

KERAGAMAN GENETIK TANAMAN MANGGIS
(GarciniamangostanaL.) BERDASARKAN MARKA RAPD
(RandomAmplifikasi Polymorphic DNA)

SANRA

45 12 031 005



PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS
BOSOWA
2016

**KERAGAMAN GENETIK TANAMAN MANGGIS
(*Garciniamangostana*L.) BERDASARKAN RAPD (*Random
Amplifikasi Polymorphic DNA*)**

SKRIPSI

Oleh :

SANRA

45 12 031 005

**Skripsi ini disusun Sebagai Salah Satu Syarat Penyelesaian Studi Pada
Jurusan Agroteknologi Universitas Bosowa Makassar**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BOSOWA
MAKASSAR
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Keragaman Genetik Tanaman Manggis Berdasarkan
RAPD (*Random Amplifikasi Polymorphic DNA*)
Nama : SANRA
Stambuk : 45 12 031 005
Program Studi : Agroteknologi

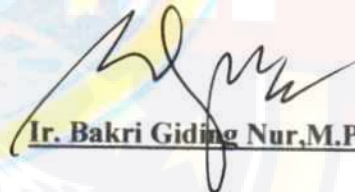
Skripsi Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

Pembimbing I

pembimbing II



Dr. Ir. Muh. Arief Nasution, M.P



Ir. Bakri Giding Nur, M.P

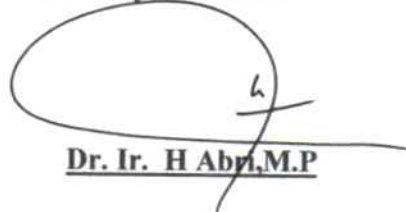
Diketahui Oleh :

Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Syarifuddin, S.pt, M.P

Ketua Jurusan Prodi
Budidaya Tanaman



Dr. Ir. H Abri, M.P



PENGESAHAN KOMISI PENGUJI

Judul : Keragaman Genetik Tanaman Manggis Berdasarkan
RAPD (*Random Amplifikasi Polymorphic DNA*)
Nama : SANRA
Stambuk : 45 12 031 005
Jenjang Studi : Strata Satu (S-1)
Program Studi : Agroteknologi

Di Setujui :

Oleh Komisi Penguji

- 
- 
1. Dr. Ir. M. Arief Nasution.M.P (Ketua) 
 2. Ir. Bakri Giding Nur, M.P (Anggota) 
 3. Dr. Ir. H.Abri, M.P (Anggota) 
 4. Ir. Jeferson boling, M.P (Anggota) 
 5. Ir. Rahmadi Jasmin, M. P (Anggota) 

RINGKASAN

SANRA (45 12 031 005). Keragaman Genetik Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Berdasarkan Molokuler Dan Metode RAPD (*Random Amplikasi Polymorphic DNA*).

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Adalah salah satu komoditi buah tropis yang menjadi unggulan ekspor Indonesia. Identifikasi dan karakterisasi plasmanufah manggis dan kerabat dekatnya adalah kunci dalam konservasi dan penggunaan sumberdaya genetik manggis. Program perbaikan genetik manggis sangat bergantung pada sumber keragaman genetik yang ada. Manggis Indonesia merupakan salah satu pusat persebaran manggis di Asia Tenggara, Maka perlu dilakukan eksplorasi, identifikasi dan kerakterisasi manggis dan kerabat dekatnya. Informasi ini penting untuk memperoleh sumber keragaman genetik baru guna perbaikan genetik dan peningkatan produksi manggis. Studi variasi genetik diarahkan langsung untuk melacak keberadaan eksasi manggis Indonesia.

Mengingat studi genetik manggis jika dilakukan dengan uji keturunan dan persilangan maka cukup sulit karena siklus hidup tanaman manggis yang panjang, maka stimasi varibilitas genotif selain dengan menggunakan Molokuler dan RAPD (*Random Amplikasi Polymorphic DNA*) juga diarahkan pada penanda molokuler seperti isoemzim, RAPD, E-RAPD AFLP untuk tanaman manggis perlu dilakukan.

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan informasi keragaman genetik dan kekerabatan antara manggis dengan kerabat dekatnya. Mendapatkan informasi keragaman penotip dan genetik, serta mendapatkan kandidat tetua unggul mnggis,

memperoleh informasi tentang konsistensi variabilitas genetik antara induk dan progeni manggis Bulukumba. Merekomendasikan Metode karakterisasi manggis yang paling efektif dalam menggambarkan variabilitas genetik dan menelompokkan aksesori manggis dan kerabat dekatnya.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur dipanjatkan ke hadapan Tuhan Yang Maha Kuasa, oleh karena berkat dan rahmatnya sehingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada :

1. **Prof. Dr. M. Saleh Pallu, M. Eng** selaku Rektor Universitas Bosowa Makassar.
2. **Dr. Ir. Syarifuddin, S.Pt, MP** selaku Dekan pada Fakultas Pertanian Universitas Bosowa Makassar.
3. **Ir. H. Abri, M. P** selaku ketua jurusan Agroteknologi pada Fakultas Pertanian Universitas Bosowa Makassar.
4. **Dr. Ir. Muh.Arief Nasution,MP** selaku pembimbing satu dan **Ir. Bakri Giding Nur,MP**. Selaku pembibin dua yang telah membimbing penulis mulai perencanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini.
5. Seluruh staf akademik dan staf pengajar Fakultas Pertanian Universitas Bosowa 45 Makassar atas bantuan dan bimbingannya.
6. Kedua orang tua yang memberikan dukungan baik moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman – teman seperjuangan angkatan 2012 diantaranya Agustinus Jamto, M. Hatta, M. Asri, Haerul.Indra, Rusman, Aldin dan Idewa gede agun kasih atas segala bantuan dan kerja samanya.
8. Keluarga HMJ dan BEM Fakultas Pertanian, terima kasih atas kebersamaanya.

Semoga segala bantuan yang diberikan kepada Penulis mendapat balasan dari Tuhan. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, semua kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Atas saran dan kritiknya Penulis sampaikan terima kasih.

Makassar 03 Agustus 2016

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang.....	1
Tujuan dan Kegunaan.....	3
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Botani dan Genetik Tanaman Manggis.....	5
Keragaman Genetik dan Pemuliaan Tanaman Manggis.....	6
Penanda Morfologi.....	6
Penanda RAPD.....	8
BAHAN DAN METODE.....	10
Tempat dan Waktu.....	10
Metode Penelitian.....	10
Pelaksanaan Penelitian dan Pengamatan.....	10
Analisis Data.....	13
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
Hasil.....	15
Pembahasan.....	30
KESIMPULAN DAN SARAN.....	32

Kesimpulan	32
Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	36



PENDAHULUAN

Latar Belakang

Manggis (*Garcinia magostana* L.) yang dikenal sebagai *Queen Of Tropical Fruit* (Popenoe 1974) merupakan salah satu komoditi buah tropis yang menjadi unggulan ekspor Indonesia dan menempati urutan pertama dari seluruh ekspor buah segar. Ekspor manggis Indonesia pada tahun 2010 sebesar 84,538 ton, pada tahun 2011 menjadi 97,487 ton jumlah tersebut meningkat, pada tahun 2012 sebesar 107,409 ton dan pada tahun 2013 113,096 ton (Direktorat Budidaya Tanaman Buah) Peningkatan nilai ekonomis manggis ini perlu ditopang oleh peningkatan produksi yang dicapai dengan kultur teknis yang lebih maju maupun dengan penggunaan bibit unggul hasil program pemuliaan yang terarah dan strategis.

Program perbaikan genetik tanaman manggis sangat bergantung pada sumber keragaman genetik yang ada. Mengingat Indonesia merupakan salah satu pusat persebarang manggis dan *Garcinia* spp di Asia Tenggara, maka di prediksi terdapat keragaman genetik terdapat di kawasan ini

Prospek pengembangannya dapat diketahui melalui studi botani dan agronomi. Untuk itu, perlu dilakukan eksplorasi, identifikasi dan karakteristik manggis melalui marka Morfologi dan RAPD. Informasi ini penting untuk memperoleh sumber keragaman genetik baru guna perbaikan genetik dan peningkatan populasi manggis.

Manggis bersifat apomiksis obligat, biji tidak berasal dari fertilisasi dan diduga mampu nyai keragaman genetik sempit, sehingga diperkirakan manggis di

alam satu klon dan sifat nya sama dengan induknya (Cox 1996; Richards 1990a; Verherji 1992; dan Naumova 1993). Kenyataan di lapang menunjukkan adanya keaneka ragaman tanaman manggis yang kemungkinan disebabkan faktor lingkungan maupun faktor genetik akibat mutasi alami sejalan dengan sejarah tanaman manggis telah berumur ribuan tahun (Ramage *et al* 2004). Di kali gesing, Kabupaten Purwerjo, Jawa Tenga diidentifikasi adanya bibit hasil sambungan dan tanaman produktif yang mempunyai trubus dengan warna hijau mudah, merah, dan coklat (suprianto *et al* 1994). Evaluasi keaneka ragaman pohon manggis pada sentra produksi manggis di jawa dan Lombok dengan analisis isoenzim yang dilakukan oleh Supriyanto *et al*. Menunjukkan minimal ada tiga klon manggis. Berdasarkan morfologi manggis asal Sumatra barat dan Sumatra selatan terdiri dari tujuh klon (Mansyah *et al*. 1994). Manggis Sumatra barat, berdasarkan analisis isoenzim *glucose phosphate isomerase* (GIP) dengan 14 sampel yang diujikan menunjukkan pola pita yang sama meskipun secara fenotip bervariasi, dengan kata lain keragaman genetic sempit, tetapi keanekaragaman fenotip luas (Mansyah *et al*. 1999). Sejumlah analisis DNA dan RNA juga memperlihatkan variasi diantara populasi manggis (Ramage *et al*. 2004). Kandungan DNA manggis dan kerabat dekatnya (Nama local Thai, *chamuang*, *mahput*, *pawa* dan *somkhang*) dengan *flow cytometri* menunjukkan perbedaan. Selanjutnya, sekuensing DNA dengan primer spesifik menunjukkan manggis menunjukkan manggis lebih dekat kerabatnya dengan *pawa* diikuti *somkhang* dan *mahput* (Te-Chato dan lim 2000). Belum diketahui apakah keaneka ragaman tanaman manggis terjadi pada

tingkat tetua dengan progeninnya, antar dan dalam populasi, atau pada kawasan yang lebih luas. Analisis genetik dengan teknik mutahir terdapat jenis yang lebih luas memungkinkan terdapat identifikasi tetua jantan untuk hibridasi dengan manggis sebagai tetua betina (Osman dan Milan 2006).

Penggunaan penanda molokuler berkontribusi pengting bagi pemulia tanaman dalam penanganan apomiksis (Ramage *et al.* 2004; Acuna *et al* 2005 dan Darrigues *et al.* 2008). Keaneka ragaman genetik manggis apomiktik dapat diungkap dengan penanda molokuler seperti RAPD (*Random Amplifikasi Polymorphic DNA*), **E-RAPD** (*Enhanced-Random Amplikasi Polymorphic DNA*) dan AFLP (*Amplifikasi Fragment Lenggth Polymorphism*). Selain itu, perbandingan data genetik dan morfologi tiap aksesii memungkinkan untuk menjawab pertanyaan penting apakah keunggulan yang dilaporkan dari ekseksi manggis tertentu disebabkan oleh faktor genetic atau lingkungan.

Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik tanaman manggis berdasarkan marka RAPD

Kegunaan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi keanekaragaman genetik manggis dengan menggunakan marka RAPD.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Botani dan Genetik Tanaman Manggis

Manggis (*G. mangostana* L.) termasuk anggota famili Guttiferae atau Clusiaceae yang berasal dari Asia Tenggara khususnya Indonesia, Thailand, dan Malaysia (Nakasone dan pull 1999). Manggis yang dibudidayakan selama ini adalah allotetraploid, diduga berasal dari persilangan antara *Garcinia hombroniana pierre* dengan *Garcinia malaccensis* T. Anderson (Richards 1990).

Bunga manggis muncul dari ujung (terminal), monoecious, kelopak dan mahkota masing-masing berjumlah empat. Daun mahkota berwarna hijau kekuningan (Verheji 1992). Bunga memiliki benang sari semu dan putik yang pendek dengan bakal buah bulat, besar berwarna hijau (Soenarjono 1997). Bunga jantan bersifat rudimeter, yaitu tumbuh kecil mengering sehingga tidak berfungsi (Soenarjono *et al.* 1994; Rai 2004). Bunga betinamanggis fertile, tetapi organ jantannya steri. Oleh karena itu, dimungkinkan hibridisasi dengan *Garcinia* jenis lain seperti *G. hombroniana* dan *G. malaccensis* (Osman dan Milan 2006). Manggis (*G. mangostana*) mempunyai jumlah kromosom yang bervariasi, yaitu 56-76, 88-90, 88-96, 20-130 (Verheji 1991 dan Richards 1990b). Terdapat dua kerabat dekat manggis yang merupakan agamospermi fakultatif, yaitu *G. Hombroniana* ($2n = 48$) dan *G. malaccensis* ($2n = 42$). Kedua kerabat dekatnya secara morfologi mengelompok dengan manggis (Richards 1990b). Diduga tanaman manggis adalah poliploid ($2n = 90$) sebagai amphidiploid hasil persilangan interspesifik antara *G. hombroniana* ($2n = 48$) dan *G. malaccensis* ($2n = 42$). Yang menghasilkan betina tunggal sebagai embrio adventif yang dihasilkan dari produksi seksual.

Buah manggis termasuk buah berry berbentuk bulat dengan diameter 4-7 cm, buah masak bobotnya berkisar antara 30-140 gram berbentuk bulat, daging buanya (aril) terdiri dari 5-7 sekmen berwarna putih, rasanya manis, lembut dan lunak hanya mengandung 1-2 biji (Prove 1998). Dibandingkan dengan buah

tropika lainnya, manggis memiliki lebih sedikit bagian yang dapat dimakan (*edible portion*) hanya 30% dari bobot total buah.

Keragaman Genetik dan Pemuliaan Tanaman Manggis

Pemuliaan tanaman adalah teknik aplikasih untuk mengek sploitasi potensil genetic tanaman. Kesuksesannya tergantung pada kemampuan identifikasi tetua-tetua harapan, dikombinasikan dengan sifat-sifat yang diinginkan melalui hibrisi, seleksi secara efektif diantara populasi yang bersegregasi (Fehr 1987). Perikatan varietas unggul memerlukan keaneka ragaman genetik yang tinggi. Sumber keaneka ragaman genetik dapat berasal dari koleksi plasma nutfah (tanaman budidaya dan krabat dekat), hibridasi, mutasi, poliploidi dan introduksi (Poespodarsono 1988). Informasi dasar lebih rinci tentang keaneka ragaman genetik dan hubungan kekerabatan intra-maupun inter-spesies sangat penting dalam menentukan strategi dalam pengembangan sampel-sampel gen. Secarah agronomi informasi ini dapat dimamfaatkan untuk memperbaiki krakter-krakter (Ketahanan terhadap hama, penyakit dan stress abiotik) yang berkontribusi nyata terhadap produksi dan kualitas yang lebih baik pada kultivar terpilih (Bannet 1993; Jana 1999).

Pada beberapa penelitian manggis diperoleh dari bahwa faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman manggis. Pengamatan Mansya *et al* (1999) pada populasi manggis di Sumatra Barat menunjukkan bahwa variasi yang terjadi dalam beberapa krakter morfologi buah yaitu, panjang daun, bobot buah, tebal kulit buah dan total padatan terlarut (TPT) terutama

disebutkan oleh faktor lingkungan. Begitu pula pengamatan Prabowo (2002) pada populasi manggis di empat sentra produksi Luewilang, Purwakerta, purwerjo dan Tranggalek menunjukkan keanekaragaman krakter morfologi tanaman yang terjadi akibat adanya perbedaan lingkungan. Hasil penelitian tersebut didukung oleh penelitian menggunakan RAPD oleh purwanti (2002) yang menunjukkan secara genetic populasi manggis leuwilang, wanayasa dan Keligesing diindikasikan sama. penelitian lanjutan menggunakan RAPD oleh Mansyah (2002) menunjukkan tanaman manggis di pulau jawa dan Sumatra barat memiliki variasi fenotife dan genotipik.

Selanjutnya menurut Allard (1960) bahwa penanpilan krakter yang sangat dipengaruhi oleh perubahan faktor lingkungan dikategorikan sebagai krakter kuantitatif. Krakter kuantitatif di kendalikan oleh banyak gen (gen minor) yang masing-masing gen tidak memiliki kontribusi yang besar dalam penanfakan fisik, sehingga pengaruh lingkungan lebih dominan dalam mempengaruhi penanfakan fisik. Sedangkan krakter kuantitatif adalah krakter yang dikendalikan oleh gen mayor atau sedikit gen yang memiliki kontribusi besar dalam penanfakan fisik.

Penanda Morfologi

Penanda morfologi didasarkan pada pengamatan secara langsung fenotipik tanaman dan telah banyak digunakan, baik dalam program dasar genetika maupun dalam program praktis pemuliaan tanaman karna penanda ini dapat dengan mudah diamati, seperti warna bunga, warna batang, warna kulit biji, bentuk biji dan seabainya. Namun penanda ini memiliki kelemahan karna dapat dipengaruhi oleh

lingkungan, memperlihatkan sifat menurun dominan/resesif dan mempunyai tingkat keragaman (polimorfisme) rendah atau jumlah yang sedikit (Tanksley *et al* 1983). Karakteristik genetik yang mendasarkan pada penanda morfologi memerlukan observasi yang intensif dari tanaman dewasa. Kegiatan pemuliaan tidak cukup hanya memanfaatkan informasi yang didasarkan pada karakter morfologi tetapi juga penanda lainnya. Asosiasi beberapa penanda diharapkan memberikan hasil analisis yang lebih akurat dan fenotipik tanaman dapat ditandai secara spesifik dengan penanda pendampingnya (Roy *et al.* 2006).

Penanda molekuler langsung berintegrasi dengan genetik dan menggambarkan keadaan genom yang sesungguhnya. Dasar dari penanda ini adalah polimorfisme protein atau DNA. Penanda molekuler terdiri dari beberapa teknik, seperti isoenzim, RFLF (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), SSR (*Simple sequence repeat*) atau mikrosatelit, AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) (Powell *et al.* 1996; Karp dan Edwards 1997). Penanda molekuler dapat member gambar yang lebih akurat tentang perbedaan genetik individu, baik pada tingkat spesies maupun tingkat kerabat jauhnya. Menurut Tanksley (1993) penanda molekuler variasi genetik pada tingkat jaringan atau seluler dan polimorfismenya tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

Penanda RAPD

Metode RAPD menggunakan oligomer tunggal pendek (biasanya 10-mer) yang dapat menempel secara acak pada situs target homolognya dalam genom. Polimorfisme dari seguen DNA yang berbeda pada situs penempelan primer dan dari panjang amplifikasi DNA yang berbeda. Teknik ini merupakan penanda dominan yang dapat diiliasikan pada sejumlah besar sampel dengan cara relatif sederhana, cepat dan murah. Kelemahan dari penanda ini adalah rendahnya reproduibilitasnya (Jones *et al.* 1997) dan komigrasi fragmen non-homolog (Rueseberg 1996). Kelemahan ini dapat diatasi dengan membuat reaksi dan kondisinya sehomogen mungkin, sekrinin primer, serta RAPD sebaiknya diaplikasikan pada individu yang berkrabat atau spesies (Rieseberg 1996), memilih pita-pita fragmen DNA yang jelas (kontras), menggunakan suhu annealing yang optimal dan penambahan (*enhaced*) 1-2 basa pada primer untuk mempertinggi spesifikasi penampilan DNA tempat yang lazim disebut *Enhanced* atau *emphasized-RAPD* (E-RAPD) (Tanaka dan Taniguuchi 2002).

Dibandingkan dengan teknik RFLP, RAPD mempunyai beberapa kemudahan yaitu: (1) pengetahuan latar belakang genom tanamam tidak diperlukan; (2) hasil RAPD dapat diperoleh secara cepat jika dibandingkan dengan anilisi RFLP yang mengeluarkan banyak tahapan dan (3) beberapa jenis keterbatasan primer arbitrase bersifat universal (Willam *et al.* 1990). Sedangkan keterbatasannya adalah sangat sensitif terhadap kondisi reaksi dan profil tempratur (Vos *et al* 1995). Disamping itu penanda RAPD bersifat dominan, yaitu dalam

populasi bersegrasi, individu yang homozigot dengan individu yang berhomozigot tidak dapat dibedakan dengan menggunakan penanda RAPD tertentu (Ronning *et al.* 1995). Teknik RAPD berdasarkan pada amplifikasi DNA secara *in vitro* dengan PCR (*polymerase chain reaction*) yaitu dengan mengatur variasi temperatur pada mesin PCR selama pengulangan siklus denaturasi, "primer-annealing", dan perpanjangan pita DNA dengan bantuan enzim *Taq* DNA polimerase. Eksplorasi variabilitas genetik tanaman manggis dapat dilakukan pada tingkat DNA dengan menggunakan penanda RAPD (*random amplified polymorphic DNA*). Kelebihan dari penanda ini adalah dalam pelaksanaannya relative lebih murah dan efisien. Hal ini dianggap sesuai dengan kondisi Indonesia yang membutuhkan sarana penelitian yang relatif sederhana dan murah tetapi dengan hasil dengan hasil yang dapat dipertanggung jawabkan. Kelemahan dari hasil penanda ini adalah reabilitasnya rendah. Kelemahan tersebut diantisipasi dengan beberapa langkah yaitu seleksi primer yang *reproducible* dengan adanya pengulangan (minimal 3 kali), memilih pita-pita fragmen DNA (pita) secara konsisten dan yang tebal (kontras), menggunakan suhu annealing optimal (Tanaka dan Taniguchi 2002), menyatakan penambahan (*enhanced*) 1-2 basa pada primer RAPD (Dikenal dengan istilah *enhanced-RAPD* atau *emphasized-RAPD*) mampu mempertinggi spesifikasi penempelan DNA templat dan pita menjadi lebih jelas. Penanda RAPD mempunyai kontribusi penting bagi pemulia tanaman dalam penanganan apomiksis (den Nijs dan van Dijk 1993; Mansyah dan Verheji 1998; Ramnge *et al.* 2004 dan sinaga *et al.* 2006).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Tanaman manggis sampel diambil dari lokasi Kebun Manggis di Kecamatan Tanete Kabupaten Bulukumba dengan ketinggian 300 m dpl. Analisis marka molekuler akan dilakukan di Laboratorium Sumberdaya Genetik dan Bioteknologi Bogor Balitbang Kementerian Pertanian. Penelitian ini dilaksanakan mulai Pebruari sampai April 2016.

Bahan Dan Alat

Bahan yang dinakan dalam penelitian, Daun manggis dan buah manggis yang diperoleh dari tempat penelitian.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lebel, kamera dan polpen.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan melalui observasi dan evaluasi genotipik di laboratorium. Obsevasi genetik melalui analisis pola pita DNA dengan menggunakan teknik RAPD di laboratorium.



Pelaksanaan Penelitian dan Pengamatan Observasi genotipik

Observasi genotipik dilakukan dengan menggunakan analisis pola pita DNA berdasarkan teknik RAPD. Pelaksanaan analisis RAPD meliputi dua kegiatan utama, yakni a) Isolasi (persiapan template) DNA, dan b) analisis RAPD.

Isolasi DNA dilakukan dengan mengekstraksi DNA dari daun muda manggis, yang berasal dari dua tetua dan turunannya sebanyak 30 tanaman F1 hasil persilangan. Isolasi dilakukan Laboratorium Molekuler PKBT Kampus IPB Baranangsiang Bogor dengan mengamplifikasi DNA *template* melalui mesin PCR. Elektroforesis, visualiasasi dan dokumentasi dikerjakan di Laboratorium

Biologi Molekuler Pusat Penelitian Bioteknologi PAU IPB, Kampus Darmaga, Bogor (Nopember – Desember 2007).

Isolasi dan pemurniaan DNA tanaman manggis

Isolasi DNA dilakukan mengikuti metode CTAB Doyle dan Doyle (1987). Bahan yang dianalisis adalah daun muda (bagian pangkal) dari hasil persilangan sebanyak 0.5 g dan dipotong kecil-kecil. Potongan daun dimasukkan ke dalam mortal, lalu ditambah PVPP dan nitrogen cair, kemudian digerus sampai halus. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah berisi 600 μ L larutan buffer ekstrak CTAB (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM *ethylene diamine extraacetic acid* (EDTA) pH 8.0, 2% (m/v) *cetyltrimethylamonium Bromide* (CTAB), dan 0,2% β -mercapto-ethanol), campuran dikocok dan dipanaskan dalam *waterbath* selama 30 menit pada suhu 65°C (setiap 10 menit campuran dibolak-balik). Campuran dibiarkan hingga mencapai suhu kamar lalu ditambahkan 600 μ L larutan khloroform-isoamil alkohol (24:1) dan dikocok. Sentrifuse campuran pada suhu ruang dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit sehingga terbentuk dua fase cair. Fase cair bagian atas (supernatan) dituang ke dalam tabung baru, kemudian ditambahkan isopropanol dingin dengan volume yang sama dan disimpan dalam freezer selama semalam. Campuran dicairkan pada suhu kamar dan disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Cairan dibuang dengan hati-hati dan pellet ditambah etanol 70% dingin sebanyak 100 μ L, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Cairan dibuang dan pellet dikeringkan dengan cara membalikkan tabung. Pellet yang telah kering ditambahkan 100 μ L air bebas ion dan dikocok sampai larut.

Pemurniaan DNA dengan menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989). Larutan DNA ditambah 1 μ L RNAase dan dibiarkan pada suhu kamar selama 2 jam. Selanjutnya tambahkan fenol khloroform isoamilalkohol dingin sebanyak 100 μ L dan disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipipet ke dalam tabung baru dan ditambahkan khloroform isoamilalkohol dengan

volume sama, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipipet ke dalam tabung baru dan ditambahkan natrium asetat 3 M pH 5.2 sebanyak 1/10 volume dan isopropanol dingin sebanyak 2.5 volume. Larutan dikocok hingga homogen dan disimpan dalam freezer semalam. Larutan disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit, pellet yang diperoleh ditambah etanol 70% sebanyak 100 μ l. dan disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Cairan dibuang dan pellet dikeringkan dengan cara membalikkan tabung. Pellet yang telah kering ditambahkan 100 μ L air bebas ion

Penetapan kualitas DNA

Kualitas DNA dilakukan setelah pellet DNA larut secara homogen. Estimasi kuantitas DNA dilakukan melalui elektroforesis dan dibandingkan dengan standar DNA lamda. Sebanyak 5 μ l. masing-masing larutan DNA yang diperoleh dicampur dengan 1 μ l *loading dye* (10:2) dimasukkan ke dalam sumur gel agarose 1% dan di *running* pada bak elektroforesis selama 30 menit dengan tegangan 100 volt. Gel yang telah dielektroforesis direndam dalam larutan *ethium bromida* 1% selama 15-20 menit, dibilas dengan aquades, dan selanjutnya pita DNA hasil isolasi divisualisasi pada *UV transiluminator*, dan dipotret dengan kamera digital. Konsentrasi DNA ditentukan dengan membandingkan ketebalan DNA sampel dengan DNA lamda. DNA templat kemudian diencerkan sampai konsentrasi 25 ng dan siap digunakan untuk reaksi amplifikasi

Reaksi amplifikasi dan elektroforesis

Amplifikasi DNA manggis dilakukan menurut metode Williams *et al.* (1990). Reaksi amplifikasi dilakukan menggunakan *microtube* volume 0.5 ml yang berisi 25 μ l campuran larutan yang terdiri atas: 12.5 μ l Go tag mix, 10.5 μ l air bebas ion (*ion free*), 1 μ l primer acak, dan 1 μ l DNA. Volume akhir campuran reaksi amplifikasi adalah 25 μ l.

Selanjutnya tabung-tabung tersebut dimasukkan ke dalam blok mesin PCR (*Applied Biosystem Thermal Cycler version 2.00*), yang diprogramkan dengan tahapan sebagai berikut :

Tahap I. Pre-PCR : 94°C selama 4 menit sebanyak satu siklus;

Tahap II. PCR : Denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* (penempelan primer) pada suhu 36°C selama 1 menit; dan ekstention (perpanjangan) pada suhu 72°C selama 1 menit sebanyak 40 siklus;

Tahap III Post PCR: Perpanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit sebanyak satu siklus.

Setelah reaksi amplifikasi berakhir produk amplifikasi diberi *loading dye*, dan selanjutnya dielektroforesis pada 1.2% gel agarose dalam larutan TBE 1x. Elektroforesis dilakukan selama 120 menit pada tegangan 60 volt, suhu ruang. Pengamatan pita hasil amplifikasi dilakukan menggunakan alat dokumentasi gel (gel dok) dan direkam ke dalam disket.

Seleksi primer

Seleksi primer bertujuan untuk menyeleksi primer yang dapat menghasilkan produk amplifikasi, yang dilakukan menggunakan 50 jenis primer RAPD dengan menggunakan DNA templat dari sampel tanaman manggis yang memiliki stok DNA yang cukup. Seleksi primer dilakukan melalui reaksi amplifikasi dan elektroforesis seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Primer yang memberikan hasil amplifikasi yang polimorfism berupa pita DNA yang jelas dan tajam, akan dipilih untuk digunakan dalam analisis selanjutnya.

Analisis Data

Data hasil pengamatan di lapang dan analisis RAPD dianalisis dengan menggunakan software NTSYS-pc versi 2.02 dan MINITAB Release 14. Sebelum data morfologi dan data RAPD dianalisis, terlebih dahulu data tersebut diskor nilai nol (0) jika tidak ada, dan satu (1) jika ada pada karakter morfologi yang

sama, sedangkan profil pita DNA hasil RAPD diskor nilai nol (0) jika tidak ada pita, dan satu (1) jika ada pita pada tingkat migrasi yang sama.

Analisis Similaritas

Koefisien kesamaan genetik antara sampel manggis berdasarkan penanda morfologi dan RAPD dan data gabungan keduanya diolah menggunakan prosedur SIMQUAL (*Similarity for Qualitative Data*) pada program NTSYS-pc versi 2.02 dan dihitung berdasarkan berdasarkan rumus Nei dan Li (1979) atau koefisien *Dice* (S) yaitu $S = \frac{2n_{ab}}{(n_a + n_b)}$; n_{ab} adalah jumlah pita DNA pada individu a dan b.

Analisis Pengelompokan

Analisis cluster (*clustering*) seluruh data, baik data morfologi, RAPD maupun data gabungan masing-masing dianalisis menggunakan *Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested* (SAHN)-UPGMA (*Unweighted pair-group method, arithmetic average*) pada program NTSYS-pc versi 2.02. Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram.

Analisis Komponen Utama

Analisis tiga komponen utama dilakukan dengan mengekstrak 3 *eigenvectors* dari 3 *Eigenvalues* utama yang memberikan tingkat keragaman paling tinggi melalui prosedur analisis *Ordination* dalam program NTSYS-pc versi 2.02. Hasil analisis disajikan dalam bentuk plot 2 dan 3 dimensi.

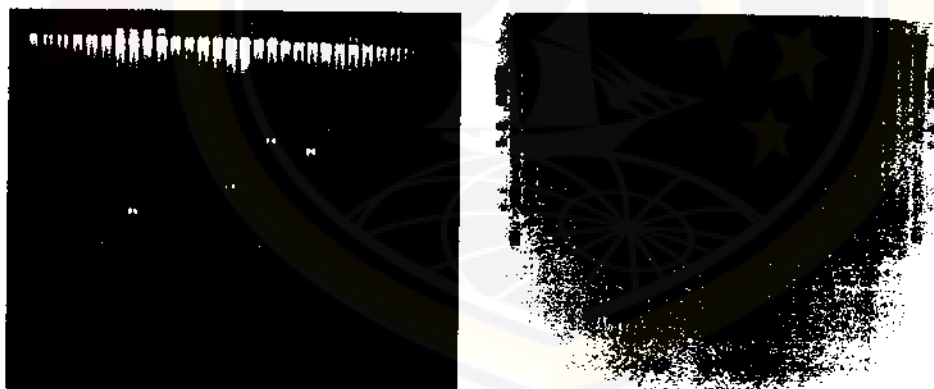
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

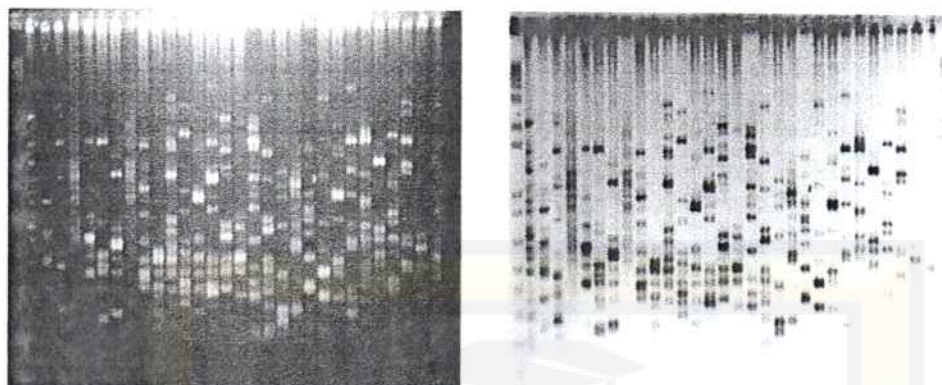
Analisis Kemiripan.

Hubungan genetik antara individu manggis dapat ditemukan dari matriks kemiripan genetik yang berdasarkan ada tidaknya pita DNA hasil amplifikasi menggunakan 6 primer acak. Berdasarkan analisis kluster 6 primer acak dengan ketiga progeninnya bersatu pada kemiripan genetik 89% atau terdapat 11% keragaman antara anak dan induk aksesori manggis Bulukumba. Kluster antara progeni manggis Bulukumba. Kluster antara progeni bersatu pada tingkat kemiripan 93% atau terdapat keragaman antara anak sebesar 7%. Nilai seleksi kopenetik antar eksasi manggis bulukumba sebesar 0.44 atau dengan *goodness of fit* sesuai pada tabel Matriks kemiripan (Tabel 3). gambar :

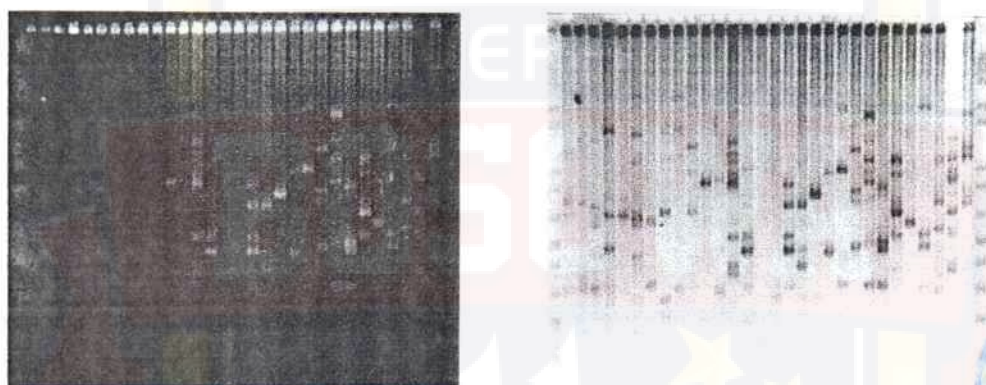
Primer :



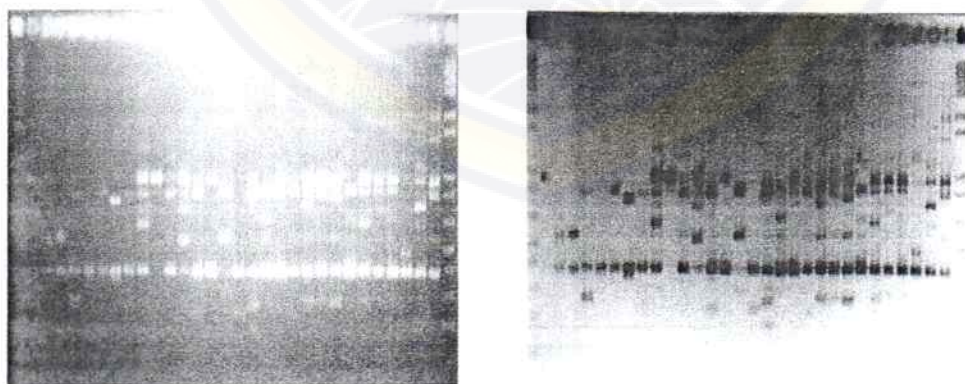
Gambar 1 : Profil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksasi OPE 03 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M17.M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930



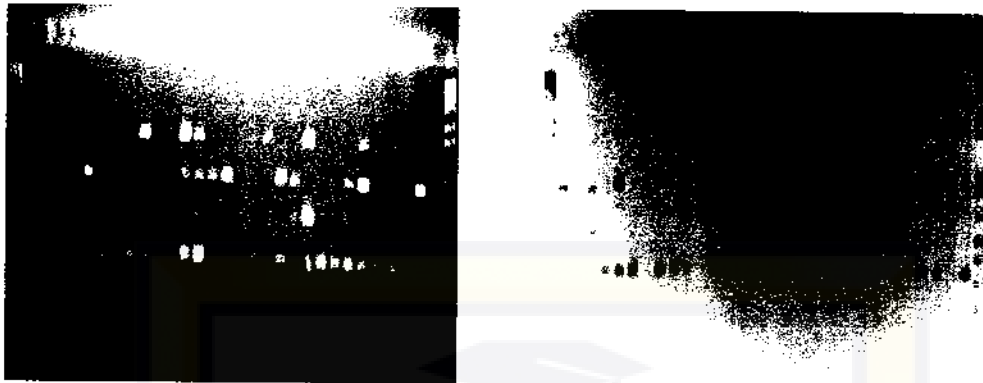
Gambar 2 :Propil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksesi OPD 02 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M17,M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930



Gambar 3 :Propil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksesi OPM 03 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M17,M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930



Gambar 4 :Propil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksesi OPR 10 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M17,M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930



Gambar 5 : Propil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksesi OPR 15 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M17,M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930



Gambar 6 : Propil pita DNA 30 eksasi penada RAPD dengan eksesi OPR 01 primer M1,M2 M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12,M13,M14, M15,M16.M17,M18,M19 ,M20,M21,M22,M24,M25,M26,M27,M28,M2930

Dari gambar diatas adalah DNA total dari beberapa aksasi manggis dan krabat dekatnya.

Aplfikasih DNA menggunakan 6 primer acak terhadap 30 eksesi manggis dan krabat dekatnya mengasilkan jumlah pita DNA tiap primer beepariasi antara 6-13 pita dengan rata-rata 10 pita DNA sampel Primer mengasilkan pita paling sedikit (6 pita), sedangkan pita terbanyak dihasilkan oleh primer SBH 13 (13 pita), ukuran pita yang di amplifikasi berkisar antara 200-2000 pb. Jumlah pita

yang dihasilkan oleh tiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuen primer pada genom. Pita RAPD terbentuk dari pemanjangan primer yang menempel pada DNA cetakan yang terjadi secara berulang. Setiap primer biasanya dapat menempel secara serentak pada beberapa situs homolog yang tersebar didalam DNA cetakan dan hasil pemanjangan primer tersebut ukurannya sangat bervariasi. Oleh karena itu hasil elektroforesis yang teramati dalam agrose memperlihatkan beberapa pita dengan ukuran yang berbeda. Jumlah pita DNA yang terdeteksi dalam setiap primer dan ada tidaknya variasi dalam genotip tertentu (Upadhyay *et al.* 2004).

Semua primer menghasilkan tingkat polimorfisme tinggi yaitu 80 pita (100%). Polimorfisme yang dihasilkan teknik RAPD bersal dari variasi sekuen DNA pada tempat penempelan primer dan dari perbedaan panjang antara tempat penempelan primer yang mengalami kesalahan tempat homolog target dan hasilnya kehilangan pita (Milbourne *et al.* 1997).

OPD-
02

OPE-
03

Tabel 1. Klisifikasi Berdasarkan analisis Populasi

ikb	ikb
1 0 0 0 0 1 0 1 1 0 0 0 0 M1	0 0 1 1 0 0 1 1 0 0 M1
1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 M2	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 M2
0 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0 0 0 M3	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 M3
0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 M4	0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 1 M4
0 1 1 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 M5	0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 M5
0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 M6	0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M6
1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 M7	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M7
0 0 1 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M8	0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0 M8
0 1 1 0 1 1 0 0 0 0 0 0 0 M9	0 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0 0 M9
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M10	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M10
1 1 0 0 0 0 1 1 1 1 1 1 1 M11	0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 M11
0 0 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 M12	1 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M12
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M13	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M13
0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 M14	0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 0 M14
1 0 0 0 0 1 0 1 1 1 0 0 0 M15	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M15
1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M16	0 0 0 0 1 0 0 1 1 0 0 0 M16
0 0 1 0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 M17	0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 M17
1 1 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 M18	0 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0 0 M18
1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M19	0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0 M19
1 0 1 1 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M20	1 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M20
0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 M21	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M21
1 1 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 M22	0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 M22
0 1 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0 M23	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 M23
1 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M24	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M24
1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M25	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M25
1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M26	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 M26
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M27	0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 M27
0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 M28	0 0 0 1 1 0 1 1 0 0 0 0 M28
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M29	0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 M29
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M30	0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 M30

1kb

1kb

M1		M1	
M2		M2	
M3		M3	
M4		M4	
M5		M5	
M6		M6	
M7		M7	
M8		M8	
M9		M9	
M10		M10	
M11		M11	
M12		M12	
M13		M13	
M14		M14	
M15		M15	
M16		M16	
M17		M17	
M18		M18	
M19		M19	
M20		M20	
M21		M21	
M22		M22	
M23		M23	
M24		M24	
M25		M25	
M26		M26	
M27		M27	
M28		M28	
M29		M29	
M30		M30	

13.b

0 0 - 1 0 0 - - 0 0 1 - - 0 - 0 -	M1	0 0 0 0 - 0 0 0 0 0 - 0
0 0 0 0 0 0 - 0 0 - 1 0 1 - - 1 0 0	M2	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 1 - 1 0 0 1 - 0 0 0 0 0 0 - 0 0 0	M3	0 0 0 0 0 - 1 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 - 0 0 0 0 0 0 0 - 0 0 0	M4	- - - 1 0 - - - 1 0 - 0
0 0 0 0 - - 0 0 0 0 - 0 0 0 0 0 0	M5	0 - 0 0 - - 1 0 0 0 0 0
- 0 - 0 1 - - 1 0 0 1 - - 1 0 0 0	M6	0 0 0 0 0 0 - 1 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 - 0 1 0 0 - - 0 0 0 0	M7	0 0 - 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 1 0 0 1 - - 1 0 1 - 0 0 - 0 0 0	M8	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 - 1 0 1 0 0 - 0 1 0 0 0 0	M9	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 - 1 0 1 - 1 0 1 - 0 0 - - 0 0 -	M10	0 0 - 0 - - 1 0 0 0 0 0
- 0 0 - 0 1 - 1 0 0 0 - - 1 0 0 0	M11	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0
0 - 0 0 0 - 0 0 0 0 - 0 0 0 - -	M12	0 0 - 0 - 0 0 0 0 0 0 -
0 0 0 0 0 0 0 0 - 0 0 0 0 0 -	M13	0 0 - 0 1 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 - 0 0 0 0 0 0 0 0	M14	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 1 0 0 1 - - 1 0 0 1 - - 1 0 0	M15	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 -
0 - - - - 1 0 0 0 - 0 0 1 - -	M16	0 0 0 - 0 - 1 0 0 0 0
0 1 0 1 0 - - 1 0 1 - - 1 0 0 0	M17	0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 -
0 - 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0	M18	0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 -
0 0 0 0 0 0 0 0 - 0 0 1 0 0 0 0	M19	0 0 0 0 0 0 0 0 - 1 0 0 0
0 0 0 0 0 0 0 0 - 1 0 0 0 0 0 0	M20	0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0
0 0 0 1 - 0 0 - 1 0 1 0 0 0 0	M21	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0	M22	0 0 0 0 1 - 1 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 - - - 0 0 0 0 - 0 0 0	M23	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 - 0 0 0 1 - 0 0 0 0	M24	0 0 0 0 0 0 - 1 0 0 0 0
0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0	M25	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -
0 0 0 - 0 1 - 1 1 0 0 0 0 - 0 0 0	M26	0 0 1 0 0 0 - 0 0 0 0
0 0 0 0 1 1 0 0 - - 0 1 0 0 0	M27	0 0 0 0 0 0 - 1 0 - 0 0
0 - 1 0 0 1 - - 1 0 0 - - 0 1 0	M28	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -
0 1 0 1 1 0 0 0 1 - 0 1 0 0 0	M29	0 0 0 0 0 0 - 1 0 0 0 0
0 1 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 - 0 0 0	M30	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0

Ket. Jika dilihat dari hasil validasi (*cross-validated*) pada OPE 03, OPD-02, OPM-13, OPR-10, OPR-15, OPE-15, DAN OPR-01 AKP sebesar 92.5% dan sebelumnya (Original) 95%.

Matrkis Kemiripan genetik tanaman manggis sebanyak tiga puluh sampel manggis berdasarkan 6 primer RAPD.

Hasil analisis pengelompokan yang diturunkan dari matriks kemiripan DNA tanaman manggis tidak memberikan pengelompokan yang mengikuti daerah asalnya, namun demikian kedua tetua manggis (*G. hombroniana* dan *G. maccensis*)

Tidak mengelompokan terpisah dari manggis tapi menyebar diantara aksesi manggis. Fenomena ini mendukung pendapat bahwa tanaman manggis tidak berasal dari hibridasi tunggal kedua tetuany, tetapi hasil hibridasi berulng dari tetuanya, tetapi hasil hibrididasi berulang kedua tetua di berbagai tempat.

Sembilan puluh aksesi manggis dan krabat dekatnya dibagi kedalam tiga kelompok berdasarkan kelompok utama yng pada level koefisien kemiripan 26% (pada tabel 3). Analisis kluster merupakan teknik yang efektif untuk menganalisis kemiripan genetik menggunakan data RAPD.

Matrik kemiripan genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
M1	1.00									
M2	0.75	1.00								
M3	0.78	0.77	1.00							
M4	0.64	0.69	0.73	1.00						
M5	0.72	0.75	0.78	0.81	1.00					
M6	0.62	0.69	0.68	0.69	0.75	1.00				

M7	0.76	0.79	0.81	0.75	0.78	0.69	1.00			
M8	0.72	0.75	0.78	0.73	0.78	0.68	0.78	1.00		
M9	0.69	0.74	0.71	0.69	0.82	0.78	0.69	0.75	1.00	
M10	0.71	0.78	0.77	0.69	0.73	0.74	0.75	0.73	0.72	1.00
M11	0.71	0.70	0.74	0.66	0.70	0.72	0.77	0.70	0.73	0.72
M12	0.66	0.70	0.73	0.67	0.73	0.63	0.77	0.75	0.74	0.76
M13	0.65	0.75	0.72	0.69	0.74	0.64	0.74	0.69	0.68	0.73
M14	0.78	0.77	0.80	0.71	0.80	0.73	0.78	0.80	0.79	0.79
M15	0.77	0.72	0.75	0.65	0.73	0.69	0.69	0.73	0.72	0.70
M16	0.70	0.73	0.70	0.66	0.70	0.75	0.70	0.74	0.71	0.77
M17	0.69	0.69	0.66	0.65	0.66	0.61	0.62	0.68	0.65	0.65
M18	0.65	0.75	0.74	0.68	0.69	0.68	0.74	0.70	0.77	0.71
M19	0.73	0.76	0.77	0.78	0.81	0.70	0.81	0.75	0.74	0.76
M20	0.69	0.76	0.75	0.74	0.77	0.63	0.79	0.71	0.69	0.67
M21	0.69	0.75	0.74	0.69	0.76	0.71	0.70	0.72	0.84	0.71
M22	0.62	0.74	0.75	0.74	0.75	0.67	0.71	0.69	0.72	0.72
M23	0.65	0.73	0.74	0.71	0.74	0.71	0.74	0.74	0.79	0.69
M24	0.68	0.78	0.75	0.76	0.77	0.69	0.79	0.77	0.70	0.70
M25	0.69	0.71	0.70	0.71	0.74	0.66	0.76	0.78	0.73	0.66
M26	0.76	0.77	0.74	0.82	0.78	0.75	0.81	0.81	0.77	0.73
M27	0.59	0.68	0.67	0.73	0.76	0.73	0.70	0.74	0.77	0.73
M28	0.67	0.68	0.69	0.66	0.63	0.66	0.70	0.74	0.66	0.66
M29	0.62	0.69	0.64	0.63	0.62	0.65	0.64	0.66	0.65	0.69
M30	0.66	0.70	0.71	0.70	0.73	0.69	0.75	0.75	0.74	0.76

Matrik kemiripan genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	
M11	1.00									
M12	0.78	1.00								
M13	0.70	0.75	1.00							
M14	0.78	0.75	0.70	1.00						
M15	0.73	0.74	0.68	0.73	1.00					
M16	0.71	0.66	0.67	0.74	0.75	1.00				
M17	0.69	0.67	0.64	0.73	0.70	0.68	1.00			
M18	0.75	0.71	0.69	0.72	0.69	0.70	0.68	1.00		
M19	0.76	0.70	0.75	0.77	0.70	0.71	0.69	0.77	1.00	
M20	0.69	0.70	0.75	0.69	0.69	0.69	0.63	0.73	0.85	1.00
M21	0.73	0.75	0.70	0.74	0.68	0.69	0.66	0.72	0.73	0.73
M22	0.76	0.70	0.69	0.71	0.65	0.68	0.70	0.79	0.78	0.72

M23	0.71	0.69	0.67	0.76	0.68	0.69	0.68	0.70	0.69	0.68
M24	0.71	0.74	0.73	0.75	0.67	0.68	0.69	0.75	0.80	0.81
M25	0.73	0.75	0.74	0.78	0.71	0.69	0.71	0.72	0.73	0.69
M26	0.79	0.71	0.70	0.76	0.75	0.78	0.68	0.72	0.81	0.77
M27	0.71	0.71	0.67	0.76	0.64	0.70	0.71	0.72	0.77	0.71
M28	0.68	0.64	0.59	0.72	0.62	0.70	0.62	0.69	0.62	0.60
M29	0.67	0.65	0.69	0.69	0.56	0.68	0.69	0.69	0.67	0.67
M30	0.71	0.74	0.71	0.73	0.67	0.73	0.61	0.69	0.72	0.65

Matrik kemiripan genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30
M21	1.00									
M22	0.73	1.00								
M23	0.80	0.79	1.00							
M24	0.73	0.80	0.71	1.00						
M25	0.72	0.71	0.72	0.73	1.00					
M26	0.74	0.73	0.72	0.77	0.80	1.00				
M27	0.74	0.77	0.76	0.77	0.72	0.74	1.00			
M28	0.59	0.62	0.69	0.66	0.63	0.70	0.63	1.00		
M29	0.68	0.67	0.66	0.67	0.68	0.69	0.69	0.68	1.00	
M30	0.73	0.72	0.77	0.69	0.71	0.75	0.75	0.68	0.70	1.00

Variabilitas Genetik Manggis bulukumba

Pada wilayah geografik Indonesia, tanaman manggis secerah genetik juga beragam baik dengan penanda isoenzim dan AFLP, dan RAPD. Berdasarkan peramida isoenzim dan AFLP dengan kemiripan 89% dan 77% dihasilkan berkerabat dekat dengan *G. malaccensis*, diduga klon masih membawa karakter-karakter *G. malaccensis* sebagai tetua aksesori manggis. Selanjutnya manggis Indonesia dengan penanda RAPD pada kemiripan 44,4% dihasilkan 31 klon. Klon yang terbentuk berdasarkan variabilitas Genetik cenderung mengikuti lokasi tumbuh manggis.

Analisis kemiripan varibilitas genetik menggunakan menggunakan penanda isoenzim dan AFLP dilakukan guna memperoleh gambaran yang lebih komperensif tentang varibilitas genetik tanaman manggis dan kerabat dekatnya. Kedua penanda tersebut dapat dipai untuk mengelompokan tanaman tanaman manggis dan membedakan kerabat dekatnya.

Analisis varibilitas genetik dengan penanda isoenzim, AFLP dan kombinasiya memberikan keragaman dalam aksesi manggis berkisar 40-42%, sedangkan manggis dengan krabat dekatnya berkisar 62-79%. Sejalan dengan kedua penanda diatas, anlisis varibilitas manggis Indonesia dan krabat dekatnya menggunakan penanda RAPD terhadap 30 eksesi dapat mengunkap keragaman genetik dalam kelompok manggis dan kerabat dekatnya dengan kisarang 8-75%. Luasnya kisran varibilitas genetik ini dapat disebabkan karena jumlah eksesi yang digunakan lebihbanyak baik eksesi manggis maupun kerabat dekatnya dan berasal dari wilaya distribusi yang lebih luas. Namun kisaranini masih dalam cakupan dua penanda sebelumnya. Selanjutnya untuk menggunakan penanda E-RAPD diperoleh keragaman dalam populasi sebesar 40%, sedangkan keragaman antar populasi sebesar 53%.

Berdasarkan penanda isoenzim, AFLP , dan kombinasinya pada 30 eksasi manggis dan krabat dekatnya, beserta RAPD terhadap 30 aksesi manggis bulukumba menggambarkan aksesi krabat dekat manggis (*G. hombroniana* dan *G. malaccensis*), yang diduga merupakan tetua manggis berada dalam kisaran varibilitas aksesi manggis berasal dari hasil persilangan berulang allotetraploid *G.*

hombroniana dan *G. malaccensis* ribuan tahun yang lalu. Fenomena ini ditunjukkan oleh krakter morfologi manggis yang merupakan intermediate kedua tetuanya

Secara keseluruhan aksesi manggis *G. hombroniana* mempunyai krakter mofologi yang lebih mirip *G. mangostana* disbanding *G. celebica* yang hanya mirip pada tipe bunga dan buah dengan *G. mangostana* (Jones 1980). Krakter Morfologi dikendalikan banyak gen sehingga lebih kuat dalam menggambarkan hubungan kekerabatan. Berdasarkan penanda AFLP dan RAPD *G. hombroniana* lebih dekat kekerabatan dengan *G. mangostana* disbanding *G. celebica* (Sari 2000).

Tabel 4. Matris Jarak Genetik sebanyak 30 sampel manggis berdasarkan 6 primer RAPD.

Matrik jarak genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19		
M11	0.00										
M12	0.22	0.00									
M13	0.30	0.25	0.00								
M14	0.22	0.25	0.30	0.00							
M15	0.27	0.26	0.32	0.27	0.00						
M16	0.29	0.34	0.33	0.26	0.25	0.00					
M17	0.31	0.33	0.36	0.27	0.30	0.32	0.00				
M18	0.25	0.29	0.31	0.28	0.31	0.30	0.32	0.00			
M19	0.24	0.30	0.25	0.23	0.30	0.29	0.31	0.23	0.00		
M20	0.31	0.30	0.25	0.31	0.31	0.31	0.37	0.27	0.15	0.00	
M21	0.27	0.25	0.30	0.26	0.32	0.31	0.34	0.28	0.27	0.27	
M22	0.24	0.30	0.31	0.29	0.35	0.32	0.30	0.21	0.22	0.28	
M23	0.29	0.31	0.33	0.24	0.32	0.31	0.32	0.30	0.31	0.32	
M24	0.29	0.26	0.27	0.25	0.33	0.32	0.31	0.25	0.20	0.19	
M25	0.27	0.25	0.26	0.22	0.29	0.31	0.29	0.28	0.27	0.31	

M26	0.21	0.29	0.30	0.24	0.25	0.22	0.32	0.28	0.19	0.23
M27	0.29	0.29	0.33	0.24	0.36	0.30	0.29	0.28	0.23	0.29
M28	0.32	0.36	0.41	0.28	0.38	0.30	0.38	0.31	0.38	0.40
M29	0.33	0.35	0.31	0.31	0.44	0.32	0.31	0.31	0.33	0.33
M30	0.29	0.26	0.29	0.27	0.33	0.27	0.39	0.31	0.28	0.35

Matrik jarak genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30
M21	0.00									
M22	0.27	0.00								
M23	0.20	0.21	0.00							
M24	0.27	0.20	0.29	0.00						
M25	0.28	0.29	0.28	0.27	0.00					
M26	0.26	0.27	0.28	0.23	0.20	0.00				
M27	0.26	0.23	0.24	0.23	0.28	0.26	0.00			
M28	0.41	0.38	0.31	0.34	0.37	0.30	0.37	0.00		
M29	0.32	0.33	0.34	0.33	0.32	0.31	0.31	0.32	0.00	
M30	0.27	0.28	0.23	0.31	0.29	0.25	0.25	0.32	0.30	0.00

Matrik jarak genetik sebanyak 30 sampel Manggis berdasarkan 6 primer RAPD

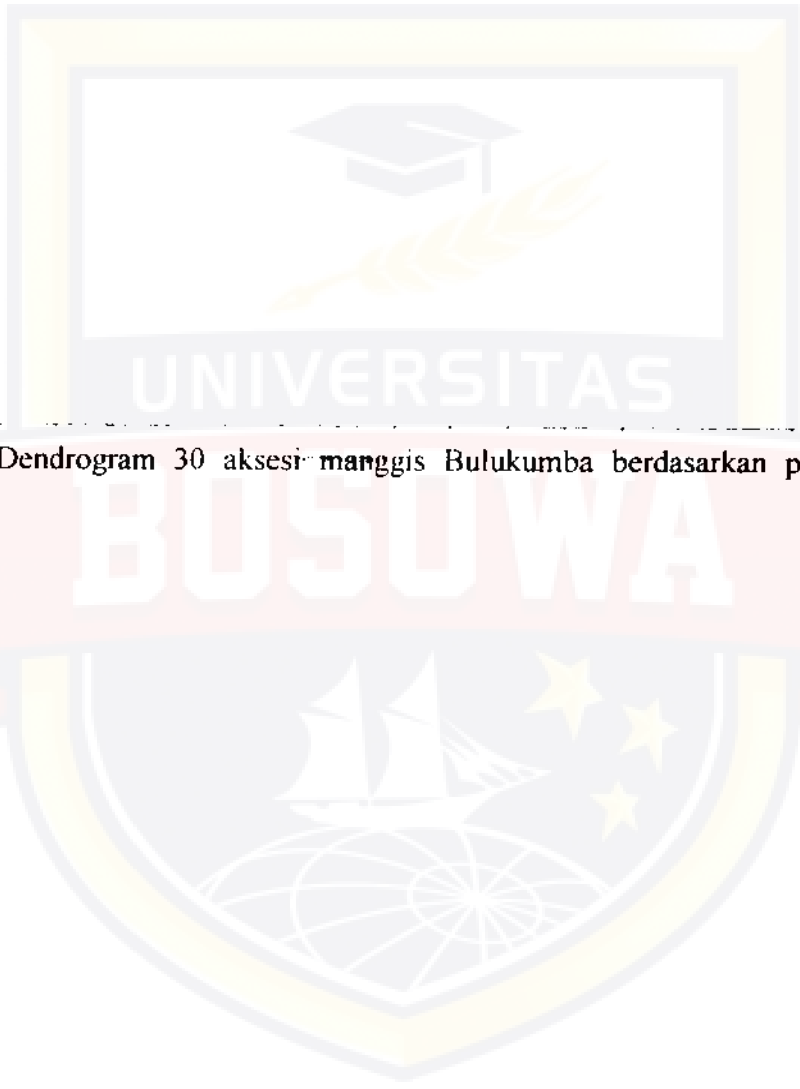
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
M1	0.00									
M2	0.25	0.00								
M3	0.22	0.23	0.00							
M4	0.36	0.31	0.27	0.00						
M5	0.28	0.25	0.22	0.19	0.00					
M6	0.38	0.31	0.32	0.31	0.25	0.00				
M7	0.24	0.21	0.19	0.25	0.22	0.31	0.00			
M8	0.28	0.25	0.22	0.27	0.22	0.32	0.22	0.00		
M9	0.31	0.26	0.29	0.31	0.18	0.22	0.31	0.25	0.00	
M10	0.29	0.22	0.23	0.31	0.27	0.26	0.25	0.27	0.28	0.00
M11	0.29	0.30	0.26	0.34	0.30	0.28	0.23	0.30	0.27	0.28
M12	0.34	0.30	0.27	0.33	0.27	0.37	0.23	0.25	0.26	0.24
M13	0.35	0.25	0.28	0.31	0.26	0.36	0.26	0.31	0.32	0.27
M14	0.22	0.23	0.20	0.29	0.20	0.27	0.22	0.20	0.21	0.21
M15	0.23	0.28	0.25	0.35	0.27	0.31	0.31	0.27	0.28	0.30

M16	0.30	0.27	0.30	0.34	0.30	0.25	0.30	0.26	0.29	0.23
M17	0.31	0.31	0.34	0.35	0.34	0.39	0.38	0.32	0.35	0.35
M18	0.35	0.25	0.26	0.32	0.31	0.32	0.26	0.30	0.23	0.29
M19	0.27	0.24	0.23	0.22	0.19	0.30	0.19	0.25	0.26	0.24
M20	0.31	0.24	0.25	0.26	0.23	0.37	0.21	0.29	0.31	0.33
M21	0.31	0.25	0.26	0.31	0.24	0.29	0.30	0.28	0.16	0.29
M22	0.38	0.26	0.25	0.26	0.25	0.33	0.29	0.31	0.28	0.28
M23	0.35	0.27	0.26	0.29	0.26	0.29	0.26	0.26	0.21	0.31
M24	0.32	0.22	0.25	0.24	0.23	0.31	0.21	0.23	0.30	0.30
M25	0.31	0.29	0.30	0.29	0.26	0.34	0.24	0.22	0.27	0.34
M26	0.24	0.23	0.26	0.18	0.22	0.25	0.19	0.19	0.23	0.27
M27	0.41	0.32	0.33	0.27	0.24	0.27	0.30	0.26	0.23	0.27
M28	0.33	0.32	0.31	0.34	0.37	0.34	0.30	0.26	0.34	0.34
M29	0.38	0.31	0.36	0.37	0.38	0.35	0.36	0.34	0.35	0.31
M30	0.34	0.30	0.29	0.30	0.27	0.31	0.25	0.25	0.26	0.24

Analisis Kluster

Hasil pengelompokan berdasarkan penanda RAPD ini Menunjukkan ke-4 populasi manggis asal Bulukumba memiliki hubungan genetik yang cukup dekat, yang ditunjukkan dengan mengelompokannya populasi manggis pada tingkat kemiripan 80-97%. Teknik ini dapat mengelompokkan aksesori manggis berdasarkan daerah asalnya.

Berdasarkan analisis kluster dapat dilihat bahwa populasi manggis yang ada dibulukumba tidak memisah secara tegas kedalam kelompok populasi masing-masing. Adanya pita RAPD yang terdapat hanya pada kedua populasi tersebut menunjukkan kedekatan hubungan genetik antar populasi, sehingga diduga menggunakan asal bibit dari tempat yang sama.



Gambar 7. Dendrogram 30 akses manggis Bulukumba berdasarkan penanda RAPD.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. genetik manggis berdasarkan melalui analisis kemiripan berkisar antara 0,19-0,44% .
2. Berdasarkan analisis RAPD seleksi manggis bahwa pada kemiripan 80% dapat dilakukan menjadi dua langkah seleksi yaitu M28 dan M29 sebagai langkah satu dan diseleksi sebagai langka kedua.

Saran

1. Diperlukan penelitian viabilitas polen bunga manggis untuk membuktikan sumber variabilitas yang terjadi.

DAFTAR PUSTAKA

- Acua CA EJ Martines, dan CL Quarin 2005. Sesual diploid and Apomictic tetraploid races in *Thrasya petrosa* (Gramineae). *Australia Jurnalof Botani* 53: 479-484.
- Allard RW. 1960. Principles of Plant Breeding. John Wiley and Sons, inc. New York. 485p.
- Allen BM. 1967 Malayan fruis: An Introduction to the Cutivated Species. Donald Moore Press Ltd. Singapore. 595 p.
- Asker SE dan L Jerling. 1992. Apomixis in Plants. CRC Pers. London.
- karahiolo 2003. Comparative assesmentof DNA.
- Archk S, AB Gaikwad, D Gautam, EVVB Rao, KRM Swamy, and JL Fingerprintingtechniques (RAPD,ISSR and ALF).
- Agus.2012. Menilik Lebih Jauh Manfaat Kulit Manggis BagiKesehatan(online),(<http://manfaatkulitmanggis.cm>,diakses 19 Desember 2012)
- AnneAhira.2012. *Dasyatnya Manfaat Buah Manggis* (online), (<http://www.anneahira.com/manfaat-buah-manggis.htm>, diakses 19 Desember 2012)
- Assefa K, A Market & T Hailu 2003. Inter simple sequence repeat (ISSR) (*Eragrostis tef* (Zucc.)) TroHereditas 139: 174-183
- Basuki N. 1995. Pendugaan peran gen. Fakultas pertanian Unibra Malang.
- Bannet K 1993. Maps and Narkers. P. 7-13. In Genome analisis of plants, Pest and pathogens. Workshop Hanl dbook, Central Research Insitute for Food Crop Bogor, Indonesia 14-16 Junie 1993.
- Blogger.2011. *Manfaat Kulit Manggis yang berlimpah*(online),(<http://www.seputarwanitasehat.com/2012/10/manfaat-kulit-manggis-dan-kandungan.html>,diakses19 Desember 2012)
- Chen Z, W Song and A Warren. 2000. Studies on six *Euplotes* spp.(Ciliophora: Hypotrichida) Using RAPD Fingerprinting,Includinga Comparison with Morphometric Analyses. *Acta Protozool* 39:209-216.

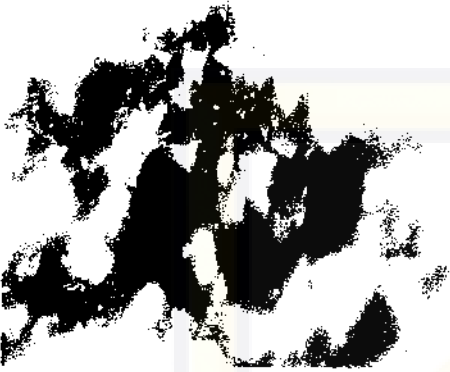
- Chiorato AF, SAM Carbonell, LL Benchimol, MB Chiavegato, LAS Dias CA Colombo. 2007. Genetic Diversity In Common Bean Accessions Evaluated By Means Of Morpho-Agronomical And Rapd Data. *Sci. Agric.(Piraccaba, Braz.)*,64(3) :256-262.
- Cox JEK. 1996. *Garcinia mangostana* L., Mangosteen propagation of Tropical fruit trees. 1s ted. Common Wealth Bureau. Fam Ham Royal. England. 812 p.
- Crane CF. 2001. Classification of apomictic mechanisms. *In: The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering*. Pp. 24-43, Savidan Y, JG Carman, and T Dresselhaus Eds. CIMMYT, IRD European Commission DG VI (FAIR), Mexico, DF.
- Darajat AA. 1987. Variabilitas dan Adaptasi Genotip Terigu pada Beberapa Lingkungan Tumbuh di Indonesia. Disertasi. Univertas Padjajaran. Tidak dipublikasi.
- Darrigues A, J Daud, K McCord, C Rasmussen, and Jim Rouse. 2008. Genetik Analysis of Apoixis. *Apomixis-Genetic Analysis*. (terhubung berkala). [http://www.public.iastate.edu/~mbhattac/bhhtacharyya/genetics.pdf.\(9-2-2008\)](http://www.public.iastate.edu/~mbhattac/bhhtacharyya/genetics.pdf.(9-2-2008)).
- Den Nijs APM, and GEvan Dijk. 1993. Apomixis. In M.D. Hayward, N.O. Bosemark, and I. Romagose (eds). *Plant Breeding Principles and Prospect*. Chapman and Hall. London.
- Despres L, L Giely, B Redoutet and P Taberlet. 2003. Using AFLP to resolve phylogenetic relationship in a morphologically diverfied plant species complex when nuclear and chloroplast sequences fail to reveal variability. *Moleculer Phylogenetics and Evolution* 27: 185-196.
- Direktorat Budidaya Tanaman Buah Depetemen Pertanian RI. 2008. Statistkbuah Indonesia. (terhubung berkala) <http://ditbuah.hortikultura.go.id> (18-2-2008)
- Doyle JJ and JL Doyle. 1987. A rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fes Leat Tissue. *Phitocchemical Bulletin* 19 (1): 11-15.
- Draper N, Smith H. 1992. Analisis Regresi Terapan. Edisi kedua. Penerbit PT.Gramedia Jakarta. (Terjemahan). 671 hal.
- Echeverrigaray S dan G Agostini. 2006. Geneic Relationships Between Commercial Cultivars and Brazilian Accessions of *Salviaoffcinalis* L. Based on RAPD Marers. *Rev. Bras.PI.Med., Botucatu* 8: 13-17

- Erschadi S, G Haberer, M Shoniger, and RA Torres-Ruiz. 2000. Estimating genetic diversity of *Arabiadopsis thaliana* ecotypes with amplified pitat length polymorphisms (AFLP). *Thoer. Appl.Genet.* 100: 633-640
- Fajardo S, DR La Bonte, and RL Jarret. 2002. Identifying and selecting for genetic dinersity in Papua New *Ipomea batatus* (L.) Lam germplasm collected as botanical seed. *Genetik Resources and Crop Evolution.* 49(5): 463-470.
- Falconer DS and TFC Mackey. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics.* Fourth Edition England: Longman Group Ltd.
- Fehr RW. 1987. *Principles of Cultivar Development.* Vol.1. New York: McMillan Inc. 536 p.
- Moyo O. 1980 *The Theory of Plan Breeding.* Oxfod: Clarendon Press.
- Popenoe W. 1974. *Manual of tropical and subtropical fruid.* 2 and bookHanfner Press. New York. 474p.
- Paramawati, Raffi. 2000. *Dahsyatnya Manggis untuk Menumpas Penyakit.* Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Pitojo, Setijo dan Hesti Nira Puspita. 2007. *Budidaya Manggis.* Semarang: Aneka Ilmu. Rukmana, Rahmat. 2003. *Bibit Manggis.* Yogyakarta: Kaninus.
- Sunarjo, Hendro. 2008. *Tanaman Buah Berkebun 21 Jenis.* Jakarta: Penebar Swadaya. Winarsi, Hery.2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kaninus.
- Tanaka J and F Taniguchi 2002. Emphasized-RAPD (e-RAPD): *a Simle and Efficient Technique to make RAPD Band Clearer.* *Breeding Science*52: 225-229.
- Vos P, R Hogers, M Bleekers, M Reijans, T Van de Lee, M Hornes, A Frijters, J Pot, J Peleman, E Joacobsen, J Helder, A and J Bakker. 1995. AFLP: a new technique for DNA fing.

LAMPIRAN

Gambar 1, 2, 3 dan 4 adalah gambar Daun Manggis

1



2



3



4



Gambar 5, 6, 7 dan 8 adalah gambar buah manggis

5



6



7



8



Gambar 9 dan 10 adalah gambar buah manggis yang dijadikan sampel penelitian.

9



10



Gambar 11 dan 12 adalah gambar pengambilang sampel manggis.

11



12

