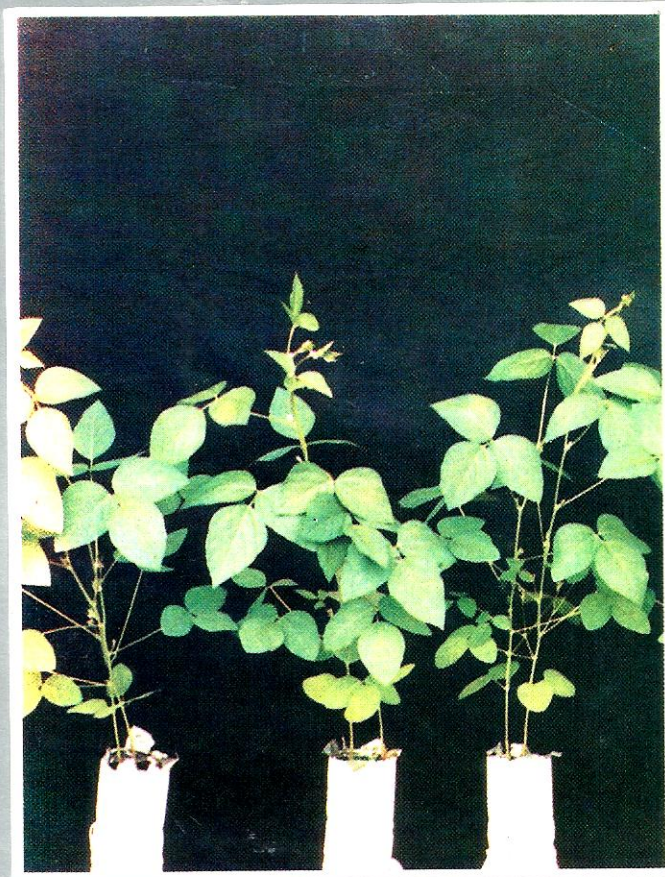


Buletin

ISSN 1410-4377

Plasma Nutfah

Volume 5 Nomor 1 Tahun 1999



Komisi Nasional Plasma Nutfah
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Buletin Plasma Nutfah

Volume 5 Nomor 1 Tahun 1999

Penanggung Jawab

Ketua Komisi Nasional Plasma Nutfah

Dewan Redaksi

Surahmat Kusumo

Kusuma Diwyanto

Sugiono Moeljopawiro

Johanes Widodo

Maharani Hasanah

Redaksi Pelaksana

Husni Kasim

Lukman Hakim

Hermanto

Alamat Redaksi

Sekretariat Komisi Nasional Plasma Nutfah

Jalan Merdeka 147, Bogor 16111

Telp/Fax: (0251) 327031

Pengantar

Buletin *Plasma Nutfah* mengalami perubahan keanggotaan redaksi sehubungan dengan restrukturisasi di tubuh Badan Litbang Pertanian. Meskipun demikian, hal ini tidak mempengaruhi frekuensi terbit Buletin. Perubahan tersebut tidak sekadar bergantinya personel, tetapi anggota redaksi yang baru diharapkan mampu lebih memperkuat keredaksian Buletin *Plasma Nutfah*.

Dalam nomor ini, Buletin *Plasma Nutfah* terbit dengan tujuh tulisan dengan topik yang beragam. Beberapa tulisan lainnya yang diterima redaksi sudah disetujui untuk diterbitkan dalam Buletin nomor berikutnya. Untuk mempertahankan kontinuitas media publikasi ini, redaksi senantiasa menunggu tulisan yang lain.

Redaksi

Buletin *Plasma Nutfah* diterbitkan oleh Komisi Nasional Plasma Nutfah, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Memuat hasil penelitian dan tinjauan ilmiah yang belum pernah diterbitkan tentang eksplorasi, karakterisasi, evaluasi, pemanfaatan, dan pelestarian plasma nutfah tumbuhan, hewan, dan mikroba, Buletin ini diterbitkan secara berkala, dua kali setahun.

Buletin

Plasma Nutfah

Volume 5 Nomor 1 Tahun 1999

Daftar Isi

Penyimpanan Ubi Jalar secara <i>In Vitro</i> dengan Pertumbuhan Minimal.....	1
<i>Novianti Sunarlim, Minantyorini, dan Widiati H. Adil</i>	
Evaluasi Keragaman Pohon Manggis pada Sentra Produksi di Jawa dan Lombok dengan Analisis Isozim.....	6
<i>A. Supriyanto, A. Muharam, dan B. Hariyanto</i>	
Teknik Prosesing dan Keragaman Hasil Polen dari Beberapa Kultivar Kelapa Dalam.....	11
<i>Novianto Hengki dan Karel Gaghaube</i>	
Keragaman Morfologi Plasma Nutfah Kelapa.....	16
<i>Novianto Hengki dan J. Kumaunang</i>	
Multiplikasi Tunas Temu Giring melalui Kultur <i>In Vitro</i>	24
<i>Ragapadmi Purnamaningsih dan Endang Gati L.</i>	
Toleransi Empat Nomor Plasma Nutfah Jambu Mete terhadap Cekaman Air.....	28
<i>Sukarman, Devi Rusmin, Maharani Hasanah, dan Ireng Darwati</i>	
Screening on Soybean Resistant to Rust Disease.....	33
<i>Yayuk Aneka Bety</i>	



Komisi Nasional Plasma Nutfah
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Evaluasi Keragaman Pohon Manggis pada Sentra Produksi di Jawa dan Lombok dengan Analisis Isozim

A. Supriyanto¹, A. Muharam², dan B. Hariyanto²

¹Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian, Tlekung

²Instalasi Penelitian Tanaman Hias, Cipanas

ABSTRAK

Biji manggis bersifat apokmisis sehingga diharapkan pohon-pohon manggis yang ada sama secara genetik. Fenomena di lapang menunjukkan bahwa pohon manggis di sentra produksi umumnya berasal dari biji. Pengujian keragaman manggis dari pohon induk di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Pulau Lombok di Nusa Tenggara Barat telah dilakukan dengan menggunakan isozim di laboratorium virologi Inlithi Segunung dengan menggunakan enzim esterase, acid fosfatase, dan peroksidase. Hasil analisis yang didukung oleh pengamatan di lapang menunjukkan adanya minimal tiga klon manggis. Penelitian lebih lanjut terutama terhadap pohon manggis yang berpupus hijau muda, merah, dan coklat perlu dilakukan dengan metode yang lebih akurat seperti analisis DNA.

Kata kunci: Manggis, isozim, keragaman genetik, dan sentra produksi.

ABSTRACT

Evaluation of variability of Mangosteen Trees From Production Central Areas in Java and Lombok Island by Isozyme Analyses. Mangosteen has apomixis seeds and hopefully the existing mangosteen trees, genetically are not different. Further observation shown that mangosteen trees in the central areas can be grouped based on different characteristics evaluated such as leaf and fruit size and taste. This experiment aimed to test the variability of mangosteen trees from the central areas of West Java, Central Java, East Java, and Lombok Island of West Nusa Tenggara by isozyme analyses for esterase, acid phosphatase and peroxidase. At least three clone of mangosteen were found based on the zymogram of peroxidase. Further observation need to be done especially to characterize mangosteen trees which has light green, red and brown colour shoot by using more accurate methods such DNA analyses.

Key words: Mangosteen, isozyme, genetic variability, and central areas.

PENDAHULUAN

Biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) bersifat apomiksis atau biasa disebut agamospermy sehingga di alam diharapkan hanya ada satu jenis manggis (Horn,

1940; Cox, 1976). Richards (1990) menyatakan bahwa manggis merupakan agamospermy obligat dengan reproduksi melalui tunas adventif proembrio dari jaringan ovular. Kenyataan di lapang menunjukkan adanya keragaman tanaman manggis yang dapat disebabkan oleh faktor lingkungan maupun genetik akibat mutasi mengingat pohon manggis yang ada sekarang telah berumur ratusan tahun.

Di Jawa terdapat variasi rasa buah manggis dan ukuran buah lebih besar dibanding yang ada di Filipina (Cox, 1976). Richard (1990) melaporkan bahwa manggis di kepulauan Sulu mempunyai kulit buah yang lebih tebal dan rasa buah lebih asam. Menurut Verheij (1991) terdapat pohon manggis berdaun besar dengan buah yang sangat bervariasi. Berdasarkan hasil survei di Sumatera Barat dan Sumatera Selatan, manggis dikelompokkan menjadi tujuh klon berdasarkan ukuran daun, buah, ketebalan kulit buah, dan jumlah buah/tandan Mansyah *et al.* (1992 dan 1994). Di sentra produksi manggis di Kaligesing, Kabupaten Purworejo Jawa Tengah, ditemukan adanya semaian, bibit hasil penyambungan dan tanaman produktif yang mempunyai pupus yang berbeda warnanya, yaitu hijau muda, merah, dan coklat (Supriyanto *et al.*, 1996).

Isozim dapat digunakan untuk membedakan keragaman tanaman dalam waktu relatif lebih cepat dan murah (Ghareyazie *et al.*, 1995). Isozim bersifat spesifik jaringan, dipengaruhi oleh lingkungan dan stadia perkembangan tanaman sehingga mengurangi kemampuannya dalam memberikan cakupan genome kompleks (Smith dan Smith dalam Ghareyazie *et al.*, 1995). Identifikasi yang akurat dapat diperoleh dengan metode analisis DNA.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi keragaman pohon induk manggis yang berasal dari sentra produksi di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Lombok Nusa Tenggara Barat dengan menggunakan isozim.

BAHAN DAN METODE

Pohon induk di sentra produksi manggis di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Lombok Nusa Tenggara Barat digunakan sebagai sumber sampel daun. Analisis isozim dilakukan di laboratorium virologi Instalasi Penelitian Tanaman Hias (Inlithi), Segunung, Cipanas, Jawa Barat.

Pengambilan Sampel

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa daun muda manggis menjelang dewasa merupakan stadia terbaik untuk dianalisis dengan metode elektroforesis. Untuk membandingkan ada tidaknya keragaman pohon induk manggis di lapang, sampel daun diambil sebanyak 3-5 helai dari pohon induk manggis di beberapa sentra produksi manggis di Jawa dan Lombok, yang sebagian di antaranya telah dideskripsi. Sampel daun langsung disimpan dalam cool-box bersuhu 4-60°C hingga siap diproses. Daerah pengambilan sampel daun manggis adalah:

- (A) Kaligesing, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah
- (B) Dampit, Kabupaten Malang, Jawa Timur
- (C) Cipaku, Kabupaten Bogor, Jawa Barat
- (D) Cikalong, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat
- (E) Narmada dan Lingsar, Lombok Barat

Preparasi Sampel

Ekstraksi sampel dilakukan melalui tahapan berikut: (1) Daun muda manggis sebanyak 0,5 g dihancurkan dalam 1,5 ml penyangga ekstraksi dengan menggunakan mortar porselen yang telah didinginkan terlebih dahulu. Potongan daun direndam dalam nitrogen cair untuk memudahkan penghancurannya. Penggerusan dilakukan pada suhu 4-60°C dalam lemari pendingin. (2) Daun yang sudah hancur ditampung ke dalam vial Evendorf dan disentrifus pada 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 2-60°C. (3) Supernatan (± 500 l per sampel) dimasukkan ke dalam evendorf lain dan disimpan dalam kulkas. BPB sebanyak 10 l ditambahkan ke dalam setiap sampel segera sebelum loading. (4) Larutan gel akrilamid sebanyak 30 ml dimasukkan ke dalam casting kaca vertikal dengan sisir 20 lubang. Gel dibiarkan selama 1 jam pada suhu kamar sampai beku. (5) Supernatan dari masing-masing

sampel sebanyak 25 l dimasukkan ke dalam lubang gel. Penyangga elektroda ditempatkan pada slab.

Penyangga ekstraksi terdiri dari:

Tris-HCl 0,1 M pH 7,5	200 ml
DTT	0,31 g
Sukrosa	10 g
Asam askorbat	8 g
PVP-40	20 g
Merkaptoetanol	200 μ l
Triton 100x	1 ml

Komposisi gel meliputi:

Untuk 30 ml	
30% Acryl/Bis (40:1)	3,75 ml
penyangga gel	3,75 ml
H ₂ O	18,42 ml
APS 10%	0,3 ml
TEMED	0,03 ml

Penyangga elektroda:

Tris 0,025 M	3 g
Glycine 0,192 M	14,4 g
H ₂ O	800 ml
pH	8,3
Tambah H ₂ O menjadi 1 liter	

Analisis Isozym

Enzim Esterase

Running dilakukan pada 100 volt konstan (1 24 mA) selama 2 jam. Gel selanjutnya direndam dalam larutan pewarna:

100 μ M Na ₂ HPO ₄ , pH 6	100 ml
α -Naphthyl acetat	100 ml
β -Bapthyl acetat	50 mg
Fast gainet GBC	100 mg
Gel diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C, sebelum pembacaan pita yang terbentuk,	

Enzym Acid Fosfatase

Prosedur preparasi contoh sama dengan untuk enzim esterase. Running dilakukan pada 100 volt (± 26 mA) selama 5 jam. Gel selanjutnya direndam dalam larutan pewarna:

Fast Garnet GBR Salt	100 mg
0,05 M Na-Asetat (pH 5,0)	100 ml

0,1 M MgCl₂ 5 ml
 1% (Naphthyl acid fosfat 2 ml
 (20 mg dilarutkan dalam 2 ml aseton). Gel inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C, sebelum pembacaan pita yang terbentuk.

Enzim Peroksidase

Prosedur preparasi contoh sama dengan untuk enzim esterase. Running dilakukan pada 100 volt (± 26 mA) selama 4 jam, gel selanjutnya direndam dalam larutan pewarna:

3-amino-9ethyl carbazole 50 mg
 (dilakukan dalam 5 ml dimethyl formamide)
 0,1 M CaCl₂ 2 ml
 30% hidrogen peroksidase 0,2 ml
 0,05 M Na-asetat (pH 5,0) 95 ml
 Gel diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C, sebelum pembacaan pita yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis dengan elektroforesis menggunakan enzim esterase, acid fosfatase, dan peroksidase disajikan pada Gambar 1, 2, dan 3. Semua sampel yang diuji dengan enzim esterase ternyata memperlihatkan pola zimogram yang sama, yaitu munculnya tiga garis dengan Rf masing-masing sebesar 0,35; 0,65 dan 0,75. Garis pertama berwarna kemerah-merahan dan dua garis berikutnya berwarna coklat tua. Walaupun secara umum warna yang terjadi lebih lemah dari pengujian terdahulu tetapi batas-batas garis terlihat lebih jelas. Penyangga ekstraksi mengandung beberapa bahan tambahan seperti mercaptoetanol dan asam askorbat dengan sukrosa sebagai pemberat.

Esterase pada manggis bersifat polimorfis dengan dua losi, yaitu Est-1 untuk garis pertama (Rf 0,35) berwarna kemerah-merahan (pewarna α -naphthyl asetat). Dua garis berikutnya adalah Est-5 berwarna coklat tua (pewarna β -naphthyl asetat). Berdasarkan analisis esterase, tidak ada keragaman pada 13 sampel yang diuji.

Pohon induk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	B	C	D	E1	E2
Rf													
0,35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,65	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

A1-A6 : Pohon manggis dari Kaligesing, Kabupaten Perworejo, Jawa Tengah.

B : Pohon manggis dari Dampit, Kabupaten Malang, Jawa Timur

C : Pohon manggis dari Cipaku, Kabupaten Bogor, Jawa Barat

D : Pohon manggis dari Cikalong, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat

E1 : Pohon manggis dari Narmada, Lombok Barat

E2 : Pohon manggis dari Lingsar, Lombok Barat

Gambar 1. Skema zimogram enzim esterase pohon induk manggis dari beberapa daerah sentra produksi di Jawa dan Lombok.

Pohon induk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	B	C	D	E1	E2
Rf													
0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Gambar 2. Skema zimogram enzim acid fosfatase pohon manggis dari beberapa daerah sentra produksi di Jawa dan Lombok.

Rf	Pohon induk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	B	C	D	E1	E2
	0,55	—	—					—	—			—	—	—

Gambar 3. Skema zimogram enzim peroksidase pohon manggis dari beberapa daerah sentra produksi di Jawa dan Lombok.

Hasil analisis enzim peroksidase menunjukkan bahwa setelah 24 jam inkubasi pada suhu kamar terbentuk warna coklat gelap dengan $R_f = 0,55$. Intensitas warna untuk masing-masing sampel adalah sebagai berikut : (1) garis coklat halus pada pohon induk A1, E1, dan E2; (2) garis coklat sedang pada pohon induk A2, A8, dan D; dan (3) garis coklat kuat hanya dijumpai pada pohon induk A7. Sampel dari pohon induk manggis lainnya tidak memiliki garis. Hal ini mengidentifikasikan bahwa pohon induk yang diuji dengan isozim dapat dikelompokkan minimal menjadi tiga klon.

Pohon induk manggis di Kaligesing dapat terdiri dari minimal tiga varietas, sedangkan semua varietas pohon induk di luar Kaligesing yang diuji ada di antara delapan pohon induk manggis di Kaligesing. Hasil analisis isozim pohon induk manggis Kaligesing yang berhubungan dengan fenomena warna pupus (hijau muda, merah, dan coklat) yang ditemukan di pesemaian, bibit hasil penyambungan dan pohon produktif di sentra produksi tersebut, perlu dikaji lebih lanjut. Pohon induk manggis Dampit (Jawa Timur) mempunyai persamaan dengan yang berasal dari Cikalong (Jawa Barat) dan berbeda dengan tanaman yang berasal dari Lombok. Pohon induk manggis yang berasal dari Narmada maupun Lingsar, Kabupaten Lombok Barat, tidak berbeda. Hal ini dapat dipahami karena berdasarkan riwayatnya pohon induk manggis dari Lingsar merupakan pengembangan dari Narmada.

Zimogram glucose phosphate isomerase (GPI) tanaman manggis koleksi Kebun Percobaan Aripin, Balai Penelitian Tanaman Buah (Balitbu) Solok, yang berasal dari beberapa daerah di Sumatera menunjukkan pola yang sama (Anonymous dalam Rais *et al.*, 1996). Artinya, secara genetis semua pohon manggis yang diuji sama, sedangkan perbedaan yang ditemukan sebelumnya dapat disebabkan oleh faktor lingkungan dan kon-

disi tanaman (Mansyah *et al.*, 1992; 1993). Ollitruet (1990) menyatakan bahwa, penafsiran terhadap sistem enzim pada isozim berkaitan dengan kondisi fisiologis jaringan/organ yang digunakan, kecuali untuk esterase, acid phosphatase, dan peroksidase yang dapat diatur oleh faktor fisiologi. Oleh karena itu, diperlukan pengujian genetik yang lebih akurat dengan metode analisis DNA guna melengkapi hasil identifikasi yang telah dilakukan.

KESIMPULAN

Enzim peroksidase pada analisis isozim dapat digunakan sebagai pembeda beberapa klon manggis dari sentra produksi di Jawa dan Lombok. Berdasarkan zimogram yang dihasilkan, pohon induk manggis yang diuji dapat dikelompokkan menjadi minimal tiga klon. Uji lebih lanjut dengan metode yang lebih akurat (analisis DNA) perlu dilakukan untuk melengkapi hasil yang telah didokumentasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cox, Jill E. K. 1976. *Garcinia mangostana* L., Mangosteen. Propagation of tropical fruit trees. 1st ed. Common Wealth Bureau. Fam Ham Royal. England. p:8-12.
- Ghareyazie, B., N. Huang, G. Second, J. Bennet, and G.S. Kush. 1995. Classification of rice germplasm: I. Analysis using AFLP and PCR-based RFLP. Theor. Appl. Genet. 91:218-227.
- Horn, C.L. 1940. Existence of only one variety of cultivated mangoetee explained by asexually formed seed. Puerto Rico experiment station of U.S. Departement Agriculture Mayague. Science New Series. Vol XCH. July-December 1980. p:237-238.
- Mansyah, E., Edison Hs., dan M. Winarno. 1992. Eksplorasi dan studi keragaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Sumatera Barat: I. Karakteristik kuantitatif antartanaman pada populasi manggis di berbagai lokasi. Penel. Hort. 5(1):1-15.

- 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.
- Ollitrault, P. 1990. Isozyme and DNA restriction fragment length polymorphism (RFLPS) as genetic marker in citrus collection. Proceedings of the 4 th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. Chiang Mai, Thailand, 4-10 February. p.58-68.
- Rais, M., E. Mansyah, S. Lukitariati, dan Am.J. Anwarudin (eds.). 1996. Peningkatan efisiensi teknologi usahatani manggis. Monograf Manggis. Balitbu Solok. 40 p.
- Richards, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: Agamospermy. Botanical Journal of The Linnean Society 103:233-250.
- Supriyanto, A., U.H. Yudowati, N.F. Devy, A. Muharam, B. Hariyanto, D. Setyorini, dan A. Sutanto. 1996. Perbanyakan bibit manggis (*Garcinia mangostana* L.) melalui kultur jaringan. Laporan Kemajuan RUT III Tahap I dan II 30pp. (belum dipublikasikan).
- Verheij, E.W.M. 1991. *Garcinia mangostana* L. In edible fruit and nuts. Prosea 2. Bogor. p:177-181.