

Analisis Keragaman Genetik 161 Aksesori Mangga Indonesia Menggunakan Marka Mikrosatelit

Tasliah^{1*}, Habib Rijzaani¹, Tri Z.P. Hariyadi¹, Siti Yuriyah¹, Rebin², Ma'sumah¹, dan Tiur S. Silitonga¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: tasliah1@yahoo.co.id

²Kebun Percobaan Cukurgondang, Pasuruan, Jawa Timur

Diajukan: 11 Juni 2013; Diterima: 4 Oktober 2013

ABSTRACT

Genetic Diversity Analysis of 161 Indonesian Mango Accessions Based on Microsatellite Markers. *Tasliah, Habib Rijzaani, Tri Z.P. Hariyadi, Siti Yuriyah, Rebin, Ma'sumah, and Tiur S. Silitonga.* Mango is one of the five important fruit crops in the world. Microsatellite markers can be used to analyze genetic diversity among mango accessions. The purpose of this research was to determine the relationship among mango germplasm collection using microsatellite markers. A total of 161 mango accessions originated from Indonesian Tropical Fruit Research Institute (Cukurgondang Field Station), Pasuruan, East Java, were used in this research. Twenty-six microsatellite markers were used to genotype each accession. Genotyping was conducted using Beckman Coulter® CEQ™ 8000 machine. Genetic relationship among accessions was analyzed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) method, followed by bootstrap analysis. The result showed that high allele variation (15-75 alleles) was observed among mango accessions tested, with an average allele number of 38.69. The average of Polymorphism Information Content (PIC) value was 0.548 (0.021-0.949). Fifteen microsatellite markers showed PIC value >0.5 indicated that these markers were suitable for mango diversity studies. Cluster analysis divided the mango collections into two groups. Group I consisted of 95 accessions, and group II consisted of 66 accessions. Ninety Indonesian indigenous mangos (84.11% of Indonesian mango accessions) could be separated from the introduced accessions.

Keywords: Mango, microsatellite marker, genetic diversity.

ABSTRAK

Analisis Keragaman Genetik 161 Aksesori Mangga Indonesia Menggunakan Marka Mikrosatelit. *Tasliah, Habib Rijzaani, Tri Z.P. Hariyadi, Siti Yuriyah, Rebin, Ma'sumah, dan Tiur S. Silitonga.* Mangga merupakan salah satu dari lima tanaman buah penting di dunia. Marka mikrosatelit bisa digunakan sebagai penanda molekuler untuk melihat keragaman genetik antar aksesori mangga. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan kekerabatan plasma nutfah mangga di Indonesia menggunakan marka mikrosatelit. Sebanyak 161 aksesori mangga yang berasal dari Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (KP Cukurgondang), Pasuruan, Jawa Timur, digunakan

dalam penelitian ini. Dua puluh enam marka mikrosatelit digunakan untuk melihat pola fragmen DNA masing-masing aksesori. Pemisahan fragmen DNA hasil amplifikasi dilakukan menggunakan mesin Beckman Coulter® CEQ™ 8000. Hubungan kekerabatan dibuat menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA), dilanjutkan dengan analisis *bootstrap*. Hasil penelitian menunjukkan terjadi variasi alel yang cukup tinggi (15-75 alel) di antara aksesori mangga dengan rata-rata jumlah alel sekitar 38,69, sedangkan rata-rata nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) sebesar 0,548 (0,021-0,949). Lima belas marka mikrosatelit memiliki nilai PIC >0,5 yang menunjukkan marka tersebut memiliki informasi yang tinggi untuk penelitian keragaman genetik mangga. Analisis gerombol membagi koleksi mangga ke dalam dua kelompok. Kelompok I terdiri atas 95 aksesori dan kelompok II sebanyak 66 aksesori. Sebanyak 90 aksesori mangga asli Indonesia (84,11% dari total mangga Indonesia yang digunakan) bisa dipisahkan dari mangga introduksi.

Kata kunci: Mangga, marka mikrosatelit, keragaman genetik.

PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu tanaman buah penting di Indonesia, sedangkan di dunia termasuk ke dalam kelompok lima tanaman buah utama selain pisang, jeruk, anggur, dan apel (Viruel *et al.*, 2005). Mangga termasuk tanaman diploid ($2n = 2x = 40$), anggota famili *Anacardiaceae*. Tanaman ini dilaporkan berasal dari daerah Indo-Burma kemudian menyebar ke negara lainnya, Amerika Latin seperti ke Brasil, Afrika, serta kawasan Asia Tenggara, termasuk ke Indonesia (Bhargava dan Khorwal, 2011; Duval *et al.*, 2005; Pandit *et al.*, 2007; Wahdan *et al.*, 2011).

Produsen buah mangga dunia adalah India, Meksiko, Brasil, Pakistan, Thailand, Cina, Indonesia, Filipina, dan Banglades. India, Cina, Thailand, Meksiko, Pakistan, dan Indonesia menyumbang 75% produksi dunia, sedangkan India sebagai produsen utama menyumbang sekitar 40%. Di India, mangga merupakan "king of fruit dan national fruit" (Bhargava dan Khorwal 2011; Hirano *et al.*, 2010; Viruel *et al.*, 2005).

Karakter morfologis telah dipakai secara rutin untuk melakukan identifikasi kultivar mangga. Karakter morfologis dan agronomis telah digunakan sebagai kriteria untuk identifikasi kultivar mangga (Chiang *et al.*, 2012). Deskripsi morfologis varietas mangga dilakukan berdasarkan karakteristik dari batang, daun, bunga, buah, dan biji (Purnomo, 1987; Sutanto *et al.*, 2005).

Penggunaan marka molekuler telah banyak digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar individu dalam spesies maupun antar spesies tanaman. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar individu digunakan data frekuensi alel atau dengan melihat matrik ketidaksamaan. Pada metode kedua, pemilihan koefisien kesamaan sangat menentukan hasil pengelompokan (Kosman dan Leonard, 2005). Marka yang digunakan pun bisa beragam, baik marka dominan, seperti RAPD, AFLP (Adato *et al.*, 1995; Bhargava dan Khorwal, 2011; Fitmawati *et al.*, 2010), dan ISSR (Pandit *et al.*, 2007), atau marka kodominan seperti mikrosatelit (Chiang *et al.*, 2012; Duval *et al.*, 2005; Honsho *et al.*, 2005; Schnell *et al.*, 2005; Surapaneni *et al.*, 2013; Viruel *et al.*, 2005). Marka mikrosatelit lebih banyak dipilih untuk penelitian studi kekerabatan karena jumlahnya berlimpah, mudah dalam aplikasinya, dan bisa dilakukan otomatisasi dengan primer berlabel. Penggunaan sistem otomatisasi ini sangat membantu dalam menentukan ukuran pita secara akurat, dibandingkan dengan mengukur secara langsung pada gel (Prasetyono dan Tasliah, 2004).

Koleksi mangga di Indonesia sampai saat ini terpusat di KP Cukurgondang, Pasuruan (Jawa Timur), yang dikelola oleh Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika dan Taman Buah Mekarsari (Jawa Barat). Di KP Subang juga ditanam plasma nutfah mangga, tetapi koleksi yang ditanam merupakan duplikasi dari KP Cukurgondang (Karsinah, komunikasi pribadi). Penelitian ini bertujuan untuk melihat keragaman plasma nutfah mangga yang dikoleksi oleh KP Cukurgondang menggunakan marka mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, mulai Januari 2011 s.d Februari 2013.

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah 161 aksesori mangga koleksi KP Cukurgondang, Pasuruan, Jawa Timur. Dari jumlah tersebut, 107

aksesori (66,50%) merupakan mangga asli Indonesia, sedangkan 54 aksesori (33,54%) mangga introduksi (Tabel 1).

Isolasi DNA, PCR, dan Elektroforesis

DNA diisolasi dari daun muda. Prosedur isolasi DNA menggunakan bufer ekstraksi *cetyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB) dengan mengikuti protokol Doyle dan Doyle (1990). Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 20 µl, terdiri atas 2 µl 10× bufer PCR, 1,2 µl 25 mM MgCl₂, 0,6 µl 4 µM dNTPs, 0,6 µl 10 mM primer F, 1 µl 10 mM primer R, 1 µl 10 mM primer M13, 1 unit Taq DNA polimerase, dan 5 µl 10 ng DNA mangga.

Primer mikrosatelit yang digunakan berjumlah 30 pasang (Tabel 2). Primer tersebut dibuat tidak berlabel, namun pada ujungnya ditambah dengan sekuen adaptor (primer universal M13) pada bagian *forward* untuk tempat penempelan warna fluoresen. Pelabelan terjadi setelah proses PCR berlangsung dan setelah diketahui terdapat pita hasil amplifikasi.

Penggandaan DNA dilakukan dengan profil sebagai berikut: inisiasi denaturasi pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti 34 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer pada suhu 50°C selama 1 menit, dan perpanjangan basa pada suhu 72°C selama 2 menit (Duval *et al.*, 2005; Schnell *et al.*, 2005). Tahap akhir proses PCR adalah perpanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dan inkubasi pada suhu 4°C. Untuk melihat muncul tidaknya DNA hasil amplifikasi, dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarosa 2%. Primer-primer yang menghasilkan pita pada gel agarosa digunakan untuk analisis fragmen DNA.

Analisis Fragmen DNA

Fragmen DNA dideteksi pada mesin *genetic analyzer* (Beckman Coulter® CEQ™ 8000). Prosedur persiapan sampel produk PCR untuk *loading* dan prosedur menjalankan CEQ 8000 mengikuti protokol yang telah dibakukan oleh Thomson (2004). Sampel dianalisis secara *multiplexing*, yaitu dengan mencampurkan produk hasil amplifikasi PCR dengan dua macam primer berwarna fluoresen hijau dan biru dalam satu sumur (*well*).

Produk PCR dengan volume tertentu (sesuai dengan hasil optimasi) dari tiap primer dicampurkan dalam satu sumur, lalu ditambah dengan 0,5 µl CEQ *internal size standard* (400 bp) yang berlabel warna merah dan SLS dengan volume akhir 40 µl. Minyak mineral (*mineral oil*) ditambahkan ke dalam *plate* sampel. Bufer CEQ ditambahkan ke dalam *plate* sampai kira-kira tiga per empat volume sumur. *Plate*

sampel dan bufer di-load dan dijalankan pada mesin sesuai petunjuk dari pabrik CEQ. Sebanyak 96 sampel dijalankan sekaligus dengan proses loading secara

otomatis. Setelah 11-12 jam, fragmen-fragmen DNA yang terlihat sebagai puncak (*peaks*) dengan dua macam warna fluoresen akan terlihat di layar monitor.

Tabel 1. Aksesori plasma nutfah mangga yang digunakan dalam penelitian ini*.

No.	ID Lap**	Aksesori	Asal/Keterangan	No.	ID Lap**	Aksesori	Asal/Keterangan
1.	3-4	Bapang-3	Pasuruan	61.	47-48	Urang-363	Froe. Plumbon, Cirebon
2.	5	Tenu	Pohjentrek, Pasuruan	62.	49-50	Agung-365	Froe. Plumbon, Cirebon
3.	17-18	Gadung-21	Pasuruan	63.	51-52	Bubut-367	Kab. Cirebon
4.	25-26	Anggur	Banjarsari, Probolinggo	64.	53-54	Beruk-369	Cirebon
5.	27-28	Golek-31	Pasuruan	65.	55-56	Buaya-361	Cirebon
6.	53-54	Lali Jiwo-61	Kraksaan, Probolinggo	66.	57-58	Blencong-373	Cirebon
7.	57-58	Madu-65	Pasuruan	67.	59-60	Duren-375	Froe. Plumbon, Cirebon
8.	61-62	Manalagi-69	Pasuruan	68.	61-62	Danas Madu-377	Froe. Plumbon, Cirebon
9.	77-78	Gayam-121	Gunung Gangsir, Pasuruan	69.	63-64	Daging-379	Froe. Plumbon, Cirebon
10.	93-94	Madu Anggur 141	Kebun sari, Probolinggo	70.	65-66	Endog-381	Froe. Plumbon, Cirebon
11.	95-96	Arumanis-143	Probolinggo	71.	67-68	Gayam-383	Froe. Plumbon, Cirebon
12.	101-102	Gurih Panjang-149	Kraksaan-Probolinggo	72.	69-70	Kidang Kweni-387	Froe. Plumbon, Cirebon
13.	109-110	Polok-157	Probolinggo	73.	71-72	Kopek-389	Froe. Plumbon, Cirebon
14.	113-114	Janis-161	Kebun Agung, Probolinggo	74.	73-74	Krumpyung-391	Froe. Plumbon, Cirebon
15.	115-116	Durih-163	Gending, Probolinggo	75.	75-76	Kemiri-393	Froe. Plumbon, Cirebon
16.	120	Pasir-167	Probolinggo	76.	77-78	Kapal-395	Froe. Plumbon, Cirebon
17.	133-134	Endog-181	Pasuruan	77.	79-80	Kopek-397	Pohjentrek, Pasuruan
18.	138	Gedong?		78.	81	Kidang Sari-399	Froe. Plumbon, Cirebon
19.	141-142	Sidenok-189	Pasuruan	79.	83-84	Limun-401	Pohjentrek, Pasuruan
20.	145-146	Jenis Baru	Pasuruan	80.	85-86	Mangkok-403	Pohjentrek, Pasuruan
21.	155-156	Slendro-203	Pasuruan	81.	82-87-88	Madu Nongko-405	Pohjentrek, Pasuruan
22.	172	Delima	Kebon Candi, Pasuruan	82.	89-90	Pawon-407	Froe. Plumbon, Cirebon
23.	181-182	Sophia-243	Kedunglo, Pasuruan	83.	91-92	Pol-409	Froe. Plumbon, Cirebon
24.	199-200	Janis-271	Pamekasan, Madura	84.	93-94	Randu-411	Froe. Plumbon, Cirebon
25.	201-202	Podang Lumut	Kediri	85.	97-98	Roti-415	Froe. Plumbon, Cirebon
26.	203-204	Sabala-273	Madura	86.	99-100	Salak-417	Froe. Plumbon, Cirebon
27.	205-206	Gandik	Pamekasan, Madura	87.	101-102	Trapang-419	Pohjentrek, Pasuruan
28.	209-210	Mangga Irian	Irian Jaya	88.	103	Temu-421	Pohjentrek, Pasuruan
29.	211-212	Arumanis Kencono 285	Tbg. Pleret, Pasuruan	89.	104	Krumpyung	Pohjentrek, Pasuruan
30.	217-218	Madu Z	Cukurgondang	90.	107-108	Wudel-425	Pohjentrek, Pasuruan
31.	227-228	Madu Ireng	Cukurgondang	91.	109-110	Penci-421	Froe. Plumbon, Cirebon
32.	229-230	Chausa***	Pakistan	92.	111-112	Gandik-429	Pamekasan, Madura
33.	231-232	Duhseri***	Pakistan	93.	115-116	Lalijiwo-91	Kab. Semarang
34.	237-238	Suapeda***	Philipina	94.	117-118	Nanas-93	Kulonprogo, DI Yogyakarta
35.	239-240	Podang Urang	Kediri	95.	119-120	Dodol Pijet-95	Tegal, Pekalongan
36.	247-248	Sindhri***	Pakistan	96.	121-122	Dodol Semar-97	Sumberpanggul, Tegal
37.		Sala-250***	Malaysia	97.	123-124	Dodol Jembar-99	Pohjentrek, Tegal
38.	1-2	Cengkir-103	Indramayu, Cirebon	98.	125-126	Wirosongko-101	Brebes, Pekalongan, Tegal
39.	3-4	Gedong-105	Indramayu, Cirebon	99.	127-128	Gayer-213	Waturaji, Kudus, Semarang
40.	5-6	Budidoyo-107	Cirebon	100.	129-130	Cempora-215	Gandingan-Yogyakarta
41.	7-8	Kebo-109	Kab. Cirebon	101.	131-132	Sengir-231	Sepuh-Selomadu-Surakarta
42.	9-10	Lahang-111	Kab. Cirebon	102.	133-134	Beku-279	Warutugu-Watangsono-Jatiroto
43.	11-12	Dodol Putih-113	Kab. Cirebon	103.	135-136	Krasak-327	Semarang
44.	13-14	Gedong-261	Froeftuin Plumbon, Cirebon	104.	137-138	Dodol Birowo-433	Pohjentrek, Pasuruan
45.	15-16	Kopek Mundu-329	Froe. Plumbon, Cirebon	105.	5-6	Sarekkas-32***	Kalkuta, India
46.	17-18	Glepong-331	Froe. Plumbon, Cirebon	106.	7-8	Daramia-211	Pohjentrek, Pasuruan
47.	19-20	Carang-333	Froe. Plumbon, Cirebon	107.	9-10	Rupee-299***	Britch, India
48.	21-22	Macan-335	Pohjentrek, Pasuruan	108.	11-12	Pierre-305***	Gaers N Queensland
49.	23-24	Manila-337	Pohjentrek, Pasuruan	109.	13-14	Z. Bombay-307***	Modern Nursery Basein Thana, (MNBT), Bombay, India
50.	25-26	Gondoriyo-339	Froe. Plumbon, Cirebon	110.	15-16	Malgoba-309***	MNBT, Bombay, India
51.	27-28	Musuh-341	Pohjentrek, Pasuruan	111.	17-18	Alphonso B-313***	MNBT, Bombay, India
52.	29-30	Gadoh-343	Froe. Plumbon, Cirebon	112.	19-20	Alphonso D-315***	MNBT, Bombay, India
53.	31-32	Banyak-345	Cirebon	113.	21-22	The Pala-435***	MNBT, Bombay, India
54.	33-34	Bembem-347	Cirebon	114.	23-24	Khastras-437***	India
55.	35-36	Dodol Wirosongko-349	Kab. Cirebon	115.	25-26	Bhaokhan-439***	Bombay, India
56.	37-38	Endog Asin-351	Froe. Plumbon, Cirebon	116.	27-28	Neelam-441***	MNBT, Bombay, India
57.	39-40	Ata-Utu-355	Froe. Plumbon, Cirebon	117.	29-30	Mangga Liar***	Taiwan
58.	41-42	Kidang Kencono-357	Froe. Plumbon, Cirebon	118.	31-32	Kalapahar-445***	India
59.	43	Bawang-359	Kab. Cirebon	119.	35-36	Kartikia-449***	India
60.	45-46	Glembo-361	Froe. Plumbon, Cirebon	120.	39-40	Bombay Green-453***	Bombay, India

Tabel 1. Lanjutan.

No.	ID lap**	Aksesi	Asal/keterangan	No.	ID lap**	Aksesi	Asal/keterangan
121.	41-42	All The Year Round of Multon-445***	MNBT, Bombay, India	142.	101-102	Kensington Apple***	Gears N. Queensland (GNQ), Australia
122.	43-44	Bombay Bhuto-457***	Bombay, India	143.	103-104	Paw-paw***	GNQ, Australia
123.	45-46	Safeda Madras-459***	India	144.	105-106	Borkes Exelsior***	GNQ, Australia
124.	47-48	Kalimooku Graft-461***	India	145.	107-108	Maringar***	GNQ, Australia
125.	51-52	Gundoo White-465***	MNBT, Bombay, India	146.	109-110	Kinara***	GNQ, Australia
126.	53-54	Jailor Kilimooku-467***	India	147.	111-112	Peach***	GNQ, Australia
127.	55-56	Gundoo-469***	MNBT, Bombay, India	148.	1	Gedang-209	LBC. Singaraja, Bali
128.	57-58	Bangaloor-471***	Bombay, India	149.	2	Gedang-210	LBC. Singaraja, Bali
129.	61-62	Haden***	Taiwan	150.	3	Haden-217***	USDA, USA
130.	67-68	Mylapuri-481***	India	151.	4	Haden-218***	USDA, USA
131.	69-70	Neelun-483***	MNBT, Bombay, India	152.	5	Cicil-225***	USDA, USA
132.	75-76	Collector-489***	US Dept. of Agric.(USDA), USA	153.	6	Cicil-226***	USDA, USA
133.	77-78	Dil Phasan-491***	MNBT, Bombay, India	154.	8	Royal Palm***	USDA, USA
134.	79-80	Hydar Sahib-493***	India			California-234	
135.	81-82	Yahangir-495***	India	155.	9-10	Carabao-246***	Philipina
136.	83-84	Yalal Sahib-497***	India	156.	11-12	Pico-247***	Philipina
137.	85-86	Yampulu-499***	India	157.	13	Pohutan-249***	Philipina
138.	87-88	Janardhana Prasad-501***	India	158.	14	Pohutan-250***	Philipina
139.	89-90	Kolanka Gova-503***	India	159.	15	Sanih-201	Proeftuin Singaraja, Bali
140.	93-94	Salar Summer-507***	India	160.	16	Sanih-202	Proeftuin Singaraja, Bali
141.	97-98	Bhadooria Dacca***	Bombay, India	161.	17-18	Mangifera Gedebi	Sumatera

* Tabel asli yang didapatkan dari KP Cukurgondang. Data lengkap mangga (termasuk silsilah persilangan) tidak dimiliki oleh KP Cukurgondang, ** ID lapang di KP Cukurgondang (Sala-250 belum ada keterangan ID lapang), *** Mangga introduksi dari luar negeri.

Tabel 2. Daftar sekuen dan tipe pengulangan primer mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini (Duval *et al.*, 2005; Schnell *et al.*, 2005)*.

Primer	Forward**	Reverse	Pengulangan
AY942817***	TAACAGCTTTGCTTGCCTCC	TCCGCCGATAAACATCAGAC	(CT/AG) ₁₄
AY942818	CCACGAATATCAACTGCTGCC	TCTGACACTGCTTCCACC	(CT/AG) ₁₁
AY942819	AAACGAGGAAACAGAGCAC	CAAGTACCTGCTGCAACTAG	(AAC/GTT) ₈
AY942820	AGGTCTTTTATCTTCGGCCC	AAACGAAAAAGCAGCCCA	(TATG/CATA) ₇
AY942821	TGTAGTCTCTGTTTGCTTC	TTCTGTGTCTGCAAACTC	(GTT/AAC) ₆
AY942822	CAACTTGGAACATAGAC	ATACAGGAATCCAGCTTC	(TG/CA) ₉
AY942823	AGAATAAAGGGGACACCAGAC	CCATCATCGCCCACTCAG	(GTTGTGT/ACACAAC) ₃
AY942824***	TTGATGCAACTTTCTGCC	ATGTGATTGTTAGAATGAACCT	(CA/TG) ₉
AY942825	CGAGGAAGAGAAAGATTATGAC	CGAATACCATCCAGCAAAATAC	(CGG/CCT) ₇
AY942827	GTTTTCATTCTCAAAATGTGTG	CTTTCATGTTTATAGATGCAA	(CT/AG) ₁₅
AY942828	CTCGCATTTCTCGCAGTC	TCCCTCCATTTAACCCCTCC	(AG/CT) ₉
AY942829	GAACGAGAATCGGGAAC	GCAAGCATTGAATACAGAG	(GTT/AAC) ₈
AY942830	AACCCATCTAGCCAACCC	TTGACAGTTACCAACCAGAC	(TC/GA) ₁₁ (TA) ₁₀ (CA/TG) ₉ (TA) ₃ (CA/TG)
AY942831	TTTACCAAGCTAGGGTCA	CACTCTTAAACTATCAACCA	(GAT/CT) ₁₅
AJ938175	GCTCTTTCCTTGACCTT	TCAAAATCGTGTCAATTC	(TG) ₁₂
AJ938179	TCGGTCATTTACACCTCT	TTATTGAGCTTCTTTGTGT	(AATA) ₃ (AC) ₈
AJ635165	GATGAAACCAAAGAAGTCA	CCAATAAGAACTCCAACC	(TG) ₁₀
AJ635166	CTTGAAAGAGATTGAGATTG	AGAAGGCAGAAGGTTTAG	(GT) ₈
AJ635168	TTCTAAGGAGTTCTAAATGC	CTCAAGTCCAACATACAATAC	(GT) ₉
AJ635170	GACCAACAAATCCAA	ACTGTGCAAACCAAAG	(AT) ₆ G(TG) ₁₄ (TATG) ₆
AJ635171	TAAAGATAAGATTGGGAAGAG	CGTAAGAAGAGCAAAGGT	(AC) ₁₀
AJ635172	TAGGGATATAGCTGGAGG	ACGCAGTAGAACCTGTG	(TG) ₁₃
AJ635175	TGCGTAAAGCTGTTGACTA	TCATCTCCCTCAGAACA	(GT) ₁₀
AJ635176	GAGGAACATAAAGATGGTG	GACAAGATAAACAACCTGAA	(TG) ₁₁
AJ635180	CCTCAATCTCACTCAACA	ACCCACAATCAAACCTAC	(AC) ₈
AJ635178***	AGCTGTTTTGGCCTT	ATGTGGTTTGTGCTTC	(AT) ₆
AJ635182	GACTTGCAGTTTCTTTT	TCAAGAACCCCATTTG	(AC) ₁₄
AJ635183	CCATTCTCCATCCAAA	TGCATAGCAGAAAGAAGA	(TG) ₈
AJ635187	ATCCCCAGTAGCTTTGT	TGAGAGTTGGCAGTGT	(CA) ₆
AJ938181***	ACCACGAAAAGACAACCTC	TCATCTTTGTTAAATAGGTTAAT	(TG) ₁₁

* Marka yang digunakan sebenarnya berjumlah 30, tetapi empat marka (tanda *** di belakang nama marka) tidak memberikan hasil amplifikasi yang bagus (pita tidak jelas), sehingga hanya 26 marka yang bisa digunakan untuk analisis data, ** Pada sekuen primer forward ditambahkan adaptor untuk primer universal M13, yaitu GTTAAACGACGGCCAGT.

Analisis Data

Ukuran fragmen (*allele calling*) hasil analisis pada CEQ 8000 diolah dengan CEQ *Fragment Analysis Software*. Selanjutnya dilakukan *binning*, yaitu pengelompokan fragmen DNA (alel-alel) berdasarkan jumlah pengulangan motif DNA tertentu (misalnya pengulangan utasan dari dua, tiga, atau empat pasang basa) yang diapit oleh sepasang primer mikrosatelit (Beckman Coulter® CEQ™ 8000).

Jumlah pita, jumlah alel, jumlah alel dominan, jumlah alel jarang, dan jumlah alel sedang, serta nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) dihitung dalam program Microsoft Excel. Jumlah pita didefinisikan sebagai jumlah pita yang dihasilkan dalam satu akses untuk satu primer. Jumlah alel didefinisikan sebagai jumlah pola pita (berdasarkan ukuran pita) yang dihasilkan oleh satu marka. Jumlah alel dominan didefinisikan sebagai jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh lebih dari 30% akses. Jumlah alel jarang didefinisikan sebagai jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh kurang dari 5% akses. Jumlah alel sedang didefinisikan sebagai jumlah alel yang sama (ukurannya sama) yang dimiliki oleh 5-30% akses. Nilai PIC diuraikan sebagai berikut (Hildebrand *et al.*, 1992):

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

PIC = *Polymorphism Information Content*, i = alel ke-i pada marka ke-j, n = jumlah alel pada marka ke-j, p = frekuensi alel.

Analisis gerombol 161 akses plasma nutfah mangga dilakukan berdasarkan tingkat kemiripan alel antar akses, dengan menggunakan rumus jarak genetik yang dideskripsikan oleh Nei *et al.* (1983). Pembenu-

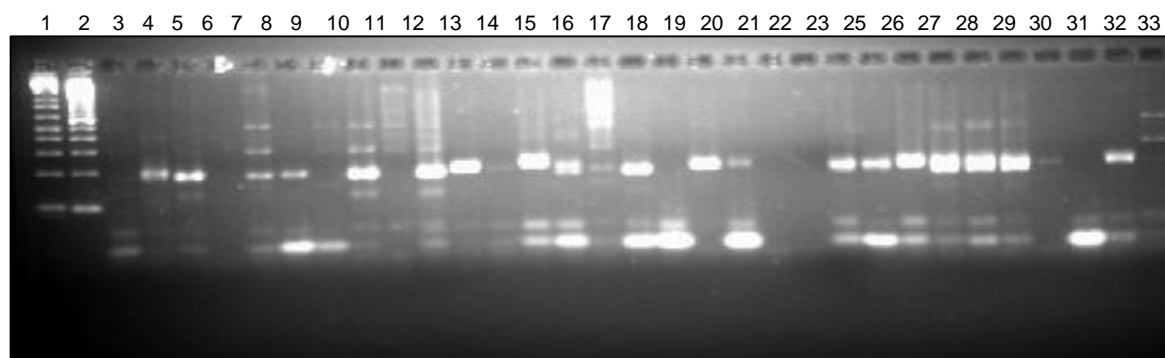
kan pohon filogenetik menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA), dilanjutkan analisis *bootstrap*. Seluruh metode tersebut terdapat dalam program Power Marker V. 3.25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

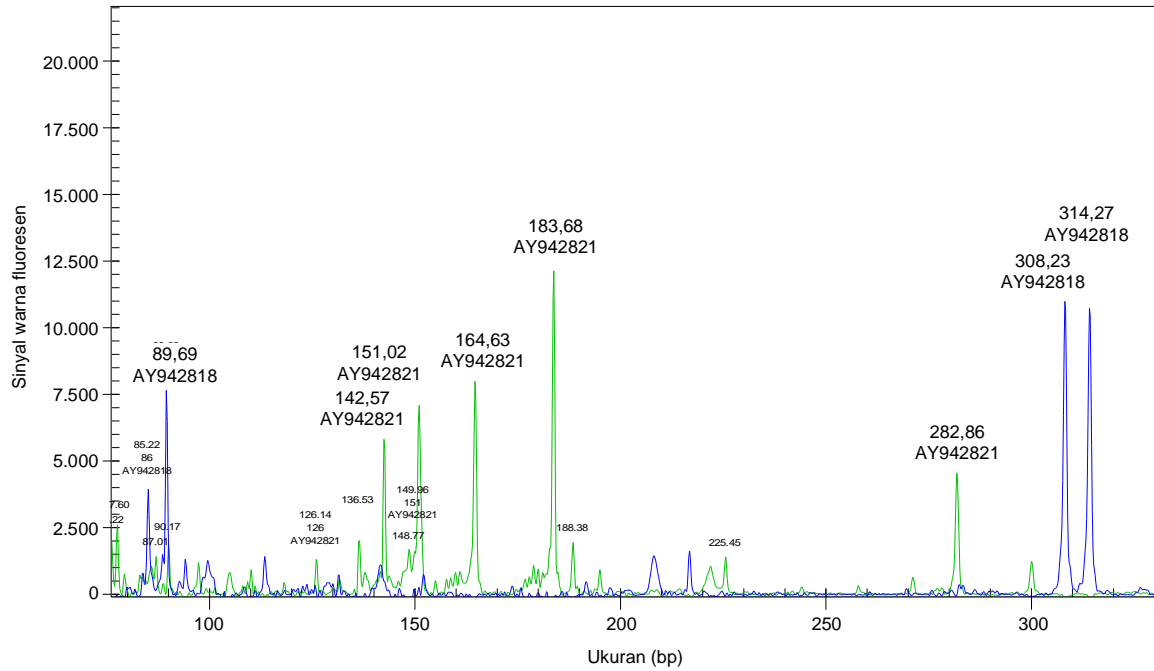
Analisis Fragmen DNA Mangga

Dari 30 pasang primer yang diuji hanya 26 pasang primer yang menghasilkan alel yang dapat diskor. Analisis ukuran fragmen DNA pada mesin CEQ 8000 menghasilkan puncak-puncak (*peaks*) pada layar monitor, yang merupakan alel hasil amplifikasi dari setiap primer dan akses yang digunakan. Pada penelitian ini didapatkan jumlah alel yang beragam (Gambar 1 dan 2).

Tabulasi pita DNA untuk masing-masing marka dapat dilihat dalam Tabel 3. Dari hasil analisis terhadap 161 akses mangga menggunakan 26 marka mikrosatelit didapatkan 1006 alel dengan ukuran 70-390 bp. Jumlah pita yang dihasilkan 1-4 pita dengan jumlah alel bervariasi, berkisar dari 15 alel (marka AY942821 dan AY942823) sampai 72 alel (marka AJ635170). Mangga termasuk tanaman diploid (2n), sehingga pita hasil amplifikasi menggunakan marka mikrosatelit yang dihasilkan tiap genotipe umumnya satu atau dua. Pada penelitian ini jumlah pita yang dihasilkan ada yang mencapai empat (marka AJ938175, AJ635183, dan AY942821). Kejadian seperti ini sering terjadi juga pada tanaman yang menyerbuk sendiri, seperti padi (Tasliyah *et al.*, 2011; Utami *et al.*, 2011) dan kedelai (Chaerani *et al.*, 2011). Kejadian mutasi pada sekuens mikrosatelit disinyalir menyebabkan terjadinya perbedaan panjang daerah mikrosatelit yang diapit oleh kedua primer F dan R. Hasil mutasi ini bisa



Gambar 1. Pola pita hasil amplifikasi beberapa akses mangga menggunakan marka AJ635168 yang dipisahkan menggunakan gel agarosa 4%. 1 = 1 kb DNA ladder, 2 = 100 bp DNA ladder, 3 = Neelum-483, 4 = Collector-489, 5 = Dil Phasan-491, 6 = Hydar Sahib-493, 7 = Yahangir-495, 8 = Yalal Sahib-497, 9 = Yampulu-499, 10 = Janardhana Prasad-501, 11 = Kolanka Gova-503, 12 = Salar Summer-507, 13 = Bhadooria Dacca, 14 = Kensington Apple, 15 = Paw-paw, 16 = Borkes Exelsior, 17 = Maringar, 18 = Kinara, 19 = Peach, 20 = Gedang-209, 21 = Gedang-210, 22 = Haden-217, 23 = Haden-218, 24 = Cicil-225, 25 = Cicil-226, 26 = Royal Palm California-234, 27 = Carabao, 28 = Pico-247, 29 = Pohutan-249, 30 = Pohutan-250, 31 = Sanih-201, 32 = Sanih-202, 33 = Mangifera Gedebi.



Gambar 2. Hasil pemisahan produk PCR mangga Gadung-21 menggunakan marka AY942821 (warna hijau) dan AY942818 (warna biru) pada mesin Beckman Coulter® CEQ™ 8000.

Tabel 3. Keragaman alel pada 26 lokus mikrosatelit pada 161 aksesi mangga.

Marka	Ukuran pita (bp)	Jumlah pita	Jumlah alel	Jumlah alel dominan (>30%)	Jumlah alel jarang (<5%)	Jumlah alel sedang (5-30%)	Nilai PIC*
AJ938179	100-213	1-2	25	0	15	10	0,730
AJ938175	101-365	1-4	30	1	25	4	0,684
AY942830	77-272	1-3	27	3	21	3	0,306
AY942822	124-294	1-2	25	2	20	3	0,545
AJ635180	102-374	1-3	43	2	35	6	0,542
AJ635183	108-369	1-4	40	1	35	4	0,545
AY942821	124-301	1-4	15	2	9	4	0,128
AY942818	86-315	1-3	22	2	16	4	0,533
AJ635182	132-354	1-2	21	2	17	4	0,492
AY942827	123-348	1-2	24	2	17	5	0,487
AJ635166	81-336	1-2	40	1	31	7	0,615
AJ635176	107-249	1-2	21	2	17	2	0,021
AJ635172	93-264	1-2	21	1	13	7	0,474
AY942828	82-385	1-2	31	2	24	5	0,252
AY942831	101-249	1-3	49	1	39	9	0,660
AY942829	99-370	1-3	54	3	46	5	0,568
AY942819	100-390	1-2	23	2	17	4	0,337
AY942823	85-260	1-3	15	1	11	3	0,370
AJ635175	71-375	1-3	54	0	41	13	0,792
AY942825	88-379	1-3	75	0	72	3	0,949
AJ635165	100-377	1-3	70	0	59	11	0,904
AJ635187	87-385	1-3	52	1	40	11	0,466
AJ635168	86-350	1-5	35	1	25	9	0,403
AJ635171	70-387	1-3	56	1	50	5	0,839
AY942820	76-326	1-3	66	0	55	11	0,864
AJ635170	73-382	1-3	72	1	65	6	0,730
Kisaran	70-390	1-5	15-75	0-3	9-72	2-13	0,021-0,949
Rataan			38,69	1,31	31,35	6,08	0,548

* Polymorphism Information Content.

dipindahkan oleh peristiwa pindah silang saat tanam-an akan melakukan reproduksi (Oliveira *et al.*, 2006). Pada tanaman mangga dengan tipe penyerbukan silang memungkinkan terjadinya integrasi beberapa daerah mikrosatelit yang berbeda panjangnya pada satu individu. Peristiwa yang telah terjadi puluhan atau ratusan tahun yang lalu terdeteksi pada analisis molekuler ini. Petani yang menanam mangga dengan sistem sambung tentu saja tetap menggunakan batang atas dari mangga yang telah mengalami proses mutasi dan rekombinasi sekian ratus tahun yang lalu.

Jumlah alel yang dihasilkan mencerminkan pola pita yang dihasilkan dari masing-masing genotipe mangga tersebut. Jumlah alel yang diperoleh kemungkinan berhubungan dengan tingkat resolusi separasi DNA yang digunakan. Pada analisis kekerabatan mangga yang menggunakan marka mikrosatelit dengan metode separasi menggunakan gel agarosa atau gel metafora, jumlah alel yang dihasilkan tidak lebih dari sepuluh (Begum *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2012; Surapaneni *et al.*, 2013; Viruel *et al.*, 2005).

Pada penggunaan primer mikrosatelit berlabel pada mangga, jumlah alel yang dihasilkan meningkat lebih dari sepuluh (Schnell *et al.*, 2006). Pada penggunaan alat yang sama (Beckman Coulter® CEQ™ 8000), dihasilkan alel dengan jumlah banyak seperti pada padi (Utami *et al.*, 2011) sebanyak 21 alel, kedelai (Chaerani *et al.*, 2011) sebanyak 16 alel, dan ubi jalar (Hidayatun *et al.*, 2011) sebanyak 36 alel. Perbedaan alat untuk mendeteksi label berwarna tersebut akan mempengaruhi perbedaan jumlah alel yang dihasilkan. Alat CEQ 8000 yang digunakan dalam penelitian ini bisa mendeteksi perbedaan walaupun hanya satu basa. Keragaman plasma nutfah mangga yang digunakan juga mempengaruhi jumlah alel. Pada penelitian studi kekerabatan mangga yang pernah dilakukan, jumlah sampel yang digunakan kurang dari 100 sampel dengan tingkat keragaman yang tidak terlalu besar (Begum *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2012; Schnell *et al.*, 2006; Viruel *et al.*, 2005), sedangkan jumlah sampel mangga yang digunakan dalam penelitian ini mencapai 161 genotipe dengan beragam latar belakang genetiknya. Jumlah dan keragaman sampel yang besar inilah yang menyebabkan jumlah alel yang didapatkan banyak bahkan mencapai 75 buah. Penelitian Utami *et al.* (2012), yang menggunakan 15 primer berlabel dan 19 akses mangga pada alat CEQ 8000, menunjukkan jumlah alel yang hanya 2-5, hal ini menunjukkan jumlah marka, jumlah sampel, dan variasi mangga sangat menentukan jumlah alel yang dihasilkan.

Nilai PIC pada awalnya diperkenalkan oleh Botstein *et al.* (1980) pada saat membuat peta keterpautan pada manusia menggunakan marka RFLP.

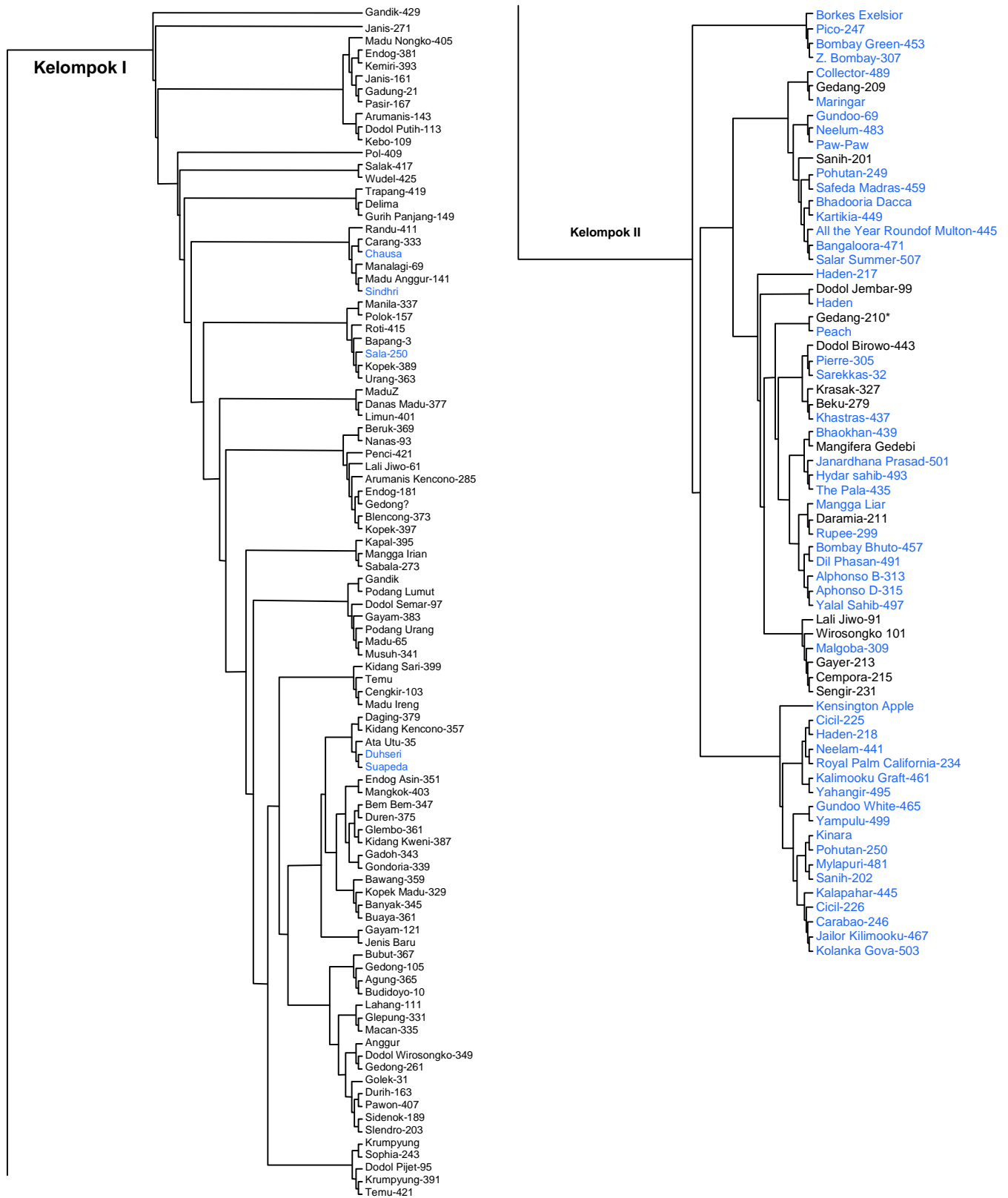
Nilai PIC ini didefinisikan sebagai nilai yang menginformasikan tingkat polimorfisme suatu marka yang digunakan. Rumus yang digunakan juga masih panjang, yang kemudian disederhanakan (Hildebrand *et al.*, 1992), seperti yang diuraikan pada bagian bahan dan metode. Kriteria nilai PIC menurut Botstein *et al.* (1980) adalah sangat informatif ($PIC > 0,5$), informasi sedang ($0,5 > PIC > 0,25$) dan kurang informatif ($PIC < 0,25$). Hildebrand *et al.* (1992) membatasi $PIC > 0,7$ bersifat sangat informatif, sedangkan yang berada pada kisaran 0,44-0,7 memiliki kriteria sedang.

Nilai PIC tertinggi pada penelitian ini ditunjukkan oleh marka AY942825, yaitu 0,949, sedangkan yang terendah ditunjukkan oleh marka AY635176, yaitu 0,021 (Tabel 3). Dari 26 marka yang digunakan, 15 marka menghasilkan PIC lebih besar dari 0,5 (berkisar antara 0,533-0,949). Marka-marka ini merupakan marka yang informatif karena memberikan variasi alel yang besar. Pada pembagian distribusi alel terdapat beberapa marka yang tidak menghasilkan alel dominan. Marka AJ938179, AJ635175, AY942825, AJ635165, dan AY942820, tidak memiliki alel dominan dengan nilai PIC berkisar antara 0,73-0,949. Marka yang memiliki alel dominan memiliki nilai PIC berkisar antara 0,021-0,839.

Analisis Gerombol 161 Plasma Nutfah Mangga

Pengelompokan 161 akses plasma nutfah mangga di Indonesia menggunakan 26 marka mikrosatelit disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis gerombol menggunakan metode UPGMA menghasilkan dua kelompok (Gambar 3). Kelompok I terdiri atas 95 akses, yaitu 90 akses (94,74%) asli Indonesia dan lima akses (5,26%) mangga introduksi. Mangga introduksi tersebut berasal dari beberapa negara, seperti Pakistan, Malaysia, dan Filipina (Tabel 4). Kelompok II terdiri atas 66 akses, yaitu 14 akses (21,21%) asli Indonesia dan lima akses (7,58%) mangga introduksi. Mangga introduksi pada kelompok II ini berasal dari India, Taiwan, USA, Australia, dan Filipina (Tabel 4).

Mangga Indonesia terpusat pada kelompok I, sebagian kecil masuk ke dalam kelompok II. Mangga-mangga introduksi terpusat pada kelompok II. Pemisahan mangga introduksi ini juga terjadi pada studi kekerabatan mangga India, yaitu kelompok mangga Florida (USA) yang terpisah dengan mangga India (Samant *et al.*, 2010). Hal yang sama juga didapatkan dari berbagai negara dengan berbagai jenis iklim. Hal ini menunjukkan perbedaan habitat akan mempengaruhi perbedaan genetik tanaman mangga pada penelitian Schnell *et al.* (2006) dengan marka mikrosatelit yang dapat memisahkan mangga-mangga. Perbedaan mangga di dalam satu wilayah/negara yang memiliki iklim yang berbeda, seperti di India, ternyata tidak ter-



Gambar 3. Pengelompokan 161 varietas mangga menggunakan koefisien kesamaan Nei *et al.* (1983) dan metode UPGMA yang dilanjutkan dengan analisis *bootstrap* pada program *PowerMarker*. Warna biru menunjukkan mangga introduksi.

Tabel 4. Hasil pengelompokan 161 akses mangga berdasarkan 26 marka mikrosatelit.

Kelompok	Genotipe
I (95)	Gandik-429, Janis-271*, Madu Nongko-405*, Endog-381*, Kemiri-393*, Janis-161*, Gadung-21, Pasir-167, Arumanis-143*, Dodol Putih-113*, Kebo-109, Pol-409, Salak-417, Wudel-425*, Trapang-419*, Delima*, Gurih Panjang-149, Randu-411*, Carang-333*, <i>Chausa</i> , Manalagi-69*, Madu Anggur-141*, <i>Sindhri</i> , Manila-337, Polok-157, Roti-415, Bapang-3, <i>Sala-250</i> , Kopek-389, Urang-363, MaduZ*, Danas Madu-377*, Limun-401, Beruk-369*, Nanas-93, Penci-421, Lali Jiwo-61, Arumanis Kencono-285, Endog-181*, Gedong?*, Blencong-373*, Kopek-397, Kapal-395, Mangga Irian, Sabala-273*, Gandik, Podang Lumut, Dodol Semar-97, Gayam-383, Podang Urang, Madu-65*, Musuh-341, Kidang Sari-399*, Temu, Cengkir-103, Madu Ireng, Daging-379*, Kidang Kencono-357, Ata Utu-355, <i>Duhseri</i> , <i>Suapeda</i> , Endog Asin-351, Mangkok-403, Bem Bem-347, Duren-375, Glembo-361, Kidang Kweni-387*, Gadoh-343, Gondoria-339, Bawang-359*, Kopek Madu-329, Banyak-345, Buaya-361, Gayam-121, Jenis Baru, Bubut-367, Gedong-105*, Agung-365, Budidoyo-107, Lahang-111, Glepung-331, Macan-335*, Anggur, Dodol Wirosongko-349*, Gedong-261*, Golek-31*, Durih-163*, Pawon-407, Sidenok-189*, Slendro-203, Krumpyung*, <i>Sophia-243*</i> , Dodol Pijet-95, Krumpyung-391*, Temu-421.
II (66)	<i>Borkes Exelsior</i> , <i>Pico-247</i> , <i>Bombay Green-453</i> , <i>Z. Bombay-307</i> , <i>Collector-489</i> , Gedang-209, <i>Maringar</i> , <i>Gundoo-69</i> , <i>Neelum-483</i> , <i>Paw-Paw</i> , <i>Sanih-201</i> , <i>Pohutan-249</i> , <i>Safeda Madras-459</i> , <i>Bhadooia Dacca</i> , <i>Kartikia-449</i> , <i>All the Year Round of Multon-445</i> , <i>Bangaloor-471</i> , <i>Salar Summer-507</i> , <i>Haden-217</i> , <i>Dodol Jembar-99*</i> , <i>Haden</i> , <i>Gedang-210*</i> , <i>Peach</i> , <i>Dodol Birowo-443</i> , <i>Pierre-305</i> , <i>Sarekkas-32</i> , <i>Krasak-327*</i> , <i>Beku-279</i> , <i>Khastras-437</i> , <i>Bhaokhan-439</i> , <i>Mangifera Gedebi</i> , <i>Janardhana Prasad-501</i> , <i>Hydar sahib-493</i> , <i>The Pala-435</i> , <i>Mangga Liar</i> , <i>Daramia-211</i> , <i>Ruppee-299</i> , <i>Bombay Bhuto-457</i> , <i>Dil Phasan-491</i> , <i>Alphonso B-313</i> , <i>Aphonso D-315</i> , <i>Yalal Sahib-497</i> , <i>Lali Jiwo-91</i> , <i>Wirosongko 101*</i> , <i>Malgoba-309</i> , <i>Gayer-213</i> , <i>Cempora-215*</i> , <i>Sengir-231*</i> , <i>Kensington Apple</i> , <i>Cicil-225</i> , <i>Haden-218</i> , <i>Neelam-441</i> , <i>Royal Palm California-234</i> , <i>Kalimooku Graft-461</i> , <i>Yahangir-495</i> , <i>Gundoo White-465</i> , <i>Yampulu-499</i> , <i>Kinara</i> , <i>Pohutan-250</i> , <i>Mylapuri-481</i> , <i>Sanih-202</i> , <i>Kalapahar-445</i> , <i>Cicil-226</i> , <i>Carabao-246</i> , <i>Jailor Kilimooku-467</i> , <i>Kolanka Gova-503</i> .

Huruf warna hitam adalah varietas Indonesia, biru adalah varietas introduksi. * Sudah ada deskripsinya (Sutanto *et al.*, 2005).

lalu jelas (Srivastava *et al.*, 2012). Penelitian Surapaneni *et al.* (2013), terhadap 90 genotipe mangga menggunakan 143 marka mikrosatelit, membagi 90 genotipe menjadi dua kelompok utama. Pada penggunaan sampel mangga dan marka yang sedikit kelompok yang dihasilkan semakin banyak, seperti pada penelitian Utami *et al.* (2012) yang menggunakan 15 primer berlabel dan 19 akses mangga kelompok yang dihasilkan tujuh kelompok. Hal ini menunjukkan semakin banyak marka yang digunakan, hasil yang diperoleh akan semakin bagus. Pengelompokan yang dihasilkan akan semakin halus.

Mangga yang populer di Indonesia, seperti Gedong (ada tiga akses), mengelompok ke dalam kelompok I. Hal ini berarti komposisi genetik mangga Gedong tersebut belum banyak berubah. Demikian pula dengan akses Arumanis-143 dan Arumanis Kencono-285 yang mengelompok menjadi satu kelompok. Gedang-209 dan Gedang-210 mengelompok di kelompok II, sehingga dapat dipastikan keduanya berkerabat dekat. Walaupun mangga lokal Indonesia terpusat pada kelompok I, namun di dalam kelompok tersebut banyak sekali kelompok-kelompok kecil yang menggambarkan keragaman mangga Indonesia. Apabila mangga Indonesia dibuat kelompok sendiri, terlihat lebih dari sepuluh kelompok bisa dihasilkan dari pengelompokan tersebut. Hal ini menunjukkan mangga Indonesia sebetulnya sangat beragam.

KESIMPULAN

Marka mikrosatelit yang cukup informatif untuk penelitian mangga Indonesia berjumlah 15 marka, yaitu AJ938179, AJ938175, AY942822, AJ635180, AJ635183, AY942818, AJ635166, AY942831, AY942829, AJ635175, AY942825, AJ635165, AJ635171, AY942820,

dan AJ635170. Jumlah alel yang dihasilkan dari 26 marka mikrosatelit yang diuji berada pada kisaran 15-75, dengan rata-rata nilai PIC 0,548 (0,021-0,949).

Analisis gerombol membagi akses mangga yang diuji ke dalam dua kelompok besar, masing-masing terdiri atas 95 dan 66 akses, yaitu kelompok I didominasi oleh mangga asli Indonesia, sedangkan kelompok II didominasi oleh mangga introduksi. Sebanyak 90 akses mangga asli Indonesia (84,11% dari akses mangga Indonesia) terpisah dari akses mangga introduksi. Akses mangga dalam masing-masing kelompok terbagi-bagi lagi menjadi banyak cabang-cabang kecil dengan anggota kelompok akses yang lebih kecil, yang menunjukkan adanya keragaman pada mangga Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek ABPN BB Biogen dengan kode DIPA 1798.016.011. Ucapan terima kasih disampaikan kepada pengelola Kebun Koleksi Mangga di KP Cukurgondang, Jawa Timur.

DAFTAR PUSTAKA

- Adato, A., D. Sharon, and U. Lavi. 1995. Application of DNA fingerprints for identification genetic analyses of mango (*Mangifera indica*) genotypes. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 120(2):259-264.
- Begum, H., M.T. Reddy, S. Malathi, B.P. Reddy, S. Areahk, J. Nagaraju, and E.A. Siddiq. 2012. Molecular analysis for genetic distinctiveness and relationships of indigenous landraces with popular cultivars of mango (*Mangifera indica* L.) in Andhra Pradesh, India. *AAJPSB* 6(1):4-37.
- Bhargava, R. and R. Khorwal. 2011. Molecular characterization of *Mangifera indica* by using RAPD marker. *Indi. J. Fund. Appl. Life Sci.* 1(1):47-49.

- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- Chaerani, N. Hidayatun, dan D.W. Utami. 2011. Keragaman genetik 50 aksesori plasma nutfah kedelai berdasarkan sepuluh penanda mikrosatelit. *J. AgroBiogen* 7(2):96-105.
- Chiang, Y.C., C.M. Tsai, Y.K.H. Chen, S.R. Lee, C.H. Chen, Y.S. Lin, and C.C. Tsai. 2012. Development and characterization of 20 new polymorphic microsatellite markers from *Mangifera indica* (Anacardiaceae). *Am. J. Bot.*:e117-e119.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Duval, M.F., J. Bunel, C. Sitbon, and A.M. Risterucci. 2005. Development of microsatellite markers for mango (*Mangifera indica*). *Mol. Ecol. Notes* 5:824-826.
- Fitmawati, A. Hartana, and B.S. Purwoko. 2010. Diversity of Indonesian mango (*Mangifera indica*) cultivars based on morphological and RAPD markers. *Sabrao J. Breed. Genet.* 42(2):84-95.
- Hidayatun, N., Chaerani, dan D.W. Utami. 2011. Sidik jari DNA 88 plasma nutfah ubi jalar di Indonesia berdasarkan delapan penanda SSR. *J. AgroBiogen* 7(2):119-127.
- Hildebrand, E., D.C. Torney, and R.P. Wagner. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science* 20:100-102.
- Hirano, R., T.H. Oo, and K.N. Watanabe. 2010. Myanmar mango landraces reveal genetic uniqueness over common cultivars from Florida, India, and Southeast Asia. *Genome* 53:321-330.
- Honsho, C., K. Nishiyama, W. Eiadthong, and K. Yonemori. 2005. Isolation and characterization of new microsatellite markers in mango (*Mangifera indica*). *Mol. Ecol. Notes* 5:152-154.
- Kosman, E. and K.J. Leonard. 2005. Similarity coefficients for molecular markers in studies of genetic relationships between individuals for haploid, diploid, and polyploid species. *Mol. Ecol.* 14:415-424.
- Nei, M., F. Tajima, and Y. Tateno. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J. Mol. Evol.* 19(2):53-70.
- Oliveira, E.J., J.G. Pádua, M.I. Zucchi, R. Vencovsky, and M.L.C. Vieira. 2006. Origin, evolution, and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Biol.* 29(2):294-307.
- Pandit, S.S., S. Mitra, A.P. Giri, K.H. Pujari, B.P. Patil, N.D. Jambhale, and S. Gupta. 2007. Genetic diversity analysis of mango cultivars using inter simple sequence repeat markers. *Curr. Sci.* 93(8):1135-1141.
- Prasetyono, J. dan Tasliyah. 2004. Marka mikrosatelit: marka molekuler yang menjanjikan. *Buletin AgroBio* 6(2):41-47.
- Purnomo, S. 1987. Eksplorasi Mangga Liar di Kalimantan. Balai Penelitian Hortikultura Solok. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Deptan. No. 22. 42 hlm.
- Ribeiro, D.S.I.C., F.P.L. Neto, and C.A. Santos. 2012. Allelic database and accession divergence of a Brazilian mango collection based on microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 11(4):4564-4574.
- Samant, D., A.K. Singh, M. Srivastava, and N.K. Singh. 2010. Assessment of genetic diversity in mango using inter-simple sequence repeat markers. *Indian J. Hort.* 67:1-8.
- Schnell, R.J., C.T. Olanco, W.E. Quintanilla, and A.W. Meerow. 2005. Isolation and characterization of 15 microsatellite loci from mango (*Mangifera indica* L.) and cross-species amplification in closely related taxa. *Mol. Ecol. Notes* 5:625-627.
- Schnell, R.J., J.S. Brown, C.T. Olanco, A.W. Meerow, R.J. Campbell, and D.N. Kuhu. 2006. Mango genetic diversity analysis and pedigree inferences for Florida cultivars using microsatellite markers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 131(2):214-224.
- Srivastava, N., A. Bajpal, R. Chandra, S. Rajan, M. Muthukumar, and M.K. Srivastava. 2012. Comparison of PCR based marker systems for genetic analysis in different cultivars of mango. *J. Environ. Biol.* 33:159-166.
- Surapaneni, M., L.R. Vemireddy, H. Begum, B.P. Reddy, C. Neetasi, J. Nagaraju, S.Y. Anwar, and E.A. Siddiq. 2013. Population structure and genetic analysis of different utility types of mango (*Mangifera indica* L.) germplasm of Andhra Pradesh state of India using microsatellite markers. *Plant. Syst. Evol.* 299:1215-1229.
- Sutanto, A., H.S. Edison, S. Purnomo, U. Rusdianto, dan A.R. Effendy. 2005. Deskripsi Beberapa Aksesori Mangga. Balai Penelitian Tanaman Buah. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta. hlm. 1-35.
- Tasliyah, J. Prasetyono, A. Dadang, M. Bustamam, dan S. Moeljopawiro. 2011. Studi agronomis dan molekuler padi umur genjah dan sedang. *Berita Biologi* 10(5):663-673.
- Thomson, M.J. 2004. Microsatellite fragment sizing on the CEQ 8000: BB Biogen standard operating procedure series. Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development. Bogor. Indonesia. p. 1-10.
- Utami, D.W., Sutoro, N. Hidayatun, A. Risliawati, dan I.H. Somantri. 2011. Keragaman genetik 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR terpaut gen pengatur waktu pembungaan (*Hd* genes). *J. AgroBiogen* 7(2):76-84.
- Utami, D.W., T.J. Santoso, dan N. Hidayatun. 2012. Sidik jari DNA plasma nutfah mangga berdasarkan analisis fragmen marka SSR (*Simple Sequence Repeat*) berlabel. *J. Hort. Indonesia* 3(1):49-57.
- Viruel, M.A., P. Escibano, M. Barbieri, M. Ferri, and J.I. Hormaza. 2005. Fingerprinting, embryo type and geographic differentiation in mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) with microsatellites. *Mol. Breed.* 15:383-393.
- Wahdan, M.T., A.Z. Abdelsalam, A.A. El-Naggar, and M.A. Hussein. 2011. Preliminary horticultural studies to describe and identify of two new Egyptian mango strains using DNA fingerprint. *J. Am. Sci.* 7(2):641-65.