Analisis Diversitas dan Paternitas Progeni F_1 Hasil Persilangan Arumanis 143 x Mangga Merah Menggunakan Marka Mikrosatelit *(Analysis of Diversity and Paternity of F_1 Progeny from Crossing Arumanis 143 x Red Mangoes Using Microsatellite Markers)*

Santoso, PJ[1)], Djamas, N[2)], Rebin[1)], dan Pancoro, A[2)]
[1)]Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl. Raya Solok-Aripan Km. 8, Solok 27301, Sumatera Barat
[2)]Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati-ITB, Jl. Ganeca 10 Bandung
E-mail: jarot305@yahoo.com
Naskah diterima tanggal 12 Mei 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 5 September 2014

ABSTRAK. Preferensi pasar terhadap mangga (*Mangifera indica* L.) yang bergeser dari buah berkulit hijau ke buah berkulit merah, telah mendorong dilakukannya program pemuliaan untuk merakit varietas yang sesuai. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika telah melaksanakan kegiatan persilangan Arumanis 143 x mangga merah dan telah menghasilkan 63 progeni F_1. Penelitian ini bertujuan menganalisis diversitas dan paternitas tetua dan progeni menggunakan marka mikrosatelit. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung dari bulan Mei 2009 sampai April 2010. Enam pasang primer berlabel 6-FAM dirancang dan disintesis untuk mengamplifikasi daerah mikrosatelit pada genom mangga. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus yang digunakan memiliki tingkat informasi yang tinggi dan sesuai untuk studi keragaman mangga. Persilangan tetua berjarak genetik jauh menghasilkan progeni dengan keragaman yang tinggi antarprogeni maupun dengan tetua. Persilangan antara pasangan tetua yang berjarak genetik dekat menghasilkan progeni yang memiliki kedekatan jarak genetik terhadap salah satu tetua. Persilangan tetua resiprokal menghasilkan progeni yang memiliki jarak genetik berdekatan. Populasi tetua mangga menunjukkan tingkat heterozigositas yang tinggi sehingga secara umum progeni F_1 hasil persilangan memiliki keragaman yang tinggi dan berpotensi menghasilkan varietas baru dari penggabungan karakter unggul Arumanis 143 dan mangga merah.

Katakunci: *Mangifera indica*; Progeni F_1; Arumanis 143; Mangga merah; Mikrosatelit

ABSTRACT. Market preference of mango (*Mangifera indica* L.) that changed from green skin fruit to the red skin one has drive breeding program to create variety to meet the market preference. Indonesian Tropical Fruit Research Institute has conducted crossing activities among Arumanis 143 x red skin mango and produces 63 F_1 progenies. This research was aimed to analyse the diversity and paternity of parents and their off-springs using microsatellite markers. The research was conducted at Plant Genetics Laboratory, School of Life Science and Technology, ITB from May 2009 to April 2010. Six pair of 6-FAM labeled primers were designed and synthesized to amplify microsatellite region in mango's genome. Crossing among parents with long genetic distance produce progenies with high genetic variability among them and their parents. Crossing among parents with close genetic distance produced progenies with close genetic distance to one of the parents. Reciprocal crosses parents pairs progenies with close genetic distance of reciprocal parent pairs. This population analized are demonstrating high heterozigosity, hence the F_1 progeny, in general, have high genetic variation which convey expectancy to obtain new mango variety as a result of combination of superior characters from Arumanis 143 and red skin mangoes.

Keywords: *Mangifera indica*; F_1 progeny; Arumanis 143; Red skin mango; Microsatellite

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu komoditas buah unggulan Indonesia setelah pisang dan jeruk. Total produksi di tahun 2004 mencapai 1,44 juta ton, dan selama 8 tahun berikutnya produksi terus meningkat menjadi 2,34 juta ton pada tahun 2012(Kementerian Pertanian 2013). Peningkatan produksi secara nyata ini tidak lepas dari meningkatnya penggunaan varietas unggul. Dari 18 varietas unggul mangga yang telah dilepas oleh Kementerian Pertanian (Rebin & Santoso 2009), Arumanis 143 (AR 143) merupakan varietas yang paling banyak ditanam hingga sebagian produksi buahnya diekspor ke berbagai negara. Mangga AR 143 terkenal memiliki ciri khas rasa yang manis segar, daging berwarna orange, serta warna kulit tetap hijau saat buah telah matang.

Permintaan pasar terhadap buah mangga telah berubah dari warna kulit hijau kepada kulit berwarna merah yang lebih menarik. Keadaan ini mendorong dilaksanakannya perakitan varietas unggul baru dengan kualitas organoleptik seperti AR 143 dan memiliki kulit berwarna merah. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika sejak tahun 1998 hingga 2004 telah melakukan persilangan antara AR 143 dengan 10 aksesi mangga berkulit merah (Haden, Kensington Apple, Irwin, Saigon, Kirsapati Maldah, Marifta, Delima, Gedong Gincu, Liar, dan Keitt) koleksi Kebun Percobaan Cukurgondang (Purnomo *et al.* 2002, Karsinah *et al.* 2003, Anwaruddinsyah *et al*. 2004). Dari persilangan tersebut telah diperoleh 63 progeni F_1.

Hambatan terbesar yang muncul dalam mengevaluasi turunan F_1 mangga ialah masa juvenilnya yang cukup panjang sehingga pemuliaan tanaman mangga memerlukan waktu yang sangat lama dan biaya yang sangat besar bila dikerjakan menggunakan teknik pemuliaan konvensional. Oleh karena itu diperlukan

strategi yang dapat membantu mempercepat program pemuliaan mangga dengan menggunakan penanda molekuler (Krishna & Singh 2007, Panditi *et al*. 2007). Salah satu penanda molekuler yang berkembang sangat pesat adalah *simple sequence repeats* (SSR) yang juga dikenal dengan mikrosatelit.

Mikrosatelit ialah bagian DNA yang mengandung pengulangan satu sampai enam basa nukleotida dan terdapat di sebagian besar genom spesies eukariot (Liu 1998). Mikrosatelit bersifat multialelik, diturunkan secara kodominan, mudah dideteksi melalui PCR, memiliki jumlah yang relatif banyak dan tersebar secara luas dalam genom, dalam pelaksanaannya hanya membutuhkan DNA dalam jumlah sedikit dan aplikasinya dapat diotomatisasi (Ritschel *et al.* 2004, Valdes-Infante *et al.* 2007, Ottewell *et al.* 2005). Marka ini juga mampu untuk mendeteksi kontribusi paternal dan studi sistem persilangan pada populasi alami (Ottewell *et al.* 2005).

Penanda mikrosatelit telah banyak digunakan untuk membantu kegiatan pemuliaan berbagai tanaman, antara lain untuk identifikasi QTL sifat pembungaan pada mawar (Oyant *et al.* 2007), pemetaan gen pada beberapa tanaman seperti jeruk (Luro *et al.* 2008), melon (Ritschel *et al.* 2004), dan kelapa sawit (Bilotte *et al.* 2005, Singh *et al.* 2007), serta untuk pengkajian hubungan evolusi pada tanaman padi (Parida *et al.* 2009). Berdasarkan karakteristik dan luasnya cakupan penerapan penanda mikrosatelit maka diharapkan teknik ini dapat digunakan untuk mengevaluasi progeni F_1 hasil persilangan AR 143 x mangga merah sebagai dasar untuk kegiatan persilangan generasi selanjutnya.

Penelitian ini bertujuan melakukan analisis keragaman genetik dan paternitas tetua dan progeni F_1 hasil persilangan Arumanis 143 x mangga merah menggunakan marka mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Tempat, Waktu, dan Bahan Tanaman

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung dari bulan Mei 2009 sampai April 2010. Sampel yang digunakan adalah varietas Arumanis 143, sembilan aksesi mangga berkulit merah yaitu Haden, Kensington Apple, Irwin, Saigon, Kirsapati Maldah, Delima, Gedong Gincu, Liar, dan Keitt, serta 63 progeni F_1 hasil persilangan di Kebun Percobaan Cukurgondang, Pasuruan (Tabel 1).

Isolasi DNA dan Merancang Primer Mikrosatelit

Isolasi DNA genom dari daun mangga muda dilakukan dengan menggunakan metode Doyle & Doyle (1990), yang merupakan metode berbasis CTAB dan dimodifikasi dengan penambahan 5 mg PVP 360 setiap 100 mg sampel daun. Isolasi dilaksanakan berdasarkan teknik preparasi mini menggunakan mikrotube 1,5 ml.

Lokus mikrosatelit mangga yang digunakan diunduh dari bank gen NCBI. Dari sekuens pustaka genom yang diperoleh, kemudian dilakukan perancangan primer dengan bantuan *soft-ware online Primer-3*. Enam pasang primer yang mengapit daerah mikrosatelit dan karakteristiknya ditampilkan pada Tabel 2.

Amplifikasi DNA dilaksanakan secara *touchdown* berdasarkan protokol Schuelke (2000) terhadap 20 ul *reagent mix* yang terdiri atas 100 ng DNA template, 0,2 uM dNTPs mix, 2,5 uM $MgCl_2$, 0,2 uM primer *forward* yang telah ditempeli sekuen M13, 1 uM primer *reverse*, 1 uM primer universal M13 berlabel *fluorescent 6*-FAM, dan 1,25 unit taq polymerase.

Reaksi PCR terdiri atas predenaturasi pada suhu 94^{o}C selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan dua siklus awal terdiri atas denaturasi pada suhu 94^{o}C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 56^{o}C selama 30 detik dan elongasi pada suhu 72^{o}C selama 30 detik. Selanjutnya siklus kedua secara *touchdown* dengan suhu *annealing* dari primer yang terus menurun sebanyak 0,5^{o}C per siklus dalam 18 siklus. Siklus terakhir adalah penempelan 6-FAM dilakukan sebanyak 32 siklus terdiri atas denaturasi pada suhu 94^{o}C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 53^{o}C selama 45 detik, dan elongasi pada suhu 72^{o}C selama 45 detik. Reaksi PCR kemudian diakhiri dengan elongasi pada suhu 72^{o}C selama 10 menit dan diinkubasi pada suhu 4^{o}C.

Analisis Data

Produk amplifikasi kemudian dilakukan analisis fragmen ke pihak penyedia jasa *gene-scanning* Macrogen Inc. Korea. Produk analisis fragmen diterima dalam bentuk data berekstensi *.fsa. Data berupa grafik dengan puncak yang menunjukkan pembacaan penanda M13 berlabel *fluoresence* pada panjang alel tertentu. Setiap fragmen hasil amplifikasi DNA dihitung sebagai alel (Duval *et al.* 2009). Data ini kemudian diolah dengan *software* GeneMarker, untuk memilih dua alel yang memiliki nilai intensitas pancaran tertinggi dari setiap sampel.

Analisis dilakukan dengan menghitung frekuensi alel per lokus. Selanjutnya data pasangan alel diolah dengan *software* Cervus untuk analisis nilai H_o (*observed heterozigisity*), H_e (*expected heterozigisity),* dan PIC (*polymorphic informative content*). Pengelompokan tanaman tetua dan progeni F_1 dengan metode PCO (*principal coordinate analysis*) berdasarkan kesamaan

Tabel 1. Daftar progeni F_1 mangga hasil persilangan AR 143 x mangga merah *(List of F_1 progeny from crossing AR 143 x red mango)*

No	Progeni (*Progeny*)	No	Progeni (*Progeny*)
1.	F1-3 Apel x AR 143	33.	F1-22 AR 143 x Irwin
2.	F1-13 Apel x AR 143	34.	F1-35 AR 143 x Irwin
3.	F1-37 Apel x AR 143	35.	F1-69AR 143 x Irwin
4.	F1-38 Apel x AR 143	36.	F1-72 AR 143 x Kartikia
5.	F1-39 Apel x AR 14	37.	F1-52 AR 143 x Keitt
6.	F1-41 Apel x AR 143	38.	F1-54 AR 143 x Keitt
7.	F1-55 Apel x AR 143	39.	F1-68 AR 143 x Keitt
8.	F1-23 Apel x Manalagi	40.	F1-16 AR 143 x Kirsapati Maldah
9.	F1-7 AR 143 x Apel	41.	F1-28 AR 143 x Kirsapati Maldah
10.	F1-25 AR 143 x Delima	42.	F1-44 AR 143 x Liar
11.	F1-51 AR 143 x Delima	43.	F1-47 AR 143 x Liar
12.	F1-18 AR 143 x Gedong Gincu	44.	F1-50 AR 143 x Liar
13.	F1-33 AR 143 x Gedong Gincu	45.	F1-77 AR 143 x Podang
14.	F1-59 AR 143 x Gedong Gincu	46.	F1-45 AR 143 x Saigon
15.	F1-61 AR 143 x Gedong Gincu	47.	F1-49 AR 143 x Saigon
16.	F1-62 AR 143 x Gedong Gincu	48.	F1-53 AR 143 x Saigon
17.	F1-65 AR 143 x Gedong Gincu	49.	F1-1 Haden x AR 143
18.	F1-66 AR 143 x Gedong Gincu	50.	F1-2 Haden x AR 143
19.	F1-67 AR 143 x Gedong Gincu	51.	F1-11 Haden x AR 143
20.	F1-73 AR 143 x Gedong Gincu	52.	F1-30 Haden x AR 143
21.	F1-82 AR 143 x Gedong Gincu	53.	F1-42 Haden x AR 143
22.	F1-83 AR 143 x Gedong Gincu	54.	F1-8 Irwin x AR 143
23.	F1-87 AR 143 x Gedong Gincu	55.	F1-9 Irwin x AR 143
24.	F1-85 AR 143 x Gedong Gincu	56.	F1-10 Irwin x AR 143
25.	F1-15 AR 143 x Haden	57.	F1-14 Irwin x AR 143
26.	F1-21 AR 143 x Haden	58.	F1-29 Irwin x AR 143
27.	F1-26 AR 143 x Haden	59.	F1-31 Irwin x AR 143
28.	F1-27 AR 143 x Haden	60.	F1-36 Irwin x AR 143
29.	F1-46 AR 143 x Haden	61.	F1-43 Irwin x AR 143
30.	F1-88 AR 143 x Haden	62.	F1-48 Keitt x AR 143
31.	F1-94 AR 143 x Haden	63.	F1-19 Manalagi x Haden
32.	F1-86 AR 143 x Haden		

Tabel 2, Enam lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian *(Six microsatellite loci used for the research)*

Lokus *(Locus)*	Motif *(Motif)*	Primer forward dan reverse *(Forward and reverse primers)*	Basa *(Base)* bp	Tm *(Tm)*, °C	Produk *(Product)*, bp
AJ635163	$(TG)_9$	MiM2,1F:5'-CACTTGCATGAGTTGTTGTC-3' MiM2,1R: 5' -TTCTCGTCTAGCAGGTTTTC-3'	20 20	55,1 54,8	190
AJ635175	$(GT)_{10}$	MiM2,2F: 5' -CTGCGTAAAGCTGTTGACTA-3' MiM2,2R: 5'-CCATAATCATCTCCCTCAGA-3'	20 20	54,4 55,0	164
EF592185	$(CT)_8$	MiM2,3F:5'-CTAAAGCCTCTCCCTCTCTC-3' MiM2,3R: 5'-CCCTAAGGCAGAGAGAAAAT-3'	20 20	55,0 55,3	178
EF592191	$(CTT)_5$	MiM3,1F: 5'-CCTCCTAAATTCTCCCTGTT-3' MiM3,1R: 5'-CTTCTTATCAGCTGCTCCAT-3	20 20	55,0 54,8	158
AY942819	$(AAC)_8$	MiM3,2F:5'-ACTTTTCTTCCACTGCTCCT-3' MiM3,2R:5'-CAAGTACCTGCTGCCAACTAGA-3	20 21	55,7 55,9	183
EU421196	$(GA)_5(A)_7$	MiM4,3F:5'-CCGATTAGCAAACCACTTC-3' MiM4,3R 5'-GGATTAGCTAGCCTCGAGTT-3'	19 20	55,8 55,5	250

alel mikrosatelit yang dihasilkan oleh gabungan keenam primer menggunakan program GENALEX 6.1 (Peakall & Smouse 2006). Hasil yang diperoleh berupa diagram PCO digunakan untuk mengambil kesimpulan terhadap diversitas dan paternitas tetua dan progeni mangga hasil persilangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Fragmen

Hasil pembacaan fragmen berupa puncak grafik yang terlihat pada elektroferogram merupakan hasil pancaran *fluorescence* FAM yang terdeteksi dan menunjukkan panjang alel hasil amplifikasi DNA. Ukuran, frekuensi, dan jumlah alel yang dihasilkan dari amplifikasi DNA dengan menggunakan enam primer dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa ukuran alel yang dihasilkan dari amplifikasi menggunakan enam pasang primer berada pada rentang 100–206 pb. Ukuran alel tersebut sesuai dengan ukuran yang diharapkan yaitu sebesar 100–300 pb. Ukuran alel sebesar 100–300 pb pada tanaman mangga sebelumnya juga dilaporkan oleh Schnell *et al.* (2005) dan Olano *et al*. (2005).

Jumlah alel yang teramplifikasi dengan rerata 11 alel menunjukkan adanya polimorfisme pada setiap primer (Goldstein & Schlotterer 1999). Lokus yang digunakan dalam penelitian ini juga bersifat polimorfik karena nilai frekuensi sebesar 0,007–0,479 sebagaimana dinyatakan oleh Hartwell *et al.* (2004), bahwa suatu lokus dikatakan bersifat polimorfik jika frekuensi alel yang dihasilkan bernilai kurang dari 0,99.

Tingkat informasi primer yang digunakan dalam amplifikasi dapat diketahui berdasarkan nilai PIC, sedangkan tingkat heterozigositas diketahui dari nilai He. Nilai PIC dan He dari enam pasang primer yang digunakan ditampilkan dalam Tabel 4.

Dari Tabel 4 diketahui bahwa nilai PIC rerata 0,73 menunjukkan tingkat informasi yang tinggi (Hildebrend *et al*. 1992). Sebelumnya Annisa (2005) memperoleh nilai rerata PIC sebesar 0,83 dari empat lokus untuk menganalisis keragaman genetik pada 30 varietas mangga Indonesia. Perbedaan nilai ini diduga karena perbedaan jumlah dan varietas mangga yang digunakan.

Nilai He rerata sebesar 0,77 menunjukkan tingkat heterozigositas yang tinggi dari populasi mangga yang diteliti. Tingkat heterozigositas yang tinggi ini sebagai bukti bahwa populasi progeni F_1 beserta 10 tetua memiliki tingkat keragaman genetik yang tinggi atau memiliki alel-alel yang beragam. Keberagaman alel yang dimiliki oleh populasi progeni F_1 berpotensi untuk mengandung alel-alel unggul yang dimiliki oleh tanaman tetua sehingga progeni memiliki peluang sebagai gabungan sifat-sifat unggul yang dimiliki oleh tetua.

Tabel 3. Ukuran, frekuensi, dan jumlah alel dari enam pasang primer yang digunakan *(Size, frequency, and number of allele from six primers used)*

Pasangan primer *(Primer pair)*	Ukuran alel *(Allele size)*	Frekuensi *(Frequency)*	Jumlah alel *(Number of allele)*
MiM2.1-F/R	130-186	0,014-0,479	7
MiM2.2-F/R	100-173	0,007-0,229	12
MiM2.3-F/R	101-182	0,007-0,326	10
MiM3.1-F/R	116-174	0,007-0.315	10
MiM3.2-F/R	100-200	0,007-0,247	18
MiM4.3-F/R	102-206	0,007-0,473	9
Rerata jumlah alel *(Average of allele number)*			11

Tabel 4. Nilai PIC dan tingkat heterozigositas dari enam pasang primer yang digunakan *(PIC value and level of heterozigosity of six primer pairs used in the study)*

Primer	Ho	He	PIC
MiM2.1	0,65	0,67	0,61
MiM2.2	0,79	0,84	0,82
MiM2.3	0,72	0,78	0,74
MiM3.1	0,89	0,79	0,75
MiM3.2	0,87	0,88	0,86
MiM4.3	0,66	0,65	0,58
Rerata *(Average)*	0,76	0,77	0,73

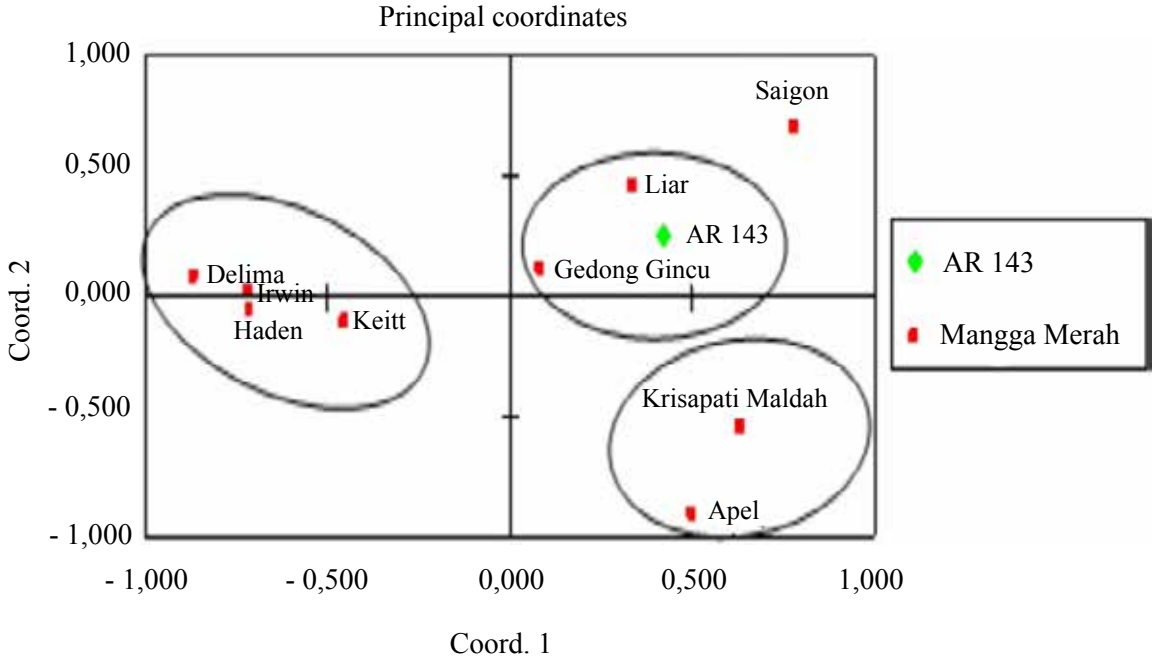
PCO Tetua Persilangan Mangga

PCO dilakukan untuk membuat pengelompokkan (*clustering*) dari tanaman F_1 mangga berdasarkan jarak genetik (Tabel 5) yang dihitung dari kesamaan alel-alel mikrosatelit yang diperoleh melalui amplifikasi DNA. Diagram hasil PCO 10 tanaman tetua mangga disajikan pada Gambar 1.

Tabel 5. Matriks jarak genetik antar 10 tanaman tetua persilangan *(Matrices of genetic distance amongst 10 parent trees)*

AR143	KA	Delima	GG	Haden	Irwin	Keitt	KM	Liar	Saigon	
0										**AR143**
8	0									**KA**
9	13	0								**Delima**
5	8	9	0							**GG**
9	10	6	8	0						**Haden**
8	10	6	7	5	0					**Irwin**
8	8	7	5	6	4	0				**Keitt**
7	8	11	9	11	11	10	0			**KM**
4	8	9	6	8	7	6	8	0		**Liar**
7	10	13	8	11	11	10	9	5	0	**Saigon**

Keterangan: KA=Kensington Apple; GG= Gedong Gincu; KM= Kirsapati Maldah



Gambar 1. Diagram PCO dari 10 tanaman tetua mangga *(PCO diagram of 10 parent trees)*

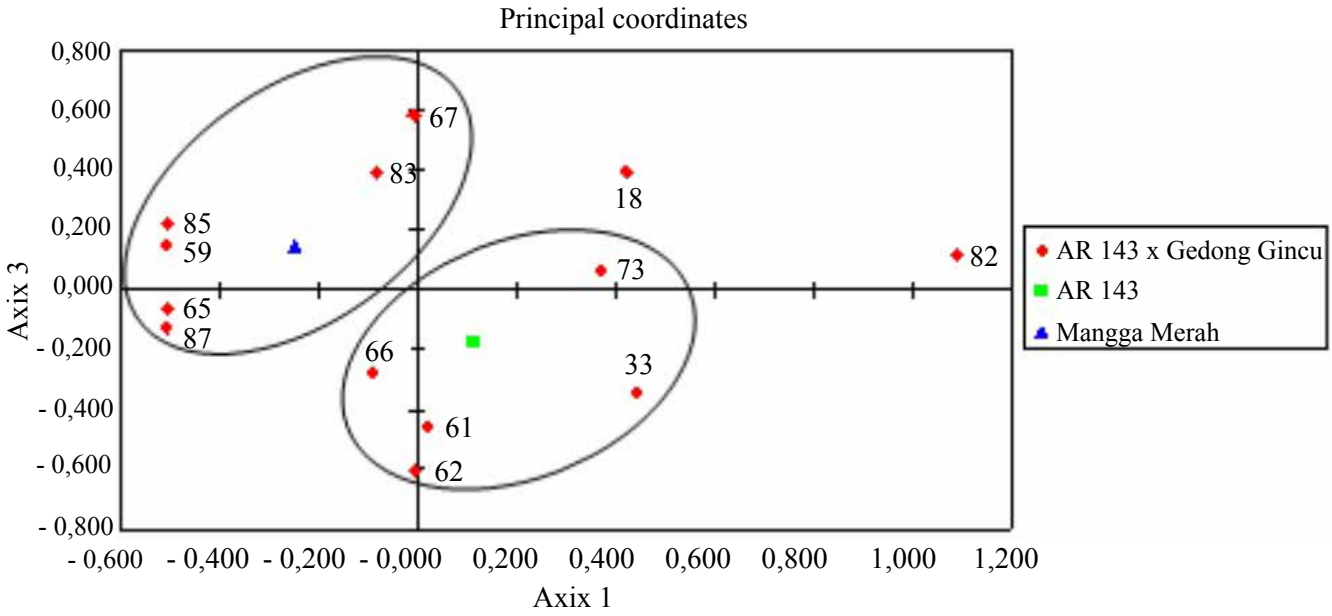
Gambar 1 menunjukkan bahwa 10 tanaman tetua mangga cukup tersebar menempati setiap kuadran pada bidang kartesian dan secara umum terkelompok menjadi tiga group. Kelompok pertama terdiri atas AR 143, Gedong Gincu, dan Liar yang terletak di kuadran pertama. Kelompok kedua ialah Delima, Haden, Keitt, dan Irwin pada kuadran kedua dan ketiga. Kelompok ketiga Kirsapati Maldah dan Kensington Apple berada di kuadran keempat, sedangkan Saigon terpisah dari kelompok yang ada menunjukkan bahwa ia memiliki jarak genetik yang jauh dengan kelompok mangga lainnya. Hasil ini sesuai yang dilaporkan Viruel *et al.* (2005) yang mengelompokkan Haden, Keitt, dan Irwin dalam satu klaster.

PCO Progeni F_1 Hasil Persilangan Pasangan Tetua Berjarak Genetik Dekat

Salah satu pasangan tetua mangga yang berjarak genetik dekat ialah AR143 (betina) dan Gedong Gincu (jantan), yang menghasilkan 13 progeni F_1. Diagram hasil PCO antarprogeni dan pasangan tetua berjarak genetik dekat dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa semua progeni F_1 cukup menyebar di semua kuadran bidang kartesian. Progeni F_1 yang memiliki kedekatan jarak genetik dengan tetua Gedong Gincu yaitu nomor 59, 65, 67, 83, 85, dan 87, sedangkan yang dekat dengan tetua AR 143 ialah 33, 61, 62, 66, dan 73.

Progeni 18 dan 82 terletak pada koordinat yang terpisah dari kedua kelompok progeni F_1 dan tanaman tetua, yang berarti keduanya memiliki jarak genetik yang jauh dengan kedua kelompok progeni dan kedua tanaman tetua. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya perbedaan pasangan alel mikrosatelit yang dihasilkan oleh progeni 18 dan 82 dengan pasangan alel mikrosatelit yang dihasilkan oleh kedua tetua mangga serta progeni F_1 lainnya. Mikrosatelit bersifat multialel



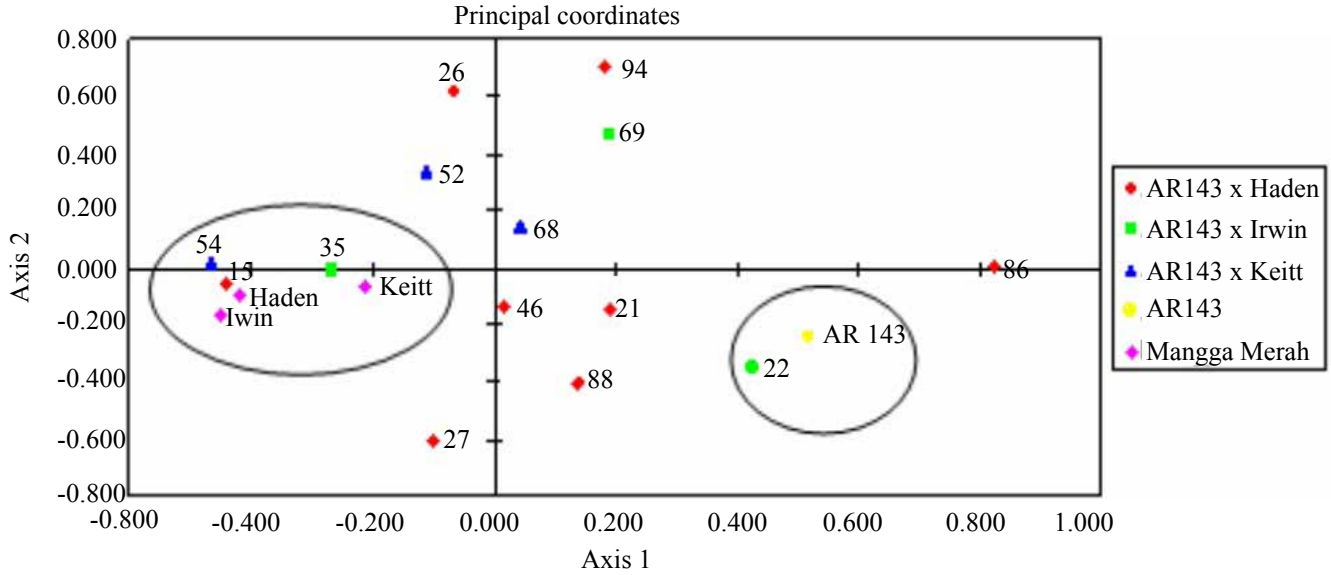
Gambar 2. Diagram PCO antarprogeni F_1 hasil persilangan AR 143 x Gedong Gincu *(PCO diagram of F_1 progenies from AR 143 x gedong Gincu)*

(Ukoskit 2007) sehingga pasangan alel yang diperoleh dari 18 dan 82 dapat berbeda dengan pasangan alel kedua tetua serta beberapa progeni F_1 yang lain.

PCO Progeni F_1 Hasil Persilangan Pasangan Tetua Berjarak Genetik Jauh

PCO dilaksanakan terhadap 14 progeni F_1 hasil persilangan kelompok pasangan tetua mangga yang berjarak jauh AR 143 dengan Haden, Keitt, dan Irwin. Diagram PCO antarprogeni F1 dan tetua persilangan berjarak genetik jauh dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil PCO pada Gambar 3 secara umum menunjukkan bahwa sebagian besar progeni F_1 terletak secara tersebar pada bidang kartesian dan tidak membentuk kelompok dengan salah satu tetua. Bila dikelompokkan berdasarkan kedekatan jarak genetik yang ditunjukkan oleh kedekatan posisi di bidang kartesian maka kelompok tetua Haden, Keitt, dan Irwin berdekatan dengan tiga progeni yaitu nomor 15, 35, dan 54, sedangkan tetua AR 143 hanya berdekatan dengan satu progeni yaitu nomor 22. Hasil PCO ini menunjukkan bahwa persilangan tetua berjarak



Gambar 3. Diagram PCO terhadap progeni F_1 dari persilangan mangga AR 143 dengan kelompok mangga Haden, Keitt, dan Irwin *(PCO diagram of F_1 progenies from crossing of parent with long genetic distance, AR 143 with Haden, Keitt, and Irwin)*

genetik jauh menghasilkan progeni F_1 yang berjarak genetik saling berjauhan, baik antarprogeni maupun dengan masing-masing tetua. Secara ringkas dapat dikatakan bahwa persilangan ini memiliki peluang menghasilkan progeni yang lebih beragam sehingga memiliki peluang untuk menghasilkan keturunan unggul lebih banyak.

PCO Terhadap Progeni F_1 dari Tetua Berjarak Genetik Dekat vs. Jauh

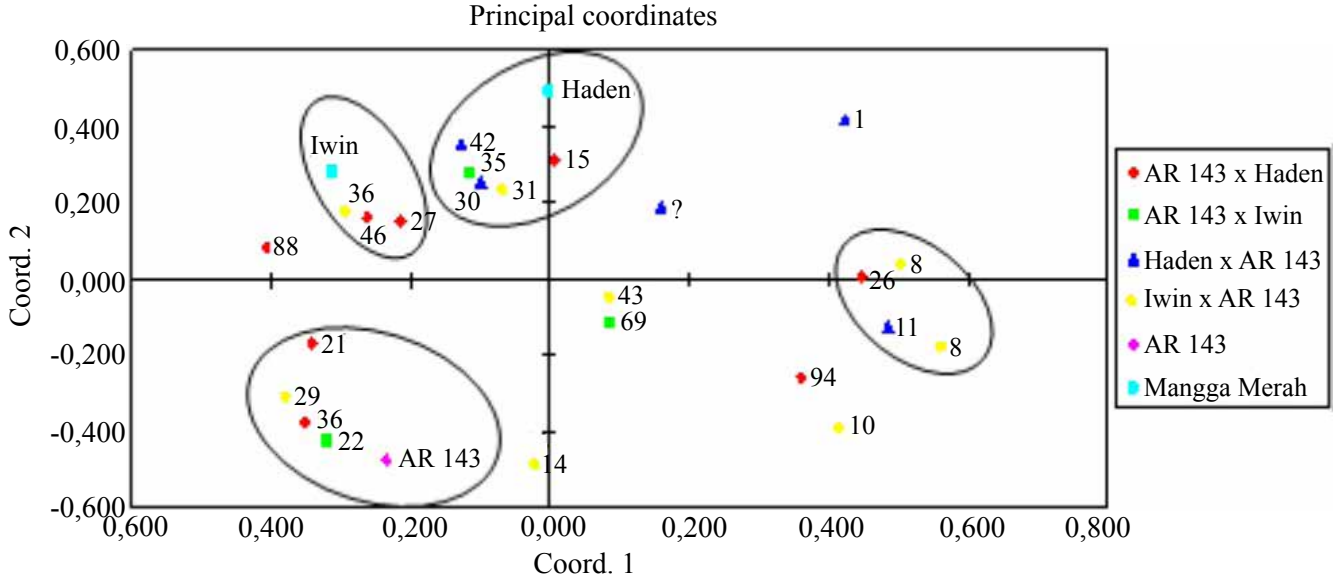
PCO yang dilakukan terhadap kedua jenis progeni F_1 berdasarkan perbedaan jarak genetik antartanaman tetua menunjukkan pola pengelompokkan yang berbeda. Progeni dari pasangan tetua yang berjarak genetik dekat, yaitu AR 143 dan Gedong Gincu, cenderung memiliki kedekatan jarak genetik dan membentuk kelompok dengan salah satu tanaman tetua, sedangkan progeni F_1 yang berasal dari pasangan tanaman tetua yang berjarak genetik jauh, yaitu AR 143 dan kelompok tetua Haden, Keitt, dan Irwin, cenderung memiliki letak yang tersebar dan tidak membentuk kelompok dengan salah satu tanaman tetua. Hal tersebut menunjukkan bahwa persilangan antara pasangan tetua yang berjarak genetik dekat dapat menghasilkan progeni F_1 yang memiliki kedekatan jarak genetik terhadap salah satu tetua, sedangkan persilangan antara pasangan tetua mangga yang berjarak genetik jauh dapat menghasilkan progeni F_1 dengan jarak genetik yang berjauhan dari masing-masing tetua.

Jika ditinjau dari segi keragaman genetik, maka progeni F_1 yang berasal dari pasangan tetua berjarak genetik jauh dapat mengandung alel yang lebih beragam, sehingga cenderung tersebar dan tidak berkumpul pada satu bidang kartesian. Keragaman alel yang dimiliki oleh progeni F_1 tersebut berpotensi untuk mengandung alel-alel unggul yang berasal dari masing-masing tanaman tetua.

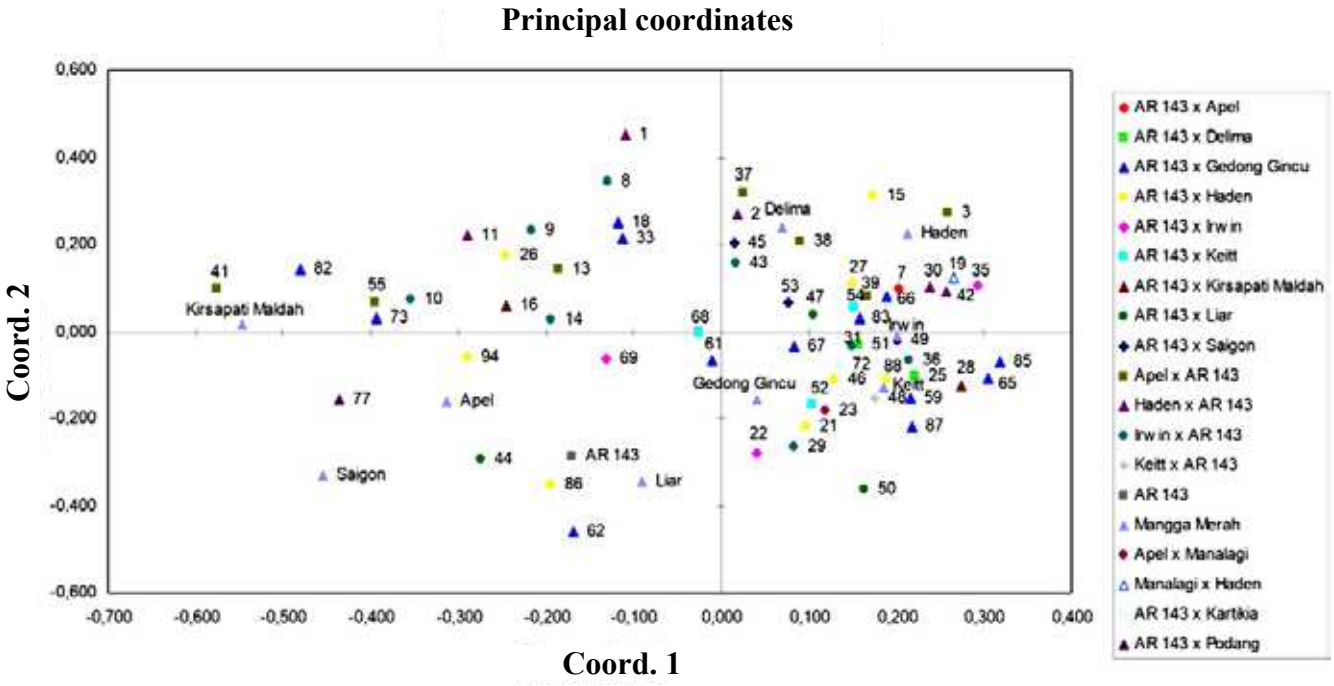
Keragaman alel yang dimiliki oleh progeni F_1 mangga hasil persilangan beberapa pasangan tanaman tetua dapat disebabkan oleh tingginya tingkat heterozigositas pada masing-masing tanaman tetua. Tanaman mangga memiliki tingkat heterozigositas yang sangat tinggi (Purnomo 1992) sehingga keturunan yang dihasilkan secara seksual memiliki tingkat keragaman yang tinggi.

PCO Terhadap Progeni F_1 Hasil Persilangan Pasangan Tetua Secara Resiprokal

Diagram PCO pada Gambar 4 menunjukkan bahwa 24 progeni F_1 dari persilangan resiprokal AR 143 dengan Haden dan Irwin relatif tersebar di setiap kuadran pada bidang kartesian. Beberapa progeni F_1 memiliki jarak genetik yang dekat terhadap progeni F_1 lainnya atau terhadap masing-masing tanaman tetua. Progeni F_1 yang memiliki kedekatan jarak genetik dengan tetua Haden ialah nomor 15, 30, 31, 35, dan 42, dengan tetua Irwin ialah nomor 27, 36, dan 46, dan yang dekat dengan tetua AR 143 ialah nomor 21, 22, 29, dan 86, sedangkan beberapa progeni yaitu nomor 8, 9, 11, dan 26 saling berdekatan satu sama lain dan membentuk kelompok tersendiri, tetapi cukup jauh dari masing-masing tetua, sedangkan delapan progeni, yaitu nomor 1, 2, 10, 14, 43, 69, 88, dan 94 terletak pada koordinat yang tersebar dan tidak tergabung dalam keempat kelompok yang ada.



Gambar 4. Diagram PCO terhadap progeni F_1 dari persilangan resiprokal AR 143 dengan Haden dan Irwin *(PCO diagram of F_1 progenies of reciprocal crossing AR 143 x Haden and Irwin)*



Gambar 5. Diagram PCO terhadap seluruh tanaman tetua dan progeni F_1 persilangan AR 143 x mangga merah ***(PCO diagram of all parent trees and F_1 progenies of crossing amongst AR 143 x red mangos)***

Hasil ini menunjukkan bahwa beberapa progeni F_1 memiliki kedekatan jarak genetik antarprogeni yang berasal dari pasangan tetua resiprokal. Tiga progeni F_1 hasil persilangan tetua Haden (betina) dan tetua AR 143 (jantan), yaitu nomor 11, 30, dan 42, memiliki kedekatan jarak genetik dengan tiga progeni F1 hasil persilangan tetua AR 143 (betina) dan tetua Haden (jantan), yaitu 15, 26, dan 27. Tiga progeni hasil persilangan tetua Irwin (betina) dan tetua AR 143 (jantan), yaitu nomor 29, 31, dan 43, memiliki kedekatan jarak genetik dengan tiga progeni hasil persilangan AR 143 (betina) dan Irwin (jantan), yaitu 22, 35, dan 69. Kedekatan jarak genetik antarprogeni F_1 yang berasal dari pasangan tetua resiprokal dapat terjadi karena kesamaan alel mikrosatelit yang dimiliki oleh masing-masing tanaman tetua dengan sifat genetik yang sama meskipun organ seksualnya berbeda.

PCO Terhadap Semua Tanaman Tetua dan Progeni F_1

PCO terhadap seluruh tetua dan progeni F_1 dapat dilihat pada Gambar 5. Gambar tersebut menunjukkan bahwa seluruh tanaman tetua dan progeni F_1 memiliki koordinat yang cenderung tersebar merata pada keempat kuadran di bidang kartesian dan tidak membentuk kelompok. Fakta ini menggambarkan keragaman alel mikrosatelit yang dimiliki oleh setiap progeni F_1 hasil persilangan AR 143 x mangga merah. Keragaman ini disebabkan oleh tingginya tingkat heterozigositas pada masing-masing tanaman tetua.

Keragamaan alel yang dimiliki oleh progeni F_1 berpotensi untuk mengandung alel-alel unggul yang berasal dari masing-masing tanaman tetua. Dengan demikian, persilangan antara Arumanis 143 x sembilan mangga merah berpotensi menghasilkan progeni yang memiliki gabungan sifat unggul dari masing-masing tetua untuk menghasilkan varietas unggul.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Lokus yang digunakan dalam penelitian ini bersifat polimorfik dan memiliki tingkat informasi yang tinggi sehingga baik digunakan untuk studi keragaman mangga.
2. Persilangan tetua berjarak genetik jauh menghasilkan progeni yang berjarak genetik saling berjauhan, baik antarprogeni maupun dengan tetua.
3. Persilangan antara pasangan tetua yang berjarak genetik dekat menghasilkan progeni yang memiliki kedekatan jarak genetik terhadap salah satu tetua.
4. Progeni dapat memiliki kedekatan jarak genetik antarprogeni yang berasal dari pasangan tetua resiprokal.
5. Populasi tetua persilangan mangga menunjukkan tingkat heterozigositas yang tinggi sehingga secara umum progeni F_1 yang dihasilkan memiliki

keragaman yang tinggi dan berpotensi menghasilkan varietas unggul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Kegiatan Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian TA 2009, Surat Perintah Kerja Pelaksanaan Penelitian Nomor: 752/LB.620/I.1/2/2009.

PUSTAKA

1. Annisa 2005, 'Aplikasi penanda molekuler mikrosatelit untuk analisis keragaman genetik dan heterozigositas pada mangga (*Mangifera indica* L.)', Tesis Magister, Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 42 hlm.
2. Anwaruddinsyah, MJ, Purnomo, S, Karsinah, Rebin, Sadwiyanti, L, Sukartini, Sunarwati, D, Effendi, AR, Sukarmin, Fitrianingsih, I, Ihsan, F & Ardiana, DW 2004, *Pewarisan warna merah buah mangga klon CKG pada AR 143*, Laporan Hasil penelitian, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok.
3. Billotte, N, Marseillac, N, Risterucci, AM, Adon, B, Brottier, P, Baurens, FC, Singh, R, Herra´n A, Asmady, H, Billot, C, Amblard, P, Durand-Gasselin, T, Courtois, B, Asmono, D, Cheah, SC, Rohde, W, Ritter, E & Charrier, A 2005, Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)', *Theor Appl Genet*, 110: 754-65
4. Doyle, JJ & Doyle, JL 1990, 'Isolation of plant DNA from fresh tissue', *Focus*, vol.12, pp. 13-5.
5. Duval, M, Risterucci, F, Calabre, AM, Le Bellec, C, Bunel, J & Sitbon, C 2009, 'Genetic diversity of Caribbean mangoes (*Mangifera indica* L.) using microsatellite markers', *Acta Hort.* (ISHS), vol. 820, pp.183-8.
6. Goldstein, DB & Schlotterer, C 1999, *Microsatellites: Evolutions and applications,* Oxford University Press, Inc, New York.
7. Hartwell, LH, Hood, L, Goldberg, ML, Reynolds, AE, Silver, LM & Veres, RC 2004, *Genetics: from genes to genomes, 3nd edition*, The McGraw-Hill Companies, Inc, New York.
8. Hildebrand, CE, Torney, DC & Wagner, RP 1992, 'Informativeness of polymorphic DNA markers', *Los Alamos Science*, no. 20, pp. 100-2.
9. Karsinah, Purnomo, S, Rebin, Sukartini & Sadwiyanti, L 2003, *Pewarisan warna merah buah mangga klon cukurgondang pada Arumanis 143*, Laporan Hasil Penelitian, Balitbu, Solok.
10. Kementerian Pertanian 2013, *Laporan data kinerja Kementerian Pertanian Tahun 2004-2012*, Jakarta, 153 hlm.
11. Krishna, H & Singh, SK 2007, 'Biotechnological advances in mango *(Mangifera indica L.)* and their future implication in crop improvement – A Review', *Biotechnology Advances*, vol. 25, pp. 223-43.
12. Liu, BH 1998, *Statistical genomics: Lingkage, mapping and QTL analysis*, CRC Press, USA.
13. Luro, FL, Costantino, G, Terol, J, Argout, X, Allario, T, Wincker, P, Talon, M, Ollitrault, P & Morillon, R 2008, 'Transferability of the EST-SSRs developed on nules clementine (*Citrus clementina* Hort ex Tan) to other, citrus species and their effectiveness for genetic mapping', *BMC Genomics*, vol. 9, pp. 287
14. Olano, CT, Schnell, RJ, Quintanilla, WE & Campell, RJ 2005, 'Pedigree analysis of Florida mango cultivars', *Proc.Fla. State Hort. Soc.,* vol. 118, pp. 192-7.
15. Ottewell, KM, Donnellan, SC, Moran, GF & Paton, DC 2005, 'Multiplexed microsatellite markers for the genetic analysis of *Eucalyptus leucoxylon* (Myrtaceae) and their utility for ecological and breeding studies in other Eucalyptus spesies', *Journal of Heredity*, vol. 96, pp. 445-51.
16. Oyant, LH, Crespel, L, Rajapakse, S, Zhang, L & Foucher, F 2008, 'Genetic linkage maps of rose constructed with new microsatellite markers and locating QTL controlling flowering trait', *Tree Genetics and Genome*, no. 4, pp. 11-23
17. Panditi, SS, Mitra, S, Giri, AP, Pujari, KH, Patil, BP, Jambhale, ND & Gupta, VS 2007, 'Genetic diversity analysis of mango cultivars using inter simple sequence repeat markers', *Current Science*, vol. 93, no. 8, pp.1135-41.
18. Parida, SK, Dalal, V, Singh, AK, Singh, NK & Mohapatra, T 2009, 'Genic non-coding microsatellites in the rice genome: Characterization, marker design, and use in assessing genetic and evolutionary relationships among domesticated groups *BMC Genomics*, no. 10, pp. 140.
19. Peakall, R & Smouse, PE 2006, 'GENALEX 6: Genetic analysis in excel, population genetic software for teaching and research', *Molecular Ecology Notes,* vol. 6, pp. 288-95.
20. Purnomo, S 1992, 'Eksplorasi mangga liar di Kalimantan', *Hortikultura*, vol. 5, hlm.1-26.
21. Purnomo, S, Rebin & Effendy, AR 2002, *Persilangan mangga varietas Arumanis 143 x klon merah CKG*, Laporan Hasil Penelitian, Balitbu, Solok.
22. Rebin & Santoso, PJ 2009, 'Kegiatan dan hasil pemuliaan mangga *(Mangifera* sp*.)* di Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika', *Prosiding Simposium dan Kongres Nasional VI perhimpunan Indonesia*, Bogor, hlm. 468-74.
23. Ritschel, PS, Lins, TCL, Tristan, RL, Buso, GSC, Buso, JA & Ferreira, ME 2004, 'Development of microsatellite markers from an anchored genomics library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.)', *BMC Plant Biology*, vol. 4, no. 9, pp.1-14.
24. Schnell, RJ, Olano, CT, Quintanilla, WE & Meerow, AW 2005, 'Isolation and characterization of 15 microsatellite loci from mango (*Mangifera indica* L.) and cross-species amplification in closely related taxa', *Molecular Ecology Notes*, vol. 5, pp. 625-7.
25. Singh, R, Nagappan, J, Tan, SG, Panandam, JM & Cheah, SC 2007, 'Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones', *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, vol. 15, no. 3, pp. 121-31.
26. Ukoskit, K 2007, 'Development of microsatellite markers in mango *(Mangifera indica* L.*)* using 5'anchored PCR', *Thammasat International Journal Science*, vol.12, no.3, pp.1-7.

27. Valdes-Invante, J, Rodriguez, NN, Becker, D, Velazquez, B, Sourd, D, Espinosa, G & Rohde, W 2007, 'Microsatellite characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm collection in Cuba', *Cultivos Tropicales,* vol. 28, no. 3, pp. 61-7.

28. Viruel, MA, Escribano, P, Barbieri, M, Ferri, M & Hormaza, JI 2005, 'Fingerprinting, embryo type and geographic differentiation in mango *(Mangifera indica* L.*,* Anacardiaceae) with microsatellite', *Molecular Breeding,* vol. 15, pp. 383-93.