yang telah dikembangkan melalui metode CTAB yang dimodifikasi (Inoue *et al.*, 2007). Manggis mempunyai kandungan metabolit sekunder yang khas berupa senyawa golongan xanthone (Chin *et al.*, 2008) dan polifenol (Bruni and Sacchetti, 2009) yang dapat mengganggu komponen dalam reaksi polimerase. Pustaka genom DNA yang digunakan adalah *Garcinia mangostana* kultivar Wanayasa dan Kaligesing

yang menunjukkan *band* jelas tanpa *smear* dengan konsentrasi DNA >10 ng/μl.

Pemotongan DNA dengan enzim restriksi *RsaI* memotong jelas DNA genom secara *smear* antara 400 – 5 000 base pair/bp. Akan tetapi, kisaran yang baik untuk pembuatan fragmen mikrosatelit adalah 200 – 1 000 bp (Zane *et al.*, 2002). Dua *adaptor linker* masing-masing *adaptor linker1* dan *adaptor linker2* diligasikan ke fragmen DNA kemudian diamplifikasi dengan *adaptor linker2* sebagai primer. Hasil amplifikasi menunjukkan kisaran fragmen yang terkonsentrasi pada kisaran 400 – 800 bp.

Denaturasi fragmen utas tunggal dihibridisasikan pada *nylon* membran ber-oligonukleotida mikrosatelit dengan suhu hibridisasi 60 °C disertai pembasuhan dengan larutan pembasuh SDS dan SSC dengan konsentrasi berbeda sebanyak 4 kali dan 2 kali berturut-turut. Nunome *et al.* (2006) menyatakan suhu hibridisasi antara kisaran 55 °C – 65 °C dengan suhu 60 °C menunjukkan kondisi optimal dalam perolehan fragmen mikrosatelit. Setelah proses elusi, fragmen DNA diamplifikasi kembali dengan *adaptor linker2* sebagai primer dengan kisaran hasil amplifikasi fragmen 100 – 800 bp.

Fragmen DNA diligasikan ke dalam pGEM-T® easy vector dan ditransformasikan ke *competent cells* JM109 kemudian di-*skringing* biru-putih. Pada hasil *skringing* masih terlihat koloni biru, akan tetapi koloni tersebut telah terinsersi fragmen DNA. Kombinasi SP6 *promotor*, T7 *promotor*, dan oligo mikrosatelit serta kombinasi T7 *promotor* dan oligo mikrosatelit tidak menunjukkan fragmen yang teramplifikasi dalam mendeteksi fragmen mikrosatelit. Kombinasi SP6 *promotor* dan oligo mikrosatelit menunjukkan ada fragmen yang teramplifikasi

Tabel 1. Perkiraan Koloni Bermikrosatelit dari Amplifikasi Koloni dengan SP6 *Promotor* dan Oligo Mikrosatelit

Sampel	Koloni Bermikrosatelit
w1	4%
w2	21%
w3	5%
w4	7%

Ukuran fragmen insersi yang masuk ke dalam vector hanya ukuran yang terkecil dari fragmen yang ada yang diakibatkan ada beberapa senyawa yang menghambat aktifitas enzim ligase pada insersi di plasmid. dengan perkiraan koloni yang mengandung mikrosatelit terbesar pada sampel w2 (Tabel 1). Hal ini diduga oligo mikrosatelit yang digunakan sebagai pemula amplifikasi yang tidak diketahui tepat panjang mikrosatelitnya dan diinterupsi oleh SP6 *promotor* sebagai primer interuptor dalam proses amplifikasi sehingga koloni yang berfragmen tersebut teramplifikasi.

Kandidat koloni bermikrosatelit kemudian diisolasi plasmidnya dan dipurifikasi dengan presipitasi PEG untuk menghindari kontaminasi pada saat proses sekuen yang mengakibatkan kesalahan pembacaan basa. Pembacaan sekuen dilakukan baik dari arah situs SP6 *promotor* atau T7 *promotor* sehingga dapat diketahui kesalahan pembacaan dari mesin sekuenser.

Hasil sekuen pada 128 fragmen terdapat 23 % fragmen yang mengandung mikrosatelit dan 5 % yang mempunyai *flanking region* (Tabel 2). Fragmen yang tidak memiliki *flanking region* untuk membuat pasang primer tidak mencukupi karena situs restriksi *RsaI* dekat dengan sekuen ulangan mikrosatelit.

Tabel 2. Persentase Jumlah Fragmen Mikrosatelit

Kategori Fragmen Mikrosatelit	Jumlah (%)
Fragmen bermikrosatelit	23
Non <i>flanking region</i>	14
<i>Flanking region</i>	5

Motif mikrosatelit yang muncul pada pustaka yang dibuat adalah tipe dinukleotida bermotif CA_n, TG_n, CT_n, dan TA_n sebesar 67% dan tipe campuran dinukleotida sebesar 17% (Tabel 3). Tipe motif TA_n merupakan motif mikrosatelit terbanyak dalam genom tumbuhan dan sangat sulit diisolasi karena bersifat palindrom (Powell *et al.*, 1996).

Primer dirancang dengan *software* Genetix® bagian ATSQ dan Primer3-web. Informasi penting dari perancangan primer adalah perkiraan suhu *annealing*, panjang produk dalam PCR. Optimasi setiap pasang primer dilakukan pada kisaran 52 – 60 °C dengan interval 2 °C (Tabel 4). Primer mikrosatelit manggis yang diperoleh diberi nama IGMB (IPB-Ibaraki *Garcinia mangostana* Bogor).

Tabel 4. Ukuran Produk dan Optimasi Suhu *Annealing*

Nama Primer	Sekuen*	Ukuran Produk (bp)	Suhu <i>annealing</i> (°C)
IGMB001	NA	234	52
IGMB002	NA	141	58
IGMB003	NA	122	56
IGMB004	NA	141	56
IGMB005	NA	189	58
IGMB006	NA	198	58

Keterangan : * Rangkaian sekuen tidak tersedia

Analisis primer berfluoresen digunakan untuk mengkonfirmasi lebih rinci lokus yang ada dari masing-masing individu. Hasil pengamatan hanya tiga spesies yang dapat diamplifikasi oleh IGMB001 yaitu *G. mangostana* (lokus 233, lokus 254, dan lokus 256), *G. celebica* (lokus 254 dan lokus 256), dan *G. malaccensis* (lokus 233, lokus 273, dan lokus 275). Hal ini menunjukkan ada hubungan antara ketiga spesies ini Mikrosatelit merupakan marka kodominan yang dapat membedakan alel heterozigot sehingga diduga *G. celebica* merupakan salah satu tetua dari manggis. Hal ini mendukung tanaman allotetraploid yang dibentuk dari hibridisasi dua spesies yang diikuti oleh penggandaan kromosom alami (Chahal dan Gosal, 2002) seperti manggis yang diduga proses hibridisasi berulang secara alami (Sobir and Poerwanto, 2007).

Kondisi Umum Observasi Manggis di Lapang

Populasi tanaman manggis yang diamati meliputi Leuwiliang, Kaligesing, Puspahiang, dan Wanayasa. Keempat sentra produksi tersebut merupakan populasi manggis yang sudah resmi didaftarkan sebagai varietas (kultivar) unggul manggis. Populasi manggis yang diamati merupakan komunitas tanaman tropik. Komunitas Leuwiliang merupakan kawasan manggis yang sudah tertata berdasarkan prosedur operasional baku (SPO) manggis yang terbagi menjadi dua kawasan. Komunitas Kaligesing tidak hanya manggis tetapi durian yang merupakan keunggulan di daerah tersebut. Komunitas Puspahiang merupakan populasi manggis yang besar dan tersebar luas hampir di kabupaten Tasikmalaya yang sempat dialihfungsikan pada penggunaan tanaman lada tahun 1970 (Supena, komunikasi pribadi) sehingga banyak tanaman manggis yang ditebang. Komunitas Wanayasa ditanam diantara tanaman teh dan rempah-rempahan seperti kapulaga.

Tabel 5. Rekapitulasi Pengamatan dan Analisis Keragaman Karakter Vegetatif dan Produksi di Empat Sentra Produksi Manggis

Karakter	Nilai Tengah					Uji Bartlett p-value	Perbandingan		σ^2 * kriteria	Penilaian kriteria akhir*
	LWL	KLK	PHG	WYN	F-value		2 σ_f	σ_f^2		
Panjang Ruas Daun (mm)	3.209	3.140	3.348	2.960	2.61tn	0.00	0.09	0.00	Sempit	Luas
Diameter Ruas Daun (mm)	0.532b	0.645a	0.633a	0.660a	16.37**	0.00	0.10	0.00	Sempit	Luas
Panjang Petiol Daun (mm)	1.743b	2.038a	1.831b	1.624c	23.14**	0.00	0.18	0.01	Sempit	Luas
Diameter Petiol daun (mm)	0.447ab	0.461a	0.441b	0.457a	2.98*	0.06	0.05	0.00	Sempit	Sempit
Panjang Daun (mm)	21.189a	21.662a	22.096a	19.801b	6.57**	0.31	3.47	3.01	Sempit	Sempit
Lebar Daun (mm)	9.639	9.409	9.690	9.446	0.71tn	0.01	1.48	0.54	Sempit	Sempit
Tebal Daun (mm)	0.050b	0.056a	0.051b	0.048b	8.78**	0.33	0.01	0.00	Sempit	Sempit
Rasio Panjang Lebar Daun (mm)	0.456ab	0.437b	0.440b	0.479a	5.33**	0.03	0.07	0.00	Sempit	Sempit
Diameter Batang (cm)	87.500c	110.730ab	115.220a	99.380b	5.70**	0.66	46.50	540.56	Luas	Luas
Panjang Buah (mm)	48.111ab	54.534a	53.407a	49.934b	16.25**	0.03	4.69	5.49	Luas	Luas
Diameter Buah (mm)	54.477c	61.885a	61.827a	58.165b	21.95**	0.30	4.77	5.68	Luas	Luas
Rasio Diameter Buah (mm)	1.029	1.032	1.041	1.018	1.99tn	0.00	0.04	0.00	Sempit	Luas
Rasio Panjang Diameter Buah (mm)	0.884a	0.883a	0.864ab	0.859b	3.36*	0.12	0.04	0.00	Sempit	Sempit
Panjang Tangkai Buah (mm)	19.596b	20.007b	20.528b	22.516a	3.26*	0.18	4.53	5.13	Luas	Luas
Tebal Kulit Buah (g)	6.344d	8.159b	8.575a	7.241c	19.31**	0.26	1.43	0.51	Sempit	Sempit
Bobot Buah Total (g)	81.100d	114.950b	121.120a	99.070c	19.26**	0.19	25.80	166.41	Luas	Luas
Bobot Daging+biji Buah (g)	26.678c	36.480a	34.357a	30.888b	10.33**	0.71	8.44	17.80	Luas	Sempit
Bobot Kulit Buah (g)	50.498d	73.450b	80.380a	63.427c	17.66**	0.08	19.54	95.47	Luas	Sempit
Proporsi Daging Buah	0.326a	0.316a	0.285b	0.309a	5.09**	0.02	0.05	0.00	Sempit	Sempit
Jumlah Lokal Buah	5.960b	6.040ab	6.190a	6.190a	3.50*	0.56	0.39	0.04	Sempit	Sempit
Padatan Total Terlarut (⁰ brix)	18.796	19.256	17.784	16.628	1.90tn	0.01	5.35	7.17	Luas	Luas
Total Asam Titrasi (mg/100 g)	5.799b	6.295ab	6.086b	7.982a	16.28**	0.14	1.54	0.59	Sempit	Sempit
Rasio PTT TAT	3.310a	3.106ab	2.949b	2.109c	12.08**	0.19	0.96	0.23	Sempit	Sempit
Derajat Kemasaman	3.691a	3.724a	3.623a	3.439b	7.10**	0.01	0.30	0.02	Sempit	Sempit

Keterangan: Angka pada kolom nilai tengah baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Fisher 5 %

* kriteria berdasarkan Mansyah (2002) **LWL (Leuwiliang), KLK (Kaligesing), PHG (Puspahiang), dan WYN (Wanayasa)

Ekologi populasi manggis yang diamati berkisar diantara ketinggian 125 – 706 m di atas permukaan laut (dpl). Dengan sebaran 125-283 m dpl (Kaligesing, 7°46'LS 110°03' BT – 7°46'LS 110°04'BT), 308 – 469 m dpl di (Leuwiliang, 6°36'LS 106°38 BT – 6°37'LS 106°37'BT), 406-681 m dpl (Puspahiang, 7°24'LS 108°02'BT – 7°25'LS 108°03'BT), dan 659 – 706 m dpl (Wanayasa, 6°40LS 107°33'BT – 6°40'LS 107°33'BT).

Keragaman Genetik Manggis

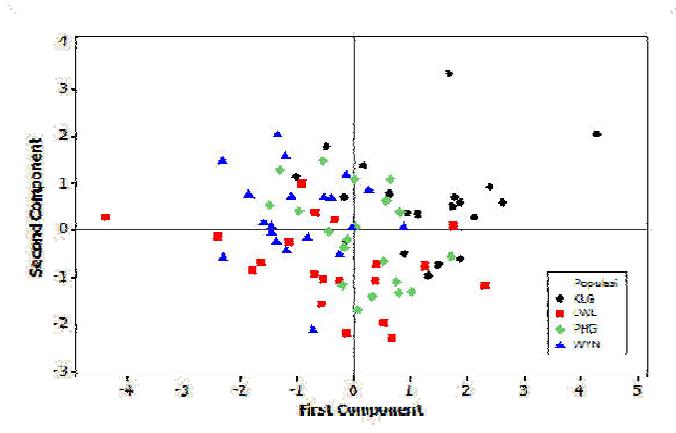
Karakter fenotif meliputi karakter vegetatif dan produksi. Kedua karakter tersebut merupakan interaksi antara faktor genetik dan lingkungan. Keragaman genetik secara umum merupakan tampilan dalam dari tanaman yang akan tereksresi berbeda pada setiap tanaman atau genotipe tertentu. Akan tetapi, manggis sebagai tanaman apomiksis yang secara teori mempunyai keragaman genetik sempit. Pendekatan molekuler telah dilakukan dalam menganalisis keragamannya seperti isozim, RAPD, AFLP (Sinaga *et al.*, 2007), RAF (Ramage *et al.*, 2004) dan ISSR (Sobir and Poerwanto, 2007). Pada tanaman apomiksis konstitusi genom tidak terjadi perubahan karena tidak ada persilangan atau segregasi. Kemungkinan keragaman yang terjadi karena mutasi alami baik yang terjadi dalam tanaman atau pengaruh dari luar. Faktor lingkungan sangat berpengaruh dan spesifik pada daerah tertentu sehingga untuk pengaruh faktor genetik stabil dapat diketahui genotipe spesifik lokasi.

Keragaman Genetik Manggis Berdasarkan Karakter Fenotipe

Karakter vegetatif yang diamati meliputi karakter daun dan pembentuk kanopi seperti ruas daun (*phytomere*). Daun merupakan komponen penting dalam sistem tanaman karena proses pembentukan energi terbesar berada di daun. Oleh karena itu, karakter ini menjadi ukuran penting dalam seleksi tanaman pada masa juvenile atau taksasi produksi tidak langsung.

Karakter vegetatif menunjukkan keragaman yang tinggi hampir pada karakter yang diamati. Panjang ruas daun dan panjang daun disemua lokasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Karakter diameter ruas daun di tiga lokasi, Puspahiang, Wanayasa dan Kaligesing mempunyai nilai tengah yang sama dan lebih besar dari lokasi Leuwilang. Diameter ruas daun menunjukkan luasnya saluran dalam aliran fotosintat dari daun ke seluruh bagian tanaman. Ruas daun dibentuk dari relay waktu diantara inisiasi daun dalam meristem apikal pucuk. Panjang petiole menunjukkan perbedaan dari setiap lokasi dengan Kaligesing yang terpanjang dan diikuti dengan diameter yang besar juga. Panjang daun di tiga lokasi menunjukkan kesamaan nilai tengah dengan lokasi Wanayasa paling pendek, tetapi untuk tebal daun lokasi Kaligesing termasuk tertinggi dibandingkan dengan lokasi lainnya.

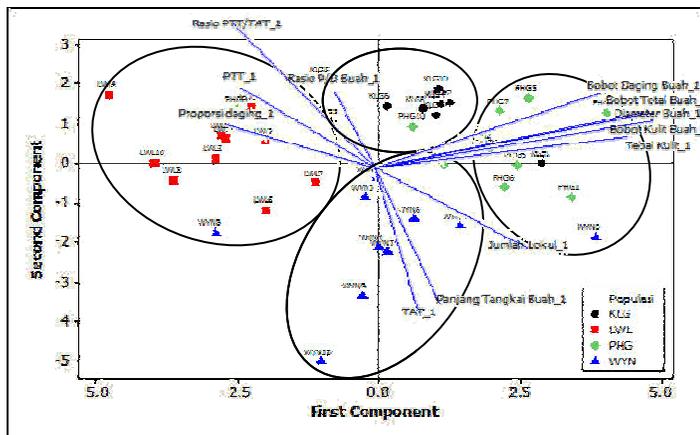
Salah satu karakter petiole dan tebal daun dalam tumbuhan dikontrol oleh beberapa gen yang saling terkait. Pada Arabidopsis, petiole dikendalikan oleh gen LEP yang merupakan keluarga gen AP2/EREBP, dan keluarga gen ini mempunyai peranan dalam perkembangan vegetatif (Graaff *et al.*, 2000). Daun merupakan komponen utama dalam proses metabolisme tanaman karena diproduksi fotosintat untuk proses pertumbuhan. Karakter vegetatif yang diamati merupakan penyusun susunan daun atau dikenal sebagai filotaksis yang diprogram secara genetik (Taiz and Zeiger, 2002). Manggis termasuk jenis *decussate* dengan daun sepasang yang saling berlawanan.



Gambar 1. Diagram Pencar AKU 80 Aksesori Manggis Berdasarkan Karakter Vegetatif

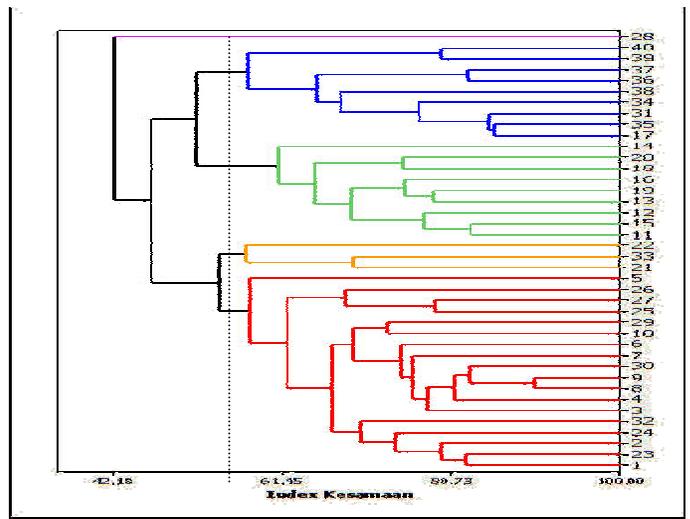
Berdasarkan analisis komponen utama (AKU) pada dua komponen mampu menjelaskan 73.5 % proporsi akumulasi dari karakter yang diujikan. Genotipe yang diujikan tidak menunjukkan penggerombolan yang jelas dan lebih cenderung bercampur diantara populasi lainnya.

Karakter produksi yang diamati memiliki keragaman yang luas pada karakter bobot total buah, panjang tangkai buah, dan PTT, sedangkan karakter lainnya menunjukkan keragaman sempit. Untuk bobot total buah menunjukkan perbedaan dari empat lokasi dengan nilai tertinggi lokasi Puspahiang, diikuti Kaligesing, Wanayasa, dan Leuwiliang. Untuk panjang tangkai buah, lokasi Wanayasa mempunyai nilai tertinggi diikuti Puspahiang, Kaligesing, dan Leuwiliang, sedangkan karakter produksi yang termasuk karakter kimia buah seperti PTT mempunyai nilai tertinggi pada lokasi Leuwiliang.



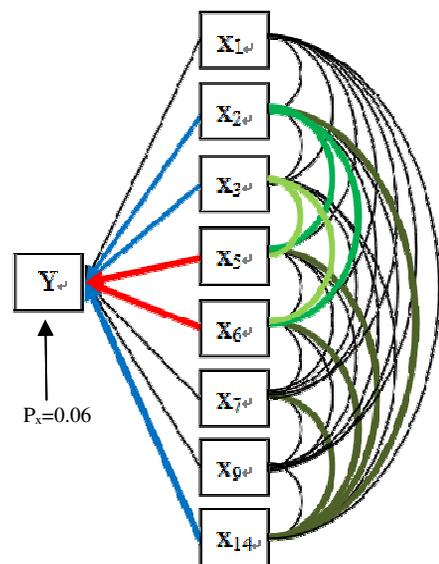
Gambar 2. Diagram Pencar AKU 40 Genotipe dan Pembobotnya dari Karakter Produksi

Berbeda dari karakter vegetatif, diagram AKU pada karakter produksi menunjukkan penggerombolan berdasarkan lokasi dengan beberapa genotipe masuk dalam penggerombolan yang berbeda dari daerah asalnya. AKU mampu menjelaskan 62.2 % proporsi akumulatif dari karakter yang diujikan. Berdasarkan karakter yang memboboti tiap lokasi, lokasi Leuwiliang terboboti oleh PTT, proporsi daging buah dan rasio PTT/TAT. Lokasi Wanayasa terboboti oleh panjang tangkai, jumlah lokul, dan TAT, sedangkan lokasi Kaligesing dan Puspahiang terboboti dari sisa karakter produksi lainnya.



Gambar 3. Dendrogram pada 40 Genotipe Berdasarkan Karakter Produksi

Berdasarkan pengelompokan dengan analisis kluster diperoleh empat kelompok besar yang ditunjukkan dalam perbedaan warna dengan tingkat kemiripan 55% (Gambar 3). Seperti pada analisis AKU pengelompokan pada analisis kluster mengikuti kelompok pada lokasi masing-masing yang tidak begitu jelas. Lokasi Kaligesing dan Puspahiang membentuk kelompok yang sama pada tingkat kemiripan tersebut, sedangkan populasi Wanayasa dan Leuwiliang pada pengelompokan yang terpisah. Pada pengelompokan berdasarkan analisis kluster dapat dilihat kedekatan dari setiap genotipe pada masing-masing kelompok. Berdasarkan analisis diskriminan pengelompokan terhadap 40 genotipe menjadi 4 kelompok besar sudah benar dengan proporsi 100%.



Gambar 4. Diagram Lintas Berantai Karakter Bobot Total Buah (Y) dan Komponen Produksi : Panjang (x1), Diameter (x2), Rasio Diameter (x3), Bobot Daging+biji (x5), Bobot Kulit (x6), Proporsi Daging (x7), Jumlah Lokul (x9), dan Tebal Kulit (x14) (==== : pengaruh langsung, === : pengaruh tidak langsung, ---/---/--- : korelasi pengaruh tidak langsung, === : korelasi tidak nyata)

Analisis lintas 14 karakter produksi terhadap bobot total buah menunjukkan hanya delapan karakter yang berkorelasi positif dengan tiga karakter berpengaruh langsung dan dua karakter tidak berpengaruh langsung (Gambar 4). Bobot daging+biji dan bobot kulit menunjukkan pengaruh langsung terhadap karakter bobot buah total, sedangkan diameter, rasio diameter, dan tebal kulit buah tidak menunjukkan secara pengaruh langsung tetapi memberikan pengaruh langsung melalui karakter bobot daging+biji dan bobot kulit. Menurut Singh dan Chaudary (1979), jika nilai koefisien korelasi tidak nyata tetapi pengaruh langsungnya bernilai positif dan besar, maka diperlukan pembatasan agar dapat merubah dari pengaruh tidak langsung ke pengaruh langsung.

Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Molekuler Mikrosatelit

Analisis alelik mikrosatelit pada empat lokus IGMB001, IGMB002, IGMB003, dan IGMB006 menghasilkan multi alel (Tabel 6). Dengan menunjukkan alel spesifik dan keragaman genetik pada lokus IGMB006 yang terdapat di populasi Puspahiang.

Tabel 6. Jumlah Alel pada Lokus IGMB

Lokus	Ukuran Alel (bp)	Alel Spesifik (bp)
IGMB001	256, 275	233, 236, 254, 257
IGMB002	106, 129, 136, 158	
IGMB003	129, 132	127, 130, 136, 137, 138, 157, 193, 194, 223, 244, 280, 295, 309
IGMB006	126, 198, 218	111, 117, 139

Mikrosatelit merupakan marka molekuler kodominan yang dapat membedakan sifat alel homozigot dan heterozigot (Powell *et al.*, 1996). Untuk kasus tanaman tetraploid, jumlah alel yang kemungkinan muncul maksimal adalah empat alel yang berasal dari empat set kromosom yang homolog. Dua lokus IGMB001 menunjukkan kemunculan dua, dimana dua set kromosom mempunyai 2 pasangan alel. Tiga lokus lainnya, IGMB002, IGMB003 dan IGMB006 menunjukkan kemunculan empat alel, dimana 4 pasangan alel pada setiap pasangan kromosom homolog.

Data alel mikrosatelit tersebut dapat menunjukkan bahwa manggis mempunyai tingkat ploidi tinggi dengan susunan 4 set kromosom atau tetraploid. Data tersebut mendukung penelitian yang telah dikemukakan oleh Tixier (1955) pada pengamatan sitologi dan Richards (1990) pada pengamatan intermediet morfologi antara dua tetua manggis dan mengajukan hipotesis bahwa manggis merupakan tanaman allotetraploid.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Konstruksi mikrosatelit manggis dengan metode *selective hybridization* telah berhasil mengisolasi lima primer dengan nama IGMB dari 48% fragmen yang diisolasi. Ada keragaman genetik berdasarkan marka mikrosatelit yang dikembangkan. Pada pengelompokan berdasarkan populasinya karakter vegetatif tidak menunjukkan pengelompokan yang jelas, sedangkan karakter produksi dapat mengelompokkan manggis berdasarkan asal populasinya.

Saran

Untuk menganalisis populasi manggis secara memadai, perlu dikembangkan primer lain, sehingga jumlahnya memenuhi angka minimal 10 primer.

DAFTAR PUSTAKA

- Bruni, R. and G. Sacchetti. 2009. Factors Affecting Polyphenol Biosynthesis in Wild and Field Grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/ Guttiferae). *Molecules* 14:682-725.
- Chahal, G.S. and S.S.Gosal. 2002. Principles and Procedures of Plant Breeding. Narosa Publishing. New Delhi. 604p.
- Chin, Y.W., H.A. Jung, H. Chai, W. J. Keller, and A. D. Kinghorn. 2008. Xanthonases with quinine reductase-inducing activity from the fruits of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Phytochemistry* 69:754-758.
- Deptan. 2009. Atap Publikasi Hortikultura. http://www.hortikultura.go.id/download/atap/Atap_publikasi_Horti2007.zip. [27 April 2009].
- Graaff, E. V. D., A. Den Dulk-Ras, P. J. J. Hooykaas and B. Keller. 2000. Activation tagging of the LEAFY PETIOLEE gene affects leaf petiole development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 127 : 4971-4980.
- Gupta, P. K, R. K. Varshney, and M. Prasad. 2002. Molecular Marker : Principles and Methodology, p. 9-54. In S. M. Jain, D.S. Brar, and B.S. Ahloowalia (Eds.). *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Inoue, E., Y. Matsuki, H. Anzai and K. Evans. 2007. Isolation and characterization of microsatellite markers in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Molecular Ecology Notes* 7: 445-447.
- Mansyah, E. 2002. Analisis Variabilitas Genetik Manggis Melalui Teknik RAPD dan Fenotifiknya pada Berbagai Lingkungan Tumbuh di Jawa dan Sumatera Barat. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran. 105 p.
- Powell, W., G. D. Machray, and J. Provan. 1996. Polymorphic revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science* 1 (7):217-222.
- Qosim, W. A, R. Poerwanto, G.A. Wattimena, Witjaksono, Sobir, dan N. Carsono. 2007. Variabilitas Genetik Mutan-mutan Manggis *in vitro* berdasarkan marka RAPD. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian yang Dibiayai oleh Hibah Kompetitif. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 240-246.
- Ramage, C.M, L. Sando, C. P. Peace, B. J. Carroll and R. A. Drew. 2004. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). *Euphytica* 136:1-10.
- Richards, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical fruit trees : The origin of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 103 : 301-308.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18:233-234.
- Sinaga, Soaloon, Sobir, R. Poerwanto, H. Aswindinnoor, D. Duryadi, Resmitasari, R. Lukman, dan R. Amelia. 2007. Aplikasi Marka Isoenzim, RAPD, dan AFLP untuk Identifikasi Variabilitas Genetik Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana*) dan kerabat dekatnya. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian yang Dibiayai oleh Hibah Kompetitif. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 247-255.
- Singh, R. K. and B. D. Chaudary. 1979. Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis. Kalyani Publishers. New Delhi. p. 70-79.
- Sobir and R. Poerwanto. 2007. Mangosteen Genetics and Improvement. *International Journal of Plant Breeding* 1 (2):105-111.
- Te-Chato, S and M. Lim. 2005. *Garcinia mangostana* Mangosteen, p. 211-220. In R. E. Litz (Ed.). *Biotechnology of Fruits and Nut Crops*. CABI Publishing. Wallingford.
- Tixier, P. 1955. Contribution a l'etude des *Garcinia*. *Fruits* 10 (5): 209-212.
- Zane, L., L. Bargelloni and T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1-6.