

Variabilitas Genetik antara Tanaman Induk Manggis dan Keturunannya

Mansyah, E., M. J. Anwarudin Syah, F. Usman, dan T. Purnama

Balai Penelitian Tanaman Buah, Jln Raya Solok-Aripan Km-8, PO BOX 5 Solok. 27301

Naskah diterima tanggal 26 April 2004 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 9 September 2004

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari sampai Mei 2002 di laboratorium Biologi Molekuler dan Immunologi, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan-Bogor. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variabilitas genetik antara tanaman induk manggis dan keturunannya. Observasi dilakukan menggunakan tiga tanaman induk manggis yang berasal dari Sumatera Barat, yaitu Balai Baru (Kodya Padang), Padang Laweh dan Subarang Sukam (Kabupaten Sawahlunto/Sijunjung) dengan keturunannya masing-masing. Tanaman keturunan berupa bibit semaian dari masing-masing tanaman induk yang berumur 1 tahun. Analisis variabilitas genetik dilakukan melalui teknik RAPD menggunakan lima primer terseleksi, yaitu SB-13 (AGTCAGCCAC), SB-19 (CAGCACCCAC), OPH-12 (ACGCGCATGT), OPH-13 (CACGCCACAC), dan OPH-18 (GAATCGGCCA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat variasi genetik antara induk manggis dan keturunannya oleh ketidakmiripan antara pola pita DNA. Variasi genetik rata-rata dari individu turunan adalah sebesar 56,35%. Hasil penelitian ini memperkuat informasi tentang variabilitas genetik pada manggis, dan membuka peluang perbaikan varietas melalui seleksi terhadap populasi manggis indigenus.

Kata kunci: *Garcinia mangostana* L.; Variabilitas genetik; Tanaman induk; Turunan; RAPD.

ABSTRACT. Mansyah, E., M. J. Anwaruddin Syah, F. Usman, and T. Purnama. 2004. Genetic variability between mangosteen mother plants and their offsprings. The research was conducted on January until May 2002 at Molecular Biology and Immunology Laboratory of Estate Biotechnology Experimental Unit Bogor. The objective of this study was to determine the genetic variability between mangosteen mother plants and their offsprings. Plant materials used were three mangosteen mother plants from West Sumatera i.e. Balai Baru (including in Padang municipality), Padang Laweh, and Subarang Sukam (both including in Sawahlunto/Sijunjung regency) and their offsprings. The offsprings were one year old seedling which was derived from each mother plant. Genetic variability was observed by using RAPD technique and five selected primers i.e.: SB-13 (AGTCAGCCAC), SB-19 (CAGCACCCAC), OPH-12 (ACGCGCATGT), OPH-13 (CACGCCACAC), and OPH-18 (GAATCGGCCA). The results showed that there were genetic variabilities between the mother plants and their offspring as indicated by dissimilarities of DNA banding patterns. The average of genetic variability for the offspring was 56.35%. This results would support the information about the presence of genetic variability on mangosteen and leading to varietal improvement opportunity through selection of indigenous population.

Key words: *Garcinia mangostana* L.; Genetic variability; Mother plant; Offspring; RAPD.

Manggis merupakan komoditas buah yang memiliki peluang pasar sangat cerah untuk diekspor. Tingkat keragaman buahnya sangat rendah akibat dari proses reproduksi secara apomiksis (Wester 1926; Horn 1940; Cox 1976), partenokarpi (Corner 1952; dan Whitmore 1972) atau *agamosperry* (Richards 1990). Tanda yang mengindikasikan proses *agamosperry* terjadi pada *Garcinia* antara lain terbentuknya biji tanpa pengaruh organ jantan, embrio cepat dewasa (sebelum *anthesis*), terbentuknya proembrio *adventitious* dari *nucellar* atau *integument*, menghasilkan beberapa kecambah dalam satu biji, dan tanaman jantan jarang didapatkan.

Menurut Koltunow (1993), apabila tidak mengalami mutasi, biji fertil yang dihasilkan dari reproduksi apomiktik mengandung embrio dengan konstitusi genetik yang sama dengan

tetua betina. Apomiksis pada manggis terjadi sejak lama dan diyakini sebagai apomiksis obligat, karena hanya dijumpai pada tanaman betina dan dapat menghasilkan biji fertil (Richards 1997). Menurut Hanna & Bashaw (1987), beberapa indikator apomiksis harus diperhatikan lebih lanjut, yaitu dengan persilangan yang lebih rinci dan uji keturunan serta uji sitologi. Studi genetik apomiksis dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu dengan membedakan tanaman induk dengan keturunan yang menyimpang dan melihat apomiksis secara keseluruhan (Asker 1979 *cit. den Nijs & van Dijk* 1993).

Kemampuan suatu spesies melakukan perubahan genetik merupakan komponen penting dalam proses evolusi adaptif, yang dapat memperluas atau mempersempit dasar

genetiknya. Adanya variabilitas genetik pada keturunan apomiktik tetraploid *eastern gamagrass* (*Tripsacum dactyloides* var. *dactyloides* L.) sebesar 4%, menunjukkan terjadinya proses meiotik taklengkap atau disfungsi. Hal ini yang memberi fasilitas bagi perubahan genetik pada spesies yang tidak mempunyai kemampuan atau jarang bersifat reproduktif seksual. Oleh sebab itu, spesies ini secara rutin mengalami perubahan genetik tanpa introduksi plasma nutfah baru dan tanpa kontribusi tetua jantan. Dengan demikian pernyataan bahwa spesies apomiksis obligat atau fakultatif tidak mampu menginduksi perubahan genetik adalah tidak benar (Kindiger & Dewald 1996). Sampai sejauh ini belum diketahui apakah perubahan yang demikian terjadi juga pada manggis atau tidak.

Hasil penelitian Mansyah *et al.* (2003a & 2003b) menunjukkan bahwa tanaman manggis bervariasi secara fenotipik dan genotipik. Variasi fenotipik spesifik terlihat dalam bentuk kanopi tanaman dan bentuk buah. Variasi genetik terlihat dari perbedaan pola pita DNA pada 23 aksesi yang berasal dari Pulau Jawa dan Sumatera Barat.

Informasi ini perlu diperkuat dengan analisis genetik dengan menggunakan material genetik yang berbeda, berupa tanaman induk dan keturunannya. Menurut Koltunow (1993), identifikasi dari *off types* dapat dilihat dari penampilan keturunan dan observasi variasi baru melalui fenotipik dan pengujian molekuler.

Adanya variabilitas genetik antara tanaman induk dan keturunannya pada apomiksis obligat telah dilaporkan oleh Ford & Richards (1985) pada tiga spesies *Taraxacum*. Tetua dari kedua famili *T. lacistophyllum* mempunyai tujuh pita. Pada salah satu famili, 20 dari 24 keturunan mempunyai pola pita tetua dan yang lain mempunyai tiga pita nonparental. Pada famili yang lain, 8 dari 15 keturunan mempunyai pola pita parental dan sisanya mempunyai salah satu dari tiga pita nonparental. Empat pola pita nonparental terjadi pada total progeni. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa variasi dapat terjadi antara tetua dan keturunan pada klon agamosperm obligat. Namun pada penelitian itu tidak dijelaskan penyebab terjadinya variasi.

Faktor penyebab yang bertanggungjawab terhadap perkembangan apomiksis pada

tanaman belum dimengerti sepenuhnya. Perbedaan tipe apomiksis, berbagai tipe perkembangan kantong embrio, keterlibatan polinasi pada beberapa kasus, dan penyimpangan seksualitas pada apomiksis tertentu membuat fenomena ini semakin kompleks (Ramachandran & Raghavan 1992). Walbot & Cullis (1985) menjelaskan bahwa banyak mekanisme yang dapat mengintroduksi variasi genomik organisme. Perubahan genom tanaman dapat terjadi selama siklus mitotik maupun meiotik. Mekanisme terjadinya perubahan meliputi transposisi, translokasi, amplifikasi, dan delesi serta aktivitas *transposable element*. Stres lingkungan eksternal juga dapat menginduksi mekanisme perubahan genomik secara cepat. Jika perubahan terjadi pada meristem dan ditransmisikan ke gamet, variasi genomik bisa terjadi dalam satu generasi dan dapat ditransmisikan kepada generasi berikut.

Studi genetik tanaman manggis melalui uji keturunan dan persilangan cukup sulit, karena panjangnya siklus hidup tanaman. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk estimasi variabilitas genotip adalah melalui marka molekuler. Penggunaan marka genetik melalui analisis *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) dan isozim mempunyai kontribusi penting bagi pemulia dalam penanganan apomiksis (den Nijs & van Dijk 1993). Penanda isozim mempunyai beberapa kekurangan, di antaranya dipengaruhi oleh kondisi jaringan tanaman dan faktor fisiologi (Oliotrault 1990).

Teknik *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan metode lain, di antaranya membutuhkan DNA yang lebih sedikit (10–25 ng), tidak membutuhkan informasi urutan primer, tidak bersifat radioaktif, pelaksanaannya relatif lebih mudah, dan menghasilkan estimasi yang lebih tinggi untuk kesamaan interspesifik (Powell *et al.* 1996; Gupta *et al.* 1996). Walaupun demikian teknik RAPD juga mempunyai beberapa keterbatasan, antara lain tidak dapat membedakan individu homozigot dan heterozigot, karena bersifat sebagai penanda dominan (Williams *et al.* 1990). Perubahan kecil dalam kondisi reaksi dengan nyata dapat mengubah jumlah dan intensitas produk amplifikasi, sehingga keterulangan sulit untuk

dipertahankan. Dilaporkan juga kesulitan dari penggunaan teknik RAPD adalah dalam memperoleh pita yang identik dari set primer dan material yang sama antarlaboratorium yang berbeda. Tipe *thermocycler* yang digunakan tampaknya merupakan kunci penentu keterulangan pola pita (Hallden *et al.* 1996).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variabilitas genetik antara tanaman induk manggis dan keturunannya. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi penunjang tentang variabilitas genetik pada manggis. Hipotesis dari penelitian ini adalah bahwa tanaman induk manggis dan keturunannya masing-masing menunjukkan pola pita DNA yang sama.

BAHAN DAN METODE

Sampel tanaman yang digunakan adalah tiga tanaman induk manggis yang berasal dari Sumatera Barat, yaitu Balai Baru (Kodya Padang), Padang Laweh, dan Subarang Sukam (Sawahlunto/Sijunjung) dengan keturunannya masing-masing berupa bibit semaian berumur 1 tahun. Jumlah tanaman turunan adalah sembilan bibit semaian untuk tanaman induk Balai Baru, tujuh bibit semaian untuk tanaman induk Padang Laweh, dan tujuh bibit semaian untuk tanaman induk Subarang Sukam, sehingga jumlah keseluruhan adalah 26 tanaman. Variabilitas genetik dianalisis dengan teknik RAPD melalui tahapan berikut:

Isolasi, pemurnian, dan penetapan kuantitas DNA

Metode isolasi DNA dilakukan mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Doyle & Doyle (1987), yang dimodifikasi dengan penambahan 1% *polyvinil pyrrolidone* (PVP). DNA diisolasi dari $\pm 0,3$ g daun muda (pucuk) yang masih berwarna merah muda atau merah kecoklatan dan berukuran 2 – 5 cm. Bila pada tanaman sampel tidak ada daun muda dapat digunakan daun tua dengan meningkatkan berat daun yang diekstrak sampai 2 g dan penambahan RNase pada tahap pemurnian. Pemurnian DNA dilakukan mengikuti metode Sambrook *et al.* (1989).

Kuantitas DNA yang diperoleh diestimasi dengan gel elektroforesis dan dibandingkan dengan standar DNA lamda. Sebanyak 5 μ l masing-masing larutan DNA dicampur dengan 1 μ l *loading dye* dielektroforesis bersama-sama dengan DNA lamda pada 1% (b/v) gel agarose, dengan tegangan konstan 50 volt selama 30 menit. Setelah elektroforesis, gel diwarnai dengan 0,5 μ g/ml etidium bromida dan divisualisasikan pada *UV transiluminator* dan dipotret menggunakan kamera dan film polaroid 667. Konsentrasi DNA ditentukan dengan membandingkan ketebalan DNA sampel dengan DNA lamda. DNA yang diperoleh 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) menggunakan lima primer terseleksi, yaitu SB-13 (AGTCAGCCAC), SB-19 (CAGCACCCAC), OPH-12 (ACGCGCATGT), OPH-13 (CAGGCCACAC), dan OPH-18 (GAATCGGCCA). Reaksi amplifikasi dilakukan menggunakan tabung PCR volume 0,5 ml yang berisi 25 μ l campuran larutan yang terdiri dari 18,8 μ l air bebas ion, 2,5 μ l campuran bufer, 0,5 μ l dNTP 0,2 mM, 1 μ l praimer (10 p mol), 1 unit *Taq* DNA polimerase (Promega, Madison WI, USA), dan 50 ng (2 μ l) DNA. Untuk mencegah penguapan selama proses amplifikasi, ke dalam setiap tabung ditambahkan 20 μ l minyak mineral. Selanjutnya tabung PCR dimasukkan ke dalam blok mesin PCR *thermolyne amplitron* 1 yang diprogram dengan tahapan sebagai berikut.

1. Denaturasi awal (pra PCR) pada suhu 94°C selama 2 menit sebanyak satu siklus,
2. PCR, denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* (penempelan primer) pada suhu 36°C selama 1 menit, dan *extention* (perpanjangan) 72°C selama 2 menit sebanyak 45 siklus, dan
3. Perpanjangan akhir pada suhu 72°C selama 4 menit sebanyak satu siklus.

Setelah reaksi amplifikasi berakhir, produk amplifikasi diberi 5 μ l *loading dye*,

dielektroforesis pada 1,4% gel agarose dengan tegangan konstan 50 volt selama lebih kurang 1 jam di dalam alat elektroforesis yang berisi *bufe*r TAE 1 X. Hasil elektroforesis divisualisasikan di atas *UV transiluminator* dan didokumentasikan dengan kamera dan film polaroid 667. Pengamatan dilakukan terhadap pita-pita yang tegas dengan menghitung jumlah pita setiap primer, jumlah pita polimorfik dan monomorfik, variasi pola pita DNA antara tanaman induk dan keturunannya serta persentase individu yang bervariasi secara genetik. Polimorfisme merupakan gambaran dari perbedaan fragmen DNA yang menunjukkan adanya variasi antarindividu. Persentase variasi individu ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Jumlah individu turunan dg pola pita DNA berbeda dg induknya}}{\text{total individu turunan}} \times 100\%$$

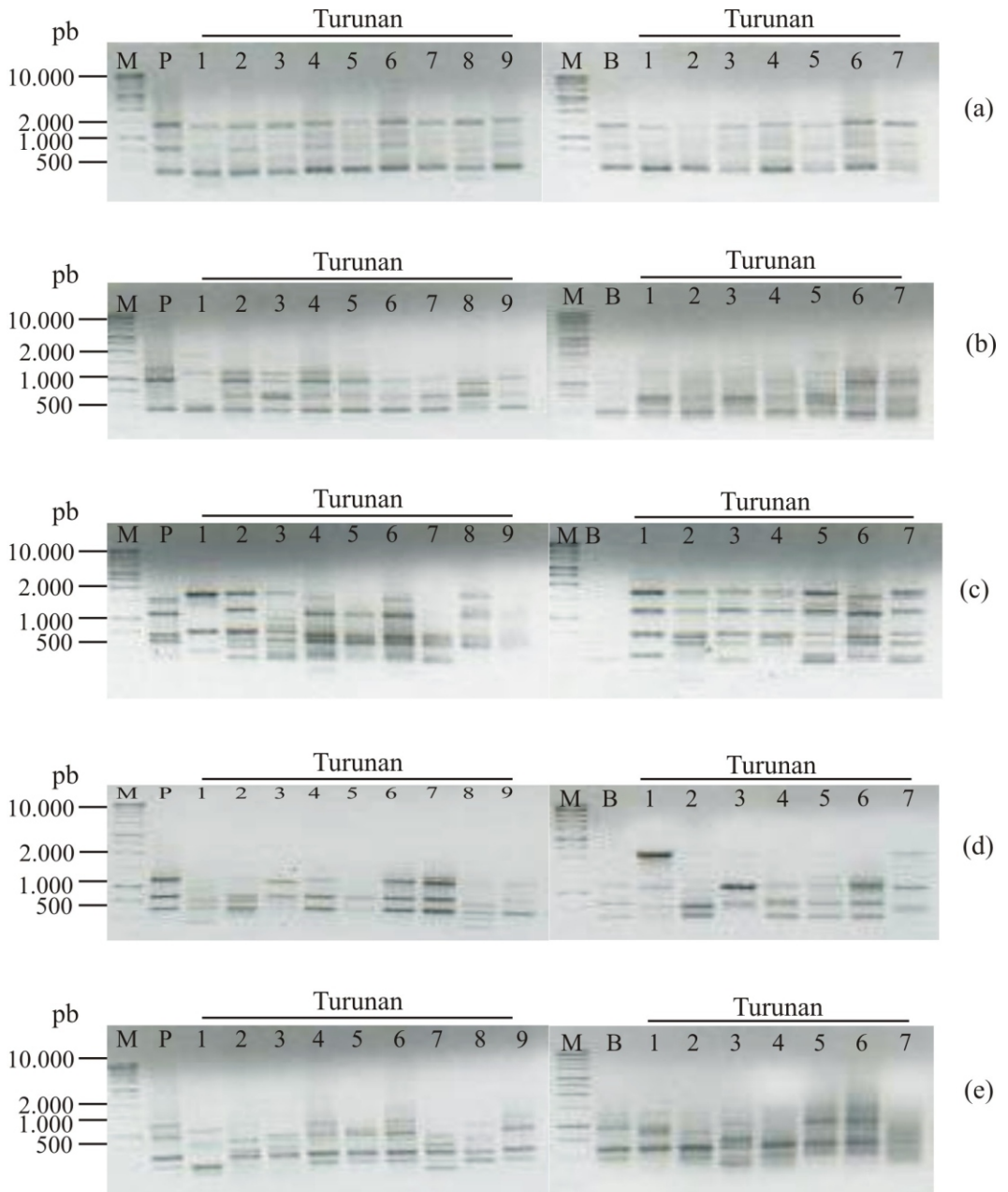
HASIL DAN PEMBAHASAN

Data analisis RAPD dari tanaman induk dan keturunannya menunjukkan bahwa pohon induk Subarang Sukam DNA-nya tidak teramplifikasi pada ke lima primer yang digunakan, walaupun ekstraksi DNA telah diulang sebanyak dua kali dan reaksi amplifikasinya diulang tiga kali. Hal ini mungkin disebabkan oleh kualitas DNA yang dihasilkan kurang baik, atau primer yang digunakan belum cocok sehingga perlu pengujian dengan primer yang lebih banyak. Oleh sebab itu untuk melihat perbandingan antara tanaman induk dan keturunannya hanya digunakan tanaman dari Padang Laweh dan Balai Baru.

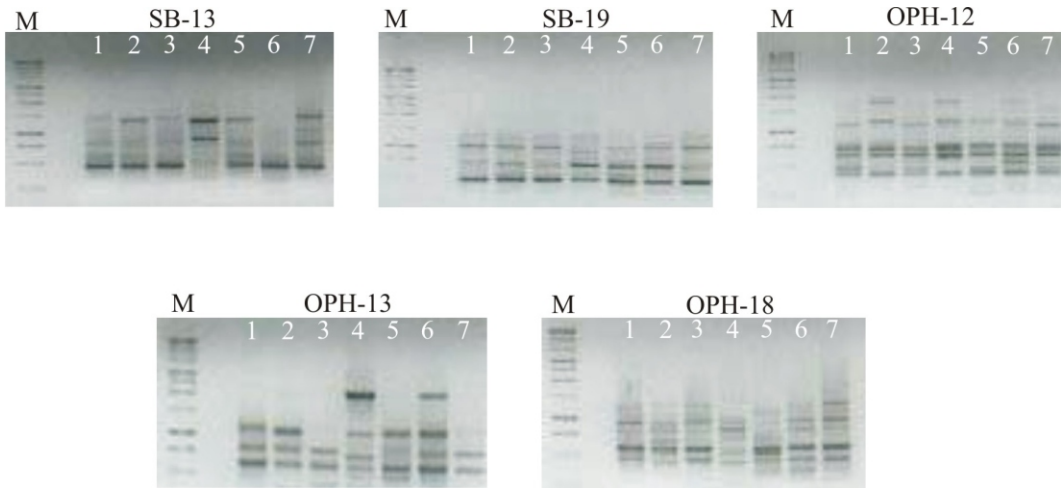
Hasil analisis RAPD dari tanaman induk Padang Laweh dan Balai Baru dengan keturunannya masing-masing disajikan dalam bentuk profil pita DNA pada Gambar 1 dan pola pita DNA antara sesama tanaman turunan dari tanaman induk Subarang Sukam pada Gambar 2. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa terdapat variasi pola pita DNA antara kedua tanaman induk dengan keturunannya masing-masing. Model variasi pola pita DNA pada tanaman keturunan dapat berupa hilangnya pita DNA maternal tertentu, tambahan pita DNA baru tanpa kehilangan pita DNA maternal, serta kehilangan pita DNA maternal dan tambahan pita DNA baru. Kehilangan pita DNA maternal jelas terlihat pada

individu keturunan nomor 1 dari tanaman induk Padang Laweh dengan primer SB-19 (Gambar 1b), serta individu nomor 2 dari tanaman induk Padang Laweh dan individu nomor 2 dari tanaman induk Balai Baru dengan primer OPH-13 (Gambar 1d). Tambahan pita DNA maternal yang cukup tegas terlihat pada primer OPH-13, yaitu pada individu turunan nomor 1 dan 8 dari tanaman induk Padang Laweh dan individu nomor 1 dari tanaman induk Balai Baru (Gambar 1d). Kehilangan pita DNA maternal yang disertai dengan tambahan pita DNA baru terlihat pada individu turunan nomor 1,2, dan 3 dari tanaman induk Padang Laweh dengan primer OPH-12 (Gambar 1c) dan individu turunan nomor 1,2,7, dan 8 dari tanaman induk Padang Laweh dengan primer OPH-18 (Gambar 1e). Individu turunan dari tanaman induk Subarang Sukam juga yang menunjukkan variasi sesamanya, terutama pada primer OPH-13 dan OPH-18 (Gambar 2). Pada primer OPH-13 jelas terlihat 3 variasi pola pita DNA dari tujuh tanaman keturunan dari tanaman induk Subarang Sukam. Individu keturunan nomor 1, 2, dan 5 mempunyai pola pita DNA yang sama, begitu juga dengan individu nomor 3 dan 7 serta individu nomor 4 dan 6.

Untuk lebih jelasnya, jumlah pita DNA yang dihasilkan, jumlah individu yang identik dengan induknya, jumlah individu yang bervariasi serta model variasi pola pita DNA untuk setiap primer disajikan pada Tabel 1 yang merupakan penjabaran dari Gambar 1. Hasil analisis RAPD dari lima primer pada dua tanaman induk manggis diperoleh 31 pita DNA yang jelas dan dapat diinterpretasikan dengan jumlah antara empat sampai sembilan pita per primer. Dari 31 pita DNA tersebut 14 (45,16 %) di antaranya adalah monomorfik dan sisanya adalah polimorfik. Jumlah tanaman turunan yang identik dengan induknya atau yang mempunyai pola pita yang sama dengan induknya berbeda untuk setiap primer dan tanaman induk. Persentase turunan yang identik dengan induknya masing-masing antara 55,56 sampai 88,89% untuk populasi turunan Padang Laweh dan 57,14 sampai 100% untuk populasi turunan Balai Baru. Primer yang paling polimorfik adalah OPH-18 dengan 7 pita DNA, dan jumlah turunan bervariasi untuk tanaman induk yang berasal dari Padang Laweh sebanyak empat tanaman, dan tiga turunan untuk tanaman induk Balai Baru .



Gambar 1. Pola pita DNA yang dihasilkan pada analisis RAPD antara dua tanaman induk manggis dan keturunannya masing-masing dengan menggunakan lima primer: (a) SB-13; (b) SB-19; (c) OPH-12; (d) OPH-13; dan (e) OPH-18 (*DNA banding patterns between three mangosteen mother plants and their offsprings by using five selected primers*). M = Marker, pb = pasang basa, P= Padang Laweh, B = Balai Baru.



Gambar 2. Pola pita DNA yang dihasilkan pada analisis RAPD antara tujuh tanaman turunan dari tanaman induk Subarang Sukam dengan menggunakan lima primer (*DNA banding patterns among the offsprings of Subarang Sukam mother plant by using five selected primers*). Keterangan: M = Marker.

Tabel 1. Jumlah pita DNA, jumlah individu turunan yang identik, dan bervariasi dari dua tanaman induk manggis berdasarkan analisis RAPD menggunakan lima primer (*Number of DNA bands, identical and varied offsprings of two mangosteen mother plants based on RAPD analysis with five primers*).

Primer	Jumlah pita (Number of bands)	Pita polimorfik (Polymorphic bands)	Pita monomorfik (Monomorphic bands)	Individu turunan Padang Laweh (Padang Laweh offspring)		Individu turunan Balai Baru (Balai Baru offspring)	
				Identik (Identical) %	Individu bervariasi (Varied offspring) %	Identik (Identical) %	Individu bervariasi (Varied offspring) %
SB-13	5	1	4	88.89	8 ⁽²⁾ (11,11)	100	0
SB-19	4	1	3	88.89	1 ⁽¹⁾ (11,11)	100	0
OPH-12	9	6	3	66.67	1 ⁽³⁾ , 2 ⁽³⁾ , 3 ⁽³⁾ (33,33)	71,47	1 ⁽¹⁾ , 6 ⁽³⁾ (28,53)
OPH-13	6	4	2	66.67	1 ⁽²⁾ , 2 ⁽¹⁾ , 8 ⁽²⁾ (33,33)	57,14	1 ⁽²⁾ , 3 ⁽¹⁾ , 7 ⁽²⁾ (42,86)
OPH-18	7	5	2	55.55	1 ⁽³⁾ , 2 ⁽³⁾ , 7 ⁽³⁾ , 8 ⁽³⁾ (44,44)	57,14	1 ⁽²⁾ , 3 ⁽²⁾ , 7 ⁽³⁾ (42,86)
Jumlah	31	17	14	44.44	1, 2, 3, 7, 8 (55,56)	42,86	1, 3, 6, 7 (57,14)

(1) Kehilangan pita DNA maternal tertentu; (2) Tambahan pita DNA baru tanpa kehilangan pita DNA maternal; (3) Kehilangan pita DNA maternal dan tambahan pita DNA baru ((1) *The loss of certain maternal bands*; (2) *Addition of new band without the loss of DNA maternal bands*; and (3) *Addition of new band and the loss of DNA maternal bands*)).

Dari 20 kasus variasi pola pita DNA pada individu turunan kedua tanaman induk seperti tercantum pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa 20% kasus merupakan kehilangan pita DNA maternal, 35% tambahan pita baru, serta 45% kehilangan pita DNA maternal dan tambahan pita DNA baru. Pada individu nomor 1 dari populasi turunan tanaman induk yang berasal dari Padang Laweh,

ketiga kasus terjadi yaitu kehilangan pita DNA maternal pada primer SB-19, tambahan pita DNA baru pada OPH-13 serta kehilangan pita DNA maternal dan tambahan pita baru pada OPH-18, sementara pada turunan lainnya mengalami satu dan dua dari tiga kasus tersebut. Untuk tanaman induk dari Balai Baru, turunan yang bervariasi hanya mengalami satu dan dua kasus pada primer tertentu.

Secara keseluruhan, pada tanaman induk yang berasal dari Padang Laweh diduga lima turunan (55,56%) yang bervariasi secara genetik yaitu individu nomor 1, 2, 3, 7, dan 8. Sedangkan pada tanaman induk yang berasal dari Balai Baru ada empat turunan (57,14%) yaitu individu nomor 1, 3, 6, dan 7. Jadi rata-rata variasi genetik pada keturunan dari kedua tanaman induk tersebut adalah sebesar 56,35%. Hampir seluruh individu turunan yang bervariasi mengalami kasus kehilangan pita DNA maternal pada primer tertentu, baik berupa kehilangan saja maupun yang berupa kombinasi antara kehilangan dan tambahan pita DNA baru.

Pada hibrida biasanya tambahan pita baru merupakan kontribusi parentalnya. Pada kasus yang terjadi pada manggis ini adanya pita DNA baru sangat kecil kemungkinannya disebabkan oleh kontribusi parental, karena tanaman ini tidak menghasilkan *pollen* atau tidak mengalami proses penyerbukan dan pembuahan. Studi biologi bunga manggis oleh Horn (1940) dan Krishnamurthi & Rao (1964) melaporkan tidak dijumpai tepung sari, baik pada stadia awal pembentukan bunga maupun setelah bunga membuka.

Informasi lain menyatakan bahwa manggis adalah partenokarpi dengan tabung sari yang berkembang dalam waktu singkat pada stigma, tetapi tidak mencapai ovul (Corner 1952; Whitmore 1972). Pengamatan benang sari secara mikroskopik telah dilakukan oleh Lim (1984) yang melaporkan bahwa pada *anther* muda, sel induk tepung sari terbentuk dengan baik. Begitu terjadi pembelahan meiosis juga terjadi proses degenerasi inti dan sitoplasma, sehingga sebagian besar di antaranya berdegenerasi. Pada berbagai fase meiosis terjadi proses degenerasi hingga hanya sedikit terbentuk tetrad dan sel tunggal normal yang akhirnya mati. Noyes (2000) menyatakan, dari studi genetik dan evaluasi apomiksis menunjukkan bahwa agamosperm, baik obligat maupun fakultatif umumnya secara meiotik menghasilkan serbuk sari yang tereduksi.

Timbulnya pita-pita DNA baru kemungkinan disebabkan oleh adanya kompetisi dalam reaksi PCR. Selanjutnya kehilangan pita DNA maternal pada individu turunan dapat diduga sebagai variasi secara genetik akibat berbagai mekanisme. Studi pada apomiktik *Taraxacum*

(Kindiger & Dewald 1996) melaporkan bahwa kehilangan pita-pita mewakili hilangnya target primer spesifik melalui rekombinasi atau segregasi kromosom dan generasi pita baru sebagai produk kompetitif dari reaksi PCR. Oleh sebab itu, kehilangan pita-pita produk amplifikasi utama lebih informatif daripada terbentuknya pita baru. Pada penelitian ini seluruh individu turunan yang bervariasi mengalami kasus kehilangan pita DNA maternal pada primer tertentu walaupun pada primer yang berbeda individu yang sama menunjukkan adanya tambahan pita DNA maternal. Sebagai contoh individu nomor 1 dari tanaman induk Balai Baru mengalami kehilangan pita DNA maternal pada primer OPH-12 dan tambahan pita DNA baru pada primer OPH-13 dan OPH-18.

Fenomena yang sama adanya pita-pita nonmaternal pada keturunannya antara lain dilaporkan pada *Tripsacum dactyloides* var. *dactyloides*. Kehilangan pita mewakili hilangnya situs target primer spesifik karena adanya rekombinasi atau segregasi, dan pita-pita baru adalah produk dari kompetisi dalam reaksi PCR (Kindiger & Dewald 1996). Hallden *et al.* (1996), merangkum beberapa contoh efek kompetisi, di antaranya mendeteksi pewarisan nonmendelian pada semua pita polimorfik dari beberapa proyek pemetaan seperti pada hibrid F_1 jagung. Selain itu juga dijumpai adanya pita-pita RAPD tertentu pada progeni yang tidak terdapat pada parentalnya. Weising *et al.* (1995) *cit.* Kindiger & Dewald (1996) menyatakan bahwa reaksi PCR merupakan proses kompetitif. Kompetisi terjadi antara primer dan sejumlah kemungkinan tempat penempelan pada DNA berdasarkan urutan homolog telah dikenal dengan baik. Keberadaan pita-pita tambahan kelihatannya merupakan hasil amplifikasi kedua, karena kehilangan situs target dan bukan merupakan konstitusi parental.

Teknik RAPD telah digunakan secara ekstensif pada analisis variasi genetik. Teknik ini mempunyai beberapa kelebihan dan kekurangan dari metode lain. Adanya kompetisi dalam reaksi PCR ini menyebabkan estimasi variasi genetik akan bias, dan individu berkerabat dekat akan terlihat menjadi lebih jauh. Terdapat hubungan yang kuat antara primer dan pita-pita yang memungkinkan terjadinya kesalahan berdasarkan kompetisi dan buruknya keterulangan dari pita-pita yang dihasilkan.

Pengaruh yang ditimbulkan bergantung kepada struktur genetik dari material yang digunakan dan efek yang sangat serius adalah jika RAPD digunakan untuk menyimpulkan tetua. Oleh sebab itu hasil ini perlu dikonfirmasi dengan menggunakan teknik pengujian molekuler yang lain, seperti RFLP atau *amplified fragment length polymorphism* (AFLP). Sejumlah pendekatan berbeda dapat dilakukan untuk meningkatkan keakuratan hasil analisis, di antaranya (1) membuat ulangan dalam elektroforesis, (2) membuang semua pita yang tidak dapat diulang; dan (3) menggunakan semua pita dan menerima tingkat kesalahan tertentu (Hallden *et al.* 1996).

Hasil penelitian ini memberikan indikasi bahwa variabilitas genetik pada turunan apomiksis tanaman manggis cukup tinggi (56,35%). Berdasarkan hal itu perlu dipertimbangkan untuk melakukan perbanyakan manggis secara vegetatif. Richards (1997) menyatakan bahwa agamosperm obligat sangat jarang dan terbatas untuk beberapa genera diplosporous yang tidak mempunyai serbuk sari. Beberapa agamosperm obligat mungkin untuk menghasilkan variabilitas genetik melalui rekombinasi somatik dan atau berbagai bentuk autosegregasi. Oleh karenanya tidak benar bahwa agamosperm tidak menghasilkan variabilitas genetik dan tidak mempunyai potensial secara evolusi. Pada apomiksis obligat variabilitas keturunan muncul karena satu atau lebih mekanisme berikut (1) akumulasi perubahan mutasi dari DNA, (2) akumulasi dari semua perubahan terhadap sitologi melalui kecelakaan disjungsi yang dihasilkan pada penyimpangan poliploid, haploid, oligosomik, dan polisomik di antara turunan, (3) rekombinasi somatik yang dihasilkan dari translokasi kromosomal, dan (4) mutasi atau perubahan dasar secara kromosomal terhadap gen dalam genom maternal yang mengendalikan sifat apomiksis. Informasi lain menyebutkan bahwa variasi pada apomiksis dapat disebabkan oleh adanya *transposable elements*. Galur yang mengalami peristiwa ini dapat bervariasi dan berkembang tanpa intervensi seksual.

KESIMPULAN

1. Hasil analisis RAPD diketahui terdapat variasi pola pita DNA antara tanaman induk manggis dan keturunannya. Rataan individu

yang bervariasi secara genetik adalah sebesar 56,35%.

2. Model variasi pola pita DNA antara tanaman induk dan keturunannya dapat berupa hilangnya pita DNA maternal tertentu, tambahan pita DNA baru tanpa kehilangan pita DNA maternal, dan kehilangan pita DNA maternal disertai tambahan pita DNA baru.

SARAN

1. Evaluasi dan pengujian lebih lanjut sangat diperlukan untuk mendukung hasil penelitian ini dengan menggunakan teknik molekuler yang lain, seperti AFLP dan melihat variasi genetik pada tanaman keturunan yang berasal dari biji poliembrioni yang merupakan salah satu indikator apomiksis.
2. Untuk memperbanyak tanaman manggis agar dipertimbangkan metode perbanyakan secara vegetatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh RUSNAS yang dikelola oleh Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika (PKBT), Lembaga Penelitian - Institut Pertanian Bogor. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. Syafrida Manuwoto M.Sc., dan Prof. Dr. Roedhy Poerwanto M.Sc. beserta segenap staf PKBT atas segala bantuan dan kerjasama yang baik dalam pelaksanaan penelitian ini. Kepada Prof. Achmad Baihaki, Ir. M.Sc., Ph.D., Prof. Ridwan Setiamihardja Ir. M.Sc., Ph.D., Dr. Juliati S.Darsa M.Agr.St dan Dr. Sobir Ir., M.S. penulis juga mengucapkan terima kasih atas saran-saran yang telah diberikan.

PUSTAKA

1. Corner, E.J.H. 1952. *Wayside Tree of Malaya*. Vol 1. Government Printing Office. Singapore.
2. Cox, J. E.K. 1976. *Garcinia mangostana* L. – Mangosteen. In: R.J. Gardner (Ed). *Propagation of tropical fruit trees*. Common Wealth Bureau. Farn Harn Royal. England. 361-367.
3. den Nijs, A.P.M., and G.E. van Dijk. 1993. Apomixis. In: M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I. Romagosa (Eds.). *Plant Breeding Principles and Prospects*. Chapman and Hall. London.

4. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissues. *Focus*. 12:13-15.
5. Ford, H. and A.J. Richards. 1985. Isozyme variation within and between *Taraxacum* agamospecies in a single locality. *Heredity*. 55:289-291.
6. Gupta, P.K., H.S. Balyan, P.C. Sharma, and B. Ramesh. 1996. Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. *Current Sci*. 70(1):45-54.
7. Hallden, C., M. Hansen, N.O. Nilsson, A. Hjerdin, and T.Sall. 1996. Competition as a source of errors in RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet*. 93:1185-1192.
8. Hanna, W.W., and E.C. Bashaw. 1987. Apomixis: Its identification and use in plant breeding. *Crop Sci*. 27:1136-1139.
9. Horn, C.L. 1940. Existence of only one variety of cultivated mangosteen explained by asexually formed 'seed'. *Sci*. 92:237-238.
10. Kindiger, B. and C. Dewald. 1996. A system for genetic change in apomictic eastern gamagrass. *Crop Sci* 36:250-255.
11. Koltunow, A.M. 1993. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell*. 5:1425-1437.
12. Krishnamurthi, S., and V.N.M. Rao. 1964. A note in the flowers and floral biology in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *South Indian Hortic*. 12(34):99-101.
13. Lim, A.L. 1984. The Embryologi of *Garcinia mangostana* L. (Clusiaceae). *Garden Bull*. Singapore. 37:93-103.
14. Mansyah, E., A. Baihaki, Ridwan Setiamihardja, Juliati S. Darsa, Sobir, dan R. Poerwanto. 2003a. Variabilitas fenotipik manggis pada beberapa sentra produksi di Pulau Jawa. *J. Hort*. 13 (3):147-156.
15. _____, A. Baihaki, Ridwan Setiamihardja, Juliati S. Darsa, dan Sobir. 2003b. Analisis variabilitas genetik manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Jawa dan Sumatera Barat menggunakan teknik RAPD. *Zuriat* 14(1):35-44
16. Noyes, R. D. 2000. Diplospory and Parthenogenesis in sexual x Agamosperous (Apomictic) *Erigeron* (Asteraceae) Hybrids. *Int.J. Plant.Sci* 161(1):1-12.
17. Ollitrault, P. 1990. Isozyme and DNA restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) as genetic markers in citrus selection. p. 56-68. In Aubert, B., S. Tontyaporn and D. Buangsuwon (Eds.). *Rehabilitation of Citrus Industry in The Asia Pacific Region*. Proc. of The Asia Pacific International Conference on Citriculture. Chiang Mai, Thailand. 4-10th February 1990.
18. Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2:225-238.
19. Ramachandran, C. and V. Raghavan. 1992. Apomixis in Distant Hybridization. In: *Distant hybridization of crop plants* (G. Kallo and J.B. Chowdhury Eds). Springer Verlag. London. p:106-121.
20. Richards, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical fruit trees: Agamospermy. *Bot. J. Linnean Soc*. 103:233-250.
21. _____. 1997. Plant breeding systems. Second Edition. Departemen of Agricultural and Environmental Science University of Newcastle Upon Tyne. Chapman and Hall. London. 529 pp.
22. Sambrook, J., E.F. Fritsh and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. p.568-600.
23. Walbot, V., and C.A. Cullis. 1985. Rapid Genomic Change in Higher Plants. *Annual Rev. Plant Physiol*. 36:367-396.
24. Wester, P.J. 1926. Edible *Garcinias* and possible mangosteen stocks. *The Journal of the Departement of Agriculture of Puerto Rico*. No 3,4: 283 - 305.
25. Whitmore, T.C. 1972. Guttiferae. In T.C. Whitmore (Ed). *Tree Flora of Malaya. A manual foresters*. Volume Two. Forest Dept. Ministry of Primary Industri Malaysia. Kepong. p:162-236.
26. Williams, J.G.K., A.R. Kubelik., K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrarri primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res*. 18(22):6531-6535.