

Klarifikasi Keanggotaan Manggis ‘Malinau’ Dalam Species *Garcinia Mangostana* Menggunkan Analisis Filogenik

*'Malinau' Mangosteen Membership Classification in the *Garcinia Mangostana* Species Using Phylogeneous Analysis*

Panca Jarot Santoso^{1*}, Ellina Mansyah¹, and Adi Pancoro²

¹Balai Penelitian tanaman Buah Tropika, Balitbang Kementerian Pertanian, Sumbar, 27301

²Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

*Corresponding address: 70pjsantos@gmail.com

ABSTRACT

Phylogenetic analysis was conducted on 12 accessions of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) based on polymorphism of conserved ITS-nrDNA gene. The research was conducted in Plant Genetic Laboratory SITH-ITB and Breeding Laboratory ITFRI from 2012 to 2014. Genomic DNA's were isolated from shoot leaves, meanwhile the ITS region were amplified using specific primers ITS5-F and ITS4-R. Phylogenetic tree was then constructed based on polymorphism of their DNA sequences using software Geneious ver. 5.5.7 and *G. dulcis* as outgroup. Based on the phylogenetic tree constructed, it was found that all samples analyzed are generally monophyletic distributed, showing those are come from the same ancestor. Eleven of 12 samples are grouped in *G. mangostana*. However, as opposed to the generally view, 'Malinau' cultivar is confidently stand out of the group *G. mangostana* showing that this accession might be the different species. This fact is supported by the unique morphological characteristics of 'Malinau' compared to other 11 accessions.

Keywords: *G. mangostana*, Malinau, phylogeny, ITS-nrDNA

ABSTRAK

Analisis filogenetik telah dilaksanakan terhadap 12 kasesi manggis (*Garcinia mangostana* L.) berdasarkan polimorfisme gen lestari ITS-nrDNA. Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Genetika Tumbuhan SITH-ITB dan Laboratorium Pemuliaan Balitbu Tropika dari tahun 2012 sampai 2014. DNA genom diisolasi dari pucuk muda daun manggis. Daerah lestari ITS diamplifikasi menggunakan primer spesifik ITS5-F dan ITS4-R. Pohon filogenetik dikonstruksi berdasarkan polimorfisme dari sekuens ITS masing-masing aksesori menggunakan perangkat lunak Geneious ver. 5.5.7 menggunakan satu aksesori *G. dulcis* sebagai outgroup. Berdasarkan filodendrogram yang terbentuk, menunjukkan bahwa semua sampel yang dianalisis umumnya terdistribusi secara monofiletik, menunjukkan bahwa sampel-sampel tersebut berasal dari satu moyang yang sama. Sebelas dari 12 sampel telah tergroup dalam spesies *G. mangostana*, sebaliknya varietas 'Malinau' secara meyakinkan berada di luar group, yang menunjukkan bahwa 'Malinau' merupakan beda spesies dengan 11 sample lain yang digunakan dalam studi ini. Fakta ini didukung oleh karakteristik morfologi yang berbeda pada 'Malinau' dibandingkan dengan 11 aksesori lainnya.

Kata kunci: *G. mangostana*, Malinau, filogenetik, ITS-nrDNA

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah salah satu tanaman buah tropika yang bernilai tinggi dari kawasan Asia Tenggara termasuk Indonesia. Manggis merupakan anggota family *Guttiferae* bersama sekitar 400 spesies *Garcinia* di seluruh durian dan sekitar 100 spesies tumbuh di Indonesia (Richards, 1990; Hambali, 1996). Diantara seratus spesies, ada 22 spesies yang menghasilkan buah yang dapat dimakan (edibel), 21 spesies sebagai penghasil kayu, dan 58 spesies masih liar (Uji, 2007).

Tanaman manggis umumnya tumbuh liar di hutan dan ladang serta sebagian di lahan pekarangan. Disamping daging buahnya yang disukai karena memiliki rasa enak, pada dekade terakhir tanaman ini telah meningkat nilai ekonominya sejak ditemukannya kandungan bahan aktif xanton di dalam kulit manggis yang berguna sebagai obat herbal (Mahabusarakam et al. 2006). Sebagai akibat dari tingginya nilai ekonomi, pembudidayaan manggis di Indonesia sekarang juga sangat tinggi. Kondisi ini juga mendorong sejumlah peneliti untuk melakukan seleksi dari sumberdaya genetik indijenes dalam rangka menemukan varietas unggul. Sampai tahun 2015 ada 11 varietas manggis yang terdaftar di Kementerian Pertanian Republik Indonesia sebagai varietas unggul (Direktorat Benih Hortikultura, 2016).

Karakter manggis yang apomiksis (Richards, 1990., 1997) sering dijadikan dasar oleh para ahli botani untuk mengklaim tiadanya variasi diantara tanaman manggis. Apomiksis pada masa awal ditemukan diduga terjadi hanya pada manggis betina, tetapi menghasilkan biji yang fertile yang disebut apomiksis obligate (Richards, 1990., 1997). Proses apomiksis terjadi di

dalam sel kelamin betina (*ovule*) tanpa persarian (*fertilization*) menghasilkan progeny yang secara genetik sama dengan tanaman induknya (Koltunow *et.al.* 1995). Berdasarkan teori ini, menyebabkan manggis diakui sebagai spesies tanaman buah dengan variasi genetik yang sempit dan dianggap sebagai klon tunggal.

Penelitian mutakhir pada tanaman manggis ternyata ditemukan adanya variasi fenotip dan genetik (Sobir *et al.*, 2011). Variasi fenotip ditemukan pada bentuk kanopi, bentuk buah, warna bunga, panjang tangkai buah, stigma lobe, dll (Mansyah et al. 2003a). Variasi genetik juga dapat dibuktikan baik diantara individu dalam satu area tanaman maupun yang berbeda lokasi (Mansyah *et al.* 2003b; 2012). Variasi genetik juga ditunjukkan antara tanaman induk dengan progeni yang dihasilkan (Mansyah *et al.* 2004). Studi yang dilaksanakan oleh Ramage *et. al.*, (2004) juga menunjukkan adanya variasi genetik diantara 37 aksesori manggis yang terbagi dalam tiga group yang berbeda.

Sebelas varietas unggul durian telah diseleksi dan didaftarkan di Kementerian Pertanian untuk tujuan komersialisasi (Ditbenih, 2016), namun demikian, semua varietas ini merupakan hasil pemutihan dari varietas indigenous dari berbagai daerah, sehingga belum diketahui sepenuhnya asal-usulnya terutama berkaitan status kekerabatan genetik diantara varietas tersebut. Di kalangan pemerhati manggis ternyata memiliki berbagai ragam pendapat berkaitan dengan variasi manggis yang telah dilepas tersebut. Diantara varietas yang terdaftar, terdapat satu aksesori yang cukup unik yaitu manggis Malinau (Siregar *et al.* 2013), yang memiliki ukuran buah dan daun yang ekstra besar dibandingkan dengan varietas yang lain. Walaupun secara umum disebut sebagai manggis biasa dan masuk dalam *G. mangostana*, karakter yang

sangat berbeda ini mendorong perlunya untuk dilakukan pengujian lebih lanjut untuk informasi yang lebih terpercaya.

Tujuan dari studi ini adalah untuk menganalisis 12 aksesori manggis dalam rangka validasi posisi manggis Malinau diantara varietas manggis lainnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Genetika Tumbuhan, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Balai penelitian tanaman Buah Tropika dari tahun 2012 sampai 2014. Materi tanaman terdiri atas 12 aksesori manggis dan satu aksesori dari kerabat manggis yaitu munda (*G. dulcis*). Sampel berupa pucuk daun disimpan dalam bentuk spesimen kering dalam silika gel biru.

Daun manggis muda yang belum terbuka sempurna dikoleksi dari pohon manggis dan disimpan dalam kantong plastik berisi silica-gel sebagai bahan untuk isolasi DNA genom. Isolasi DNA dilaksanakan menggunakan metode

berdasarkan *Geneaid*TM Mini Preparation Kit dengan beberapa modifikasi. DNA hasil isolasi kemudian diamplifikasi menggunakan protokol PCR dengan primer spesifik ITS5 (5'-TAG AGG AAG GAG AAG TCG TAA CAA-3') dan ITS4 (5'-CCC GCC TGA CCT GGG GTC GC 3'). PCR meliputi tahap pre-denaturasi DNA pada suhu 94 °C selama 3 menit. Selanjutnya amplifikasi dilakukan dengan satu macam siklus yang diulang 25 kali, yaitu denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, diikuti annealing pada suhu 55°C selama 30 detik dan elongasi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Amplifikasi diakhiri dengan tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit.

Elektroforesis dilaksanakan untuk memastikan keberhasilan proses amplifikasi. Setiap 5 µl ampikon ditambah 1 µl loading dye selanjutnya dimasukkan kedalam sumur gel agarose 1% di dalam chamber elektroforesis yang dipasang pada daya listrik 100 volt selama 15-25 menit. Setelah elektroforesis, gel di rendam dalam larutan 0.01% ethidium bromide selama 10-15 menit kemudian dipindai di atas UV-transiluminator.

Tabel 1. Aksesori manggis dan kerabat manggis yang digunakan pada kegiatan penelitian

Aksesori	Karakter Morfologi					
	Ukuran daun	Ukuran buah	Bentuk buah	Warna buah	Bentuk biji	Ukuran biji
Munda	sedang	sedang	Oval	kuning	oval	besar
Kaligesing	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Wanayasa	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Puspahiang	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Lingsar	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Kamang	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Tembilahan	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Katingan	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Jambi	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Mappa	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Lotan	sedang	sedang	membulat	ungu	irreguler	kecil
Kerang dayo	sempit	kecil	membulat	ungu	irreguler	kecil
Malinau	lebar	besar	membulat	ungu	seedless	-

Sekuensing dan penyusunan pohon filogenetik

Sekuensing hasil amplifikasi dikerjakan secara *direct-sequencing* dengan menggunakan jasa pelayanan sekuensing di Macrogen, Korea. Data hasil sekuensing diolah menggunakan perangkat lunak Geneious (Drummond *et al.*, 2011) untuk membangun pohon filogenetik manggis unggul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi sampel DNA genom dari 13 aksesori manggis diperoleh produk dengan panjang sekitar 700-800 nukleotida sesuai dengan panjang sekuens gen ITS-nrDNA yang dilaporkan oleh Baldwin dkk., (1995). Penjajaran yang dilakukan terhadap 13 sekuens menunjukkan semua aksesori memiliki sekuens yang unik dan berbeda satu sama lain, untuk melihat kedudukan masing-masing aksesori, selanjutnya dilakukan rekonstruksi pohon filogenetik dengan aksesori mundu sebagai outgroup, dan hasil rekonstruksi pohon filogenetik ditampilkan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa pohon filogenetik tersusun secara monofiletik yang menggambarkan alur evolusi dari yang tertua sampai yang termuda, dimana posisi tertinggi ditempati oleh Mundu yang telah disepakati sebagai spesies diluar *G. mangostana*. Hasil

rekonstruksi menunjukkan bahwa susunan yang meyakinkan dengan nilai bootstrap 100 antara kluster 1 dan 2, sedangkan pada kluster ketiga bernilai bootstrap 74.15. Berdasarkan rekonstruksi pohon filogenetik, secara umum ke-13 sampel terpisah menjadi 3 kluster dengan kluster pertama dan kedua yang terisi oleh masing-masing satu aksesori yaitu Mundu di kluster pertama dan Malinau di kluster kedua, sedangkan kluster ketiga ditempati oleh 11 aksesori manggis lainnya.

Filodendrogram ini menunjukkan bahwa 11 aksesori yang berada dalam satu kluster yang mengindikasikan suatu konfirmasi bahwa aksesori-aksesori ini berada dalam satu spesies yang sama. Demikian juga mundu yang dari semula telah disepakati sebagai spesies yang berbeda juga terkonformasi dengan posisinya yang tersendiri dan berada pada puncak filogram. Sedangkan aksesori manggis Malinau dengan posisi yang berbeda dari group 11 manggis lainnya dan membentuk kluster sendiri menunjukkan bahwa manggis Malinau merupakan spesies tersendiri berbeda dengan *Garcinia mangostana* L. Hasil ini berbeda dengan pemahaman umum bahwa manggis Malinau adalah termasuk dalam spesies *G. mangostana*. Berdasarkan hasil penelitian ini kiranya perlu dilakukan identifikasi dan pemberian nama spesies baru untuk manggis Malinau.

- Direktorat Perbenihan Hortikulutra (2016). Database Varietas Terdaftar Hortikultura. http://varitas.net/dbvarietas/cari.php?type=varietas&q=&komoditas=*&Submit=Search
- Drummond, A. J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M. dan Cooper, A. (2011). *Geneious* v4.8. <http://www.geneious.com/>. Diunduh pada 9 Januari 2012.
- Hambali, G.G. 1996. Eksplorasi dan koleksi kerabat liar tanaman manggis di Indonesia. Paper disajikan acara Diskusi Ilmiah mengenai Teknologi Budidaya Tanaman Manggis, pada 15 Juni 1996. Bogor.
- Siregar, IZ, N Khumaida, D Noviana, MH Wibowo, & Azizah. 2013. Varietas Tanaman Unggul Institut Pertanian Bogor. Direktorat Riset dan Inovasi IPB. 46 hlm. ISBN 978-979-493-305-3
- Koltunow AM, Bicknell RA, Chaudhury AM (1995) Apomixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. *Plant Physiol* 108: 1345-1352.
- Mahabusarakam W, Kuaha K, Wilairat P, Taylor WC (2006) Prenylated xanthenes as potential antiplasmodial substances. *Planta Medica* 72:912-916
- Mansyah, E., A Baihaki, Ridwan Setiamihardja, Juliati S. Darsa, Sobir, dan R. Poerwanto. (2003a). Variabilitas fenotipik manggis pada beberapa sentra produksi di Pulau Jawa. *Jurnal Hortikultura* 13 (3): pp147-156.
- Mansyah, E., 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): pp 35-44
- Mansyah, E, Sobir, E Santosa & R Poerwanto (2010). Assessment of inter simple sequence repeat (ISSR) technique in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) grown in different Sumatra region. *Journal of Horticulture and Forestry* Vol. 2(6) pp. 127-134
- Mansyah E, Anwarudinsyah MJ, Usman F, Purnama T (2004) Genetic variability between parental tree (*Garcinia mangostana* L.) and their progenies. *J Hortikultura* 14: 229-237.
- Mansyah E, PJ Santoso, I Muas, & Sobir (2013). Evaluation of genetic diversity among and within mangosteen (*G. mangostana* L) trees. *Acta Hortic.* 975, 73-79 DOI: 10.17660/ActaHortic.2013.975.6
- José Pedraza-Chaverri Noemí Cárdenas-Rodríguez, Marisol Orozco-Ibarra, Jazmin M. Pérez-Rojas (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology* 46:3227–3239
- Ramage CM, Sando L, Peace CP, Carol BJ, Drew RA (2004) Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). *Euphytica* 136: 1-10.
- Richards AJ (1990) Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: the origin of the mangosteen. *Bot J Linn Soc* 103: 301-308
- Richards AJ (1997) Plant breeding systems. 2nd ed. Chapman and Hall. London
- Shan, T., Q Ma, K Guo, J Liu, W Li, F Wang & E Wu (2011). Xanthenes from Mangosteen Extracts as Natural Chemopreventive Agents: Potential Anticancer Drugs. *Curr Mol Med*, 11(8): 666–677

Sobir, Poerwanto R, Santosa E, Sinaga S, Mansyah E (2011) Genetic variability in apomictic mangosteen (*Garcinia mangostana*) and its close relatives (*Garcinia* spp.) based on ISSR markers. *Biodiversitas* 12: 59-63.

Uji T (2007) Diversity, distribution and potential of genus *Garcinia* in Indonesia. *Hayati* 12: 129-135