

Analisis Keragaman Genetik Manggis Menggunakan Teknik *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP)

Makful¹⁾, S. Purnomo²⁾, dan Sunyoto¹⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl. Raya Solok-Arian Km. 8, Solok 27301

²⁾BPTP Jawa Timur Jl. Raya Karangploso Km. 4, Malang 65101

Naskah diterima tanggal 26 Januari 2010 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 1 November 2010

ABSTRAK. Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret 2004 sampai dengan Desember 2005 di Laboratorium Pemuliaan Balai Penelitian Tanaman Buah dan Laboratorium Bioteknologi Balai Penelitian Tanaman Perkebunan. Penelitian bertujuan mengetahui keragaman genetik manggis berdasarkan analisis molekuler dengan teknik AFLP menggunakan lima pasang primer. Analisis keragaman menggunakan program NTSys. Hasil amplifikasi *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) terhadap sembilan sampel genom manggis menunjukkan adanya keragaman yang tinggi. Dengan metode *unweighted pair-group with arithme average* (UPGMA) pada koefisien jarak genetik 60% menghasilkan satu kelompok genom. Pada nilai koefisien kesamaan genetik 70%, aksesori manggis dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok yaitu kelompok 1 terdiri atas sampel 8-(*Garcinia* sp. manggis hutan-1), 13-(*G. mundar*), 17-(*Garcinia* sp. manggis hutan-asam), kelompok 2 mencakup sampel 19-(*G. mangostana* Pasarminggu-2), 20-(*G. mangostana* Pasarminggu-1), 22-(*G. mangostana* Jayanti-2), dan kelompok 3 terdiri atas sampel 25-(*G. malaccensis*-Jambi), 26-(*G. malaccensis* Bukit Kawang Medan PK 1), dan 27-(*G. malaccensis* Bukit Lang PK 2). Informasi variabilitas genetik diharapkan dapat mendukung program pemuliaan manggis.

Katakunci: *Garcinia* sp.; *Amplified fragment length polymorphism* (AFLP); Keragaman genetik

ABSTRACT. Makful, S. Purnomo, and Sunyoto. 2010. *Analysis of Genetic Diversity of Mangosteen Based on the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Technique.* This experiment was conducted from March 2004 to December 2005 at the Laboratory of Plant Breeding of Indonesian Fruit Research Institute and the Laboratory of Biotechnology of Indonesian Estate Crop Research Institute. The objective of the study was to determine genetic diversity of mangosteen. The method used was AFLP technique with five pairs of primers, while data obtained was analyzed by the NTSys program. From the AFLP amplification of nine DNA samples, it was proven that the accessions of mangosteen had a high degree of diversity. Based on analysis of AFLP and unweighted pair-group with arithme average (UPGMA) it was shown that the samples of mangosteen could be grouped into one cluster at relative euclidian distance of 60% and into three clusters at relative euclidian distance of 70%, i.e. cluster 1 for sample 8-(*Garcinia* sp. manggis hutan-1), 13-(*G. mundar*), 17-(*Garcinia* sp. manggis hutan-asam) samples, cluster 2 for sample 19-(*G. mangostana* Pasarminggu-2), 20-(*G. mangostana* Pasarminggu-1), 22-(*G. mangostana* Jayanti-2) samples, and cluster 3 for sample 25-(*G. malaccensis*-Jambi), 26-(*G. malaccensis* Bukit Kawang Medan PK 1), and 27-(*G. malaccensis* Bukit Lang PK 2) samples. Information of genetic variability is expected to support the mangosteen breeding program.

Keywords: *Garcinia* sp.; *Amplified fragment length polymorphism* (AFLP); Genetic diversity.

Manggis (*Garcinia mangostana*) merupakan tanaman buah tropis yang eksotis dengan sebutan ratu dari buah-buahan tropis. Manggis juga dikenal memiliki manfaat bagi kesehatan (Sakagami *et al.* 2005). Manggis termasuk dalam famili Guttiferae dan genus *Garcinia*. Genus ini terbagi dalam 400 spesies (Campbell 1966, Richards 1990).

Manggis termasuk tanaman *agamospermy* yang reproduksinya melalui tunas adventif proembrio jaringan ovarial. Implikasi dari sistem reproduksi aseksual yang tidak biasa tersebut, tanaman manggis seharusnya menghasilkan buah yang berpenampilan seragam dan hanya ada satu varietas (Horn 1940, Richard 1990). Namun kenyataannya dijumpai beragam bentuk,

penampilan ukuran daun dan buah (Gonzales dan Quirino 1951, Mansyah *et al.* 1992). Hasil pengamatan Mansyah *et al.* (1999) menunjukkan bahwa populasi manggis Sumatera Barat memiliki variabilitas fenotip yang luas untuk karakter panjang daun, jumlah buah per tandan, bobot buah, tebal kulit buah, dan total padatan terlarut. Namun, hasil analisis isozim *glucose phosphate isomerase* (Mansyah *et al.* 1992) diketahui bahwa manggis yang berasal dari lokasi yang berbeda diperoleh pola pita yang sama. Mansyah (2002) melaporkan bahwa berdasarkan analisis molekuler dengan teknik RAPD didapatkan variasi genetik antarpopulasi manggis Jawa dan Sumatera. Besarnya variasi genetik tersebut sangat ditentukan oleh jenis primer yang digunakan.

Beberapa studi menunjukkan bahwa dalam satu populasi alami tanaman yang berbiak secara vegetatif sering ditemukan individu yang berbeda secara genetik. Autosegregasi, mutasi somatik, dan instabilitas genetik diduga berperan sebagai sumber variasi individu dalam populasi alami. Sebagai contoh, tanaman *Taraxacum* yang berbiak melalui apomiksis obligat menghasilkan variasi genetik (Asker dan Jerling 1992). Demikian juga jenis rumput *Tripsacum dactyloides* yang berkembangbiak melalui apomiksis fakultatif mengalami perubahan genetik pada keturunannya sebesar 4% (Koltunow *et al.* 1995). Fenomena tersebut menunjukkan bahwa spesies yang berbiak secara apomiksis fakultatif atau pun obligat mengalami perubahan genetik. Menurut Hanna (1991) untuk mempelajari variabilitas genetik pada tanaman apomiksis perlu dilakukan program persilangan yang rinci melalui uji keturunan dan metode sitologi.

Studi keragaman genetik dapat dilakukan dengan berbagai marka, misalnya marka morfologi (Franczowski 1997), marka isoenzim (Aicher dan Saunders 1990), dan marka DNA (Weising *et al.* 1994). Marka DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi sidik jari genetik, memperkirakan keragaman genetik, menyeleksi tanaman dan ternak berbasis marka, serta membuat peta kloning berbasis gen (Tanksley *et al.* 1995). Studi keragaman genetik berdasarkan sidik jari DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, bergantung pada tujuan dan kemudahan dalam menginterpretasi data. Metode yang sering digunakan untuk tujuan tersebut ialah yang berbasis *polymerase chain reaction* (PCR), seperti, *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Williams *et al.* 1990), *arbitrarily primed PCR* (AP-PCR) (Welsh dan McClelland 1990), dan berbasis hibridisasi DNA (Weising *et al.* 1994). Metode biologi molekuler yang berbasis molekul DNA dapat digunakan untuk analisis keragaman, karena masing-masing individu memiliki urutan DNA yang berbeda. Informasi urutan ini dapat digunakan untuk mempelajari perbedaan genetik dan hubungan kekerabatan antara individu dan jenis organisme (Weising *et al.* 1994).

Amplified fragment length polymorphism (AFLP) adalah teknik studi keragaman genetik berdasarkan fragmen pemotongan DNA dan

amplifikasi DNA (Vos *et al.* 1995, Thomas *et al.* 1995). Teknik ini lebih baik dari teknik RAPD. Pita-pita polimorfisme yang dihasilkan teknik AFLP sekitar 50-100 pita (Vos *et al.* 1995), sedangkan teknik RAPD hanya menghasilkan sekitar 50 pita (Sobir dan Poerwanto 2007). Selain itu data keragaman genetik yang dihasilkan dari teknik AFLP lebih akurat dibandingkan RAPD (Cabrita *et al.* 2001, Garcia *et al.* 2004, Anna *et al.* 2005). Walaupun demikian, RAPD lebih murah dan lebih sederhana dibanding AFLP (Waldron *et al.* 2002).

Analisis keanekaragaman genetik pada prinsipnya bertujuan mengkaji komposisi genetik individu di dalam dan atau antar-populasi, serta mengidentifikasi faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya modulasi atau dinamika keanekaragaman genetik dari populasi tersebut. Secara umum keragaman genetik pada suatu populasi dapat terjadi karena gen mengalami mutasi, rekombinasi, dan perpindahan sekelompok populasi dari suatu tempat ke tempat lain (Griffith *et al.* 1996). Struktur genetik dari suatu populasi dipengaruhi pula oleh beberapa faktor, seperti besarnya populasi, cara reproduksi individu yang diteliti, aliran gen, dan seleksi alam (Mc Donald dan McDermott 1993).

Tanaman manggis mempunyai keragaman genetik yang sempit, bahkan dapat dikatakan tidak ada keragaman genetik. Keragaman yang muncul merupakan akibat perbedaan lingkungan. Keragaman genetik manggis juga dapat disebabkan oleh mutasi. Hasil penelitian Fauza *et al.* (2003) menyatakan bahwa terdapat variasi individu pada manggis setelah diperlakukan dengan sinar gamma.

Keanekaragaman merupakan suatu fenomena normal pada makhluk hidup, baik dalam kehidupan tumbuhan, hewan, maupun manusia. Ciri-ciri fisik setiap makhluk hidup yang tampak secara visual dapat mudah dikenali, karena tidak memerlukan alat bantu. Namun ciri fisik dalam aras molekuler hanya dapat dikenali dengan alat-alat bantu atau teknik-teknik pemeriksaan laboratorium tertentu yang memerlukan ketelitian tinggi. Organisme dapat berbeda dalam bentuk individu (polimorfisme fenotip), bentuk organ, enzim (polimorfisme protein), substansi darah (polimorfisme biokimia), dan perbedaan urutan nukleotida (polimorfisme DNA) (Passarge 1994).

Studi genetik apomiksis biasa dilakukan dengan cara membedakan karakteristik tanaman induk dengan keturunan-keturunan yang menyimpang. Di lain pihak, studi pada tanaman apomiksis obligat menghadapi kesulitan, karena variabilitas genetik yang rendah dan siklus hidup tanaman yang lama. Untuk itu perlu dibuat teknik merangsang variasi baru, di antaranya transfer apomiksis kepada tanaman amfimiksis (den Nijs dan van Dijk 1993). Sebagai langkah awal untuk perbaikan klon manggis informasi dasar variabilitas genetik pada manggis sangat diperlukan untuk menentukan langkah-langkah pemuliaan lebih lanjut.

Manggis berkembangbiak secara aseksual melalui jaringan proembrio jaringan ovular yang menghasilkan keturunan sama dengan induknya. Walaupun demikian, masih dimungkinkan adanya variasi genetik tanaman manggis di alam. Berdasarkan uraian tersebut dilakukan penelitian analisis keragaman genetik manggis menggunakan teknik AFLP yang bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik manggis dari beberapa daerah di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Buah dan di laboratorium Bioteknologi Pusat Penelitian Perkebunan, Bogor, mulai Maret 2004-Desember 2005.

Isolasi DNA

Genom DNA diisolasi dari sembilan contoh tanaman manggis, yaitu: 8-(*Garcinia* sp. manggis hutan-1), 13-(*G. mundar*), 17-(*Garcinia* sp. manggis hutan-asam), 19-(*G. mangostana* Pasarminggu-2), 20-(*G. mangostana* Pasarminggu-1), 22-(*G. mangostana* Jayanti-2), 25-(*G. malaccensis*-Jambi), 26-(*G. malaccensis* Bukit Kawang Medan PK 1), dan 27-(*G. malaccensis* Bukit Lang PK 2) dengan prosedur Orozco-Castillo (1994). Sebanyak 0,3 g daun manggis muda dikoleksi dan didinginkan dengan nitrogen cair. Genom total dari sampel jaringan diisolasi ke dalam 2 ml tabung eppendorf. Genom total dicuci dua kali dengan alkohol 70%, dikeringkan dan dilarutkan ke dalam 500 ul *buffer* TE (100 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7,5), kemudian ditambah 20 ul RNase (10 mg/ml) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama

1 jam. DNA dipresipitasi dengan 2 volume etanol absolut dan 0,1 volume Na-asetat 3 M. Konsentrasi DNA sampel tersebut dideterminasi dengan elektroforesis pada 1,4% agarose.

Analisis AFLP

Metode AFLP mengikuti prosedur standar *AFLP analysis system I* (cat.no. 10544-013) Gibco BRL Life Technologies. Genom DNA yang berkualitas tinggi sebanyak 0,5 g dipotong dengan sepasang enzim restriksi (Pst I dan Mse I), kemudian diligasi dengan adaptor rantai ganda Pst I dan Mse I. Adaptor dan 1 unit T4 DNA *ligase* kemudian ditambahkan ke dalam unit reaksi pada suhu 20°C selama 2 jam. Hasil *ligasi* diencerkan 1:10 dengan *buffer* TE, kemudian dipakai sebagai cetakan untuk Pre-PCR. Reaksi Pre-PCR terdiri atas 1 ng DNA terligasi, 40 ul PCR-mix, 1 x *buffer* PCR, dan 1 unit taq polimerase. *Polymerase chain reaction-mix* diamplifikasi sebanyak 20 kali dengan kebutuhan suhu dan waktu (Tabel 1).

Tabel 1. Waktu dan suhu proses denaturasi serta sintesis DNA sampel daun manggis (*Time and temperature of denaturation process and DNA synthesis of mangosteen leaf sample*)

Proses (Process)	Suhu (Heat), °C	Waktu (Time) Detik (Second)
Denaturasi	94	30
Penempelan primer	56	60
Sintesis DNA	72	60

Setelah diamplifikasi, produk diencerkan 1:50 dalam *buffer* TE. Semua sampel secara selektif diamplifikasi dengan 64 kemungkinan kombinasi primer. Amplifikasi yang terpilih terdiri atas 1x *buffer* PCR, 1 unit taq pol, primer terpilih Eco RI 0,5 µl dan Mse I sebanyak 4,5 µl dan 5 µl diencerkan DNA Pre-PCR dalam 20 µl volume reaksi. Kombinasi primer terbaik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi primer yang digunakan (*Primer combination used in this study*)

Kombinasi primer (Primer combination)	Kode (Code)
Eco RI+ACC/Mse I+CTG	E-MC& M-CTG
Eco RI+ACGMse I+CAG	E-ACG & M-CAG
Eco RI+ACG/Mse I+CAT	E-ACG & M-CAT
Eco RI+AACMse I+CAA	E-AAC & M-CM
Eco RI+AAC/Mse I+CAC	E-MC & M-CAC

Pada penelitian ini waktu dan suhu optimum untuk penempelan primer adalah siklus dengan suhu penempelan primer berurut berkurang 2°C setiap dua siklus untuk delapan siklus (63°C x 2, 61°C x 2, 59°C x 2, 57°C x 2) dan dilanjutkan 23 siklus dengan suhu penempelan primer 56°C. Hasil produk PCR dielektroforesis pada 7% PAGE, didenaturasi dengan 7 M Urea dan diwarnai dengan *silver stained*. Ada dan tidaknya pita dinilai dengan skor secara manual.

Analisis Data AFLP

Untuk analisis kekerabatan fragmen DNA yang teramplifikasi diskor dari masing-masing varietas, skor 1 untuk pita yang muncul dan skor 0 untuk pita yang tidak muncul. Estimasi kekerabatan didasarkan atas jumlah kesamaan pita yang teramplifikasi yang dianalisis dengan perangkat lunak NTSys (Nei dan Li 1979). Dendrogram dibuat menggunakan *unweighted pair-group with arithme average* (UPGMA) (Sokal dan Michener 1958). Matrik jarak genetik untuk semua tanaman dihitung dari data AFLP dengan jarak *euclidean* yang dikonversi ke dalam perkiraan persentase jarak genetik di antara individu dan tiap grup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

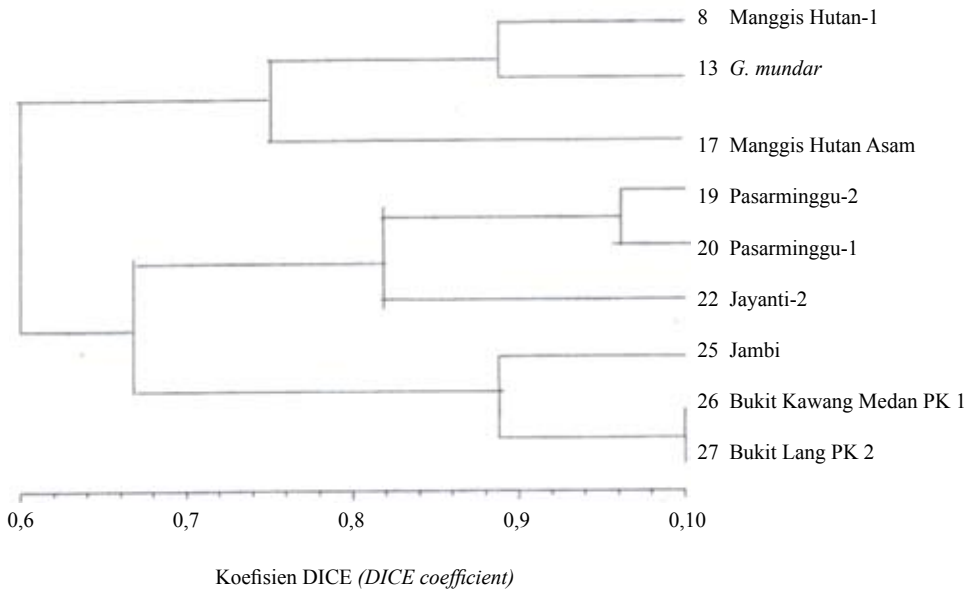
DNA genom dari sembilan sampel manggis dan kerabatnya yang berkualitas tinggi sangat dibutuhkan untuk analisis AFLP (Vos *et al.* 1995), karena DNA yang utuh dan murni dapat memudahkan enzim endonuklease restriksi (RE) bekerja memotong DNA sesuai dengan sisi pengenalannya (Nathans dan Smith 1975). Hal ini sangat penting karena salah satu kriteria analisis menggunakan teknik AFLP ialah persamaan dan perbedaan sisi-sisi pengenalan enzim RE yang dapat menghasilkan ukuran fragmen DNA yang berbeda antara 50 -100 pita DNA (Vos *et al.* 1995). Amplifikasi sembilan sampel manggis menggunakan lima pasang primer menghasilkan sebanyak 121 pita penanda AFLP. Profil pita-pita hasil amplifikasi pasangan primer E-MC dan M-CTG (Gambar 2), pasangan primer E-ACG dan M-CAG (Gambar 3), pasangan primer E-ACG dan M-CAT (Gambar 4), pasangan primer E-AAC dan M-CM (Gambar 5), serta pasangan E-MC dan M-CAC (Gambar 6).

Berdasarkan analisis tersebut diketahui bahwa di antara sembilan sampel (Manggis Hutan-1,

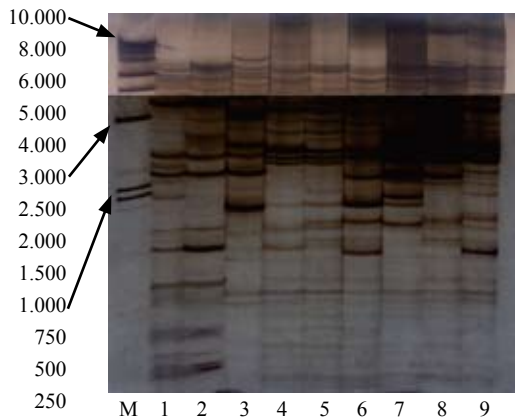
G. mundar, manggis Hutan-Asam, Pasarminggu-2, Pasarminggu-1, Jayanti-2, Jambi, Bukit Kawang Medan PK 1, dan Bukit Lang PK2) terdapat keragaman genetik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara *G. mangostana* dan *Garcinia* sp. secara genetik berbeda.

Reproduksi tanaman manggis melalui mekanisme apomiksis obligat (Richard 1990), sehingga progeninya sama dengan induknya. Menurut Mansyah (2002) penggunaan analisis RAPD dapat membedakan secara populasi manggis yang berasal dari pulau Jawa (Wanayasa, Leuwiliang, Kali Gesing, dan Watulimo). Sando *et al.* (2005) menyatakan bahwa dengan menggunakan metode RAF (*random amplified fingerprint*) variasi genetik pada tanaman manggis di Northern Queensland dapat diidentifikasi. Hal yang sama dilaporkan oleh Ramage *et al.* (2004) yang berhasil mengelompokkan 37 aksesi manggis dan 11 kerabat manggis ke dalam tiga kelompok pada nilai koefisien kesamaan 63-70%. Variasi turunan tanaman apomiksis obligat dilaporkan terjadi pula pada genus *Taraxacum* (Ford dan Richard 1985). Keragaman genetik yang terjadi pada manggis dapat disebabkan oleh mutasi dan adaptasi pada lingkungan baru (Griffiths *et al.* 1996).

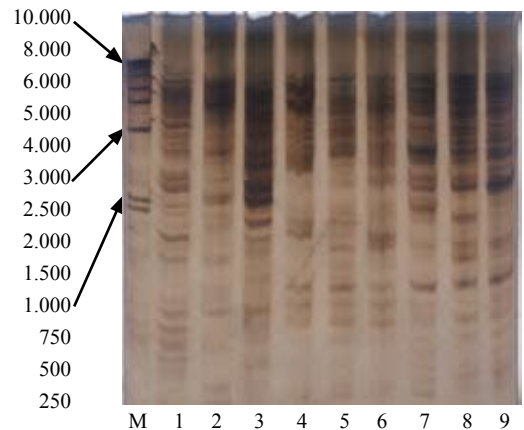
Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa amplifikasi pita-pita DNA dalam penelitian ini relatif banyak (Gambar 2, 3, 4, 5, dan 6). Hasil analisis tingkat kemiripan pola pita tertera pada angka-angka pada Tabel 3 menunjukkan bahwa dari sembilan jenis manggis yang dijadikan sampel ditemukan adanya variasi genetik yang cukup besar. Sampel nomor 8 dan 13 memiliki nilai matrik kesamaan genetik yang dekat, pada analisis dendrogram terkumpul kelompok 1, demikian pula dengan sampel nomor 19 dan 20 dalam kelompok 2 serta sampel nomor 25, 26, dan 27 dalam kelompok 3. Pada nilai koefisien kesamaan di atas 75% (Gambar 1) terkelompok menjadi tiga, yaitu kelompok 1 *Garcinia* sp. sampel 8-(*Garcinia* sp. Manggis Hutan-1), 13-(*G. mundar*), 17-(*Garcinia* sp. Manggis Hutan Asam), kelompok 2 *G. mangostana*, sampel 19-(*G. mangostana* Pasarminggu-2), 20-(*G. mangostana* Pasarminggu-1), 22-(*G. mangostana* Jayanti-2), dan kelompok 3 *G. malaccensis* sampel 25-(*G. malaccensis*-Jambi), 26-(*G. malaccensis* Bukit Kawang Medan PK 1), dan 27-(*G. malaccensis* Bukit Lang PK 2).



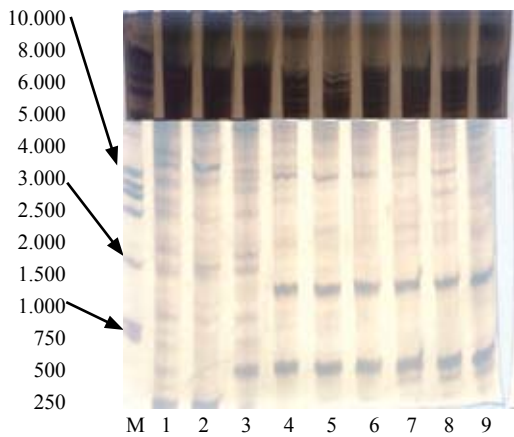
Gambar 1. UPGMA berdasarkan dendrogram sembilan contoh manggis dengan 121 penanda AFLP (*UPGMA based on dendrogram of nine mangosteen samples with 121 AFLP marker*)



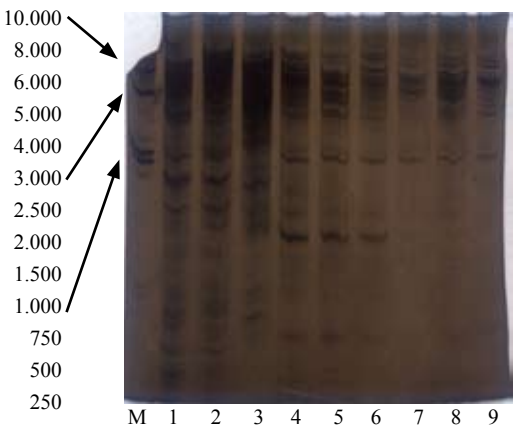
Gambar 2. Sidik jari AFLP sembilan contoh manggis, amplifikasi menggunakan pasangan primer E-MC & M-CTG (*AFLP fingerprint of nine mangosteen samples, amplification with primer couple E-MC & M-CTG*)
Keterangan M: DNA I kb ladder, 1. Sampel No.8, (2)-13, (3)-17, (4)-19, (5)-20, (6)-22, (7)-25, (8)-26, dan (9)-27.



Gambar 3. Sidik jari AFLP sembilan contoh manggis, amplifikasi menggunakan pasangan primer E-ACG & M-CAG. (*AFLP fingerprint of nine mangosteen samples, amplification with primer couple E-ACG & M-CAG*)
Keterangan M: DNA I kb ladder, 1. Sampel No.8, (2)-13, (3)-17, (4)-19, (5)-20, (6)-22, (7)-25, (8)-26, dan (9)-27.



Gambar 4. Sidik jari AFLP sembilan contoh manggis, amplifikasi menggunakan pasangan primer E-ACG & M-CAT, (*AFLP fingerprint of nine mangosteen samples, amplification with primer couple E-ACG & M-CAT*)
Keterangan M: DNA I kb ladder, 1. Sampel No.8, (2)-13, (3)-17, (4)-I 9, (5)-20, (6)-22, (7)-25, (8)-26, dan (9)-27.



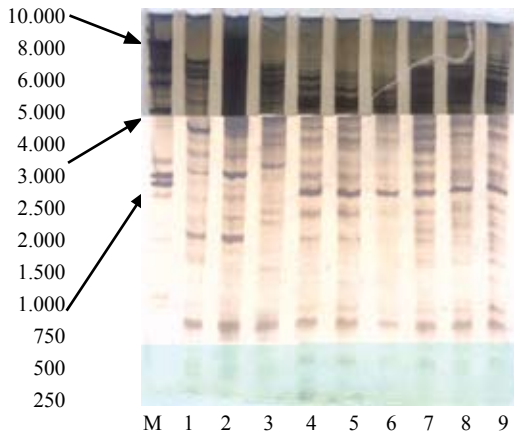
Gambar 5. Sidik jari AFLP sembilan contoh manggis, amplifikasi menggunakan pasangan primer E-AAC & M-CM, (*AFLP fingerprint of nine mangosteen samples, amplification with primer couple E-AAC & M-CM*)
Keterangan M: DNA I kb ladder, 1. Sampel No.8, (2)-13, (3)-17, (4)-I 9, (5)-20, (6)-22, (7)-25, (8)-26, dan (9)-27.

Tabel 3. Matrik kesamaan genetik sembilan contoh manggis dengan penanda AFLP (*Matric of genetic similarity of nine mangosteen samples with AFLP marker*)

No. Sampel	8	13	17	19	20	22	25	26	27
8	1.00								
13	0.81	1.00							
17	0.71	0.74	1.00						
19	0.66	0.71	0.63	1.00					
20	0.57	0.65	0.53	0.87	1.00				
22	0.58	0.57	0.57	0.76	0.77	1.00			
25	0.61	0.58	0.58	0.65	0.61	0.62	1.00		
26	0.50	0.65	0.62	0.71	0.69	0.67	0.84	1.00	
27	0.86	0.68	0.63	0.73	0.69	0.66	0.80	0.89	1.00

Lebih lanjut pada koefisien kesamaan 60%, sembilan contoh manggis terkelompok menjadi satu (Gambar 1).

Adanya pengelompokan sembilan aksesori manggis tersebut dengan penanda AFLP membuktikan bahwa tanaman apomiksis obligat



Gambar 6. Sidik jari AFLP sembilan contoh manggis, amplifikasi menggunakan pasangan primer E-MC & M-CAC, (AFLP fingerprint AFLP of nine mangosteen samples, amplification with primer couple E-MC & M-CAC)
Keterangan M: DNA 1 kb ladder, 1. Sampel No.8, (2)-13, (3)-17, (4)-19, (5)-20, (6)-22, (7)-25, (8)-26, dan (9)-27.

juga memiliki keragaman yang cukup luas. Informasi ini dapat dipakai sebagai acuan untuk melakukan perbaikan genus manggis melalui program pemuliaan dengan memanfaatkan sejumlah aksesori plasma nutfah yang ada pada koleksi sumber daya genetik manggis.

KESIMPULAN

1. Dari sembilan sampel manggis yang diperoleh dari berbagai lokasi di Indonesia ditemukan adanya keragaman genetik.
2. Dengan menggunakan analisis kluster pada nilai koefisien kesamaan genetik di atas 75% diperoleh tiga kelompok aksesori manggis, yaitu kelompok 1 *Garcinia* sp. sampel 8-(*Garcinia* sp. Manggis Hutan-1), 13-(*G. mundar*), 17-(*Garcinia* sp. Manggis Hutan Asam), kelompok 2 *G. mangostana*, sampel 19-(*G. mangostana* Pasarminggu-2), 20-(*G. mangostana* Pasarminggu-1), 22-(*G. mangostana* Jayanti-2), dan kelompok 3 *G. malaccensis* sampel 25-(*G. malaccensis*-Jambi), 26-(*G. malaccensis* Bukit Kawang

Medan PK 1), dan 27-(*G. malaccensis* Bukit Lang PK 2), sedang pada nilai koefisien kesamaan genetik 60% sembilan aksesori manggis terkelompok menjadi satu.

3. Informasi variabilitas genetik tersebut dapat dijadikan dasar bagi pemanfaatan plasma nutfah manggis yang ada dalam program pemuliaan manggis.

PUSTAKA

1. Aicher, L.W. and J. W. Saunders. 1990. Inheritance Studies and Clonal Fingerprinting with Isoenzymes in Sugarbeet. *Crop Sci* 30:1064-1072.
2. Anna, G., E. Augustynowicz, E. Mosiej, M. Zawadka, G. Gniadek, A. Nowaczek, and J. Slusarczyk. 2005. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Versus Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) as New Tools for Inter- and Intra-species Differentiation within *Bordetella*. *Med Microbiol* (54):333-346.
3. Asker, S. E. and L. Jerling. 1992. *Apomixis in Plants*. CRC Press. London.297 pp.
4. Cabrita, L. F., U. Aksoy, S. Hepaksoy, and J. M. Leitão. 2001. Suitability of Isozyme, RAPD, and AFLP Markers to Assess Genetic Differences and Relatedness among Fig (*Ficus carica* L.) Clones. *Scientia Horticulturae* 87 (4):261-273.
5. Campbell, C. W. 1966. Growing Mangosteen in Southern Florida. *Proceedings of the Florida State of Hortic. Soc.* 79:399-401.
6. Den Nijs, A.P.M. and G. E. van Dijk. 1993. Apomixis. In: M.D. Hayward, N.O. Bosermark, and I. Romagosa (Eds.). *Plant Breeding Principles and Prospects*. Chapman and Hall. London. 229 pp.
7. Fauza, H., M. H. Karmana, N. Rostini, dan I. Mariska. 2003. Variabilitas Genetik Manggis Hasil Iradiasi Sinar Gamma melalui Analisis RAPD. *Zuriat*. 14(2):59-67.
8. Franckowiak, J. 1997. Revised Linkage Maps for Morphological Markers in Barley, *Hordeum Vulgare*. *Barley Genetics Newsletter*. 26:9-21.
9. Ford, H. and A. J. Richards. 1985. Isozyme Variation within and Between *Taraxacum agamospecies* in A Single Locality. *Heredity* 55:289-291
10. Garcia, A. A. F., L. L. Benchimo, A. M. M. Barbosa, I. O. Geraldi, C. L. Souza Jr., and A. P. de Souza. 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR Markers for Diversity Studies in Tropical Maize Inbred Lines. *Genet. Mol. Biol.* 27(4):579-588.
11. Griffith, A. J. F., J. H. Miller, D. T. Suzuki, R. C. Lewontin, and W. M. Gelbart. 1996. *An Introduction to Genetic Analysis*. W.H Freeman and Co. New York. 916 pp.
12. Gonzales, G. L. and A. A. N. Quirino. 1951. The Growth Behaviour of Mangosteen and its Graft Affinity with Some Relatives. *Philippine Agriculturist* 35:379-395.

13. Hanna, W. W. 1991. Apomixis in Crop Plants – Cytogenetic Basis and Role in Plant Breeding. *In: Chromosome Engineering in Plants Genetics, Breeding and Evolution*. 229-242 p.
14. Koltunow, A. M., R. A. Bicknell, and A.M. Chaudhury. 1995. Apomixis: Molecular Strategies for the Generation of Genetically Identical Seeds without Fertilization. *Plant Physiol.* 108:1345-1352.
15. Mansyah, E., Edison Hs., dan M. Winarno. 1992. Eksplorasi dan Studi Keragaman Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Sumatera Barat : I Karakteristik Kuantitatif antartanaman di Berbagai Lokasi. *J. Hort.* 5(1):1-15.
16. _____, M. Jawal, L. Sadwiyanti, dan A. Susiloadi . 1999. Variabilitas Genetik Tanaman Manggis Melalui Analisis Isozim dan Kaitannya dengan Variabilitas Fenotipik. *Zuriat* 10(1):1-9.
17. _____. 2002. Genetics Variability Analysis of Mangosteen Population in Java and Sumatera Island Through Their Phenotypic Performance and RAPD Technique (Thesis). Graduate School. Padjajaran University. 108 pp.
18. McDonald, B. A. and J. M. McDermott. 1993. Population Genetic of Plant Pathogenic Fungi, Electrophoretic Markers Give Unprecedented Precision to Analysis of Genetic Structure of Population. *Bio. Sci.* 43:311-319.
19. Nathans, D. and H.O. Smith. 1975. Restriction Endonucleases in the Analysis and Restructuring of DNA molecules. *Ann. Rev. of Biochem.* 44:273-293.
20. Nei, M. and W. Li. 1979. Mathematical Model for Studying Variation in Terms of Restriction Endonucleases. *Proceeding National Acad. Sci.* 767:5269-5273.
21. Passarge, E. 1994. Color Atlas of Genetics. *Thieme*. p 156-160.
22. Ramage, C. M., L. Sando, C. P. Peace, B. J. Carroll, and R. Drew. 2004. Genetic Diversity Revealed in the Apomictic Fruit Species *Garcinia mangostana* L. *Euphytica* 136(1): 1-10.
23. Richards, A. J. 1990. Studies in *Garcinia*, Doecious Tropical Fruit Trees : Agamospermy. *Botanical J. of the Linnean Society*. 103:301-308.
24. Sakagami, Y., M. Iinuma, K. G. Piyasena, and H. R. Dharmaratne. 2005. Antibacterial Activity of Alpha-Mangosteen Against Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) and Synergism with Antibiotics. *Phytomedicine* 12:203-208.
25. Sando, L., C. Peace, C. Ramage, B. J. Carroll, and R. Drew. 2005. Assessment of Genetic Diversity in Australian-Grown Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) and Its Wild Relatives. *Acta Hort. (ISHS)* 692:143-152.
26. Sobir and R. Poerwanto. 2007. Mangosteen Genetic and Improvement. *International J. Plant Breeding* 1(2):105-111.
27. Sokkal, R. R. and C. D. Michener. 1958. A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationships. *Univ of Kansas Sci. Bull.* 38:1409-1438.
28. Tanksley, S. D., M. W. Ganal, and G. B. Martin. 1995. Chromosome Landing: A Paradigm for Map-Based Gene Cloning in Plants with Large Genomes. *Trends Genet.* 11(2):63-68.
29. Thomas, C. M., P. Vos, and M. Zabeau. 1995. Identification of Amplified Restriction Fragment Polymorphism (AFLP) Markers Tightly Linked to the Tomato *Cf-9* Gene for Resistance to *Cladosporium fulvum*. *Plant J.* 8(5):785-794.
30. Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijmans, T. Lee, M. van der Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23(21): 4407-4414.
31. Waldron, J., C. P. Peace, I. R. Searle, A. Furtado, N. Wade, I. Findlay, M. W. Graham, and B. J. Carroll. 2002. Randomly Amplified DNA Fingerprinting: A Culmination of DNA Marker Technologies Based on Arbitrarily-Primed PCR Amplification. *J Biomed Biotechnol* 2(3): 141-150.
32. Weising, K., H. Nybom, K. Wolf, and W. Meyyer. 1994. *DNA Fingerprinting in Plants and Fungi*. CRC Press. Florida. USA. 322p.
33. Welsh, J. and M. McClelland. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res.* 18(24):7213-7218.
34. Williams, J. G., A.R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18(22):6531-6535.