

Analisis Keragaman Genetik Manggis dalam Satu Pohon (Analysis of Genetic Diversity of the Mangosteen from Single Plant)

Noorrohmah, S¹), Sobir²), dan Efendi, D²)

¹Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI, Jln. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB, Jln. Meranti Dramaga, Bogor 16680

E-mail: noor_pmt@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 24 Januari 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 28 November 2014

ABSTRAK. Manggis (*Garcinia mangostana*) termasuk dalam kelompok *Garcinia*, merupakan tanaman asli dari Asia Tenggara. Manggis memiliki sistem reproduksi melalui mekanisme apomiksis yang bijinya terbentuk tanpa fertilisasi. Manggis termasuk tanaman apomiksis obligat, progeni yang dihasilkan akan memiliki kesamaan genotip dengan tanaman induk. Namun kenyataan di lapangan menunjukkan adanya keragaman genetik antaraksesi manggis. Penelitian bertujuan mengetahui keragaman morfologi dan genetik dalam satu pohon. Sampel tanaman yang digunakan berasal dari empat generasi manggis (P1, P2, P3, dan P4) Wanayasa, Purwakarta. Pengambilan sampel berdasarkan ketinggian tanaman dan masing-masing ketinggian dibagi menjadi empat sektor (utara, timur, selatan, dan barat). Penelitian meliputi tiga analisis, yaitu morfologi, molekuler dengan ISSR, dan data. Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman morfologi dan genetik dalam satu pohon. Keragaman morfologi lebih besar dari pada genetik. Tingkat keragaman morfologi sebesar 18–43%, sedangkan keragaman genetik adalah 2–17%.

Katakunci: *Garcinia mangostana*; Apomiksis; Morfologi; Keragaman genetik; ISSR

ABSTRACT. Mangosteen (*Garcinia mangostana*) belongs to a large genus of *Garcinia* that is native in South East Asia. Mangosteen is reproduced through apomixis mechanism, from which the seed produced without fertilization. Mangosteen is an obligate apomictic and it is believed that all of its progenies may have same genotype as their mother plant. However it was found that genetic variations occurred among mangosteen accessions. This research is aimed to study genetic and morphology variations on single plant. The samples were selected according to tree height and taken from each sector (north, east, south, and west). There are three analysis, i.e. morphology, molecular by ISSR, and data. It was found that genetic and morphology variations occurred within single plant. Morphology variations were bigger than genetics variations. Morphology variations are 18–43% meanwhile genetics variations are 2–17%.

Keywords: *Garcinia mangostana*; Apomixes; Morphology; Genetic variations; ISSR

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dikenal sebagai *queen of tropical fruit* (Popenoe 1974). Menurut Nakasone & Paull (1999) manggis termasuk dalam family Guttiferae yang berasal dari Asia Tenggara khususnya Indonesia, Thailand, dan Malaysia. Richards (1990) menyatakan bahwa manggis mempunyai dua kerabat dekat yaitu *G. hombroniana* ($2n = 48$) dan *G. malaccensis* ($2n = 42$). Studi sitologi menunjukkan bahwa manggis mungkin merupakan *derivate allotetraploid* dari kedua spesies tersebut. Berdasarkan hasil analisis menggunakan ISSR diketahui bahwa manggis kemungkinan merupakan hibrida allopoliploid *G. porrecta* dan *G. malaccensis* (Sobir *et al.* 2011). Hal ini didukung hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan penanda isozym, AFLP, dan pendekatan morfologi bahwa manggis cenderung lebih mirip *G. porrecta* daripada *G. hombroniana* (Sobir & Poerwanto 2007, Sinaga 2008).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa populasi dari tanaman apomiksis tidak selalu memiliki

peluang genetik yang sama bahkan dari tanaman apomiksis obligat, contohnya *Taraxacum* (Asker & Jerling 1992). Mansyah *et al.* (2008b) menunjukkan adanya variasi fenotip dan genotip manggis tersebut diperkuat dengan penggunaan marka molekuler (Prabowo 2002, Purwanti 2002, Ramage *et al.* 2004). Menurut Mansyah *et al.* (2008b) pola keragaman genetik tanaman manggis berdasarkan hasil analisis RAPD, empat dari 18 progeni tidak menunjukkan kesamaan dengan induknya. Variasi genetik manggis terlalu besar, tidak mungkin hanya akibat pengaruh mutasi. Diduga variasi genetik tanaman manggis disebabkan hibridisasi allotetraploid *G. hombroniana* dan *G. malaccensis* secara berulang dalam awal pembentukan manggis (Richards 1990). Sobir *et al.* (2011) menyatakan bahwa manggis mungkin merupakan turunan allopoliploid dari *G. porrecta* dan *G. malaccensis*. Richards (1997) menyatakan bahwa keragaman yang terjadi pada tanaman apomiksis disebabkan mutasi pada DNA, gagal berpisah dalam sitologi, rekombinasi somatik, dan mutasi kromosomal

yang disebabkan atas perubahan pada material genom terkait dengan proses apomiksis.

Studi keragaman genetik pada tanaman apomiksis dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu analisis tetua dengan progeninya dan analisis molekuler (Koltunow 1993). Tanaman manggis memiliki masa juvenil yang lama. Analisis progeni sulit dilakukan, sehingga analisis molekuler dijadikan sebagai alat alternatif untuk studi keragaman genetik manggis. Terdapat berbagai penanda DNA yang digunakan untuk membedakan keragaman. Penanda DNA yang memiliki tingkat akurasi cukup tinggi salah satunya adalah *inter simple sequence repeats* (ISSR). Keunggulan dari penggunaan ISSR seperti mudah digunakan, cepat, murah, lebih polimorfisme jika dibandingkan dengan RAPD (Lenham & Brennan 1999). Penanda ISSR merupakan dominan marker, tidak memerlukan desain primer karena bekerja secara acak, dan memiliki panjang primer (6–25 bp).

Melihat begitu besarnya keragaman manggis di lapangan dan diperkuat dengan penggunaan marka molekuler, padahal manggis bersifat apomiksis obligat sehingga diperlukan pengkajian lebih lanjut. Penelitian bertujuan untuk mempelajari keragaman genetik dan morfologi tanaman manggis dalam satu pohon. Hipotesis dalam penelitian ini adalah baik secara genetik maupun morfologi, tanaman manggis dalam satu pohon itu seragam.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Pengamatan karakter morfologi pohon induk manggis dilakukan pada bulan Februari 2009 - Maret 2010 di Desa Babakan, Kecamatan Wanayasa, Kabupaten Purwakarta dan di *Green House* PKHT IPB. Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Molekuler PKHT IPB pada bulan Maret - Oktober 2009.

Bahan Penelitian

Sampel terdiri atas tiga generasi masing-masing berjumlah satu pohon. Hal ini disebabkan karena keterbatasan tanaman sampel yang memenuhi persyaratan. Daun yang diambil yaitu pada bagian ujung cabang pohon manggis yang berasal dari cabang yang berbeda dengan pengambilan sampel berdasarkan ketinggian tanaman setengah ke bawah (1) dan setengah ke atas (2) pada masing-masing ketinggian dibagi menjadi empat sektor (utara, timur, selatan, dan barat). Umur sampel pohon induk manggis P1 (± 180) tahun, P2 (± 150) tahun adalah anak pohon induk P1, dan P3 (± 120) tahun adalah anak pohon induk

P2 (berdasarkan komunikasi dengan petani manggis Wanayasa dan perhitungan rerata pertumbuhan lingkaran batang pohon pertahun). P2 merupakan anak pohon induk P1 dan P3 adalah anak dari pohon induk P2 yang dikecambahkan pada saat penelitian ini. Pengamatan morfologi meliputi 61 karakter morfologi seperti pohon, buah, biji, dan *seedling* berdasarkan panduan diskriptor manggis (IPGRI 2003). Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Molekuler PKHT IPB pada bulan Maret – Oktober 2009. Analisis ini terdiri atas tiga tahap yaitu (1) isolasi DNA, (2) pemilihan primer, dan (3) amplifikasi dan elektroforesis. Isolasi DNA dilakukan mengikuti prosedur CTAB oleh Doyle & Doyle (1987) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 10 primer terseleksi digunakan dalam mengamplifikasi DNA, yaitu PKBT 2, PKBT 3, PKBT 4, PKBT 5, PKBT 6, PKBT 7, PKBT 9, PKBT 11, ISSRED 14, dan ISSRED 15. Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR. Komposisi reaksi PCR terdiri atas DNA sampel 1 μ l, PCR mix 6 μ l, air bebas ion 5 μ l, dan primer 0,5 μ l. Proses amplifikasi DNA terdiri atas denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit sebanyak satu siklus. Dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 46–58°C (tergantung jenis primer) selama 30 detik, dan extension pada 72°C selama 1 menit. Setelah selesai 35 siklus selanjutnya diakhiri dengan *final extension* pada 72°C selama 5 menit sebanyak satu siklus. Pendinginan 4°C. Hasil dari reaksi kemudian dielektroforesis pada agarose gel pada konsentrasi 1,4%. Gel kemudian diwarnai dengan 1% ethidium bromide selama ± 3 menit. Hasil elektroforesis diamati di bawah UV transiluminator untuk melihat pola pita yang dihasilkan.

Analisis Data

Kemunculan pita diterjemahkan menjadi data biner. Setiap pita mewakili satu karakter dan diberi nilai berdasarkan ada tidaknya pita. Nilai 1 bila ada pita dan nilai 0 bila tidak ada pita. Data biner yang diperoleh digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik (Nei & Li 1979). Berdasarkan nilai kesamaan genetik, dilakukan analisis klaster dan pembuatan dendrogram dengan menggunakan metode UPGMA melalui program NTSYS versi 2,01, kemudian dilakukan analisis kofenetik MxComp (Rolf 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Keragaman Morfologi

Tingkat keragaman morfologi antartiga generasi sebesar 18–43% (Gambar 1). Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Mansyah (2002), variasi

fenotip manggis Jawa dan Sumatera sebesar 48%. Begitu juga dengan penelitian Sinaga (2008) bahwa keragaman morfologi manggis Tasikmalaya sebesar 37–55%.

Berdasarkan dendrogram (Gambar 1) diketahui bahwa P1 memiliki tingkat keragaman morfologi lebih tinggi dibandingkan dengan P2 dan P3. Begitu juga dengan P2 mempunyai keragaman morfologi lebih besar dari P3. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan umur pohon memengaruhi penampilan fenotipnya. P1 cenderung membentuk kelompok sendiri begitu juga dengan P2 dan P3 kemungkinan dipengaruhi oleh posisi penanaman dimana pohon induk P1 ditanam terpisah, sedangkan pohon induk P2 dan P3 ditanam berdekatan. Hal ini memperlihatkan bahwa faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap penampilan fenotip manggis. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian Mansyah (2008a) bahwa variasi karakter morfologi ditemukan pada populasi manggis Wanayasa.

Menurut Allard (1960) bahwa penampilan karakter sangat dipengaruhi oleh perubahan faktor lingkungan yang dikategorikan sebagai karakter kuantitatif. Karakter kuantitatif dikendalikan oleh banyak gen (gen minor) yang masing-masing gen tidak memiliki kontribusi besar dalam penampilan fenotipiknya, sedangkan karakter kualitatif adalah karakter yang dikendalikan oleh gen mayor yang memiliki kontribusi besar dalam penampilan fenotipiknya.

Analisis Keragaman Genetik

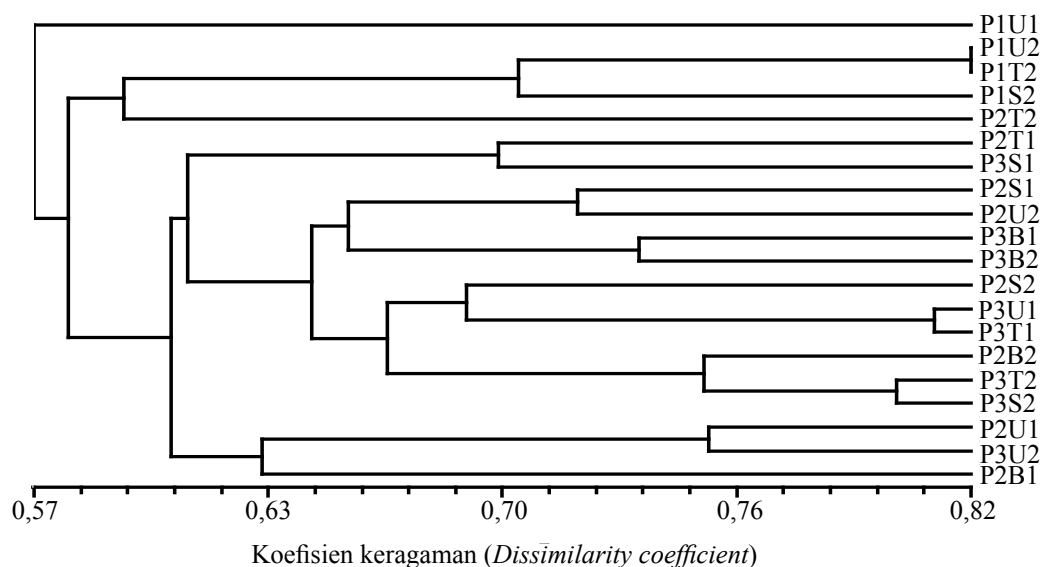
Pohon induk generasi pertama (P1)

Berdasarkan hasil analisis ISSR yang tertuang dalam bentuk dendrogram (Gambar 2), terdapat keragaman genetik dalam pohon induk P1 sebesar 3–11%. Tidak terbentuk pola keragaman genetik berdasarkan sektor arah mata angin (utara, timur, selatan, dan barat) dan ketinggian pohon (bawah dan atas). Hasil analisis korelasi pohon induk P1 dengan menggunakan program NTSYS fungsi MxComp diperoleh nilai r sebesar 0,778.

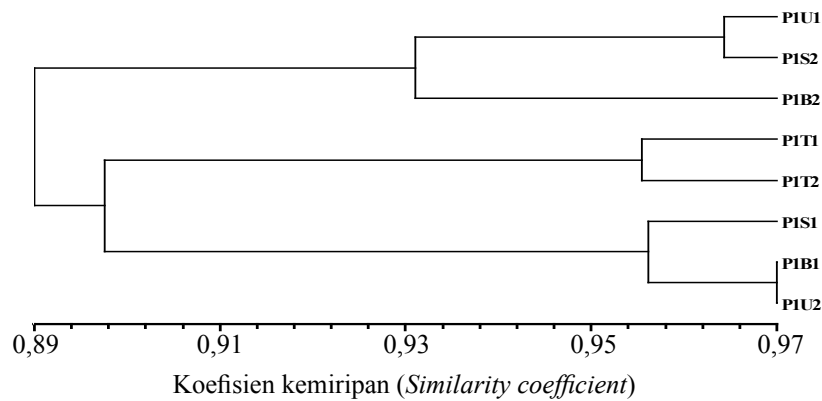
Berdasarkan tingkat kemiripan 90% atau terdapat keragaman genetik 10%, terbentuk tiga pola pengelompokan keragaman genetik dalam satu pohon induk P1. Kelompok pertama adalah P1U1, P1S2, dan P1B2, kedua adalah P1T1 dan P1T2, ketiga adalah P1S1, P1B1, dan P1U2. Seharusnya dalam satu pohon akan memiliki pola keragaman genetik yang sama. Diduga telah terjadi mutasi spontan semasa hidupnya yang menyebabkan terjadinya mutasi cabang pohon induk P1.

Pohon induk generasi kedua (P2)

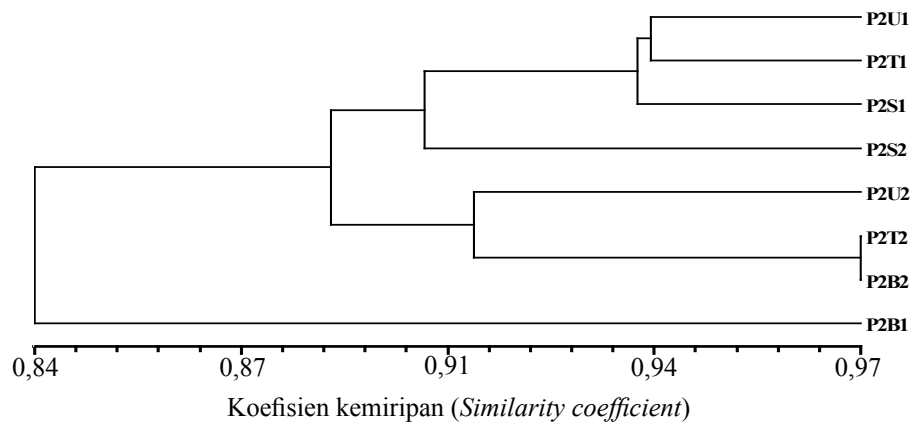
Begitu juga dengan P2, hasil analisis ISSR menunjukkan keragaman genetik dalam pohon induk P2 sebesar 3–16% (Gambar 3). Terbentuk pola keragaman genetik berdasarkan observasi ketinggian, atas dan bawah masing-masing membentuk klaster sendiri, sedangkan pembagian sektor utara, timur,



Gambar 1. Dendrogram keragaman morfologi pohon induk tiga generasi. U, T, S, dan B secara berturut-turut adalah sektor arah mata angin utara, timur, selatan, dan barat. Angka dibelakangnya 1=bawah, 2=atas (*Dendrogram of morphology diversity of parent tree from three generations. U,T, S, and B are sequentially north, east, south, and west. State of the number behind are 1=under and 2=upon where the samples were selected according to tree height*)



Gambar 2. Dendrogram keragaman genetik pohon induk P1 berdasarkan penanda ISSR. U, T, S, dan B secara berturut-turut adalah sektor arah mata angin utara, timur, selatan, dan barat. Angka dibelakangnya 1=bawah, 2=atas [Dendrogram of genetic diversity of parent tree (P1) based on ISSR marker. U, T, S, and B are sequentially north, east, south, and west. State of the number behind are 1=under and 2=upon where the samples were selected according to tree height]



Gambar 3. Dendrogram keragaman genetik pohon induk P2 berdasarkan penanda ISSR. U, T, S, dan B secara berturut-turut adalah sektor arah mata angin utara, timur, selatan, dan barat. Angka dibelakangnya 1=bawah, 2=atas [Dendrogram of genetic diversity of parent tree (P2) based on ISSR marker. U, T, S, and B are sequentially north, east, south, and west. State of the number behind are 1=under and 2=upon where the samples were selected according to tree height]

selatan, dan barat tidak terlihat pengaruhnya. Analisis korelasi pohon induk P2 dengan menggunakan program NTSYS fungsi MxComp diperoleh nilai r sebesar 0,769. Nilai korelasi ini menunjukkan bahwa dendrogram yang dihasilkan kurang sesuai menggambarkan pengelompokan data tersebut.

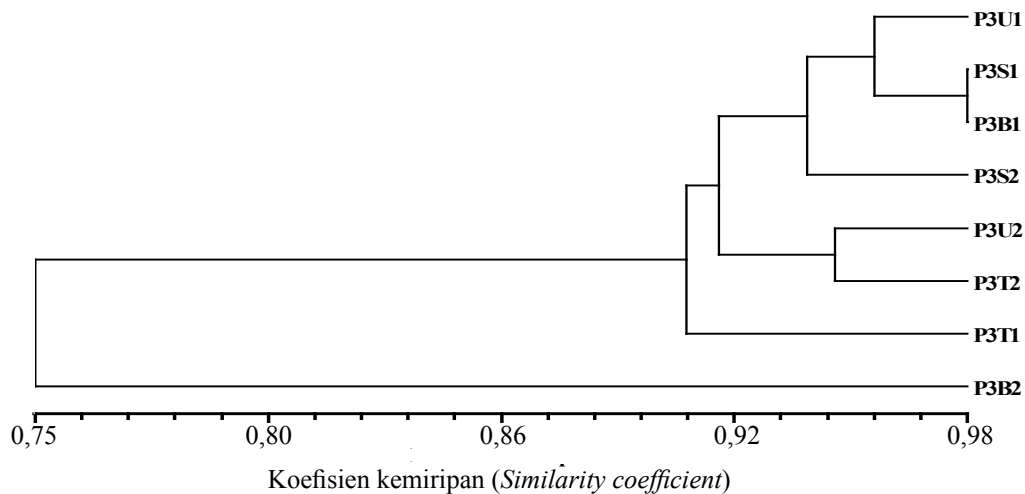
Terbentuk tiga pengelompokan keragaman genetik pohon induk P2 berdasarkan tingkat kemiripan 90%. Kelompok pertama adalah P2U1, P2T1, P2S1, dan P2S2, kedua adalah P2U2, P2T2, dan P2B2, ketiga adalah P2B1. Diduga P2B1 mengalami akumulasi mutasi spontan yang menyebabkan mutasi titik.

Pohon induk generasi ke tiga (P3)

Berdasarkan hasil analisis ISSR dalam bentuk dendrogram (Gambar 4), terdapat keragaman genetik dalam pohon induk P3 sebesar 2–25%. Tidak terbentuk

pola keragaman genetik berdasarkan sektor arah mata angin (utara, timur, selatan, dan barat) dan ketinggian pohon (bawah dan atas). Hasil analisis korelasi pohon induk P3 dengan menggunakan program NTSYS fungsi MxComp diperoleh nilai r sebesar 0,959. Nilai korelasi ini berarti bahwa dendrogram tersebut sudah sangat sesuai menggambarkan pengelompokan keragaman genetik pohon induk P3.

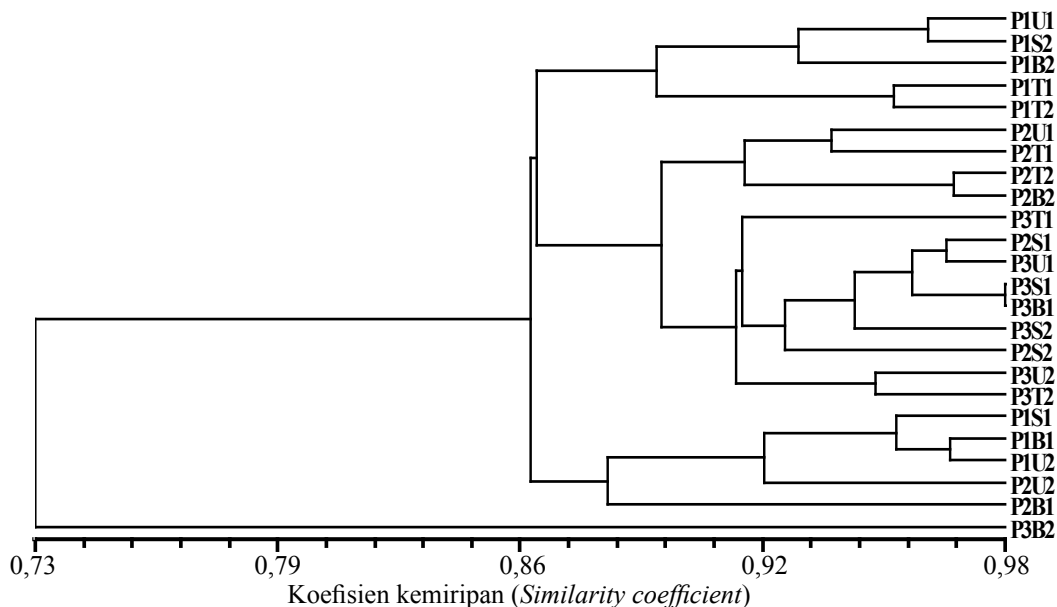
Berdasarkan hasil analisis tiga generasi terdapat keragaman genetik sebesar 2–17%, antara P1, P2, dan P3 (Gambar 5). Hasil analisis tidak terbentuk pola keragaman genetik berdasarkan sektor arah mata angin (utara, timur, selatan, dan barat) dan ketinggian pohon (bawah dan atas). Pada tingkat kemiripan 90%, terlihat perbedaan umur tanaman memengaruhi pola pengelompokan keragaman genetik pohon induk. Manggis yang memiliki umur



Gambar 4. Dendrogram keragaman genetik pohon induk P3 berdasarkan penanda ISSR. U, T, S, dan B secara berturut-turut adalah sektor arah mata angin utara, timur, selatan, dan barat. Angka di belakangnya 1=bawah, 2=atas [Dendrogram of genetic diversity of parent tree (P3) based on ISSR marker. U, T, S, and B are sequentially north, east, south, and west. State of the number behind are 1=under and 2=upon where the samples were selected according to tree height]

lebih tua memperlihatkan pola pengelompokan lebih beragam. Dalam satu pohon terbentuk lebih dari satu pola pengelompokan, semestinya memiliki pola pengelompokan yang sama. P3B2 terlihat berbeda dari yang lain. Hasil analisis korelasi antara pohon induk P1, P2, dan P3 dengan menggunakan program fungsi MxComp diperoleh nilai r sebesar 0,978.

Berdasarkan tingkat kemiripan 90% terbentuk dua pola pengelompokan keragaman genetik pohon induk P3. P3B2 terlihat berbeda dengan yang lain. Kemungkinan P3B2 mengalami akumulasi mutasi spontan yang mengakibatkan terjadinya mutasi delesi. Mutasi delesi pada daerah noncoding region sehingga secara fenotipik tidak bisa terdeteksi. Menurut Allard



Gambar 5. Dendrogram keragaman genetik pohon induk P1, P2, dan P3 berdasarkan penanda ISSR. U, T, S, dan B secara berturut-turut adalah sektor arah mata angin utara, timur, selatan, dan barat. Angka di belakangnya 1=bawah, 2=atas [Dendrogram of genetic diversity of parent tree (P1, P2, and P3) based on ISSR. U, T, S, dan B are sequentially north, east, south, and west. State of the number behind are 1=under and 2=upon where the samples were selected according to tree height]

(1960) penampilan karakter sangat dipengaruhi oleh perubahan faktor lingkungan yang dikategorikan sebagai karakter kuantitatif. Karakter kuantitatif dikendalikan oleh banyak gen (gen minor) yang masing-masing gen tidak memiliki kontribusi besar dalam penampilan fenotipiknya sehingga pengaruh lingkungan lebih dominan memengaruhi penampilan fenotipiknya, sedangkan karakter kualitatif adalah karakter yang dikendalikan oleh gen mayor yang memiliki kontribusi dalam penampilan fenotipiknya.

Tingginya keragaman genetik tidak lazim pada manggis, karena dianggap tanaman yang memiliki sifat apomiksis obligat, progeni yang dihasilkan akan sama dengan induknya (Koltunow 1993). Agamosperm obligat sangat jarang dan terbatas untuk beberapa diplosporus yang tidak mempunyai serbuk sari. Beberapa agamosperm obligat mungkin untuk menghasilkan variabilitas genetik melalui rekombinasi somatik dan atau berbagai bentuk autosegregasi. Oleh karena itu tidak benar bahwa agamosperm tidak menghasilkan variabilitas genetik dan tidak mempunyai potensial evolusi (Richards 1997).

Terdapat tiga proses berbeda yang berkontribusi terhadap variasi genetik pada generasi tanaman aseksual. Pertama akumulasi mutasi, kedua kebocoran sistem reproduksi aseksual yang diikuti oleh sejumlah kecil seksualitas yang menyebabkan penambahan rekombinasi genotip baru secara spontan dalam populasi, dan ketiga individu aseksual menghasilkan gamet betina yang fungsional secara seksual (Adofssons & Bengston 2007).

Dari ketiga proses tersebut yang paling memungkinkan terjadinya variasi pada manggis yaitu adanya mutasi secara alami, karena tanaman ini tidak menghasilkan polen sehingga tidak memungkinkan terjadinya fertilisasi. Mutasi somatik spontan telah berperan penting dalam spesifikasi dan domestikasi pada tanaman yang berkembang biak secara vegetatif seperti pada pisang. Menurut Walbot & Cullis (1985) variabilitas genetik pada tanaman apomiksis dianggap sebagai hasil dari variasi somaklonal, autosegregasi, pindah silang somatik, amplifikasi atau hilangnya materi DNA, penyusunan kembali kromosom, dan aktivitas transposon. Pada apomiksis obligat, kemungkinan juga terjadi melalui mekanisme seperti akumulasi mutasi DNA, rekombinasi somatik dari translokasi kromosom, dan mutasi terjadi akibat perubahan pada genom maternal berkaitan dengan sifat apomiksis (Richards 1997). Manggis (*G. Mangostana*) berasal dari hasil persilangan antar *G.hombroiana* x *G.malaccensis*, kemungkinan *G.mangostana* berasal bukan hanya dari satu kali persilangan. Menurut Sobir & Poerwanto (2007), variasi genetik yang lebih

luas diantara progeninya disebabkan oleh hibridisasi berulang allotetraploid di antara tetua manggis mengingat Indonesia adalah pusat keragaman dari *Garcinia*.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Berdasarkan penanda molekuler dan morfologi terdapat keragaman dalam satu pohon.
2. Keragaman morfologi terjadi lebih besar daripada keragaman genetik. Tingkat keragaman morfologi sebesar 18–43%, sedangkan keragaman genetik adalah 2–17%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adofssons, S & Bengston, BO 2007, 'The spread of apomixes and its effect on resident genetic variations', *J. Evol. Biol.*, vol. 20, pp. 1993-40.
2. Allard, RW 1960, *Principles of plant breeding*, John Wiley & Sons, NewYork.
3. Asker, SE & Jerling, L 1992, *Apomixis in plants*, CRC Press, London.
4. Doyle, JJ & Doyle, JL 1987, 'A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue', *Phytochemical Bull.*, vol. 19, no. 1, pp. 11-5.
5. IPGRI 2003, *Descriptor for mangosteen (Garcinia mangostana L.)*, IPGRI, Rome.
6. Koltunow, AM 1993, 'Apomixis: Embryosacs and embryos formed without meiosis of fertilization in ovules', *Plant Cell.*, vol. 5, pp. 1425-37.
7. Lenham, PG & Brennan, RM 1999, 'Genetic characterization of gooseberry (*Ribes grossularia* subgenus *Grossularia*) germplasm using RAPD, ISSR, and AFLP Markers', *J. Hort. Sci and Biotech.*, vol. 74, pp. 361-6.
8. Mansyah, E 2002, 'Analisis keragaman genetik manggis melalui teknik RAPD dan fenotipiknya pada berbagai lingkungan tumbuh di Jawa dan Sumatera Barat', Tesis Bandung: Program Pascasarjana, Universitas Padjajaran, Bandung.
9. Mansyah, E, Muas, I, Jawal, M & Sobir 2008a, Morphological variability of apomictic mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Indonesia: Morphological evidence of natural populations from Sumatra and Java', *4th International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits*. November, Bogor, West Java, Indonesia.
10. Mansyah, E, Santoso, PJ, Muas, I & Sobir 2008b, 'Evaluation of genetic diversity among and within mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)', *4th International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits*. November. Bogor, West Java, Indonesia.
11. Nakanone, HY & Paull, RE 1999, *Tropical fruit: Crop production science in horticulture*, pp. 359-69.
12. Nei, M & Li, WH 1979, 'Mathematical model for studying genetic variations in terms of restriction endonucleases', *Proc. Natl. acad Sci.*, vol. 76, no. 10, pp. 5269-73.
13. Popenoe, W 1974, *Manual of tropical and subtropical fruit*, 2nd edition, Hafner Press, New York.

14. Prabowo, LP 2002, 'Morphological variability studies on mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) population at Trenggalek, Purworejo, Purwakarta, and Leuwiliang', Skripsi Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
15. Purwanti, A 2002, 'Genetic variability studies on mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) using RAPD analysis', Skripsi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
16. Ramage, CM, Sand, L, Pace, CP, Carrol, BJ & Drew, RJ 2004, 'Genetic diversity revealed in the apomict fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen)', *Euphytica*, vol. 136, no. 1, pp. 1-10.
17. Richards, AJ 1990, 'Studies in *Garcinia* dioecious tropical forest trees: Agamospermy', *Botanical Journal of Newcastle Upon Tyne*, Chapman and Hall, London.
18. Richards, AJ 1997, *Plant breeding system*, ed. ke-2. Department of Agricultural and Environmental Science University of Newcastle Upon Tyne, Chapman and Hall, London.
19. Rolf, FJ 1998, *NTSys-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system*, version 2.02, Exerter Software, New York.
20. Sinaga, S 2008, 'Analisis keanekaragaman genetik dan fenotipe manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan kerabat dekatnya', Disertasi, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
21. Sobir & Poerwanto, R 2007, 'Mangosteen genetic and improvement', *International Journal of Plant Breeding, Global Science Books.*, vol. 1, no. 2, pp. 105-11.
22. Sobir, R, Perwanto, E, Santoso, S, Sinaga & Mansyah, E 2011, 'Genetic variability in apomictic mangosteen (*Garcinia mangostana*) and its close relatives (*Garcinia* spp.) based on ISSR markers', *Biodiversitas*, vol. 12, no. 2, pp. 59-63.
23. Walbot, V & Cullis, CA 1985, 'Rapid genomic change in higher plants', *Annual Rev. of Plant Physiol.*, vol. 18, no. 22, no. 6531-5.