

Identifikasi Variabilitas Genetik Wani Bali (*Mangifera caesia* Jack.) dengan Analisis Penanda RAPD

Rai, I.N., G. Wijana, dan C. G. A. Semarajaya

Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya, Faperta UNUD Denpasar, Bali 80232

Naskah diterima tanggal 4 April 2007 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 17 Juli 2007

ABSTRAK. Wani Bali (*Mangifera caesia* Jack.) merupakan salah satu tanaman buah-buahan tropika tergolong kerabat mangga. Citarasa Wani Bali disukai konsumen karena daging buahnya memiliki aroma khas, rasanya manis, enak, dan daging buahnya tebal. Terdapat banyak kultivar Wani Bali dengan sifat spesifik buahnya masing-masing, tetapi secara genetik belum diketahui variabilitasnya. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi variabilitas genetik Wani Bali dengan analisis penanda *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Penelitian dilakukan mulai bulan Februari sampai Desember 2006, berlokasi di seluruh sentra produksi Wani Bali di Bali. Pelaksanaan terdiri atas 3 tahap, yaitu (1) survei kultivar dilanjutkan dengan identifikasi karakter daun, bunga, dan buah, (2) pengumpulan sampel untuk analisis RAPD (biji dari kultivar yang telah diidentifikasi ditanam dalam polibag di rumah plastik, setelah bibit berumur 6 bulan, 5-6 lembar daunnya dipanen untuk sampel), dan (3) analisis penanda RAPD, dilakukan di Laboratorium Biomolekuler dan Immunologi, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor. Berdasarkan karakter buahnya (bentuk, rasa, ukuran, dan warna kulit) teridentifikasi 22 kultivar Wani Bali, tetapi kultivar-kultivar tersebut tidak dapat dibedakan satu dengan yang lainnya berdasarkan habitus pohon, sifat percabangan, serta karakter daun dan bunga. Variabilitas genetik Wani Bali dianalisis dengan RAPD dengan keanekaragaman mencapai 43% terdiri atas 3 kelompok. Satu-satunya kultivar yang secara genetik sangat berbeda dengan yang lainnya adalah Wani Bali Ngumpen (kultivar tanpa biji) ditemukan di Desa Bebetin, Kabupaten Buleleng. Kultivar-kultivar yang berasal dari kabupaten yang sama dan atau pada 2 kabupaten yang berdekatan mengelompok pada kelompok yang sama, kecuali Wani Bali Ngumpen asal Desa Bebetin, Buleleng.

Katakunci: *Mangifera caesia*; Variabilitas; Genetik; RAPD.

ABSTRACT. Rai, I.N., G. Wijana, and C. G. A. Semarajaya. 2008. Identification of Genetic Variability of Wani Bali (*Mangifera caesia* Jack.) Using RAPD Analysis Marker. Wani Bali is one of tropical fruit which belongs to genus mangifera. Consumer prefers the fruit due to the specific flavor, sweet and delicious taste, and the thickness of edible pulp. There are many cultivars of Wani Bali with specific character. However, genetic variability has not been specified. The research was aimed to identify the genetic variability by random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker. The research was conducted from February to December 2006, located at centrals of Wani Bali in Bali. It consisted of 3 steps (1) surveying of cultivars and identification of their leaf, flower, and fruit characters, (2) collecting sample for RAPD analysis (seed of identified cultivars grown in polybag at plastichouse and after 6 months seedling, 5-6 leaves were collected as sample), and (3) analyzing RAPD, which was conducted at Biomolecular and Immunology Laboratory, Research Unit of Plantation Biotechnology, Bogor. The results revealed that according to the fruit character (shape, taste, size, and skin color of fruit) had been identified 22 cultivars, but among cultivars could not be specified by plant shape, branch type, leaf and flower characters. There are 3 groups at 43% variability according to genetic variability of Wani Bali which was analyzed by RAPD. The sole cultivar genetically significantly different among the cultivars is Wani Bali Ngumpen (seedless cultivar) from Bebetin, Buleleng District. The cultivars that were planted at the same regency and/or at 2 neighbouring regencies genetically were clustered in 1 group, excluding Wani Bali Ngumpen from Bebetin, Buleleng District.

Keywords: *Mangifera caesia*; Variability; Genetic; RAPD.

Buah-buahan merupakan salah satu bahan pangan sumber gizi dan vitamin bagi manusia. Permintaan akan buah-buahan semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya pendapatan masyarakat dan jumlah penduduk serta meningkatnya pemahaman pentingnya nilai gizi. Sebagai negara tropika dengan areal yang cukup luas di dunia, peran Indonesia dalam produksi buah-buahan tropika cukup besar. Tingginya permintaan pasar, baik untuk konsumsi segar maupun bahan baku industri,

merupakan peluang bagi produsen buah-buahan untuk mengembangkan usaha diversifikasi. Salah satu di antaranya adalah pengembangan usaha tanaman Wani Bali (*Mangifera caesia* Jack.) (Rai *et al.* 2000).

Wani Bali (Bahasa Bali) merupakan salah satu tanaman buah-buahan tropika tergolong kerabat mangga (Steenis 1978) yang tumbuh di Bali. Di daerah lain tanaman tersebut dinamai Kemang (Sunda dan Jawa), Binje (Aceh), Bienglu (Lampung) (Mukherji 1985), atau Palung-Wanyi

(Kalimantan) (Purnomo 1987). Citarasa Wani Bali disukai konsumen karena rasanya manis, enak dengan aroma khas, dan daging buahnya tebal. Di samping itu, jenisnya banyak dengan ciri khas masing-masing sehingga tersedia berbagai alternatif pilihan bagi konsumen.

Sampai saat ini Wani Bali belum mendapat perhatian secara memadai. Pemanfaatan buahnya masih terbatas untuk konsumsi segar, padahal masih dimungkinkan untuk digunakan sebagai bahan baku produk olahan. Dalam perdagangan buahpun, Wani Bali belum diperhitungkan di samping karena kurangnya promosi juga karena keterbatasan volume produksi akibat populasinya yang sangat terbatas, disertai kurangnya minat masyarakat untuk mengembangkannya, ini merupakan hal yang sangat mengkhawatirkan sehingga perlu segera diambil langkah-langkah pelestarian dan pengembangannya.

Sentra produksi Wani Bali terkonsentrasi di 6 kecamatan, yaitu Kecamatan Sawan dan Kecamatan Sukasada di Kabupaten Buleleng, Kecamatan Pupuan dan Kecamatan Selemadeg di Kabupaten Tabanan, Kecamatan Dawan di Kabupaten Klungkung, dan Kecamatan Bebandem di Kabupaten Karangasem. Buah Wani Bali dihasilkan secara alami (di kebun campuran, pekarangan, dan areal sekitar hutan) tanpa pemeliharaan secara memadai, sehingga kuantitas dan kualitas buahnya rendah.

Keragaman Wani Bali cukup tinggi, di mana berdasarkan karakter buahnya di sentra produksi Kabupaten Buleleng dan Kabupaten Karangasem saja telah dieksplorasi sebanyak 14 kultivar dengan ciri khas masing-masing (Rai *et al.* 2004). Berdasarkan habitus tanaman, sifat percabangan, dan karakter morfologi daun, sangat sulit untuk membedakan kultivar satu dengan yang lainnya sehingga menyulitkan dalam perdagangan bibit. Untuk itu perlu dilakukan identifikasi agar dapat disusun suatu deskripsi tanaman Wani Bali dan merumuskan karakteristiknya sebagai dasar pembinaan mutu dan usulan pemutihan/pelepasan sebagai tanaman Wani Unggul Nasional.

Dalam menetapkan perbedaan atau keanekaragaman genetik suatu tanaman tahunan dengan cara konvensional membutuhkan waktu yang relatif lama. Penentuan dengan penanda morfologi sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan tumbuh, sehingga penampilan yang terlihat tidak dapat mencerminkan perbedaan yang

akurat antarkultivar yang ada secara genetik. Oleh karenanya perlu dicari suatu metode yang lebih cepat, yaitu antara lain dengan mengidentifikasi penanda molekuler atau analisis DNA.

Penanda molekuler memberikan suatu kemungkinan untuk mendapatkan gambaran hubungan genetik yang lebih akurat dibandingkan dengan penanda lainnya (Tanskley 1983, Nienhuis *et al.* 1994). Penanda molekuler yang sering digunakan untuk mendeterminasi keragaman genetik antara lain adalah isozim, RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), SSR (*simple sequence repeated*), AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) dan lain sebagainya. Penanda RAPD yang dikembangkan oleh William *et al.* (1990) merupakan teknik yang lebih cepat, lebih mudah, dan lebih murah dibandingkan RFLP dan AFLP, sedangkan penanda isozim mempunyai beberapa kekurangan di antaranya dipengaruhi oleh kondisi jaringan tanaman dan faktor fisiologi (Olitrault 1990). Pendekatan dengan cara RAPD diakui relatif sederhana, mudah dalam preparasi, dan memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan cara konvensional atau analisis langsung terhadap sifat morfologis, biokimia, atau dengan cara lainnya.

Keunggulan penanda molekuler antara lain data yang diamati tidak dipengaruhi oleh variasi dan perubahan lingkungan atau oleh stadia umur tanaman (Nei dan Lei 1979). Pengamatan dapat dilakukan sedini mungkin tanpa harus menunggu tanaman dewasa, dan berpotensi untuk menetapkan pautan sifat-sifat agronomis (Toruan-Mathius dan Hutabarat 1996). Hal ini berarti penanda DNA atau penanda molekuler sangat berperan dalam membantu program pemuliaan tanaman guna meningkatkan kecermatan seleksi.

Menurut Grattapaglia *et al.* (1992), pemanfaatan teknik RAPD pada tanaman tahunan dapat meningkatkan efisiensi seleksi awal. Sejumlah peneliti menggunakan penanda molekuler untuk melengkapi data penanda konvensional seperti penanda morfologis dan pigmentasi, penanda isoenzim, maupun penanda biokimia. Penanda molekuler juga sangat berpotensi digunakan pada penataan koleksi plasma nutfah.

Tanaman Wani yang tumbuh dan berkembang di Bali disebut Wani Bali disertai nama lokal di

belakangnya oleh petani atau masyarakat di mana tanaman itu tumbuh berdasarkan penciri tertentu. Penciri tersebut umumnya berdasarkan rasa daging buah, ukuran buah, warna kulit buah, atau keberadaan biji. Analisis dengan penanda RAPD bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman genetik dari sejumlah Wani Bali yang tersebar di sentra-sentra produksi Wani Bali di Bali.

Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi variabilitas genetik Wani Bali dengan analisis penanda RAPD. Hasilnya dapat digunakan sebagai dasar untuk memilih kultivar unggul dalam rangka pengusulan pemutihan/pelepasan sebagai Wani Unggul Nasional. Di samping itu hasil penelitian ini juga dapat digunakan sebagai bahan informasi untuk perbaikan varietas Wani Bali.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan mulai bulan Februari sampai Desember 2006. Pelaksanaan terdiri atas 3 tahapan, yaitu (1) survei kultivar dan identifikasi karakter daun, bunga, dan buah; (2) pengambilan dan pengumpulan sampel untuk analisis RAPD, dan (3) analisis penanda RAPD.

Survei dilakukan di sentra produksi Wani Bali di seluruh Bali untuk mencari dan menemukan seluruh kultivar Wani Bali. Pada tahap survei dilakukan pengamatan secara detil menyangkut habitus tanaman, sifat percabangan serta karakter daun, bunga, dan buah kultivar-kultivar yang ditemukan.

Untuk kebutuhan analisis penanda RAPD, kultivar-kultivar hasil identifikasi diambil buahnya, kemudian bijinya ditanam di rumah kaca. Sampel 5-6 lembar daun muda diambil dari bibit umur 6 bulan. Analisis penanda RAPD dilakukan di Laboratorium Biomolekuler dan Immunologi, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan Bogor.

Isolasi DNA total tanaman dilakukan dengan cara menggerus sampel daun dengan nitrogen cair, kemudian dilakukan pengujian kuantitas dan kualitas DNA. Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams *et al.* (1990). DNA Wani Bali hasil isolasi diamplifikasi menggunakan 10 primer acak 10-mer (Operon Alameda Tech.) (Tabel 1). Komposisi reaksi PCR ialah bufer (10xkuat), dNTPs (10 mM), primer (10 pmol),

Tabel 1. Jenis primer dan susunan basa yang digunakan dalam reaksi amplifikasi (*Primer and its base pair used on amplification reaction*)

Primer	Susunan basas 5' → 3'
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-11	CAATCGCCGT
OPA-16	AGCCAGCGAA
OPB-01	GTTTCGCTCC
OPB-12	CCTTGACGCA
OPB-20	GGACCCTTAC
OPH-08	GAAACACCCC
OPH-18	GAATCGGCCA
OPH-19	CTGACCAGCC
OPN-15	CAGCGACTGT

Tag DNA polimerase (5u/μl) dan DNA cetakan (25 ng), dengan volume akhir reaksi 25 μl.

Reaksi amplifikasi berlangsung sebanyak 45 siklus pada mesin PCR (*thermal cycler thermolyne 1*) yang diprogram 94°C selama 1 menit untuk denaturasi DNA cetakan, 36°C selama 1 menit untuk penempelan primer, dan 72°C selama 2 menit untuk pemanjangan primer. Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis pada 2,0% gel agarose dengan voltase 50 volt selama 1 jam dan dilakukan pemotretan dengan film polaroid.

Berdasarkan ada atau tidaknya pita RAPD, profil pita diterjemahkan ke dalam data biner untuk menyusun matriks data biner yang diturunkan menjadi matriks kemiripan genetik. Analisis pengelompokan dan pembuatan dendrogram dilakukan menggunakan metode *unweighted pair-group method with arithmetic* (UPGMA) melalui program *numerical taxonomy and multivariate system* (NTSYS) versi 1.80.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultivar-kultivar Wani Bali

Dari survei keragaman kultivar di seluruh sentra-sentra produksi Wani Bali di Bali, teridentifikasi 22 kultivar Wani Bali. Berdasarkan habitus pohon, sifat percabangan serta karakter morfologi daun dan bunga semua kultivar secara umum menunjukkan ciri-ciri yang sama. Habitusnya berbentuk pohon, percabangan menggarpu/dikotom, tipe daun tunggal (*folium*

simplex), tulang daun menyirip (*penninervis*), dan tepi daun rata (*integer*). Bunga merupakan bunga sempurna, berkelamin 2 (hermaproditus), tempat tumbuh bunga di ujung ranting, jumlah kelopak (sepala), dan mahkota (petala) masing-masing 5 buah dan warna mahkota bunga ungu. Karakter morfologi daun dan bunga lainnya juga sama (data tidak ditampilkan), sehingga berdasarkan habitus pohon, sifat percabangan, serta karakter morfologi daun dan bunga tidak dapat dibedakan antara kultivar yang satu dengan yang lainnya.

Berdasarkan karakter buah, ciri-ciri kultivar yang ditemukan bervariasi bergantung pada warna kulit buah, rasa daging buah, bentuk buah, ukuran buah, warna daging buah, dan ada tidaknya biji pada buah (Tabel 2). Sifat-sifat menonjol dari kultivar berdasarkan warna kulit buah, rasa daging buah, bentuk buah, ukuran buah, warna daging buah, dan ada tidaknya biji pada buah dapat dikategorikan sebagai sifat spesifik kultivar yang bersangkutan. Sifat-sifat spesifik tersebut sekaligus dapat digunakan sebagai penciri dari masing-masing kultivar.

Buah Wani Bali yang diperdagangkan secara komersial, baik yang diperjualbelikan di pasar tradisional maupun di pasar swalayan, yaitu Wani Bali Tembaga, Gadang, Gula, Dodol, Pucung, dan Bawang, memiliki sifat-sifat spesifik yang mudah dikenali. Wani Bali Tembaga memiliki warna kulit buah merah muda kehijauan sangat menarik yang sangat berbeda dari warna kulit buah kultivar lainnya, Wani Bali Gadang memiliki warna kulit buah hijau tua disertai dengan ukuran buah besar-besar seragam, sedangkan Wani Bali Bawang memiliki sifat khas kulit buahnya seperti kulit bawang merah. Wani Bali Pucung bentuk buahnya khas seperti botol, sedangkan Wani Bali Gula dan Dodol sifat khasnya pada rasa daging buah, yaitu masing-masing ada rasa madu dan dodol.

Wani Bali Ngumpen (Wani Bali tanpa biji) mudah dikenali karena sifat spesifik buahnya tanpa biji (Gambar 1), warna kulit buahnya hijau kekuningan mengkilap dengan ukuran buah seragam. Disebut Wani Bali Ngumpen atau Wani Bali tanpa biji karena 90% jumlah buah tidak berbiji. Berdasarkan hasil pengamatan, buah-buah yang berbiji posisi tempat tumbuhnya selalu pada ujung tandan buah. Apabila bunga yang tumbuh

pada ujung tandan tidak berhasil berkembang menjadi buah, maka seluruh buah pada tandan tersebut menghasilkan buah tanpa biji. Unikinya, bunga yang tumbuh pada ujung tandan sangat sedikit yang berhasil menjadi buah sehingga kultivar tersebut menghasilkan proporsi buah tanpa biji jauh lebih banyak dibandingkan dengan buah berbiji (90:10). Mekanisme pembentukan buah seperti itu belum diketahui penyebabnya (Voon *et al.* 1992), sehingga perlu dilakukan studi menyangkut biologi reproduksinya. Buah Wani Bali ini belum mengisi pasar komersial, baik pasar tradisional maupun pasar swalayan, karena populasinya masih sangat sedikit. Menurut informasi pemiliknya, buah yang terasa enak dengan daging buah tebal tanpa biji hanya cukup untuk pembeli di sekitar tempat tumbuhnya.

Variabilitas Genetik Wani Bali Berdasarkan Penanda RAPD

Dari 22 kultivar Wani Bali yang ditemukan, dipilih sebanyak 10 kultivar untuk dianalisis variabilitas genetiknya dengan penanda RAPD (Tabel 3). Pemilihan 10 kultivar tersebut berdasarkan atas pertimbangan keterwakilan sentra-sentra produksi, ciri khas kultivar yang menonjol, nilai ekonomis dan potensi pengembangannya tinggi. Di samping itu, pemilihan hanya 10 kultivar dilatarbelakangi oleh keterbatasan biaya analisis sehingga tidak semua kultivar dapat dianalisis.

Pengamatan terhadap profil pita RAPD menunjukkan bahwa seluruh primer yang digunakan mampu mengamplifikasi DNA ke-10 kultivar Wani Bali, dengan jumlah pita 1-7 buah, berukuran antara 200-4.000 pb. Seluruh primer yang digunakan menghasilkan pita DNA yang polimorfik. Primer OPH-19 menghasilkan jumlah pita terbanyak (7) dan seluruh polimorfik, sedangkan primer OPB-12 menghasilkan pita paling sedikit yang juga polimorfik. Dari 10 primer yang digunakan, primer OPA-08 menunjukkan paling polimorfik (Gambar 2).

Keanekaragaman genetik berdasarkan UPGMA dan matriks keragaman genetik yang dihitung dari selisih nilai persentase kemiripan terhadap 100% berdasarkan data RAPD, menunjukkan ke-10 sampel kultivar Wani Bali terbagi atas 3 kelompok dengan tingkat keanekaragaman genetik mencapai 43%. Wani 7 merupakan satu-satunya

Tabel 2. Karakter buah kultivar-kultivar Wani Bali (*Fruit characters of Wani Bali cultivars*)

Kultivar (<i>Cultivar</i>)	Karakter buah (<i>Fruit characters</i>)				
	Warna kulit (<i>Skin color</i>)	Rasa (<i>Taste</i>)	Bentuk (<i>Shape</i>)	Ukuran* (<i>Size</i>), g	Sifat spesifik (<i>Specific characters</i>)
Ngumpen	Hijau kekuningan mengkilap (<i>Shining yellowish green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	327±14 Sedang (<i>Medium</i>)	Buah tidak berbiji, 90% total buah tanpa biji (<i>Seedless, 90% of total fruit number are seedless</i>)
Tembaga	Merah muda kehijauan (<i>Greenish red pale</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat telur (<i>Oval</i>)	580±172 Besar (<i>Large</i>)	Warna kulit buah menarik, buah muda sudah terasa manis (<i>Attractive color fruit skin, sweet taste even young fruit</i>)
Gadang	Hijau tua mengkilap (<i>Shining deep green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	513±33 Besar (<i>Large</i>)	Buah besar seragam (<i>Fruit size uniform large</i>), g
Gula	Hijau kemerahan (<i>Reddish green</i>)	Manis seperti madu (<i>Sweet likes honey</i>)	Bulat telur (<i>Oval</i>)	383±128 Sedang (<i>Medium</i>)	Rasa manis buah seperti madu (<i>Sweet likes honey</i>)
Bawang	Hijau kemerahan (<i>Reddish green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	461±40 Besar (<i>Large</i>)	Kulit buah seperti kulit bawang merah (<i>Fruit skin color likes onion skin color</i>)
Tombong	Hijau keputihan mengkilap (<i>Shining whitish green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	492±67 Besar (<i>Large</i>)	Buah berserat banyak, daging buah putih mengkilap (<i>Fibrous fruit, white shining aril</i>)
Pucung	Hijau kecoklatan (<i>Brownish green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat seperti botol (<i>Round likes bottle</i>)	561±90 Besar (<i>Large</i>)	Bentuk buah seperti botol (<i>Fruit shape likes bottle</i>)
Santan	Hijau kecoklatan (<i>Brownish green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	412±67 Sedang (<i>Medium</i>)	Buah terasa seperti santan kelapa (<i>Fruit taste likes coconut milk</i>)
Cuka	Hijau kusam kemerahan (<i>Reddish dull green</i>)	Asam seperti cuka (<i>Acid vinegary</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	496±84 Besar (<i>Large</i>)	Rasa buah asam cuka (<i>Fruit taste acid vinegary</i>)
Taluh	Hijau kecoklatan mengkilap (<i>Shining brownish green</i>)	Manis hambar (<i>Sweet tasteless</i>)	Bulat telur (<i>Oval</i>)	216±18 Kecil (<i>Small</i>)	Buah kecil seragam (<i>Fruit size uniform smal</i>)
Dodol	Hijau muda kemerahan (<i>Reddish green pale</i>)	Manis seperti dodol (<i>Sweet likes dodol cake</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	566±153 Besar (<i>Large</i>)	Rasa buah manis seperti dodol (<i>Fruit taste sweet likes dodol cake</i>)
Dongkang	Hijau kusam kasar seperti kulit kodok (<i>Coarse dull green likes frog skin</i>)	Manis hambar (<i>Sweet tasteless</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	463±32 Besar (<i>Large</i>)	Kulit buah kasar seperti kulit kodok (<i>Coarse fruit skin likes frog skin</i>)
Beligo	Hijau kusam (<i>Dull green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	583±134 Besar (<i>Large</i>)	Ukuran buah paling besar, produksi tinggi (<i>The biggest fruit size and high yielding</i>)
Bila	Hijau muda kekuningan (<i>Yellowish dull green pale</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	223±31 Kecil (<i>Small</i>)	Bentuk buah bulat lonjong tetapi pendek-pendek (<i>Fruit shape elliptical short</i>)
Sembung	Hijau kusam kekuningan (<i>Yellowish dull green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat telur (<i>Oval</i>)	361±42 Sedang (<i>Medium</i>)	Daging buah putih kemerahan (<i>Color of aril reddish white</i>)
Idur Paluh	Hijau kusam kemerahan (<i>Reddish dull green</i>)	Manis hambar (<i>Sweet tasteless</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	256±87 Kecil (<i>Small</i>)	Warna daging buah putih susu (<i>Color of aril milky white</i>)
Wakul	Hijau kusam, kasar (<i>Coarse dull green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat telur (<i>Oval</i>)	370±135 Sedang (<i>Medium</i>)	Daging buah berwarna putih susu, berserat banyak dan lembek (<i>Color of aril milky white, fibrous and soft</i>)
Siburik	Hijau burik (<i>Dotted green</i>)	Manis (<i>Sweet</i>)	Bulat lonjong (<i>Elliptical</i>)	316±71 Sedang (<i>Medium</i>)	Kulit buah hijau burik (<i>Color skin dotted green</i>)

dilanjutkan ...

lanjutan ...

Kultivar (Cultivar)	Karakter buah (Fruit characters)				
	Warna kulit (Skin color)	Rasa (Taste)	Bentuk (Shape)	Ukuran*) (Size), g	Sifat spesifik (Specific characters)
Blutung	Hijau kusam, kasar (Yourse dull green)	Manis sepat (Sweet astringent)	Bulat lonjong (Elliptical)	453±61 (Large)	Rasa buah manis sepat (Fruit taste sweet astringent)
Gatep/ Gancan	Hijau tua kekuningan mengkilap (Shining yellowish deep green)	Manis agak asam (Sweet quite acid)	Bulat lonjong (Elliptical)	410±91 g Sedang (Medium)	Rasa buah manis agak asam (Fruit taste sweet quite acid)
Kijang	Hijau kekuningan bintik-bintik coklat (Yellowish green with brown spotted)	Manis sepat (Sweet astringent)	Bulat lonjong (Elliptical)	366±65 Sedang (Medium)	Pangkal buah berwarna hijau kekuningan, yang lainnya hijau bintik-bintik coklat (Base of fruit yellowish green color but another green with brown spotted)
Kuning	Hijau kekuningan bintik-bintik coklat kehitaman (Yellowish green and blackish brown spotted)	Manis (Sweet)	Bulat lonjong (Elliptical)	346±90 Sedang (Medium)	Daging buah kuning keputihan (Withish yellow aril)

*) Berat buah (Fruit weight), g:

- Besar (Large) : > 450 - Sedang (Medium) : 300-450 - Kecil (Small) : <300

Wani yang mengelompok sendiri, sedangkan lainnya membentuk 2 kelompok dengan tingkat kesamaan 78-82% (Gambar 3 dan Tabel 4).

Kelompok I hanya terdiri atas 1 kultivar, yaitu Wani 7 (Wani Ngumpen Bebetin-Buleleng). Kelompok II terdiri atas 6 kultivar, yaitu Wani 1 (Wani Bali Cuka), Wani 2 (Wani Bali Ngumpen Sawan, Buleleng), Wani 5 (Wani Bali Pucung), Wani 6 (Wani Bali Gadang), Wani 4 (Wani Bali Tembaga), dan Wani 3 (Wani Bali Santan). Kelompok III terdiri atas 3 kultivar, yaitu Wani 8 (Wani Bali Ngumpen Dawan, Klungkung), Wani 10 (Wani Bali Dodol), dan Wani 9 (Wani Bali Beligo). Keanekaragaman antara kelompok II dan III berada pada 33%. Pada kelompok II Wani 2 dan Wani 5 mempunyai kemiripan 82%, sedangkan pada kelompok III Wani 8 dan Wani 10 tingkat kemiripannya 78%.

Berdasarkan atas keanekaragaman genetik tersebut, tampak bahwa Wani Bali Ngumpen Bebetin, Buleleng (Wani 7) memiliki genotip yang paling berbeda dengan yang lainnya. Hasil analisis penanda RAPD ini memberi gambaran bahwa kultivar Wani Bali Ngumpen yang sama-sama tanpa biji (Wani 2, Wani 7, dan Wani 8) ternyata memiliki genotip berbeda.

Dalam penelitian ini ditemukan 3 lokasi tempat tumbuhnya Wani Bali Ngumpen, yaitu di Desa Bebetin, Kecamatan Sawan Buleleng (jumlah populasi 4 pohon), di Desa Sawan, Kecamatan Sawan Buleleng (jumlah populasi 2 pohon), dan di Desa Dawan, Kecamatan Dawan Klungkung (jumlah populasi 2 pohon). Berdasarkan hasil identifikasi karakter daun, bunga, dan buah, seluruh Wani Bali Ngumpen tersebut menunjukkan karakter yang sama sehingga dimasukkan ke dalam 1 kultivar.

Ditinjau dari sebaran pengelompokan terlihat bahwa ada sekelompok Wani Bali yang berada pada 1 kelompok yang berasal dari kabupaten yang sama, yaitu Wani Bali yang dijumpai di Kabupaten Tabanan (Wani 1, Wani 3, dan Wani 6). Demikian pula kultivar-kultivar yang berasal dari Kabupaten Klungkung (Wani 8 dan Wani 9) juga berada pada kelompok yang sama (Gambar 3). Sementara itu Wani Bali yang ditemukan di Kabupaten Karangasem (tetangga dekat Kabupaten Klungkung) berada 1 kelompok dengan Wani Bali di Kabupaten Klungkung. Di lain pihak, Wani Bali yang ditemukan di Kabupaten Buleleng (tetangga dekat Kabupaten Tabanan) mengelompok dalam kelompok yang sama dengan Wani Bali dari Kabupaten Tabanan, kecuali Wani 7 (Wani Bali



1A. Buah Wani Bali Gadang (*Fruit of Wani Bali Gadang seedless*)



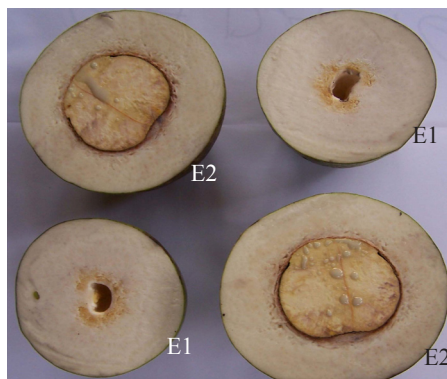
1B. Buah Wani Bali Ngumpen (*Fruit of Wani Bali Ngumpen seedless*)



1C. Buah Wani Bali Ngumpen dipotong melintang (*Fruit of Wani Bali Ngumpen seedless transversal cutted*)



1D. Lubang pada tempat biji sebesar polong kacang tanah, berisi jaringan lunak (*Hole at seed space size as peanut pod, filled soft tissue*)



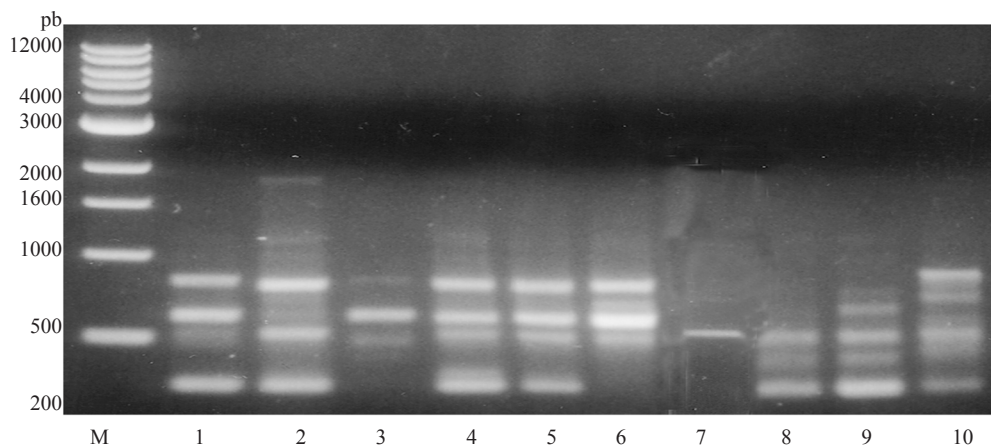
1E. Perbedaan potongan melintang buah Wani Bali (*Differentiation between transversal cutting of Wani Bali seedless and Gadang fruit*), (E1) Wani Bali Ngumpen, (E2) Wani Bali Gadang

Gambar 1A, B, C, D, E. Tampilan buah Wani Bali Ngumpen dibandingkan dengan Wani Bali Gadang (*Performance of Wani Bali Ngumpen between Wani Bali Gadang*)

Tabel 3. Nama dan tempat ditemukan kultivar Wani Bali sebagai sampel pada analisis RAPD
(*Name and discovered site of Wani Bali cultivars for sample of RAPD analysis*)

Kode (Code)	Nama lokal (Local name)	Tempat ditemukan (Discovered site)
Wani 1	Wani Bali Cuka	Kecamatan Selemadeg, Tabanan (<i>Selemadeg Subdistrict, Tabanan District</i>)
Wani 2	Wani Bali Ngumpen (Sawan)*	Kecamatan Sawan, Buleleng (<i>Sawan Subdistrict, Buleleng District</i>)
Wani 3	Wani Bali Santan	Kecamatan Pupuan, Tabanan (<i>Pupuan Subdistrict, Tabanan District</i>)
Wani 4	Wani Bali Tembaga	Kecamatan Sawan, Buleleng (<i>Sawan Subdistrict, Buleleng District</i>)
Wani 5	Wani Bali Pucung	Kecamatan Sukasada, Buleleng (<i>Sukasada Subdistrict, Buleleng District</i>)
Wani 6	Wani Bali Gadang	Kecamatan Selemadeg, Tabanan (<i>Selemadeg Subdistrict, Tabanan District</i>)
Wani 7	Wani Bali Ngumpen (Bebetin)*	Kecamatan Sawan, Buleleng (<i>Sawan Subdistrict, Buleleng District</i>)
Wani 8	Wani Bali Ngumpen (Dawan)*	Kecamatan Dawan, Klungkung (<i>Dawan Subdistrict, Klungkung District</i>)
Wani 9	Wani Bali Beligo	Kecamatan Dawan, Klungkung (<i>Dawan Subdistrict, Klungkung District</i>)
Wani 10	Wani Bali Dodol	Kecamatan Bebandem, Karangasem (<i>Bebandem Subdistrict, Karangasem District</i>)

* Menunjukkan desa tempat ditemukan (*Indicating village discovered site*)

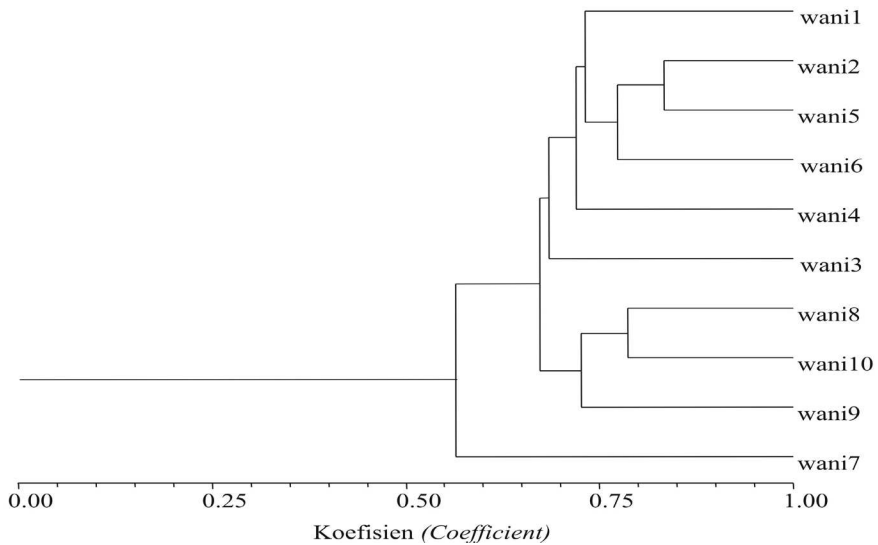


Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA 10 kultivar Wani Bali dengan primer OPA-08, M = 1 kb LADDER; 1-10 nomor kode kultivar Wani 1- Wani 10 (Results of DNA amplification of 10 Wani Bali cultivars using OPA-08 primer. M= 1 kb LADDER, 1-10 cultivars code number)

Ngumpen Bebetin, Buleleng). Hal ini menunjukkan terjadi aliran genetik Wani Bali antarkabupaten yang berdekatan. Diduga bibit Wani Bali tersebut memang menyebar ke wilayah-wilayah terdekat.

Berdasarkan pengelompokan hasil analisis RAPD diketahui bahwa Wani Bali Ngumpen

Bebetin, Buleleng secara genetik bersifat paling spesifik, demikian pula karakter buah kultivar tersebut tergolong khas dengan buah tanpa biji. Kultivar tersebut merupakan kultivar yang paling potensial dan prospektif dikembangkan menjadi Wani Unggul Nasional. Dalam rangka



Gambar 3. Dendrogram kemiripan genetik pada 10 kultivar Wani Bali (*Dendrogram of 10 samples of Wani Bali cultivars*)

Tabel 4. Matriks kesamaan genetik antara 10 kultivar Wani Bali (*Matrix of genetic similarity among 10 Wani Bali cultivars*)

Kultivar	Wani 1	Wani 2	Wani 3	Wani 4	Wani 5	Wani 6	Wani 7	Wani 8	Wani 9	Wani 10
Wani 1	1.0000									
Wani 2	0.7089	1.0000								
Wani 3	0.6667	0.6301	1.0000							
Wani 4	0.7234	0.7191	0.6818	1.0000						
Wani 5	0.7792	0.8333	0.7606	0.7586	1.0000					
Wani 6	0.7059	0.7250	0.6835	0.6737	0.8205	1.0000				
Wani 7	0.5393	0.5000	0.4819	0.5859	0.5366	0.5556	1.0000			
Wani 8	0.7073	0.6753	0.6053	0.6087	0.7200	0.6747	0.6437	1.0000		
Wani 9	0.6947	0.6444	0.6742	0.7238	0.7045	0.7292	0.6600	0.7312	1.0000	
Wani 10	0.7442	0.6420	0.5750	0.6250	0.6835	0.6667	0.5714	0.7857	0.7216	1.0000

perbaiki varietas Wani Bali ke depan, sifat-sifat khas yang dimiliki oleh kultivar-kultivar yang lain perlu dipelajari lebih seksama, hasilnya dapat digunakan untuk program perbaikan Wani Bali Ngumpen Bebetin, Buleleng agar kultivar tersebut betul-betul menjadi varietas unggul.

KESIMPULAN

1. Ditemukan sebanyak 22 kultivar Wani Bali di seluruh sentra produksi Wani Bali. Keragamannya tidak dapat dibedakan berdasarkan habitus pohon, sifat percabangan, karakter morfologi daun, dan karakter morfologi bunga.

2. Karakter buah meliputi warna kulit buah, rasa daging buah, bentuk dan ukuran buah, warna daging buah, serta ada tidaknya biji pada buah dapat digunakan untuk membedakan kultivar-kultivar Wani Bali yang ditemukan. Sifat-sifat spesifik buah yang menonjol sekaligus merupakan ciri khas dari kultivar yang bersangkutan.
3. Variabilitas genetik Wani Bali yang dianalisis dengan RAPD pada keanekaragaman mencapai 43% terdiri atas 3 kelompok. Wani Bali Ngumpen Bebetin, Buleleng memiliki genotip paling berbeda dibandingkan dengan kultivar yang lainnya.

4. Kultivar-kultivar yang berasal dari kabupaten yang sama dan atau dari kabupaten yang berdekatan mengelompok pada kelompok yang sama, kecuali Wani Bali Ngumpen Bebetin, Buleleng berada pada kelompok tersendiri. Pengelompokan seperti itu menunjukkan terjadi aliran genetik Wani antarkabupaten yang berdekatan, yang menunjukkan bibit Wani Bali menyebar sebagaimana kedekatan wilayah.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mempelajari biologi reproduksi mekanisme terbentuknya buah tanpa biji pada Wani Bali Ngumpen.
2. Perlu dikembangkan teknologi perbanyakan klonal dalam rangka pengembangan Wani Bali Ngumpen Bebetin, Buleleng yang saat ini populasinya masih sangat terbatas.

PUSTAKA

1. Grattapaglia, D., J. Chaparro, P. Wilcox, S. McCord, D. Werner, H. Amerson, S. McKeand, F. Bridgwater, R. Whetten, D. O'Malley and R. Sederoff. 1992. Mapping in Woody Plants with RAPD Markers: Application to Breeding in Forestry and Horticulture. *In Application of RAPD Technology to Plants Breeding. Joint Plant Breeding Symposia Series*, Minneapolis. p.37-40.
2. Mukherji, S.K. 1985. Systematic and Ecogeographic Studies of Crop Genepools: *Mangifera L.* *International Board for Plant Genetic Resources* (2):13-17.
3. Nei, M., and W.H. Lei. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases. USA. *Prot. Natl. Acad. Sci.* 76:5269-5273.
4. Nienhuis, J., J. Tivang, and P. Skroch. 1994. Analysis of Genetic Relationship Among Genotypes Based on Molecular Marker Data. *Joint Plant Breeding Symposia Series*, Oregon.

5. Ollitrault, P. 1990. Isozyme and DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) as Genetic Markers in Citrus Selection. *In* Aubert, B., S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon (Eds.). *Rehabilitation of Citrus Industry in The Asia Pasific Region. Proceedings of The Asia Pasific International Conference on Citriculture*. Chiang Mai, Thailand. 4-10th February 1990. p.56-68.
6. Purnomo, S. 1987. *Eksplorasi Mangga Liar di Kalimantan*. Kerjasama International Board of Plant Genetic Resources FAO dengan Sub Balai Penelitian Hortikultura Malang. 42 Hlm.
7. Rai, I. N., N. G. Astawa, S.M. Sarwadana, and M. Parwati. 2000. Potensi dan Pengembangan Buah-Buahan Lokal sebagai Buah-Buahan Unggulan Indonesia. *Prosiding "International Seminar on Investigate the Potential and Problems of Developing The Tropical Fruits of Indonesia"*. 31th August 2000, Denpasar.
8. _____, K. Suara, R. Dwiyani, K. Padmadewi, I.A. Mayun, and I.B.K. Agung. 2004. Ekplorasi Tanaman "Wani Bali" (*Mangifera caesia* Jack.) di Sentra Produksi Kabupaten Buleleng dan Karangasem. *Laporan Penelitian Dana Hibah Proyek Pengembangan Sistem Perencanaan Pengusulan Program dan Pelaporan (SP4-Kompetisi) Program Studi Agronomi*, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Udayana. 34 Hlm.
9. Steenis, C.G.G.J.V. 1978. *Flora Malesiana* (8):423-440.
10. Tanskley, S.D. 1983. Molecular Markers in Plant Breeding. *In Plant Mol. Biol. Reporter* (1):53-63.
11. Toruan-Mathius, N., dan T. Hutabarat. 1996. Pemanfaatan Teknik Penanda Molekul dalam Usaha Meningkatkan Produktivitas Tanaman Perkebunan. *Warta Puslit. Biotek. Perkebunan* II(1):2-9.
12. Voon, C.H., N. Hongshanich, C. Pitakpaivan, and A.J. Rowley. 1992. Culture Development in Tropical Fruits; an Overview. *Acta Hort.* 321(1):270-281.
13. Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrari Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acid Research* 18(22):6531-6535.