

APLIKASI MARKA ISOENZIM, RAPD, DAN AFLP UNTUK IDENTIFIKASI VARIABILITAS GENETIK TANAMAN MANGGIS (*Garcinia mangostana*) DAN KERABAT DEKATNYA

Soaloon Sinaga¹, Sobir², Roedhy Poerwanto², Hajrial Aswidinnor², Dedy Duryadi², Resmitasari³, Rudy Lukman⁴, dan Roswita Amelia⁵

¹Mahasiswa S3 Program Studi Agronomi, Sekolah Pascasarjana IPB; ²Staf Pengajar IPB; ³Staf PKT Kebun Raya Bogor; ⁴Staf BISI International dan SEAMEO Biotrop; ⁵Staf SEAMEO Biotrop

ABSTRACT

This research was aimed to study genetic variability among mangosteen accession and other *Garcinia sp.* based on isozymes, RAPD, AFLP, and their combinations. Genetic variability and relationships among several mangosteen and other *Garcinia sp.* were established by using four isozymes, seven RAPD primers, and three AFLP primer combinations. The level of polymorphism as revealed by isoenzyme, RAPD, AFLP was 88.9 %, 100 %, and 100% respectively. The dendrogram is built based on combined data from isozymes, RAPD, and AFLP analysis separate clusters mangosteen and other *Garcinia sp.* The combined RAPD with AFLP and combined isozymes, RAPD, and AFLP data show that *G. mangostana* is a close relative of *G. malaccensis*, *G. porrecta*, *G. celebica*, and *G. hombroniana*.

Key words : Genetic variability, mangosteen, isozymes, RAPD, AFLP

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang dikenal sebagai *Queen of Tropical Fruits* merupakan salah satu komoditi ekspor unggulan Indonesia. Peningkatan nilai ekonomis manggis dewasa ini, mendorong perlunya peningkatan produksi. Hal ini dicapai dengan kultur teknis yang lebih maju dan penggunaan bibit unggul dari hasil pemuliaan yang terarah dan strategis.

Program perbaikan genetik tanaman manggis sangat bergantung pada sumber keragaman genetik. Indonesia merupakan salah satu pusat persebaran manggis di Asia Tenggara. Ekplorasi, identifikasi dan karakterisasi manggis dan kerabat dekatnya penting dilakukan untuk memperoleh informasi sumber keragaman genetik baru guna perbaikan genetik dan peningkatan produksi manggis. Studi variasi genetik diarahkan langsung untuk melacak keberadaan variasi aksesori manggis Indonesia (Drew 1997).

Manggis bersifat apomiksis obligat, biji tidak berasal dari fertilisasi dan diduga mempunyai keragaman genetik sempit, sehingga diperkirakan keberadaan manggis di alam satu spesies. Kenyataan di lapang menunjukkan adanya keragaman tanaman manggis, kemungkinan disebabkan faktor lingkungan maupun faktor genetik akibat mutasi alami sejalan dengan sejarah tanaman manggis yang telah berumur ribuan tahun (Ramage *et al.* 2004). Di Kaligesing, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah diidentifikasi adanya bibit hasil sambungan dan tanaman produktif yang mempunyai trubus dengan warna hijau muda, merah, dan coklat (Supriyanto *et al.* 1999). Evaluasi keragaman pohon manggis pada sentra produksi manggis di Jawa dan Lombok dengan analisis isoenzim yang dilakukan oleh Supriyanto *et al.* (1999), menunjukkan minimal ada tiga klon manggis. Berdasarkan morfologi manggis asal Sumatera Barat dan Sumatera Selatan terdiri atas tujuh klon (Mansyah *et al.* 1994). Manggis Sumatera Barat dengan analisis isoenzim *glucose phosphate isomerase* (GPI), 14 sampel yang diujikan menunjukkan pola pita yang sama meskipun secara fenotip bervariasi, dengan kata lain variabilitas genetiknya sempit, tetapi variabilitas fenotipnya luas (Mansyah *et al.* 1999). Sejumlah analisis DNA dan RNA juga memperlihatkan variasi diantara populasi manggis (Ramage *et al.* 2004). Kandungan DNA manggis dan kerabat dekatnya (nama lokal Thai, *chamuang*, *mahput*, *pawa*, dan *somkhang*) menggunakan *flow cytometry* menunjukkan perbedaan. Selanjutnya, sekuensing DNA genom dengan primer spesifik menunjukkan manggis lebih dekat kekerabatannya dengan *pawa* diikuti *somkhang* dan *mahput* (Te-Chato dan Lim 2000). Analisis genetik dengan teknik mutakhir terhadap jenis yang lebih luas memungkinkan identifikasi tetua jantan untuk hibridisasi dengan manggis sebagai tetua betina (Osman dan Abdul 2006).

Tanaman manggis mempunyai siklus hidup yang panjang, sehingga studi genetik dengan uji keturunan dan persilangan sulit dilakukan, karena itu estimasi variabilitas genotipe menggunakan penanda morfologi dan penanda molekuler (DNA) penting dilakukan. Penggunaan penanda molekuler (RAPD, RAF, dan AFLP) dan isoenzim mempunyai kontribusi penting bagi pemulia tanaman dalam penanganan apomiksis (Ramage *et al.* 2004). Teknik isoenzim dan RAPD telah dilakukan untuk mengkarakterisasi tanaman kentang (Collares *et al.* 2004). Teknik AFLP digunakan untuk pembuatan sidik jari DNA (Vos *et al.* 1995), untuk menguji hubungan antara polimorfisme molekuler dan penampilan hibrid pada jagung (Ajmone-Marsan *et al.* 1998).

Analisis variabilitas tanaman manggis dan *genotyping* anggota genus *Garcinia* lainnya penting guna memperoleh beberapa calon tetua dengan melakukan hibridisasi dengan manggis. Penelitian ini bertujuan mendapatkan 1) informasi keragaman genetik dan kekerabatan antara manggis dengan kerabat dekatnya sekaligus mengetahui tetua manggis dan 2) merekomendasikan metode karakterisasi manggis yang paling efektif.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon BIOTROP Bogor, Laboratorium Molekuler Pusat Studi Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi IPB, serta di Laboratorium PKBT IPB, Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan Juni 2006 sampai dengan Agustus 2007.

Bahan Penelitian

Sample daun tanaman manggis dan kerabat dekatnya dikoleksi dari seluruh Indonesia meliputi 20 provinsi dan Koleksi Kebun Raya Bogor serta taman wisata Mekarsari. Aksesori yang dipakai untuk analisis isoenzim adalah 33, sedangkan untuk analisis RAPD dan AFLP adalah 18 aksesori.

Metode

Analisis Isoenzim mengikuti prosedur Soltis dan Soltis (1989). Enzim yang dianalisis adalah peroxidase (PER), Asam Fosfatase (ACP), Malat Dehidrogenase (MDH), dan Esterase (EST). Analisis molekuler, ekstraksi DNA mengikuti prosedur CTAB oleh Doyle and Doyle (1987) dengan beberapa modifikasi. Teknik RAPD mengikuti metode William *et al.* (1990). Tujuh random primer yang dipakai adalah SBH12 (5'-ACGCGCATGT-3'), SBH13 (5'-GACGCCACAC-3'), SBH19 (5'-CTGACCAGCC-3'), OPA14 (5'-TCTGTGCTGG-3'), OPA16 (5'-AGCCAGCGAA-3'), OPA17 (5'-GACC-GCTTGT-3'), dan OPA18 (5'-AGGTGACCGT-3'). Analisis AFLP mengikuti protokol yang dikembangkan oleh Vos *et al.* (1995) yang dimodifikasi Schwarz *et al.* (2000). Sekuen adaptor *EcoRI* adalah 5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3', 3'-CTGACGCATGGTTAA-5', dan sekuen dari adaptor *MseI* adalah 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3', 3'-TACTCAGGACTCAT-5'. Primer untuk amplifikasi preselektif adalah *EcoRI*+A dan *MseI*+C. Selanjutnya, amplifikasi selektif menggunakan primer *EcoRI*+ ANN dan *MseI*+CNN. Elektroforesis PAGE menggunakan 5 % gel polyacrilamide pada tegangan 2 500 Volt selama 4 jam. Data awal dikoleksi dengan software ABI PRISM™ v.1.1 dan dianalisis dengan software GENESCAN™ v.2.1 (Applied Biosystems).

Pita dari teknik isoenzim, RAPD, dan AFLP diterjemahkan menjadi data biner (diberi nilai 1 bila ada pita dan 0 bila tidak ada pita). Data ini digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik berdasarkan rumus Nei dan Li (1979) dengan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic*) menggunakan program NTSys (*Numerical Taxonomy and Multivariate System*) versi 2.02 (Rolf 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Variabilitas dengan Penanda Isoenzim

Fragmen 33 aksesori manggis dan kerabat dekatnya dengan empat isoenzim berjumlah 27 pita (Tabel 1), mampu mengungkap keragaman ke-33 aksesori dengan polimorfisme tinggi (88.9%). Analisis kluster menghasilkan dendrogram khas yang memisahkan tanaman manggis terhadap kerabat dekatnya pada indeks ketidaksamaan 42.8 %, kecuali *G. malaccensis* (Gambar 1A). Pengelompokan manggis dan kerabat dekatnya terbentuk pada koefisien kemiripan 14-96%. Kelompok manggis mempunyai tingkat kemiripan yang lebih tinggi (57.2-96%) dibanding kerabat dekatnya (14-83 %). Dengan koefisien kesamaan 57.2 % diperoleh 11 kelompok aksesori. Keragaman ini termasuk tinggi untuk tanaman opomiksis obligat, dibanding dengan tanaman *Taraxacum* (19 %) (Ford dan Richards, 1985). Variasi yang muncul pada apomiktik terjadi dengan kecepatan yang lebih besar dari pada mutasi (Hughes dan Richards, 1985). Aksesori *G. celebica* dan *G. hombroniana* yang diduga sebagai tetua manggis justru pada kemiripan genetik yang lebih rendah (33 %). Richards (1990), menyatakan tanaman manggis merupakan allotetraploid (2n=90) turunan dari *G. malaccensis* (2n=42) dan *G. hombroniana* (2n=48), dengan morfologi intermediet kedua spesies diploid tersebut. Nilai korelasi matriks kesamaan MxComp sebesar r=0.914. Artinya, dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sangat sesuai menggambarkan pengelompokan tersebut di atas (Rolf 1998).

Tabel 1. Jumlah Pita dan Tingkat Polimorfisme 5 Isoenzim pada 33 Aksesori Manggis dan Kerabat Dekatnya

No	Isoenzim	Jumlah Pita	Pita Polimorfik	Pita Monomorfik
1	Esterase	10	10 (100%)	0
4	Peroksidase	7	6 (85%)	1
7	Acid phosphatase	5	4 (80%)	1
9	Malat dehidrogen	5	4 (80%)	1

Akumulasi persentasi tiga komponen utama pertama mewakili 59.94 % keragaman (Tabel 2) dari total 100 % pada 27 karakter. Keragaman 70 % dari 27 karakter baru dapat diperoleh dari 5 komponen utama. Terdapat 22 karakter yang tidak terlalu berpengaruh terhadap *plotting* 33 aksesori tersebut.

Tabel 2. Nilai Ciri Komponen Utama Isoenzim, RAPD, AFLP, Kombinasi RAPD dan AFLP, serta Kombinasi Isoenzim dan AFLP

No Kar.	Isoenzim			RAPD			AFLP			RAPD+AFLP			Isoenzim+AFLP		
	NC	(%)	K	NC	(%)	K	NC	(%)	K	NC	(%)	K	NC	(%)	K
1	10.259	37.997	37.997	32.080	18.331	18.331	18.508	22.122	22.122	19.888	18.611	18.611	20.971	22.90	22.90
2	4.188	15.512	53.510	15.146	8.665	26.986	8.638	10.324	32.446	10.254	9.595	28.206	11.861	12.90	35.80
3	1.736	6.432	59.942	12.757	7.290	34.276	8.057	9.630	42.077	9.958	9.318	37.525	10.126	11.00	46.80
4	1.543	5.716	65.659	11.446	6.540	40.817	6.597	7.885	49.962	8.287	7.755	45.280	9.349	10.20	57.00
5	1.471	5.450	71.109	11.338	6.479	47.297	6.424	7.678	57.461	7.912	7.404	52.684	8.192	8.90	66.00
6				10.096	5.769	53.066	5.915	7.070	64.711	7.222	6.758	59.442	7.331	8.00	74.00
7				9.817	5.610	58.676	5.334	6.376	71.087	6.963	6.516	65.958			
8				9.235	5.277	63.953				6.546	6.126	72.084			
9				7.628	4.359	68.313									
10				6.994	3.997	72.309									

Ket.: Kar = karakter, NC = Nilai ciri, K = kumulatif

Hasil ekstraksi komponen 1 vs 2 membentuk 3 kelompok utama (Gambar 3A). Analisis ini mendukung pengelompokan pada dendrogram. Aksesori *G. hombroniana* dan *G. celebica* yang diduga sebagai tetua manggis cenderung selalu dalam kelompok yang sama, sedangkan *G. malaccensis* selalu mengelompok dengan manggis.

Analisis Variabilitas dengan Penanda RAPD

Semua primer acak mampu mengamplifikasi semua DNA aksesori (Tabel 3) dengan total 69 pita DNA. Jumlah pita tiap primer bervariasi antara 2-13 pita dengan rata-rata 10 pita DNA/sampel. Primer OPA 14 menghasilkan pita paling sedikit (6 pita), sedangkan pita terbanyak dihasilkan oleh primer SBH 19 (13 pita). Ukuran pita yang diamplifikasi berkisar antara 100-1600 pb. Jumlah pita yang dihasilkan oleh tiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuen primer pada genom. Semua primer menghasilkan tingkat polimorfis tinggi yaitu 69 pita (100 %). Perbedaan jumlah dan ukuran pita menentukan tingkat keragaman genetik aksesori manggis dan kerabat dekatnya.

Tabel 3. Jumlah pita hasil amplifikasi tujuh primer dengan teknik RAPD

Primer	Ukuran pita (pb)	Jumlah pita monomorfik	Jumlah pita polimorfik	Jumlah pita
SBH 12	250 – 1600	0	9	9
SBH 13	200 – 1600	0	12	12
SBH 19	150 – 1400	0	13	13
OPA 14	200 – 1100	0	6	6
OPA 16	100 – 1500	0	10	10
OPA 17	100 – 1800	0	10	10
OPA 18	100 – 1500	0	9	9
Total		0	69 (100%)	69

Dendrogram 18 aksesori manggis dan kerabat dekatnya dengan teknik RAPD mempunyai tingkat kemiripan 19.6-50.8 % (Gambar 1B). Teknik ini tidak mengelompokkan aksesori manggis dalam satu kelompok dan kerabat dekatnya tersebar diantara aksesori manggis. Analisis RAPD ini tidak kongruen dengan penanda isoenzim dan AFLP yang mampu memisahkan grup manggis dengan kerabat dekatnya. Diduga pita-pita yang teramplifikasi bukan merupakan penciri yang mampu menunjukkan tingkat kekerabatan antar 18 aksesori yang diuji. Penggunaan primer yang lebih banyak dengan tingkat polimorfisme tinggi diharapkan dapat memberikan pengelompokan yang lebih komprehensif. Chen *et al.* (2000), menyatakan data molekuler sangat tergantung pada pemilihan primer yang digunakan. Berbeda dengan penanda lainnya dendrogram yang dihasilkan

teknik RAPD mampu mengelompokkan *G. hombroniana* dan *G. celebica* dengan tingkat kemiripan 30.8 %. Selanjutnya, *G. malaccensis_a* dan *G. malaccensis_b* berada pada kelompok yang sama dengan tingkat kemiripan 39.5 % padahal pada dua penanda lainnya kedua aksesori pada kelompok berbeda. Dendrogram penanda RAPD mempunyai nilai korelasi matriks $r=0.587$ dengan *goodness of fit* sangat tidak sesuai.

Tiga komponen utama pertama penanda RAPD mempunyai persentase akumulasi 34.27 % keragaman (Tabel 2). Keragaman 70 % dari 175 karakter baru dapat diperoleh dari 10 komponen utama. Terdapat 165 karakter yang tidak terlalu berpengaruh terhadap *ploting* 18 aksesori yang dianalisis. Hasil ekstraksi komponen 1 vs 2 (Gambar 3B) membentuk 4 kelompok utama. Analisis komponen utama memberikan gambaran yang berbeda pengelompokan pada dendrogram (Gambar 1B).

Analisis Variabilitas dengan Penanda AFLP

Analisis AFLP 18 aksesori manggis dan kerabat dekatnya dengan tiga kombinasi primer: ACC_CAG, ACT_CAA, dan ACT_CAC menghasilkan 220 pita yang seluruhnya (100 %) polimorfik. Jumlah pita yang dihasilkan dari tiap kombinasi primer bervariasi antara 19-94 pita. Rata-rata 73.3 pita tiap sampel/primer. Primer ACT_CAA menghasilkan pita polimorfik terbanyak (94 pita) diikuti primer ACT_CAA 70 pita dan primer ACC_CAG 56 pita. Ukuran fragmen yang diamplifikasi berkisar antara 50-500 pasang basa (pb).

Tingkat kemiripan 18 aksesori manggis dan kerabat dekatnya dengan penanda AFLP berkisar antara 18.48–80 % (Gambar 1C). Penanda AFLP memisahkan aksesori manggis pada indeks kesamaan 45.3 %, kecuali kusu-kusu. Kelompok manggis mempunyai tingkat kemiripan yang lebih tinggi (58-81 %) dibanding kerabat dekatnya (18-71 %). Hasil analisis kluster membagi 18 aksesori menjadi 7 kelompok pada kemiripan 58 %. Aksesori *G. malaccensis_b*, dan *G. hombroniana* yang diduga sebagai tetua manggis berada pada kemiripan genetik 45.3 % dan 29%. Berdasarkan dendrogram AFLP hipotesis tersebut dapat diterima. Nilai $r=0.978$, artinya dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sangat sesuai untuk menggambarkan pengelompokan tersebut.

Tiga komponen utama pertama mempunyai akumulasi 42.07 % keragaman (Tabel 2). Keragaman 70 % dari 607 karakter diperoleh dari 7 komponen utama. Terdapat 600 karakter yang tidak terlalu berpengaruh terhadap *ploting* 18 aksesori. Hasil ekstraksi komponen 1 vs 2 membentuk 6 kelompok utama (Gambar 2C). Analisis komponen utama mendukung pengelompokan pada dendrogram (Gambar 1C).

Analisis Variabilitas Menggunakan Kombinasi RAPD dan AFLP

Tingkat kemiripan 18 aksesori manggis dan kerabat dekatnya berkisar antara 19.32–80.8 % (Gambar 1D). Kombinasi kedua penanda memisahkan aksesori manggis pada indeks kesamaan 42 %. Kelompok manggis mempunyai tingkat kemiripan yang lebih tinggi (53-81 %) dibanding kerabat dekatnya (19-60 %). Analisis kluster membagi 18 aksesori menjadi 7 kelompok (53 %). *G. malaccensis*, dan *G. hombroniana* yang diduga sebagai tetua manggis berada pada kemiripan genetik 42 % dan 28 %. Berdasarkan dendrogram kombinasi penanda AFLP dan RAPD hipotesis tersebut dapat diterima. Analisis MxComp menghasilkan nilai $r=0.972$ dengan *goodness of fit* sangat sesuai untuk menggambarkan pengelompokan.

Tiga komponen utama pertama mempunyai nilai akumulasi 37.5 % keragaman. Keragaman 70 % dari 777 karakter baru dapat diperoleh dari 8 komponen utama. Terdapat 769 karakter yang tidak terlalu berpengaruh terhadap *ploting* 18 aksesori tersebut. Ekstraksi komponen 1 vs 2 membentuk 4 kelompok utama (Gambar 3D). Analisis komponen utama mendukung pengelompokan pada dendrogram (Gambar 1D).

Analisis Variabilitas Menggunakan Kombinasi Isoenzim dan AFLP

Kombinasi penanda diharapkan mengungkap kekerabatan antar aksesori dengan lebih baik karena karakternya lebih banyak dan dari region genom yang berbeda. Jarak genetik 13 aksesori manggis dan kerabat dekatnya dengan kombinasi isoenzim dan AFLP berkisar 23–76.1 % (Gambar 2D). Kombinasi kedua penanda memisahkan aksesori manggis dengan indeks kemiripan 30.8 %. Kelompok manggis mempunyai tingkat kemiripan yang lebih tinggi (30.8-76 %) dibanding kerabat dekatnya (23–70.3 %). Analisis kluster membagi 13 aksesori menjadi 6 kelompok (58.3 %). Dilihat dari kekerabatannya penanda isoenzim lebih sesuai dalam pengelompokan. Kerabat dekat sudah memisah pada 64 % (*G. porrecta*) kecuali *G. Malaccensis*, *G. Hombroniana*, dan *G. celebica* dalam kelompok yang sama (79 %), *G. rigida* merupakan

kerabat terjauh (47.5 %) dibanding manggis. Sebaliknya pada dendrogram AFLP dan kombinasi kedua penanda *G. porrecta* masuk kelompok manggis (71.6 % dan 75.5 %), kusu-kusu masuk kerabat dekat (30 % dan 30.8 %). *G. hombroniana* dan *G. benthami* dalam kelompok yang sama (71 %), sedangkan kerabat terjauh *G. rigida* (20.7 %) pada penanda AFLP dan *G. celebica* (22 %) pada kombinasi kedua penanda. *G. Malaccensis* dan *G. hombroniana* yang diduga sebagai tetua manggis berada pada kemiripan genetik 45.9 % dan 30.8 %. Hipotesis tersebut berdasarkan dendrogram kedua penanda dapat diterima. Nilai $r=0.975$, dendrogram mempunyai *goodness of fit* sangat sesuai.

Tiga komponen utama pertama mempunyai nilai akumulasi yang mewakili 46.8 % keragaman (Tabel 2). Keragaman 70 % dari 634 karakter diperoleh dari 6 komponen utama. Terdapat 628 karakter yang tidak terlalu berpengaruh terhadap *plotting* 13 aksesi yang dianalisis. Ekstraksi komponen 1 vs 2 membentuk 6 kelompok utama (Gambar 3H). Analisis komponen utama mendukung pengelompokan pada dendrogram (Gambar 2D). Pengelompokan 13 aksesi pada dendrogram masing-masing penanda dengan tingkat kemiripan 55 % berbeda dengan pengelompokan hasil komponen utama, kecuali oleh AFLP. Secara umum dari 13 aksesi semua penanda dan kombinasinya memisahkan manggis dengan kerabat dekatnya, kecuali RAPD.

AFLP berkontribusi besar terhadap kluster kombinasi penanda. Secara konsisten nilai r tetap tinggi ($> 90\%$) dan mampu memisahkan aksesi manggis dengan kerabat dekatnya. Hipotesis tetua manggis *G. malaccensis* dan *G. hombroniana* dapat diterima dengan pembuktian penanda AFLP dan kombinasinya dengan isoenzim. Persentase polimorfik yang tinggi bukan hal yang umum bagi tanaman manggis sebagai tanaman apomiksis obligat. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh *G. mangostana* dihasilkan tidak dari persilangan tunggal diantara tetuanya. Hibridisasi berulang diantara tetua manggis memungkinkan munculnya variasi genetik yang lebih luas diantara tetuanya (ipbfruit@indo.net.id). Variasi yang tinggi diantara genotipe manggis merupakan potensi genetik untuk menghasilkan tipe unggul. Hal ini dapat dilakukan dengan metode seleksi massa pada beberapa tanaman untuk menghasilkan varietas baru.

KESIMPULAN

Variabilitas genetik dan kekerabatan diantara tanaman manggis dan kerabat dekatnya dapat diungkapkan dengan empat isoenzim, tujuh primer RAPD, dan tiga kombinasi primer AFLP dengan tingkat polimorfisme masing-masing 88.9 %, 100 %, dan 100 %. *G. mangostana* sebagai tanaman apomiksis obligat justru mempunyai variasi genetik yang luas. Tanaman manggis relatif dekat dengan *G. malaccensis*, *G. porrecta*, *G. celebica*, and *G. hombroniana*. Hipotesis yang menyatakan *G. mangostana* merupakan hibrid dari *G. malaccensis* dengan *G. hombroniana* berdasarkan penanda AFLP dan kombinasinya dengan isoenzim dapat diterima.

Dendrogram berdasarkan penanda RAPD sangat berbeda pengelompokannya dibanding penanda isoenzim dan AFLP. Tingkat kesesuaian isoenzim lebih kongruen dengan AFLP. Penanda isoenzim dan AFLP mempunyai tingkat kesesuaian yang sangat baik dalam menggambarkan keragaman antar aksesi serta mampu mengelompokkan aksesi manggis secara terpisah dari kerabat dekatnya.

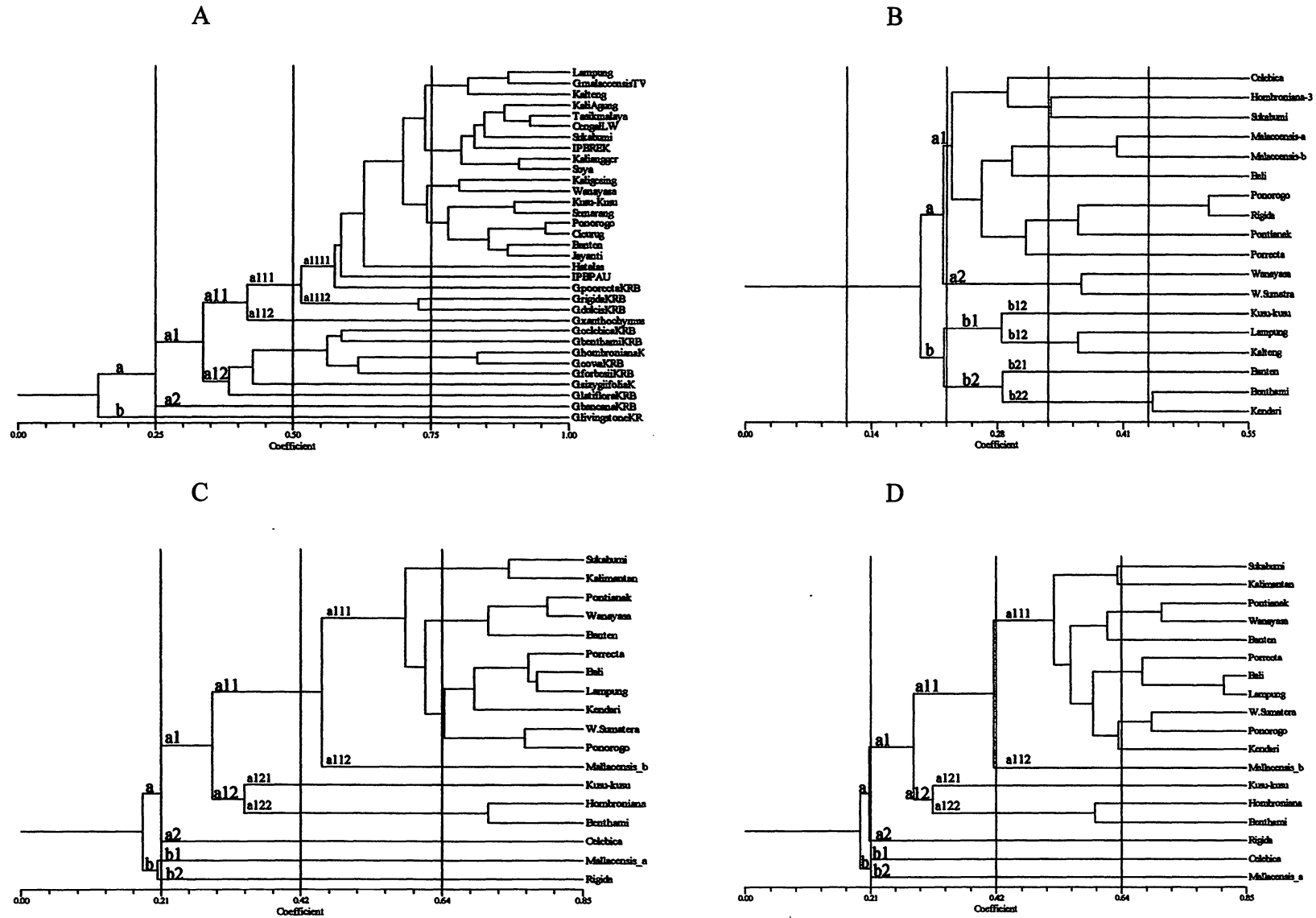
UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Kantor Kementerian Riset dan Teknologi melalui program RUSNAS Pengembangan Buah-buahan Unggulan Indonesia di Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika (PKBT), LPPM-IPB periode 2000-2015, kepada Kementerian Departemen Pertanian melalui program KKP3T periode 2007, dan kepada PSRPT melalui program DIPA.

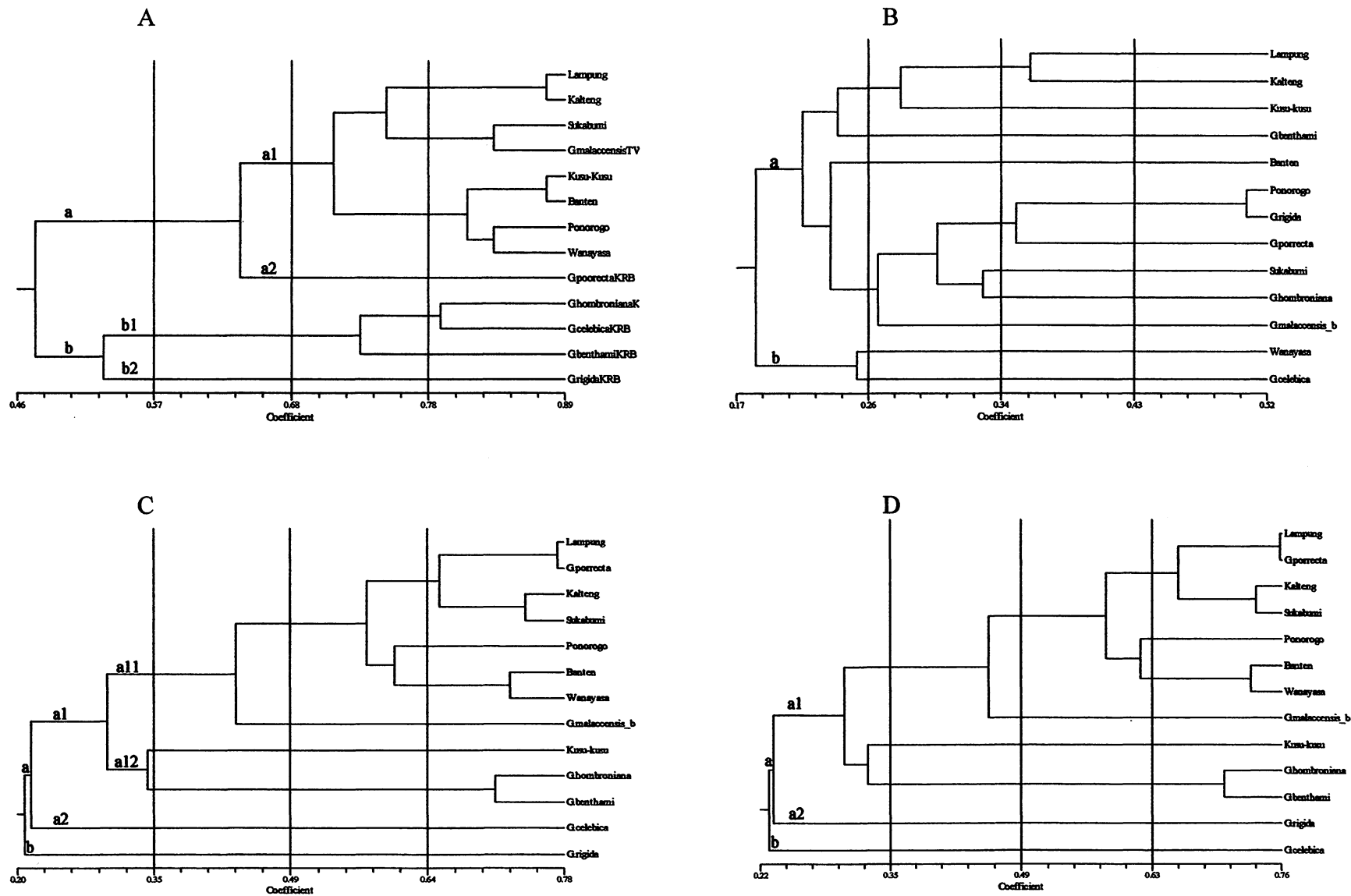
DAFTAR PUSTAKA

- Ajmone-Marsan, P., P. Castiglioni, F. Fusari, M. Kuiper, and M. Motto. 1998. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 98:219-227.
- Chen, Z., W. Song, and A. Warren. 2000. Studies on Six *Euplotes* spp. (Ciliophora: Hypotrichida) Using RAPD Fingerprinting, Including a Comparison with Morphometric Analyses. *Acta. Protozool.* 39: 209 – 216.
- Collares, E. A. S., E. Choer, and A. S. Pereira. 2004. Characterization of potato genotypes using molecular markers. *Pesq. Agropec. Bras., Brasilia* 39(9): 871-878.

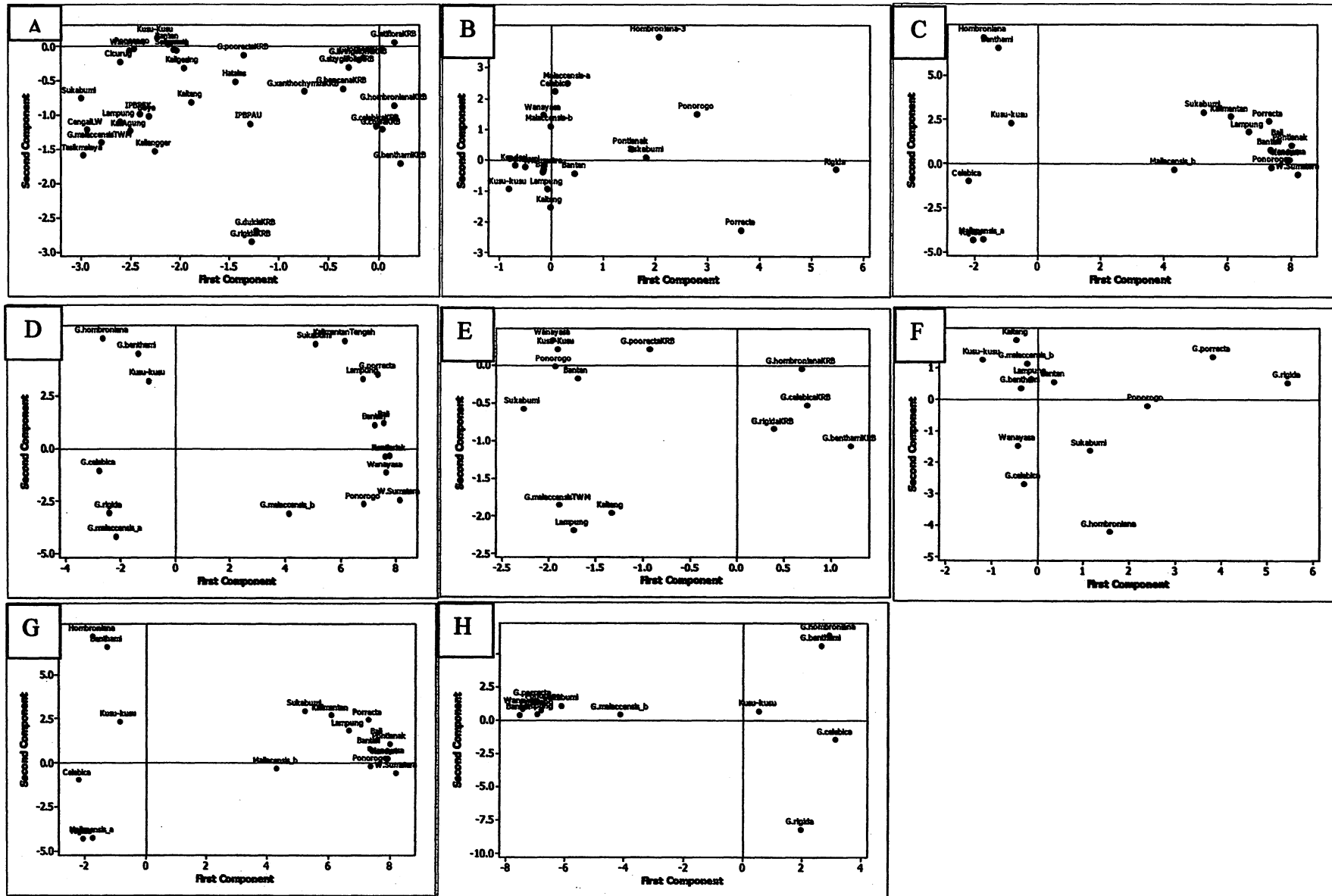
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid dna isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19 (1): 11-15.
- Drew, R. A. 1997. *The Application of Biotechnology to the Conservation and Improvement of Tropical and Subtropical Fruit Species*. Seed and Plant Genetic Resources Service. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 92p
- Ford, H., and A. J. Richards. 1985. Isozyme variation within and between *Taraxacum* agamospecies in a single locality. *Heredity* 55: 289-291.
- Hughes, J. and A. J. Richards. 1985. Isozyme inheritance in diploid *Taraxacum* hybrid. *Heredity* 54: 245-249.
- Mansyah, E., Edison Hs., dan M. Winarno. 1994. Eksplorasi dan Studi Keragaman Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) di Sumatera Selatan. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Hortikultura Solok.
- Mansyah, E., M. Jawal, A. Lukitariati, dan A. Susiloadi. 1999. Variabilitas genetik tanaman manggis melalui analisis isoenzim dan kaitannya dengan variabilitas fenotipik. *Zuriat* 10(1):1-9.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl acad Sci USA* 76(10): 5269-5273
- Osman, M. and R. M. Abdul. 2006. Mangosteen *Garcinia mangostana* L. Southampton Center for Underutilised Crops, University of Southampton, UK. 169p.
- Ramage, C. M., L. Sando, C. P. Peace, B. J. Carroll, and R. A. Dew. 2004. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). *Euphytica* 136(1):1-10.
- Richards, A. J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: the origin of the mangosteen (*G. mangostana*). *Botanical Journal of The Linn. Soc.* 103:103-308.
- Rolf, F. J. 1998. NTSys-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.02. Exeter Software. New York.
- Schwarz, G., M. Herz, X. Q. Huang, W. Michalek, A. Jahoor, G. Wenzel, and V. Mohler. 2000. Application of fluorescence-based semi-automated AFLP analysis in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 545-551.
- Soltis, D. E., and P. S. Soltis. 1989. Isoenzymes in plant biology. Discorides Press. Portland, Oregon. 268p.
- Supriyanto, A., A. Muharam, dan B. Hariyanto. 1999. Evaluasi Keragaman Pohon Manggis pada Sentra Produksi di Jawa dan Lombok dengan Analisis Isoenzim. *Bul. Plasma Nutfah* 5(1):6-10.
- Te-Chato, S. and M. Lim. 2000. Improvement of mangosteen micropropagation through meristematic nodular callus formation from in vitro-derived leaf explants. *Scientia Horticulturae* 86(4): 291-298.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleekers, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, E. Jacobsen, J. Helder, and J. Bakker. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23:4407-4414.
- William, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Ravalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18(22):6531-6535.



Gambar 1. Dendrogram 33 aksesori berdasarkan penanda isoenzim (A) 18 aksesori dengan RAPD (B), 18 aksesori dengan AFLP (C), dan 18 aksesori berdasarkan gabungan RAPD dan AFLP 18 aksesori (D)



Gambar 2. Dendrogram 13 aksesi dengan penanda isoenzim (A), RAPD (B), AFLP (C), dan kombinasi isoenzim dan AFLP (D)



Gambar 3. Komponen utama 33 aksesii dengan isoenzim (A), 18 aksesii dengan RAPD (B), 18 aksesii dengan AFLP (C), 18 aksesii dengan RAPD dan AFLP (D), 13 aksesii dengan isoenzim (E), RAPD (F), AFLP (G) serta gabungan isoenzim dan AFLP (H).