

ANALISIS ISOZIM TANAMAN MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) JOGOROGO

Oleh :

Dwi Harjoko dan Endang Yuni Astuti
Staf Pengajar Fakultas pertanian Universitas Sebelas Maret

ABSTRACT

Mangosteen plant (*Garcinia mangostana* L.) constitute one of indigenous fruit plant tropical forest at South-east Asia area, one of it Indonesian. This mangosteen plant gets growing with every consideration lowland beginning until a high 800 mdpl. Climatic type would be convenient for mangosteen plant is wet climatic type and climatic dry. Soil type that nicest for plant it is soil type latosol, with natural of the soil it rich organic matter, good aeration, and its earth reaction rather acid until neutral (pH 5 – 7). information and publication hits mangosteen plant (*Garcinia mangostana* L.) now still sparse, it is caused at mangosteen plant paper at Indonesian still very simple and was universal. At East Javanese province, which is at Jogorogo's Village, those are on Regency Ngawi, found by mangosteen type that have alone idiosyncrasy. Idiosyncrasy numbers Jogorogo's mangosteen, which is few yellow rubber, ground rind, its taste is nice and easy while is opened. Severally this idiosyncrasy as one of top numbers Jogorogo's region mangosteen. This idiosyncrasy constitute mangosteen plant potency that needs to be identified to see genetic potency, where gets bearing too with its morphology characteristic. Morphology characteristic of a plant gets bearing hand in glove with growth, viability and ability results quality fruit product. One of effort to know genetic potency and characteristic a plant is with analisis isozim. isozim Analisis method that is utilized is elektroforesis pati's gel horizontal model with four enzyme systems, which is peroxidase (PER), esterase (EST), acid phospatase (ACP) and aspartate aminotransferase (AAT). Observational yielding data as zimogram or isozim's ribbons that is made in migration distance point (Rf). Migration distance point that resulting being made deep ketidakmiripan's distance (euclidean) and is drawned out on analisis dendrogram. Analisis dendrogram was done to utilize method " Hierarchical Cluster Analysis " by pengelompokkan ala " Average Linkage (Between Groups). Result observationaling to point out that exists ribbon pattern diversity isozim on 10 mangosteen plant samples Jogorogo who is marked marks sense 5 ribbon pattern on isozim peroxidase (PER), 6 ribbon pattern on isozim esterase (EST), 4 ribbon pattern on isozim acid phospatase (ACP) and 3 ribbon pattern on isozim aspartate aminotransferase (AAT). Dendrogram bases four enzyme systems (PER, EST, ACP and AAT) on ketidakmiripan's distance (euclidean) 0.15 split up become 4 groups, where is i. group consisting of 6 samples (number sample 2, 4, 1, 9, 7 and 5) having genetic resemblance 85 %, one that point out kinship relationship among membered its group approaching.

Key word: mangosteen, diversity, isozim

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang dikenal dengan keanekaragaman hayati, salah satunya tanaman buah. Diantara tanaman buah tersebut, salah satu yang sangat digemari oleh masyarakat, yaitu tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.). Tanaman ini oleh kalangan masyarakat dunia disebut sebagai "Ratu Buah" (*Queen of Fruits*). Masyarakat Eropa menyebut manggis sebagai buah "Exotic", karena cita rasanya yang khas, yaitu manis, asam, sepet berpadu menjadi satu rasa. Rasa buahnya inilah yang menjerat lidah warga asing sehingga menggemari buah tropis ini.

Salah satu jenis tanaman manggis yang dapat menghasilkan buah sangat manis dan aroma yang sangat tajam dengan daging buah cukup besar adalah tanaman manggis Jogorogo. Tanaman ini

berasal dari daerah Jogorogo, Ngawi, Jawa Timur. Tanaman manggis daerah ini memiliki beberapa keistimewaan, yaitu getah kuning yang sedikit, kulit buah yang halus dan mudah saat dibuka.

Kekhasan buah manggis Jogorogo merupakan potensi tanaman manggis yang perlu diidentifikasi untuk melihat potensi genetik, dimana berkaitan pula dengan ciri morfologinya. Ciri morfologi dari suatu tanaman berkaitan erat dengan pertumbuhan, kelangsungan hidup dan kemampuan menghasilkan produk buah yang bermutu. Salah satu upaya untuk mengetahui potensi genetik dan karakteristik suatu tanaman adalah dengan analisis isozim.

Analisis isozim tanaman manggis ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi genetic maupun karakteristik tanaman ini sehingga akan berguna dalam bidang pemuliaan

tanaman. Adanya informasi genetic tanaman ini maka dapat ditentukan arah serta metode yang tepat dalam pemuliaan tanaman manggis. Tujuan : mengetahui dan mempelajari keragaman genetik tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) Jogorogo berdasarkan pola pita isozim. Pentingnya atau Keutamaan Penelitian : Keutamaan penelitian ini adalah memberikan landasan ilmiah mengenai keragaman genetik tanaman berdasarkan pola pita isozim. Informasi mengenai keragaman genetik yang lengkap dan akurat sangat diperlukan dalam pemuliaan tanaman terutama dalam hal ini tanaman manggis Jogorogo, sehingga dapat dikembangkan sebagai varietas unggul.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta mulai bulan April sampai dengan Mei 2008.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda (pucuk) dari tanaman berumur empat minggu setelah tanam. Bahan lain untuk analisis isozim adalah asam sitrat, asam askorbat, sistein, aquades, borax, Tris Acetic Acid EDTA (TAE), aseton, O-Dianisidine, buffer fosfat 0,2 M pH 5,7, H₂O₂, α -naftil asetat, garam fast blue BB, sukrosa, iso butanol jenuh, asam asetat, SDS, HCl, APS, TEMED, bisakrilamid, akrilamid.

Alat yang digunakan antara lain, satu set alat elektroforesis Bio-Rad Mini Protean III tipe vertikal, pompa vakum, gelas ukur, microwave, erlenmeyer, cetakan gel unit elektroforesis, pemanas, refrigerator, sumber tenaga DC, pH meter, timbangan elektrik, pengaduk magnetik, nampan, mortar, pipet, papan kaca, aluminium foil, kertas saring, kertas film, label, dan pemotong gel.

Pelaksanaan Penelitian

a. Penyiapan Bahan Tanaman

Bahan tanaman diambil dari helaian daun tanaman manggis yang masih segar, yaitu berumur empat minggu setelah tanam.

b. Pembuatan Buffer

Sebanyak 5 gram sukrosa, 0,021 gram asam askorbat, 0,018 gram sistein, 20 ml cc tank buffer, keempat larutan dicampur dalam gelas ukur dan disimpan dalam suhu 0° C.

c. Pembuatan Tank Buffer

Asam borak 14,4 gram dan borak 31,50 gram dilarutkan dalam aquades hingga volume mencapai 2 liter.

d. Pembuatan Larutan Stok

Menyiapkan gel acrilamid, terlebih dahulu membuat larutan stok, yaitu : Larutan "L", Larutan "M", Larutan "N", dan *Loading dye*.

e. Penyiapan Cetakan Gel

Merangkai cetakan gel, yaitu cetakan kaca yang dilengkapi spacer (pemisah) ditempatkan dibelakang cetakan kaca yang berukuran lebih kecil. Cetakan kaca tersebut dipasang pada *casting frame*, lalu cetakan kaca tersebut dipasang pada *casting stand*. Bahan yang digunakan dalam running adalah : gel pemisah : 1,4 ml larutan "L", 3,4 ml larutan "N", 2,7 ml H₂O, 6,4 ml TEMED, dan 13 μ l APS (baru) konsentrasi 10 %.

f. Ekstraksi Daun

Sampel daun segar ditimbang antara 0,5 gram, kemudian digunting halus dan dimasukkan dalam mortar dan buffer sebanyak 0,5 ml, selanjutnya sejumlah sampel daun yang digunakan ditumbuk halus. Kemudian masing-masing sampel dimasukkan dalam ependof dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Ditambahkan supernatan pada setiap slot.

g. Elektroforesis

Sampel daun diambil supernatannya dengan mikropipet sebanyak 2,5 μ l ditambah dengan *loading dye* dan dibantu sampel *loading guide*. Sampel tersebut ditempatkan pada gel yang tercetak. Setelah itu sampel dielektroforesis awal dengan menggunakan tegangan 200V, 60A selama 5 menit sampai sampel memasuki gel pemisah, kemudian sampel dielektroforesis lanjutan dengan menggunakan tegangan listrik konstan 85V, 400mA selama 60 menit.

h. Proses Staining

Staining adalah proses pewarnaan gel yang telah melalui proses elektroforesis dengan sistem enzim. Sistem enzim yang digunakan adalah *peroxidase* (PRX), *esterase* (EST), dan *acid phosphatase* (ACP).

i. Pencucian

Setelah pewarnaan selesai, gel dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan selanjutnya potongan gel yang terdapat garis-garis yang kemudian disebut pita-pita diamati dan ditentukan pola pitanya.

j. Pembuatan Zimogram

Pola pita isozim hasil elektroforesis direkam dengan fotografi, kemudian pola pitanya digambar zimogramnya pada kertas grafik. Pengukuran jarak migrasi (Rf) diukur dari jarak pita yang tampak dibagi dengan jarak migrasi terjauhnya.

Variabel Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan adalah mengamati pola pita isozim tanaman manggis yang terbentuk berdasarkan analisis isozim.

Analisis Data

Data pola pita yang terbentuk dianalisis dengan menggambar zimogramnya berdasarkan pengukuran dari mobilitas pita atau jarak migrasi (Rf), dan dianalisis lebih lanjut dengan menghitung jarak "euclidean" dengan metode UPGMA pada program systat versi 3.14 dengan pengelompokan secara "Group Average Linkage".

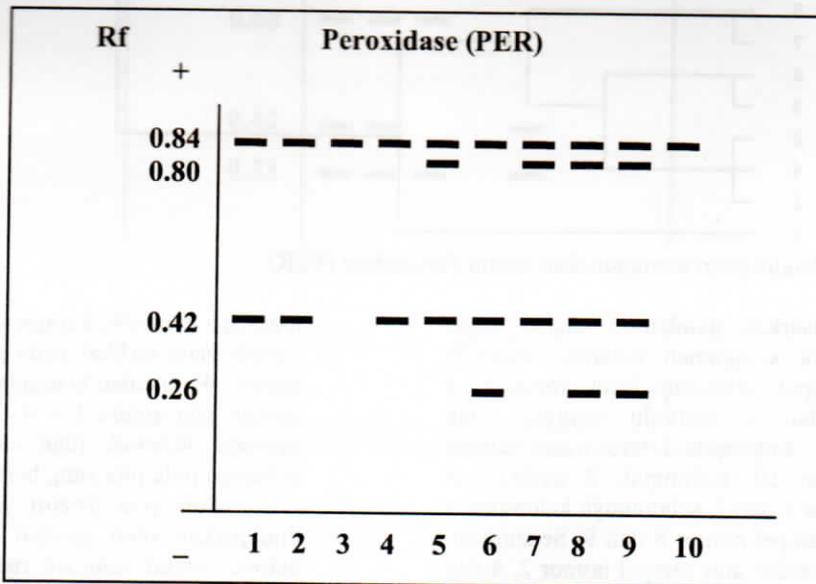
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 10 sampel tanaman manggis Jogorogo. Tanaman manggis diperoleh dari daerah Jogorogo, Kabupaten Ngawi. Analisis isozim ini menggunakan 3 sistem enzim, antara lain *peroxidase* (PER), *esterase* (EST), dan *acid phosphatase* (ACP). Hasil elektroforesis menunjukkan terdapat pola-pola pita isozim yang berbeda dari tiap-tiap isozim.

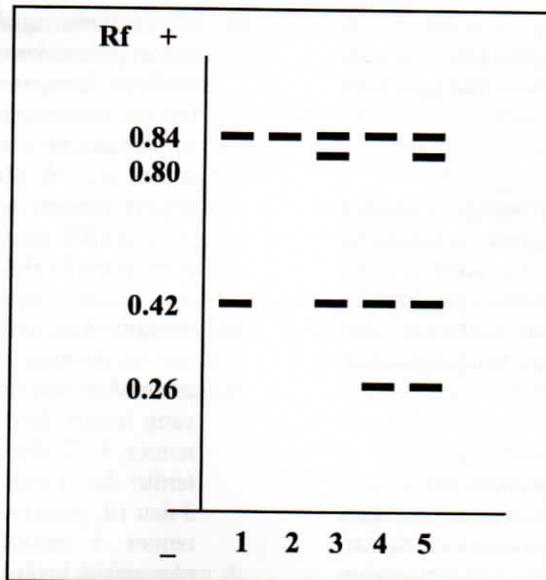
1. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *peroxidase* (PER)

Pada analisis isozim menggunakan enzim *peroxidase* (PER), menunjukkan bahwa terdapat keragaman pola pita seperti yang terlihat dalam gambar 1. Berdasarkan gambar 1, isozim *peroxidase* memiliki jumlah pita antara 1 - 4. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa isozim *peroxidase* membentuk jarak migrasi (Rf) antara lain 0.26, 0.42, 0.80, dan 0.84. pada Rf 0.84, semua sampel yang terdiri dari 10 tanaman manggis, dapat diperlihatkannya.

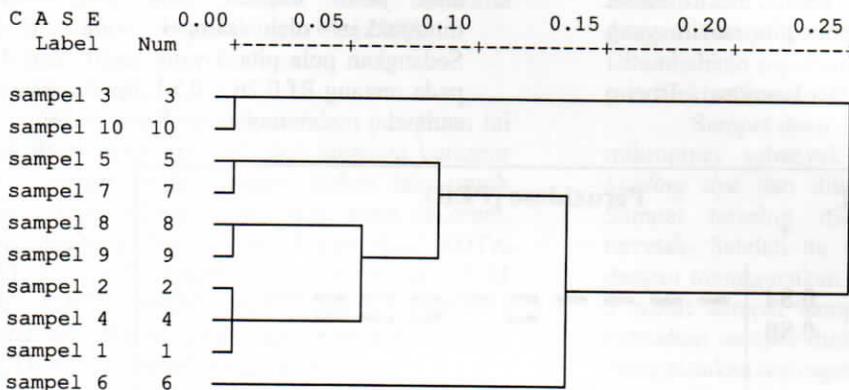
Menurut gambar 2, diketahui isozim *peroxidase* membentuk 5 pola pita. Pola pita 1 yang terdiri dari 2 pita dibentuk oleh sampel nomor 1, 2 dan 4. Untuk pola pita 2 yang terdiri dari 1 pita dibentuk oleh sampel nomor 3 dan 10, yaitu pada jarak migrasi 0.84. Sampel nomor 5 dan 7 yang membentuk 3 pita merupakan bentuk pola pita 3. Pola pita 4 yang juga membentuk 3 pita namun dalam pola pita atau jarak migrasi (Rf) yang berbeda ditunjukkan oleh sampel nomor 6 saja. Sedangkan pola pita 5 yang terdiri dari 4 pita pada rentang Rf 0.26 - 0.84 diperlihatkan oleh sampel nomor 8 dan 9.



Gambar 1. Interpretasi pola pita menggunakan enzim *Peroxidase* (PER).



Gambar 2. Pola pita yang terbentuk menggunakan enzim *Peroxidase* (PER).



Gambar 3. Dendrogram menggunakan enzim *Peroxidase* (PER).

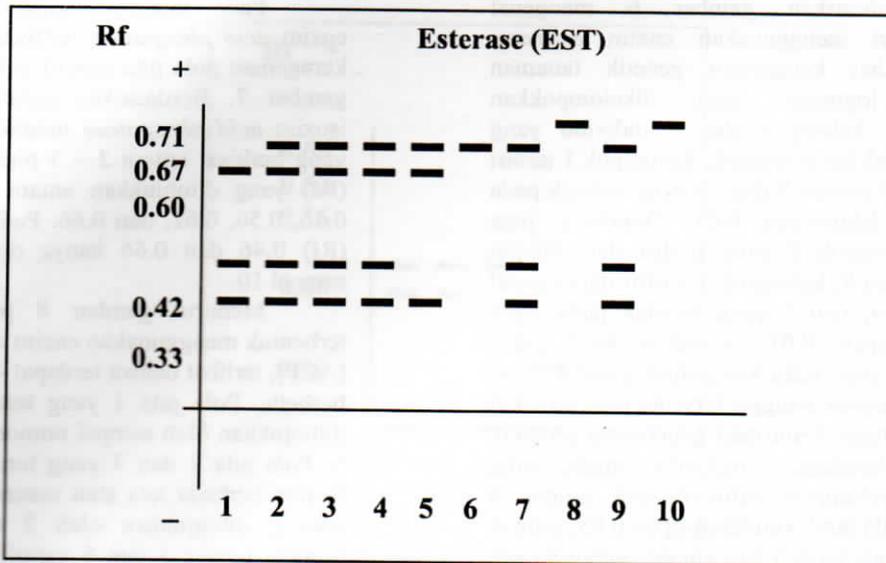
Berdasarkan gambar 3 diatas dapat dilihat bahwa keragaman tanaman manggis jogorogo dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan 1 individu tunggal tidak berkelompok. Kelompok 1 terdiri atas sampel nomor 3 dan 10. Kelompok 2 terdiri atas sampel nomor 5 dan 7, selanjutnya kelompok 3 terdiri atas sampel nomor 8 dan 9. Sedangkan, kelompok 4 terdiri atas sampel nomor 2, 4 dan 1. Kelompok 1 - 4 ini menyatu pada jarak ketidakmiripan 0,01. Sampel nomor 6 merupakan individu yang tidak berkelompok terletak pada jarak ketidakmiripan 0,14. Dari hasil dendrogram ini menunjukkan bahwa semakin kecil jarak ketidakmiripan, maka tanaman memiliki kemiripan genetik yang besar atau tinggi.

2. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *esterase* (EST)

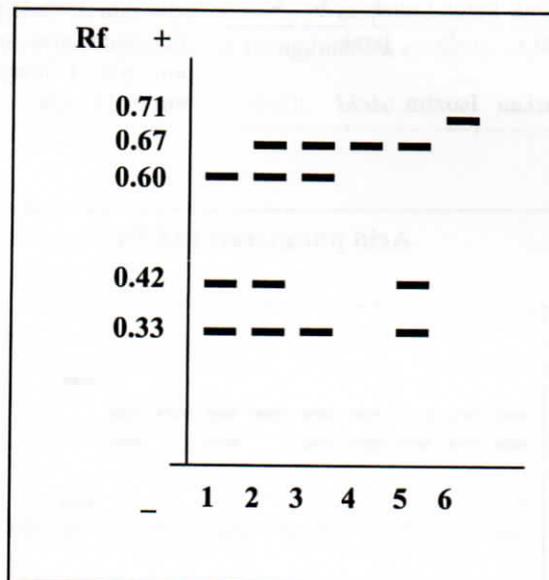
Analisis isozim menggunakan enzim *esterase*, diketahui bahwa tanaman manggis

jogorogo memiliki keragaman pola pita isozim seperti yang terlihat pada gambar 4. Menurut gambar 4, tanaman manggis jogorogo memiliki jumlah pita antara 1 - 4. Jarak migrasi yang berbeda tersebut juga dapat menunjukkan beberapa pola pita yang berbeda pula.

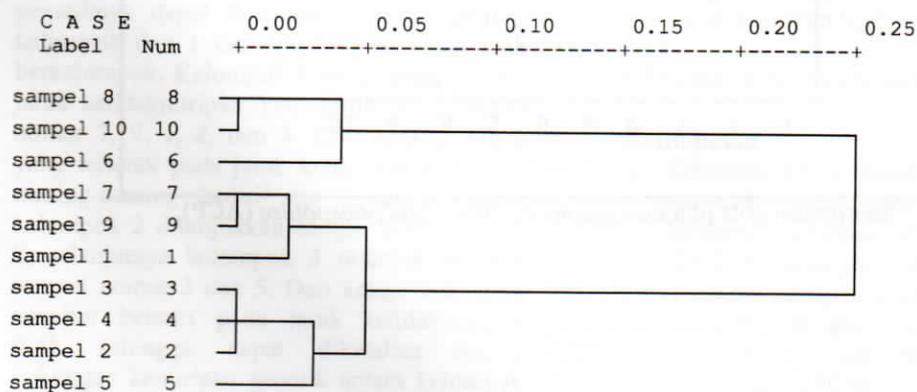
Pola pita isozim yang berbeda dapat ditunjukkan oleh gambar 5, yang diketahui bahwa isozim *esterase* memiliki 6 pola pita yang berbeda. Pola pita 2 ditunjukkan oleh sampel nomor 2, 3 dan 4. Pola pita 3. Pola pita yang hanya ditunjukkan oleh satu sampel adalah pola pita 1 pada sampel nomor 1, pola pita 3 pada sampel 5, dan pola pita 4 pada sampel nomor 6. Menurut gambar 5, jumlah 3 pita ditunjukkan oleh pola pita 1, 3 dan 5, namun tata pola pitanya berbeda-beda. Untuk jumlah 1 pita ditunjukkan oleh pola pita 4 dan 6, yang juga memiliki tata pola pita yang berbeda.



Gambar 4 Interpretasi pola pita menggunakan enzim *Esterase* (EST).



Gambar 5 Pola pita yang terbentuk menggunakan enzim *Esterase* (EST).



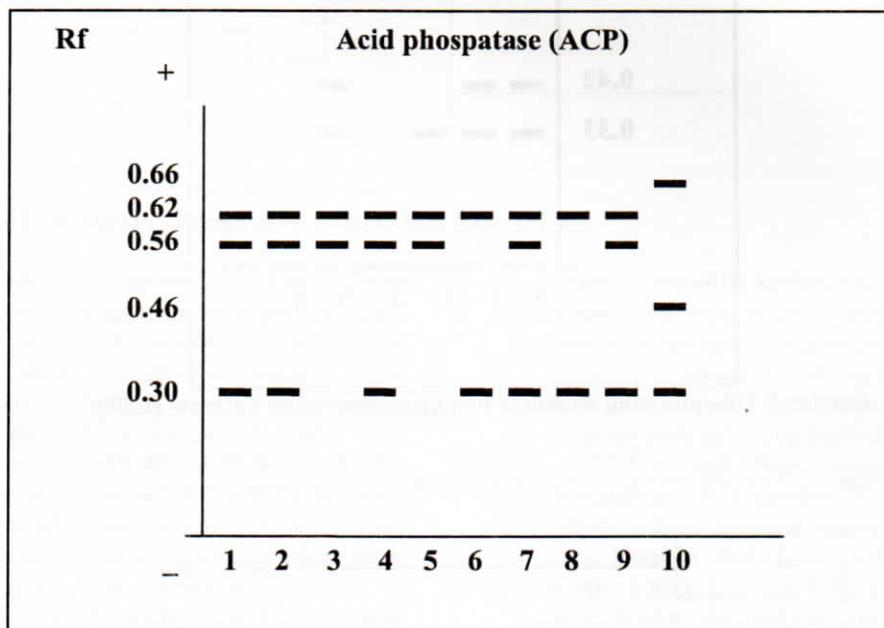
Gambar 6 Dendrogram menggunakan enzim *Esterase* (EST).

Berdasarkan gambar 6 mengenai dendrogram menggunakan enzim *esterase*, dapat dilihat keragaman genetik tanaman manggis jogorogo dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok dan 3 individu yang tunggal tidak berkelompok. Kelompok 1 terdiri atas sampel nomor 8 dan 10 yang terletak pada jarak ketidakmiripan 0.01. Demikian juga untuk kelompok 2 yang terdiri dari sampel nomor 7 dan 9, kelompok 3 terdiri dari sampel nomor 3, 4, dan 2 yang terletak pada jarak ketidakmiripan 0.01. Semakin kecil jarak ketidakmiripan maka keragaman genetik antar sampel tanaman manggis tersebut juga semakin kecil, sehingga kemiripan genetiknya semakin besar. Sedangkan, 3 individu tunggal yang tidak berkelompok yaitu sampel nomor 6 terletak pada jarak ketidakmiripan 0.05, sampel nomor 1 pada jarak 3 dan sampel nomor 5 pada jarak ketidakmiripan 0.04. Dari ketiga kelompok yang memiliki jarak ketidakmiripan 0.01 tersebut menyatu pada jarak ketidakmiripan 0.25.

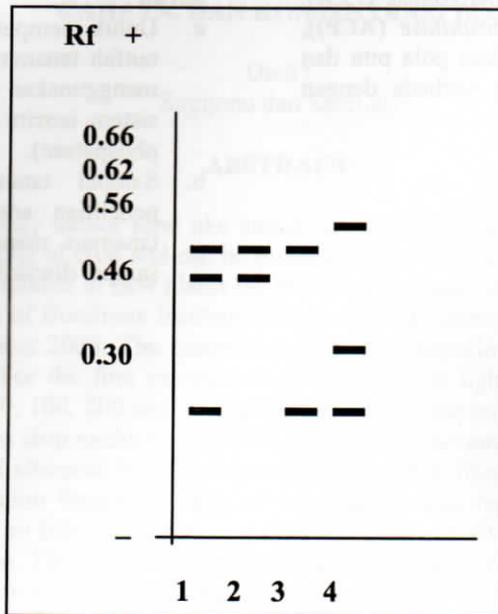
3. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *Acid phosphatase* (ACP).

Pada analisis isozim menggunakan enzim *acid phosphatase* ternyata menunjukkan keragaman pola pita seperti yang terlihat pada gambar 7. Berdasarkan gambar 7 tersebut, isozim *acid phosphatase* memiliki jumlah pita yang berkisar antara 2 – 3 pita. Jarak migrasi (Rf) yang ditunjukkan antara lain, Rf 0.30, 0.46, 0.56, 0.62, dan 0.66. Pada jarak migrasi (Rf) 0.46 dan 0.66 hanya ditunjukkan oleh sampel 10.

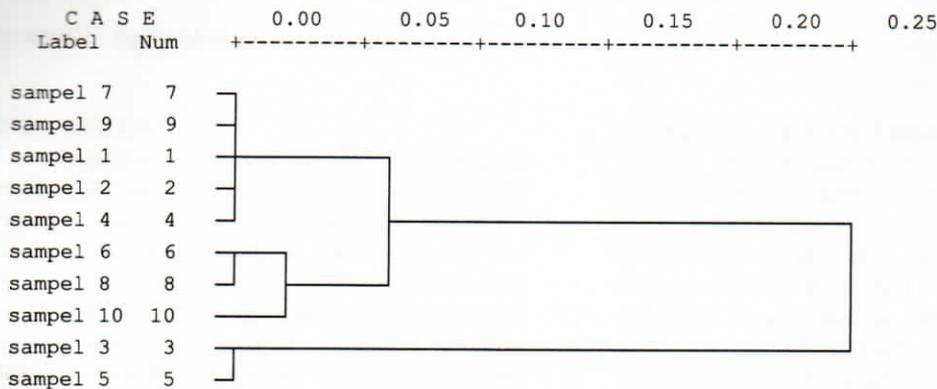
Menurut gambar 8 pola pita yang terbentuk menggunakan enzim *acid phosphatase* (ACP), terlihat bahwa terdapat 4 pola pita yang berbeda. Pola pita 1 yang terdiri dari 3 pita ditunjukkan oleh sampel nomor 1, 2, 4, 7, dan 9. Pola pita 2 dan 3 yang terdiri dari 2 pita, namun berbeda tata atau susunannya, masing-masing ditunjukkan oleh 2 nomor sampel. Sampel nomor 3 dan 5 memiliki pola pita 2, sedangkan sampel nomor 6 dan 8 memiliki pola pita 3. Pada pola pita 4 yang terdiri dari 3 pita pada jarak migrasi yang berbeda dengan pola pita 1 hanya diperlihatkan oleh sampel nomor 10 saja.



Gambar 7 Interpretasi pola pita menggunakan enzim *Acid phosphatase* (ACP).



Gambar 8 Pola pita yang terbentuk menggunakan enzim *Acid phosphatase* (ACP).



Gambar 9 Dendrogram menggunakan enzim *Acid phosphatase*.

Pada gambar 9 diatas, diketahui tanaman manggis berdasarkan keragaman genetiknya dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok dan 1 individu yang tidak berkelompok. Kelompok 1 yang terdapat pada jarak ketidakmiripan 0.01, terdiri dari sampel nomor 7, 9, 1, 2, dan 4. Kelompok 2 dan 3 yang terletak pada jarak ketidakmiripan 0.01, masing-masing terdiri atas 2 sampel, yaitu kelompok 2 ditunjukkan sampel nomor 6 dan 8, selanjutnya kelompok 3 ditunjukkan oleh sampel nomor 3 dan 5. Dari ketiga kelompok tersebut bersatu pada jarak ketidakmiripan 0.25, sehingga dapat dikatakan bahwa hubungan kemiripan genetik antara kelompok 1, 2 dan 3 cukup jauh. Demikian juga untuk sampel 10, yang merupakan individu tunggal tidak berkelompok, terletak pada jarak

ketidakmiripan 0.03, dimana baru menyatu dengan sampel yang lain pada jarak ketidakmiripan 0.25.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Sebagian besar tanaman manggis Jogorogo memiliki kemiripan genetik yang sama berdasarkan isozim *peroxidase* (PER), *esterase* (EST) dan *acid phosphatase* (ACP).
- Terdapat keragaman pola pita pada 10 sampel tanaman manggis Jogorogo yang ditandainya munculnya 5 pola pita berdasarkan isozim *peroxidase* (PER), 6 pola pita berdasarkan isozim *esterase* (EST) dan 4 pola pita berdasarkan isozim *acid phosphatase* (ACP).

- c. Berdasarkan ketiga isozim (*peroxidase* (PER), *esterase* (EST) dan *acid phosphatase* (ACP)), sampel nomor 10 menunjukkan pola pita dan ketidakmiripan genetik yang berbeda dengan sampel lainnya.

Saran

- a. Untuk mempelajari keragaman genetik plasma nutfah tanaman manggis dapat dicoba dengan menggunakan analisis isozim selain ketiga sistem isozim (*peroxidase*, *esterase*, dan *acid phosphatase*).
- b. Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian analisis isozim pada 10 sampel tanaman manggis ini, sebaiknya pada tiap sampel diwakili oleh lebih dari satu individu.