

Pengembangan Marka Molekuler yang Berasosiasi Dengan Kekuatan Dinding Sel Penyusun Saluran Getah Kuning Pada Manggis

(Development of Molecular Markers Related to the Strength of Cell Wall Composed Yellow Latex Secretory Duct On Mangosteen)

Aryantri, R¹⁾, Miftahudin²⁾, dan Sobir³⁾

¹⁾Program Studi Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB-Dramaga, Bogor 16680

²⁾Departemen Biologi, Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB-Dramaga, Bogor 16680

³⁾Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB-Dramaga, Bogor 16680 dan Pusat Kajian Hortikultura Tropika IPB

e-mail : risa_aryantri@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 16 Juli 2013 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 25 Maret 2014

ABSTRAK. Salah satu masalah utama dalam peningkatan kualitas buah manggis ialah pencemaran buah oleh getah kuning akibat pecahnya sel penyusun saluran getah kuning. Seleksi buah manggis untuk mendapatkan buah bebas getah kuning dapat dibantu dengan memanfaatkan marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel penyusun saluran getah kuning. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat Kajian Hortikultura Tropik (PKHT), Institut Pertanian Bogor Jawa Barat, pada Bulan Mei 2012 sampai dengan April 2013. Penelitian ini bertujuan mengembangkan marka molekuler yang berasosiasi dengan sifat kekuatan dinding sel penyusun saluran getah kuning pada manggis. Sebanyak 39 aksesori *Garcinia mangostana* L. koleksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Sumatera Barat dan hasil koleksi dari Desa Leuwiliang, Jawa Barat digunakan dalam penelitian ini. Dua pasang primer dikembangkan dari sekuen gen kekuatan dinding sel manggis dengan teknik tersarang (*nested PCR*). Amplifikasi DNA dilakukan dengan teknik PCR standar. Hasil amplifikasi DNA menunjukkan satu pita DNA berukuran ± 260 pb yang polimorf antara tanaman dengan buah tercemar getah kuning dan tidak tercemar getah kuning. Pita tersebut berasosiasi dengan sifat kekuatan dinding sel penyusun saluran getah kuning.

Katakunci: *Garcinia mangostana* L.; Getah kuning; Kekuatan dinding sel; Marka molekuler

ABSTRACT. One of the main problem in mangosteen development is a gamboge disorder in fruit due to the broken cell wall composed yellow latex secretory duct. Molecular markers linked to the cell wall strength could be used to select free gamboge disorder in mangosteen fruit. The experiment was conducted at Center for Tropical Horticulture Studies Laboratory, Bogor Agricultural Institute on May 2012 till April 2013. The objective of the research was to develop molecular marker linked to the fruit cell wall strength. Thirty nine accessions of the *Garcinia mangostana* L. from West Sumatera (Balitbu collection) and West Java (Leuwiliang) were used in this research. Nested PCR primers were developed based on multiple alignment of several gene sequences related to the cell wall strength from several plant. One primer combination resulted a specific 260 bp PCR fragment that polymorphic between gamboge disorder fruit and non gamboge disorder fruit. This suggested that the fragment can be used as molecular marker associated with fruit cell wall strength.

Keywords: *Garcinia mangostana* L.; Yellow latex; Cell wall strength; Molecular marker

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu komoditas buah tropik primadona ekspor Indonesia yang sangat disenangi dan diminati pasar internasional, sehingga dijuluki *queen of tropical fruits*. Permintaan ekspor manggis masih sangat tinggi, tetapi kuota permintaan tidak dapat terpenuhi dengan baik (Mansyah 2011). Hal ini dikarenakan berbagai kendala, seperti rendahnya produksi dan mutu buah manggis yang tidak memenuhi kriteria ekspor disebabkan karena cemaran getah kuning (*gamboge disorder*) (Indriyani *et al.* 2002). Cemaran getah kuning merupakan masalah utama dalam pengembangan manggis nasional yang layak ekspor,

sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi tanaman manggis yang tidak bergetah kuning, agar dapat dikembangkan sebagai tetua manggis.

Menurut Jawal *et al.* (2010) getah kuning merupakan salah satu masalah fisiologis pada buah manggis yang dipicu oleh perubahan turgiditas sel yang menyebabkan pecahnya dinding sel penyusun saluran getah kuning, sehingga buah tercemar getah berwarna kuning. Hal ini didukung Jawal *et al.* (2007), bahwa getah kuning pada buah manggis disebabkan karena dinding sel saluran getah kuning pada endokarp pecah akibat perubahan tekanan turgor di dalam sel penyusun perikarp buah. Dorly *et al.* (2008), juga menyatakan bahwa getah kuning dihasilkan di dalam saluran getah

yang berbentuk kanal bercabang dan dikelilingi oleh sel epitel pada endokarp. Rusaknya dinding sel epitel ini menyebabkan keluarnya getah kuning yang dapat mengotori daging buah (aril). Selain itu, getah kuning juga dapat merusak aril yang menyebabkan rasa buah menjadi pahit (Sdoodee & Limpun-udom 2002).

Buah manggis yang bergetah kuning pada bagian aril sulit dibedakan dengan buah yang tidak bergetah kuning, kecuali buah dibuka terlebih dahulu. Hal ini menyulitkan proses seleksi untuk memperoleh buah manggis yang tidak bergetah kuning (Mansyah *et al.* 2004). Oleh karena itu diperlukan tanaman yang memiliki dinding sel epitel yang kuat dan tahan terhadap pecahnya dinding sel walaupun terjadi perubahan tekanan turgor dalam sel. Untuk membantu seleksi agar lebih cepat dan efektif, diperlukan marka molekuler yang terkait dengan sifat kekuatan dinding sel penyusun saluran getah kuning. Marka molekuler tersebut dapat digunakan dalam memilih tanaman manggis untuk digunakan sebagai tetua buah manggis tidak bergetah kuning, sehingga meningkatkan kualitas produksi buah manggis.

Penelitian ini bertujuan mendapatkan marka molekuler spesifik terpaut dengan karakter kekuatan dinding sel penyusun saluran getah kuning pada buah manggis yang dapat digunakan sebagai tetua untuk menghasilkan keturunan yang bebas getah kuning. Marka molekuler tersebut dikembangkan berdasarkan sekuen DNA dari tanaman manggis yang terpaut dengan sifat kekuatan dinding penyusun saluran getah kuning pada buah manggis. Hipotesis penelitian ini yaitu, marka molekuler terpaut sifat kekuatan dinding sel epitel penyusun saluran getah kuning pada buah manggis yang dikembangkan dapat digunakan untuk identifikasi dini manggis dengan buah tidak bergetah kuning dan tahan terhadap perubahan turgor dalam sel.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat Kajian Hortikultura Tropik (PKHT), Institut Pertanian Bogor Jawa Barat, pada Bulan Mei 2012 sampai dengan April 2013.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 39 tanaman (aksesi) manggis dengan buah bergetah kuning (20 akses), dan buah tidak bergetah kuning (19 akses), yang dikoleksi dari Sumatera Barat (koleksi Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika) dan Jawa Barat (Lewwiliang) (Mansyah 2011).

Desain Primer

Pengembangan marka molekuler terpaut sifat kekuatan dinding sel epitel penyusun saluran getah

kuning dilakukan berdasarkan sekuen manggis mengikuti metode Innis & Gelfand (1990). Desain primer untuk marka molekuler terpaut karakter tersebut dilakukan berdasarkan hasil *multiple alignment* dari beberapa sekuen gen *fragile fiber 1* (FRA 1) (AY158083.1, AY158084.1, NM_180820.1, NM_124156.4 dan XM_002510131.1) yang berasosiasi dengan kekuatan dinding sel dari beberapa akses tanaman yang diambil dari database nukleotida di *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov). *Multiple alignment* dilakukan menggunakan program *BioEdit* (Hall 2007) (www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html), dan *ClustalX* (Thompson *et al.* 1997). Nested primer didesain dengan program Primer3 (Rozen & Skaletsky 2000) pada beberapa daerah sekuen yang terkonservasi antar sekuen-sekuen tersebut.

Isolasi DNA dan Teknik PCR

Isolasi DNA dilakukan mengikuti metode Doyle & Doyle (1990) dengan beberapa modifikasi, menggunakan buffer ekstraksi (10% CTAB, 0,5 M EDTA (pH 8,0), 1 M Tris-HCl (pH 8,0), 5 M NaCl dan 1% β -mercaptoetanol) dengan penambahan *polivinilpyrrolidon*. Skrining primer dilakukan menggunakan mesin PCR (*Termocycler Applied Biosystems 2720 USA*) dengan volume reaksi 25 μ l (2 μ l DNA *template* (10 ng/ μ l), masing-masing 1 μ l primer (10 ng/ μ l), 12,5 μ l *Go Taq Green Master Mix* (Promega M7122) dan 8,5 μ l air murni.

Proses amplifikasi PCR dilakukan sebanyak 35 siklus setelah denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit. Setiap siklus terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 45 detik, *annealing* pada suhu 45–65°C selama 30 detik dan pemanjangan fragmen DNA pada suhu 72°C selama 20 detik. Amplifikasi PCR diakhiri dengan dilakukan ekstensi pada suhu 72°C selama 10 menit. Fragmen DNA hasil amplifikasi di elektroforesis bersama dengan DNA standar 1 kb DNA ladder pada gel agarose 1,2% dalam buffer TBE 1X selama 45 menit pada tegangan 50 volt dan diwarnai dengan 1% etidium bromide selama 10 menit.

Analisis Sekuen Fragmen DNA dan Verifikasi Marka Molekuler

Fragmen DNA yang polimorfik dielus dari potongan gel agarose dengan menambahkan 100 μ l buffer CIA (*Chloroform:Isoamil Alcohol* 24:1 v/v). DNA yang diperoleh dilakukan proses PCR ulang serta dipurifikasi kembali sampai diperoleh fragmen DNA yang diinginkan. Analisis sekuen nukleotida fragmen marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel dilakukan menggunakan jasa sekuensing.

Hasil sekuen DNA kemudian dilakukan analisis homologi sekuen menggunakan program BLAST-N dan *align two (or more) sequences using BLAST (BL2SEQ)* dengan sekuen acuan (AY158084.1) pada NCBI. Primer kemudian dipilih berdasarkan daerah sekuen yang tidak terkonservasi dari sekuen hasil homologi tersebut. Verifikasi marka molekuler dilakukan terhadap 39 aksesori yang terdiri atas aksesori manggis dengan buah bergetah kuning (20 aksesori) dan buah tidak bergetah kuning (19 aksesori). Analisis data dilakukan secara deskriptif untuk mengeksplorasi hubungan antara karakter genotip dan fenotip yang menunjukkan keterkaitan sifat dengan marka molekuler yang telah dikembangkan.

rasio G/C 50%, (2) kesesuaian *melting point* marka molekuler *forward* dan *reverse* tidak berbeda jauh dan tidak lebih dari 70°C, (3) kestabilan ujung basa 5' dan spesifisitas ujung basa 3' yang tidak memiliki ujung T (Abd-Elsalam 2003) (Tabel 2), (4) tidak ditemukannya struktur jepit rambut dan dimer serta membentuk marka molekuler yang dapat digunakan pada metode *nested* PCR.

Pada penelitian ini proses amplifikasi DNA dilakukan secara *nested* PCR dengan empat kombinasi pasangan marka molekuler, yaitu: (1) K_1F dengan K_1R, (2) K_2F dengan K_2R, (3) K_2F dengan K_1R dan (4) K_1F dengan K_2R. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan fragmen pita spesifik dan polimorfik

Tabel 1. Aksesori tanaman yang digunakan sebagai acuan untuk mengembangkan marka molekuler (*Plant accession that used as basic key for molecular markers development*)

Aksesori (Accessions)	Deskripsi (Descriptive)	Ukuran (Size) pb	Tingkat kesamaan (Similarities)	Nilai (Score)	Query coverage	Nilai E (E-value)
NM_180820.1	<i>Arabidopsis thaliana</i> kinesin family member 4/7/21/27 (FRA1) mRNA, complete cds	3288	100%	6072	100%	0,0
NM_124156.4	<i>A. thaliana</i> kinesin family member 4/7/21/27 (FRA1) mRNA, complete cds	3601	100%	5967	98%	0,0
XM_002510131.1	<i>Ricinus communis</i> Kinesin heavy chain, putative, mRNA	3204	78%	1927	91%	0,0
AY158084.1	<i>A. thaliana</i> kinesin-like protein (FRA1) gene, complete cds	5725	100%	6226	100%	0,0
AY158083.1	<i>A. thaliana</i> kinesin-like protein (FRA1) mRNA, complete cds	3288	100%	3288	100%	0,0

HASIL DAN PEMBAHASAN

Desain marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel pada penelitian ini dikembangkan dari penelitian sebelumnya (Mansyah 2011). Pemilihan beberapa aksesori tanaman dilakukan berdasarkan hasil seleksi sekuen penyandi kekuatan dinding sel dengan tingkat kemiripan tinggi (Tabel 1). Sekuen ini diperkirakan menyandi protein yang memiliki peranan penting dalam memberi kekuatan pada dinding sel. Hal ini dikarenakan protein tersebut merupakan salah satu protein yang berperan dalam orientasi penyusunan mikrofibril pada pembentukan dinding sel tanaman, sehingga memberikan kekuatan pada dinding sel agar tidak mudah lisis (Mansyah 2011).

Desain marka molekuler terpaut kekuatan dinding sel dilakukan menggunakan program *Primer3* dengan kriteria pemilihan: (1) marka molekuler merupakan wilayah konservatif dengan panjang sekuen 20 pb dan

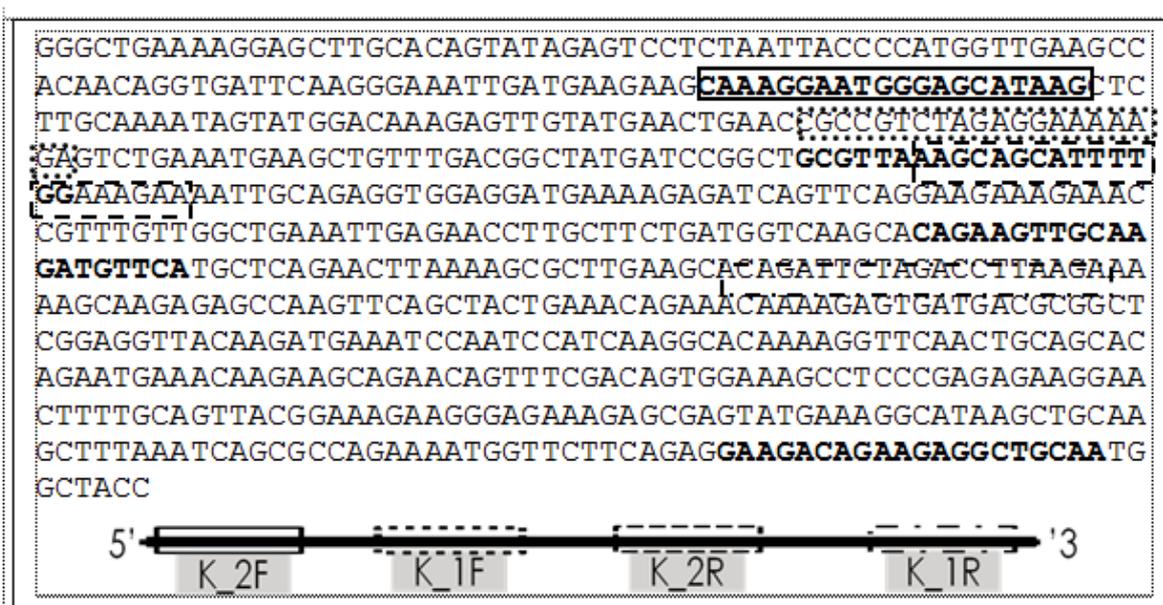
yang hanya dimiliki aksesori manggis tahan terhadap lisisnya dinding sel, sehingga tidak ditemukan getah kuning pada buah manggis. Desain kombinasi marka molekuler dengan *nested* PCR terpaut karakter kekuatan dinding sel dapat dilihat pada Gambar 1.

Proses ekstraksi DNA 39 aksesori manggis dilakukan dengan menambahkan senyawa β -mercaptoetanol yang bertujuan menghambat oksidasi senyawa fenolik pada daun manggis (Mansyah *et al.* 2010). Hal ini dilakukan karena daun manggis mengandung senyawa metabolit sekunder yang cukup tinggi, yaitu senyawa polifenol yang dapat menghasilkan aktivitas radikal bebas terhadap DNA dan menghambat kerja buffer ekstraksi dalam melisis dinding sel (Sinaga *et al.* 2006). Tingginya senyawa fenolik pada daun manggis terlihat dari cepatnya proses pencoklatan yang terjadi pada saat daun dipotong.

Hasil amplifikasi DNA menunjukkan bahwa marka molekuler kekuatan dinding sel dapat mengamplifikasi

Tabel 2. Primer untuk marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel berdasarkan hasil seleksi database gene bank (Primers for molecular marker related to cell wall strenght characters based on gene bank database selection)

Primer (Primers)	Sekuen primer (Primer sequences) (5' – 3')	Penempelan (Annealing) °C	Ukuran produk PCR (PCR product size) pb
K_1F	GCGTTAAAGCAGCATTTTGG	65	875
K_1R	TTGCAGCCTCTTCTGTCTTC		
K_2F	CAAAGGAATGGGAGCATAAG	60	414
K_2R	TGAACATCTTGCAACTTCTG		



Gambar 1. Urutan basa nukleotida terpaut karakter kekuatan dinding sel. hijau = K_1F, merah = K_1R, biru = K_2F, kuning = K_2R (Nucleotide sequence related to cell wall strength characters. green = K_1F, red = K_1R, blue = K_2F, yellow = K_2R)

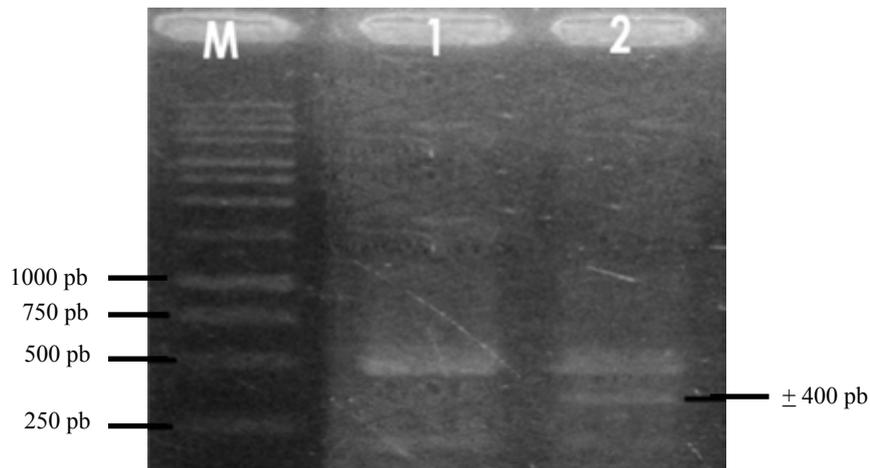
DNA manggis. Aksesori dengan buah yang bergetah kuning maupun buah yang tidak bergetah kuning juga dapat digunakan. Hasil amplifikasi DNA manggis dengan metode *nested* PCR menunjukkan fragmen DNA yang dihasilkan polimorfik antara aksesori buah bergetah kuning dan buah tidak bergetah kuning dengan kombinasi primer *nested* PCR. Kombinasi primer pertama yaitu K_2F dengan K_1R dan kombinasi primer kedua yaitu K_2F dengan K_2R pada *annealing* 60°C (Gambar 2).

Pada penelitian ini telah diperoleh fragmen pita DNA polimorfik (tanda panah pada Gambar 2) dengan ukuran fragmen berkisar ± 400 pb yang kemudian digunakan untuk analisis runutan basa DNA selanjutnya. Hal ini sesuai dengan perkiraan ukuran fragmen DNA target dari kombinasi primer K_2F dan K_2R yang diharapkan menghasilkan ukuran fragmen DNA berkisar 414 pb. Fragmen pita polimorfik tersebut dipurifikasi dengan cara memotong fragmen pita pada

gel elektroforesis (gel agarose) dan dilusi dengan menggunakan buffer elusi (50 mM Tris, pH 7,5; 0,1% SDS).

Hasil analisis sekuen DNA manggis selanjutnya dianalisis untuk dapat dilakukan uji homologi. Uji homologi BLAST-N dan BL2SEQ dengan sekuen DNA dari *A. thaliana* (AY158084.1). Uji homologi antara *G. mangostana* L. dan *A. thaliana* menghasilkan *E-value* sebesar 0,69 dengan nilai *query coverage* 15% dan nilai identiknya 100%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat homologi sekuen antarkedua sampel sangat rendah. Sekuen DNA dikatakan memiliki homologi jika *E-value* lebih kecil dari e-04, sehingga semakin rendah *E-value*, semakin tinggi tingkat kemiripan sekuen DNA (Claverie & Notredame 2003).

Rendahnya tingkat homologi ini diperkirakan karena tanaman yang digunakan sebagai sekuen acuan (*A. thaliana*) berbeda dengan tanaman yang di uji (*G.*



Gambar 2. Hasil elektroforesis dari amplifikasi DNA manggis. M = 1 kb, 1 = buah manggis bergetah kuning, 2 = buah manggis tidak bergetah kuning (*Electrophoresis result from DNA amplification on mangosteen. M = 1 kb, 1 = mangosteen with yellow latex, 2 = mangosteen without yellow latex*)

mangostana L.). Hasil uji homologi BLAST-N pada NCBI tidak ditemukan kemiripan sekuen dengan tanaman lain. Hal ini disebabkan karena sekuen nukleotida yang berasosiasi dengan kekuatan dinding sel pada *G. mangostana* L. belum dilaporkan pada NCBI.

Desain primer untuk marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel dilakukan dengan memilih urutan nukleotida yang tidak sama dengan aksesori acuan sebelumnya dengan mengikuti kriteria Innis & Gelfand (1990). Hal ini dilakukan agar marka molekuler yang dikembangkan spesifik mengenali sekuen terpaut karakter kekuatan dinding sel pada *G. mangostana* L. (Tabel 3).

Primer yang telah didesain selanjutnya diverifikasi pada 19 aksesori manggis dengan buah yang tidak bergetah kuning yang diduga memiliki kekuatan dinding sel dan 20 aksesori manggis dengan buah yang bergetah kuning yang diduga tidak memiliki kekuatan dinding sel.

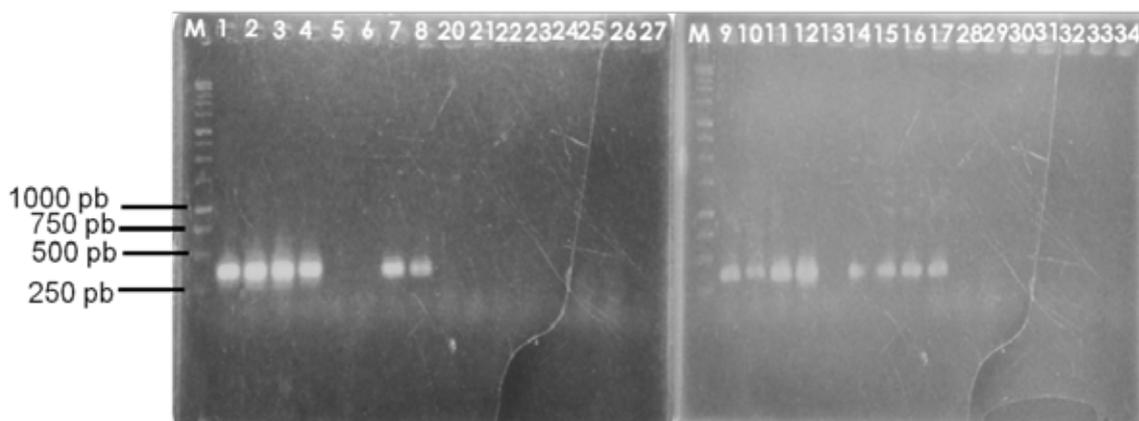
Verifikasi ini dilakukan untuk memastikan bahwa marka molekuler yang telah dikembangkan berfungsi mengenali dan mengamplifikasi sesuai dengan

sifat yang dikembangkan. Dengan demikian dapat digunakan untuk deteksi dini kandidat aksesori manggis yang berpotensi memiliki buah tidak bergetah yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk keperluan pemuliaan tanaman manggis. Kemampuan suatu marka molekuler dalam mengelompokkan dan membedakan aksesori menunjukkan bahwa marka molekuler tersebut dapat digunakan.

Hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel (Gambar 3), menunjukkan bahwa dari 39 aksesori manggis menghasilkan fragmen DNA spesifik (*single band*) berukuran ± 260 pb pada aksesori manggis buah tidak bergetah kuning, yang berbeda dengan aksesori buah bergetah kuning yang tidak menghasilkan pita DNA pada ukuran tersebut. Perbedaan ini menunjukkan bahwa marka molekuler yang telah didesain diperkirakan dapat mendeteksi aksesori-aksesori manggis yang berpotensi menghasilkan buah tidak bergetah kuning, sehingga dapat dikembangkan dan digunakan untuk deteksi awal (benih) pada program pemuliaan tanaman manggis.

Tabel 3. Primer dari marka molekuler terpaut kekuatan dinding sel (*Molecular markers related to cell wall strength*)

Primer (Primers)	Sekuen primer (Primer sequences), 5' – 3'	Penempelan (Annealing) °C	Ukuran produk PCR (PCR product size) pb
K_2F	CAAAGGAATGGGAGCATAAG	60	260
K_3R	AGCGGACCACATTTAGAGTG		



Gambar 3. Hasil elektroforesis dari amplifikasi DNA manggis. M = 1 kb; 1–17 aksesi manggis buah tidak bergetah dan 20–34 aksesi manggis bergetah kuning (*Electrophoresis result from DNA amplification on mangosteen. M = 1 kb; 1–17 mangoesteen accession without yellow latex; 20–34 mangosteen accession with yellow latex*)

Terdapat tiga aksesi manggis yang memiliki karakter fenotip buah tidak bergetah kuning, tetapi tidak menghasilkan fragmen pita (aksesi 5, 6, dan 13). Hal ini mungkin disebabkan karena penilaian fenotip dari ketiga buah manggis tersebut dilakukan pada waktu dan lingkungan yang kurang tepat, sehingga menghasilkan kesimpulan yang kurang tepat. Srivastava *et al.* (2005) dan Shi *et al.* (2006), serta Jawal (2010) menyatakan bahwa gejala getah kuning pada buah manggis merupakan masalah fisiologis yang berkaitan dengan turgoritas sel dan stress oksidatif akibat terjadinya perubahan fluktuasi kadar air tanah serta toksisitas logam yang cukup ekstrim. Hal ini didukung dari hasil penelitian tim peneliti Balitbu, Jawal *et al.* (2007), bahwa pemberian air secara berkala pada tanaman manggis dapat menurunkan persentase cemaran getah kuning pada buah manggis berkisar 35–48%.

Kandungan hara dalam tanah juga berpengaruh terhadap cemaran getah kuning pada buah manggis, seperti Ca (Martias *et al.* 2012) dan Mn (Hue *et al.* 2001), sebab peningkatan Ca (Hirshi 2004) dan Mn (Pittman 2005) meningkatkan stabilitas membran sel. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan getah pada buah manggis sangat dipengaruhi lingkungan pada saat perkembangan buah manggis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa marka molekuler yang dikembangkan dapat digunakan sebagai informasi awal untuk menyeleksi aksesi manggis yang berpotensi memiliki buah yang tidak bergetah kuning.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Pada penelitian ini telah berhasil dikembangkan marka molekuler kekuatan dinding sel manggis terpaut karakter kekuatan dinding sel yang tidak menghasilkan fragmen pita pada aksesi manggis dengan buah bergetah kuning dan menghasilkan fragmen pita berukuran ± 260 pb pada aksesi manggis dengan buah tidak bergetah kuning.
2. Marka molekuler terpaut karakter kekuatan dinding sel ini dapat digunakan dalam program pemuliaan tanaman manggis untuk menyeleksi manggis yang tidak bergetah kuning dan dapat dijadikan sebagai tetua untuk menghasilkan buah manggis bebas cemaran getah kuning.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala Pusat Kajian Hortikultura Tropik atas dukungan dana penelitian dan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi atas dukungan dana pendidikan melalui Beasiswa Unggulan serta Ibu Ellina Mansyah di Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok atas bantuan data dan sampel daun manggis.

PUSTAKA

1. Abd-Elsalam, KA 2003, 'Bioinformatic tools and guideline for PCR marka molekuler design', *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 5, no. 2, pp. 91-5.

2. Claverie, J & Notredame, C 2003, *Bioinformatics for Dummies*, Wiley Publishing Inc, New York.
3. Doyle, JJ & Doyle, JL 1990, 'Isolation of plant DNA from fresh tissue', *Focus*, vol. 12, no. 1, pp. 13-5.
4. Dorly, Tjitrosemito, S, Poerwanto, R & Juliarni 2008, 'Secretory duct structure and phytochemistry compounds of yellow latex in mangosteen fruit', *Hayati J. Biosci.*, vol. 15, no. 3, pp. 99-104.
5. Hall, T 2007, *BioEdit biological sequence alignment editor for Win95/98/NT/2K/XP*, <www.mbio-nscu.edu/810edit/bioedit/html>, Ibis Biosciences, Carlsbad.
6. Hirschi, KD 2004, 'The calcium conundrum: Both versatile nutrient and specific signal', *Plant Physiol.*, vol. 136, no. 1, pp. 2438-42.
7. Hue, NV, Vega, S & Silva, JA 2001, 'Manganese toxicity in a Hawaiian oxisol affected by soil pH and organic amendments', *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, vol. 65, pp. 153-60.
8. Indriyani, Lukitariat, NLP, Nurhadi, S & A, Jawal, M 2002, 'Studi kerusakan buah manggis akibat kerusakan getah kuning', *J. Hort.*, vol. 12, no. 4, hlm. 276-83.
9. Innis, MA & Gelfand, DH 1990, Optimization of PCRs. in *PCR Protocols* Innis, Gelfand, Sninsky and White, eds, Academic Press, New York. pp. 3-12.
10. Jawal, M, Anwarudin, S, Mansyah, E, Martias, Purnama, T, Fitria, D & Usman, F, 2007, 'Getah kuning kendala utama ekspor manggis', *Iptek Hortikultura*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Jakarta.
11. Jawal. M. Anwarudin Syah, Ellina, M, Titin, Dewi & Firdaus, U 2007, *Teknologi pengendalian getah kuning pada buah manggis*, diunduh 6 Februari 2011, <<http://www.Pustaka-deptan.go.id>>.
12. Jawal, M, Anwarudin, Syah, Mansyah, E Martias, Purnama, T, Fatria, D & Usman, F, 2010, 'Pengaruh pemberian air dan pemupukan terhadap getah kuning pada buah manggis', *J. Hort.*, vol. 20, no. 1, hlm. 10-7.
13. Mansyah, E, Anwarudin Syah, MJ, Usman, F & Purnama, T, 2004, 'Variabilitas genetic antara tanaman induk manggis dan keturunannya', *J. Hort.*, vol. 14, no. 4, hlm. 229-37.
14. Mansyah, E, Sobir, Santosa, E & Roedhy, P 2010, 'Assessment of inter simple sequence repeat (ISSR) technique in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) grown in different Sumatera region'. *J. of Hort. and Forestry*, vol. 6, no. 2, pp. 127-34.
15. Mansyah, E 2011, 'Struktur genetika populasi dan identifikasi sifat spesifik manggis (*Garcinia mangostana* L.) berbasis marka morfologi dan molecular', Disertasi, Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
16. Martias, Poerwanto, R, Anwar, S & Hidayat, R 2012, 'Hubungan antara ketersediaan hara tanah dengan cemaran getah kuning pada buah manggis', *J. Hort.*, vol. 2, no. 22, hlm. 111-9.
17. National Center for Biotechnology Information 2011, *Arabidopsis thaliana kinesin family member 4/7/21/27 (FRAI) mRNA*, diunduh 16 September 2012, <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>
18. Pittman, JK 2005, 'Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis', *New Phytol.*, vol. 167, no. 3, pp. 733-42.
19. Rozen, S & Skaletsky, H 2000, 'Primer3 on the www for general user and for biologist programmers', *Methods Mol. Biol.*, vol. 132, pp. 365-86.
20. Sdoodee, S & Limpun-udom, S 2002, 'Effect of excess water on the incidence of translucent flesh disorder in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)', *Acta. Hort.*, vol. 575, pp. 813-20.
21. Sdoodee, S & Chiarawipa, R 2005, 'Regulating irrigation during pre-harvest to avoid the incidence of translucent flesh disorder and gamboges disorder of mangosteen fruits', *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, vol. 27, no. 5, pp. 957-65.
22. Shi, Q, Zhu, Z, Xu, M, Qian, Q & Yu, J 2006, 'Effect of excess manganese on the antioxidant system in *Cucumis sativus* L. under two light intensities', *Environ. Exp. Bot.*, vol. 58, pp. 197-205.
23. Sinaga, S, Sobir, Poerwanto, R, Aswidinnoor, H & Dedy, D 2006, 'Analisis variabilitas genetik tanaman manggis dan kerabat dekatnya dengan penanda isoenzim dan RAPD', *Floribunda*, vol. 1, no. 3, hlm. 1-9.
24. Srivastava, M, MA, LQ, Singh, N & Singh, S 2005, 'Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic', *J. Exp. Bot.*, vol. 56, pp. 1335-42.
25. Thompson, JD, Gibson, TJ, Plewniak, F, Jeanmougin, F & Higgins 1997, 'The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools', *Nul. Acid Res.*, vol. 25, no. 24, pp. 4876-82.