

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

Skripsi

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret**

Jurusan/Program Studi Agronomi



Oleh :

**DANY KARTIKA NUGRAHA
H 0103012**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2008

HALAMAN PENGESAHAN**ANALISIS KERAGAMAN POLA PITA ISOZIM TANAMAN MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) JOGOROGO**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Dany Kartika Nugraha

H 0103012

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal :.....

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

Dr. Ir. Endang Yuniastuti, MSi.
NIP. 132 085 921

Ir. Sukaya, MS.
NIP. 131 626 782

Prof. Dr. Ir. Djoko Purnomo, MP.
NIP. 130 543 971

Surakarta,

Mengetahui,

Universitas Sebelas Maret

Fakultas Pertanian

Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS.
NIP. 131 124 609

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, kasih sayang dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Analisis Keragaman Pola Pita Isozim Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Jogorogo". Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh derajat sarjana S1 Pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.

Penulisan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

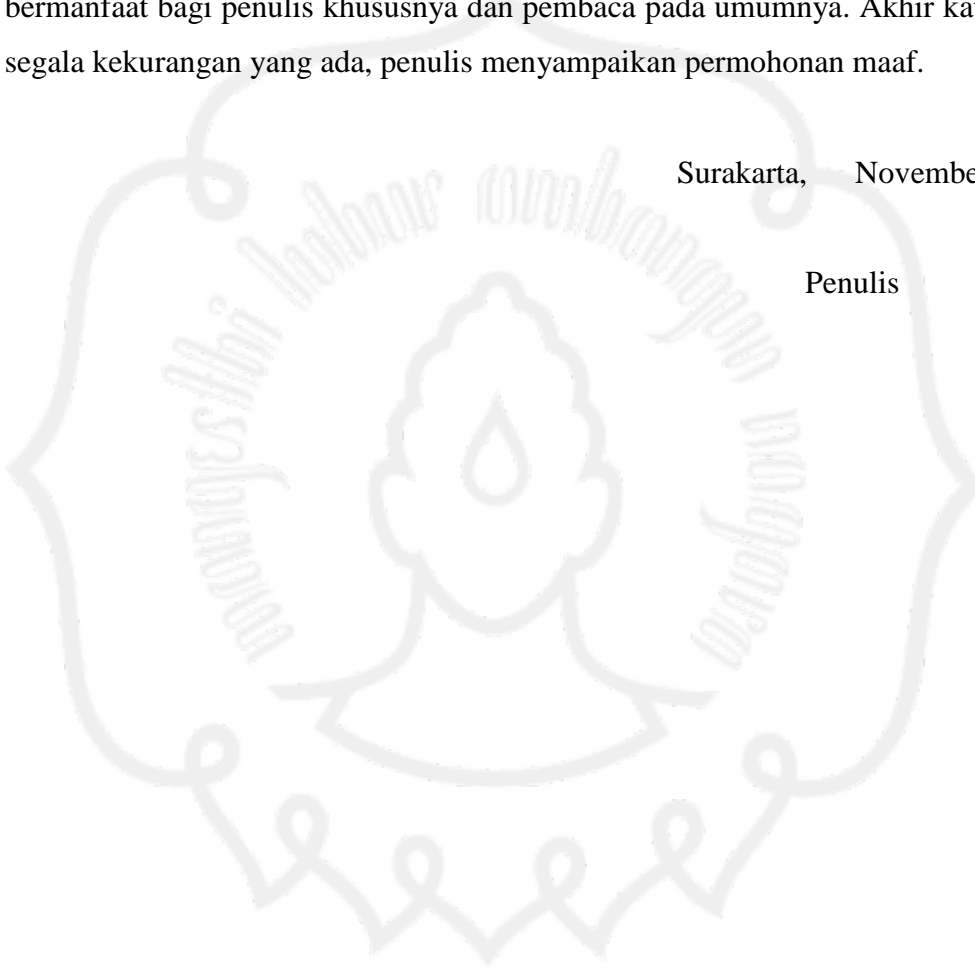
1. Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Dr. Ir. Endang Yuniastuti, MSi., selaku Pembimbing Utama Skripsi atas segala masukan, bimbingan dan bantuannya bagi penulis.
3. Ir. Sukaya, MS., selaku Pembimbing Pendamping Skripsi atas segala arahan dan bimbingan bagi penulis.
4. Prof. Dr. Ir. Djoko Purnomo, MP., selaku Dosen Pembahas Skripsi atas segala arahan dan evaluasi bagi penulis dalam penyusunan skripsi.
5. Ir. Praswanto, MS., selaku Pembimbing Akademik yang telah dengan sabar membimbing dan mengarahkan penulis selama studi.
6. DIPA Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta tahun anggaran 2007/2008 yang telah mendanai penelitian ini
7. Teman-teman seperjuangan Agronomi 2003 yang telah memberikan dukungan dan segala bantuan, terima kasih atas kebersamaannya.
8. Keluarga tercinta : Bapak, Ibu dan adik-adikku yang selalu memberikan dukungan tulus baik materi, semangat dan doa yang tidak pernah putus. Karya ini penulis persembahkan kepada mereka, terimakasih atas segalanya.
9. Teman-teman mahasiswa Fakultas Pertanian angkatan 2003, atas kebersamaan dan kekompakannya.

10. Teman-teman yang tergabung dalam "Mangosteen Team Research" : Widi, Arini, Eka dan Adi, terima kasih bantuannya.
11. Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, saran dan kritik sangat penulis harapkan sebagai bahan evaluasi. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya. Akhir kata, atas segala kekurangan yang ada, penulis menyampaikan permohonan maaf.

Surakarta, November 2008

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Biologi Tanaman Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	6
B. Penanda Keragaman pada Tanaman	9
C. Isozim	10
D. Penelitian Isozim di Bidang Pertanian.....	14
III. METODE PENELITIAN	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
B. Bahan dan Alat Penelitian	16
C. Pelaksanaan Penelitian.....	16
D. Analisis Data.....	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim Peroxidase (PER).....	21
B. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim Esterase (EST)	25
C. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim Acid phosphatase (ACP)	29

D. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim	
Aspartate aminotranferase (AAT)	32
E. Dendrogram 10 Sampel Tanaman Manggis Jogorogo	
Berdasarkan Empat Isozim (PER, EST, ACP dan AAT)	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Kerangka berpikir penelitian analisis keragaman pola pita isozim tanaman manggis Jogorogo.....	4
2.	Foto pita isozim peroxidase (PER)	22
3.	Interpretasi keragaman pola pita isozim peroxidase (PER).....	22
4.	Hasil identifikasi pola pita isozim peroxidase (PER)	23
5.	Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim Peroxidase (PER).....	24
6.	Foto pita isozim esterase (EST)	26
7.	Interpretasi keragaman pola pita isozim esterase (EST).....	26
8.	Hasil identifikasi pola pita isozim esterase (EST)	27
9.	Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim Esterase (EST).....	28
10.	Foto pita isozim acid phopatase (ACP).....	29
11.	Interpretasi keragaman pola pita isozim acid phopatase (ACP)	30
12.	Hasil identifikasi pola pita isozim acid phopatase (ACP).....	30
13.	Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim Acid phospatase (ACP).....	31
14.	Foto pita isozim aspartate aminotransferase (AAT)	33
15.	Interpretasi keragaman pola pita isozim aspartate aminotransferase (AAT)	33
16.	Hasil identifikasi pola pita isozim aspartate aminotransferase (AAT)	34
17.	Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim aspartate aminotransferase (AAT)	35
18.	Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim PER, EST, ACP dan AAT	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Lokasi tanaman manggis dan kondisi agroklimat daerah Jogorogo	43
2.	Foto-foto tanaman manggis Jogorogo.....	44
3.	Alur pelaksanaan analisis isozim	45
4.	Foto pita isozim berdasarkan 4 sistem enzim	46
5a.	Nilai Rf enzim peroxidase (PER).....	47
5b.	Nilai Rf enzim esterase (EST).	47
5c.	Nilai Rf enzim acid phospatase (ACP).	47
5d.	Nilai Rf enzim aspartate aminotransferase (AAT).	48
6a.	Jarak euclidean enzim peroxidase (PER).....	49
6b.	Jarak euclidean enzim esterase (EST).....	49
6c.	Jarak euclidean enzim acid phospatase (ACP).	49
6d.	Jarak euclidean enzim aspartate aminotransferase (AAT).....	50
6e.	Jarak euclidean berdasarkan 4 sistem enzim (PER, EST, ACP, AAT).....	50

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

**Dany Kartika Nugraha
H 0103012**

RINGKASAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman buah asli daerah Asia Tenggara, tidak terkecuali di Indonesia. Di Indonesia, tepatnya di daerah Jogorogo, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur, terdapat satu jenis tanaman manggis yang memiliki beberapa keistimewaan, yaitu rasa buah sangat manis, jumlah getah kuning sedikit, kulit buah halus dan mudah dibuka. Sifat dan keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo belum diketahui, sehingga perlu dilakukan analisis genetik dengan cara analisis keragaman pola pita isozim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari keragaman pola pita isozim tanaman manggis Jogorogo.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan September sampai Oktober 2007. Metode analisis yang digunakan adalah elektroforesis gel pati model horisontal dengan empat sistem enzim, yaitu *peroxidase* (PER), *esterase* (EST), *acid phosphatase* (ACP) dan *aspartate aminotransferase* (AAT). Data hasil penelitian berupa zimogram atau pita-pita isozim yang dibuat dalam nilai jarak migrasi (Rf). Nilai jarak migrasi yang dihasilkan dibuat dalam jarak ketidakmiripan (euclidean) dan dilanjutkan pada analisis dendrogram. Analisis dendrogram dilakukan menggunakan metode "Hierarchical Cluster Analysis" dengan pengelompokan secara "Average Linkage (Between Groups).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada 10 sampel tanaman manggis Jogorogo terdapat keragaman pola pita isozim yang ditandai keberadaan 5 pola pita pada isozim peroxidase (PER), 6 pola pita pada isozim esterase (EST), 4 pola pita pada isozim acid phosphatase (ACP) dan 3 pola pita pada isozim aspartate aminotransferase (AAT). Dendrogram berdasarkan empat sistem enzim (PER, EST, ACP dan AAT) pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,15 terbagi menjadi 4 kelompok, kelompok I terdiri atas 6 sampel (sampel nomor 2, 4, 1, 9, 7 dan 5) memiliki kemiripan genetik 85 %, yang berarti hubungan kekerabatan antar anggota kelompoknya dekat.

**ISOZYME BANDING PATTERN DIVERSITY ANALYSIS OF
JOGOROGO'S MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.)**

**Dany Kartika Nugraha
H 0103012**

SUMMARY

Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) is original plant fruit of South-east Asia region, include Indonesia. In Indonesia, exactly at Jogorogo village, Ngawi's regency, East of Java province, there is one mangosteen plant ecotype which has several special characteristic such as : nice taste, little yellow gum, smooth fruit skin and fruit easy to open. The character and diversity of genetic of Jogorogo's mangosteen not known yet, so genetic analisis by isozyme banding pattern diversity analysis is neecesseried. The research aim is to find out the isozyme banding pattern diversity of Jogorogo's mangosteen.

The research was conducted at MIPA'S Center Laboratory, University of Sebelas Maret Surakarta from September until October 2007. Starch gel horizontal type of electrophoresis was used in the analysis with four enzyme systems, there are peroxidase (PER), esterase (EST), acid phospatase (ACP) and aspartate aminotransferase (AAT). The observation of data as zimogram or isozyme's bandings that is made in migration distance point (Rf). Migration distance point representating the non-similarity distance (euclidean) which continued by dendrogram analysis. Dendrogram analysis conducted by " Hierarchical Cluster Analysis " method with " Average Linkage (Between Groups).

The result of the research, the mangosteen Jogorogo (10 samples) has isozyme banding pattern diversity, there are : 5 banding patterns available on isozim peroxidase (PER), 6 banding patterns on isozim esterase (EST), 4 banding patterns on isozim acid phospatase (ACP) and 3 banding patterns on isozim aspartate aminotransferase (AAT). Dendrogram bases four enzyme systems (PER, EST, ACP and AAT) on non-similarity distance (euclidean) 0. 15 could be grouped into 4 clusters, where is first group consisting of 6 samples (number sample 2, 4, 1, 9, 7 and 5) having similarity genetic 85 %, that showed genetic relationship between its group member is close.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang dikenal dengan keanekaragaman hayati, salah satunya tanaman buah-buahan. Di antara tanaman buah-buahan tersebut terdapat tanaman buah 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 buah inilah yang menjerat lidah warga asing sehingga menggemari buah tropis ini.

Berdasar asalnya, manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan buah asli daerah Asia Tenggara, khususnya Semenanjung Malaya, dan kini sudah tersebar sampai ke beberapa negara tropis, di antaranya Myanmar, Indocina, Indonesia, Filipina, dan Thailand. Di Indonesia buah yang dijuluki "si hitam manis" ini, keberadaannya tergolong langka, misalnya di daerah Kalimantan Tengah dan Kalimantan Selatan pohon manggis didapati tumbuh di hutan-hutan dan belum dimanfaatkan secara ekonomis (Rukmana, 1995).

Buah khas daerah tropik ini seharusnya dapat lebih dikembangkan karena merupakan buah favorit dari kalangan konsumen luar maupun dalam negeri. Menurut Rukmana (1995), prospek pengembangan agribisnis manggis sangat cerah karena selain semakin laris di pasar dalam negeri (domestik) juga selalu dinantikan pasar luar negeri (ekspor). Dalam beberapa tahun terakhir permintaan produksi manggis dari pasar internasional terus meningkat dari waktu ke waktu. Namun, dalam kenyataan belum ada usaha budidaya manggis yang khusus untuk mengembangkan. Kendala utama yang menghambat adalah masa remaja (juvenilitas) sampai berbuah relatif lama hingga umur 15 tahun atau lebih terutama bibit yang berasal dari biji. Menurut Reza, *et al.*, (1994), kendala lain adalah karena tanaman manggis hanya mempunyai bunga betina saja, sedangkan bunga jantan tidak pernah terbentuk sehingga penyerbukan

silang tidak pernah terjadi dan biji di dalam buah betina terbentuk secara apomiksis yang mewarisi sifat tanaman induk betina.

Meskipun tanaman manggis merupakan tanaman apomiksis, namun lokasi dan kultur budidaya yang berbeda dapat menyebabkan buah yang dihasilkan berbeda. 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 manggis daerah ini memiliki beberapa keistimewaan, yaitu jumlah getah kuning sedikit, kulit buah halus dan mudah dibuka.

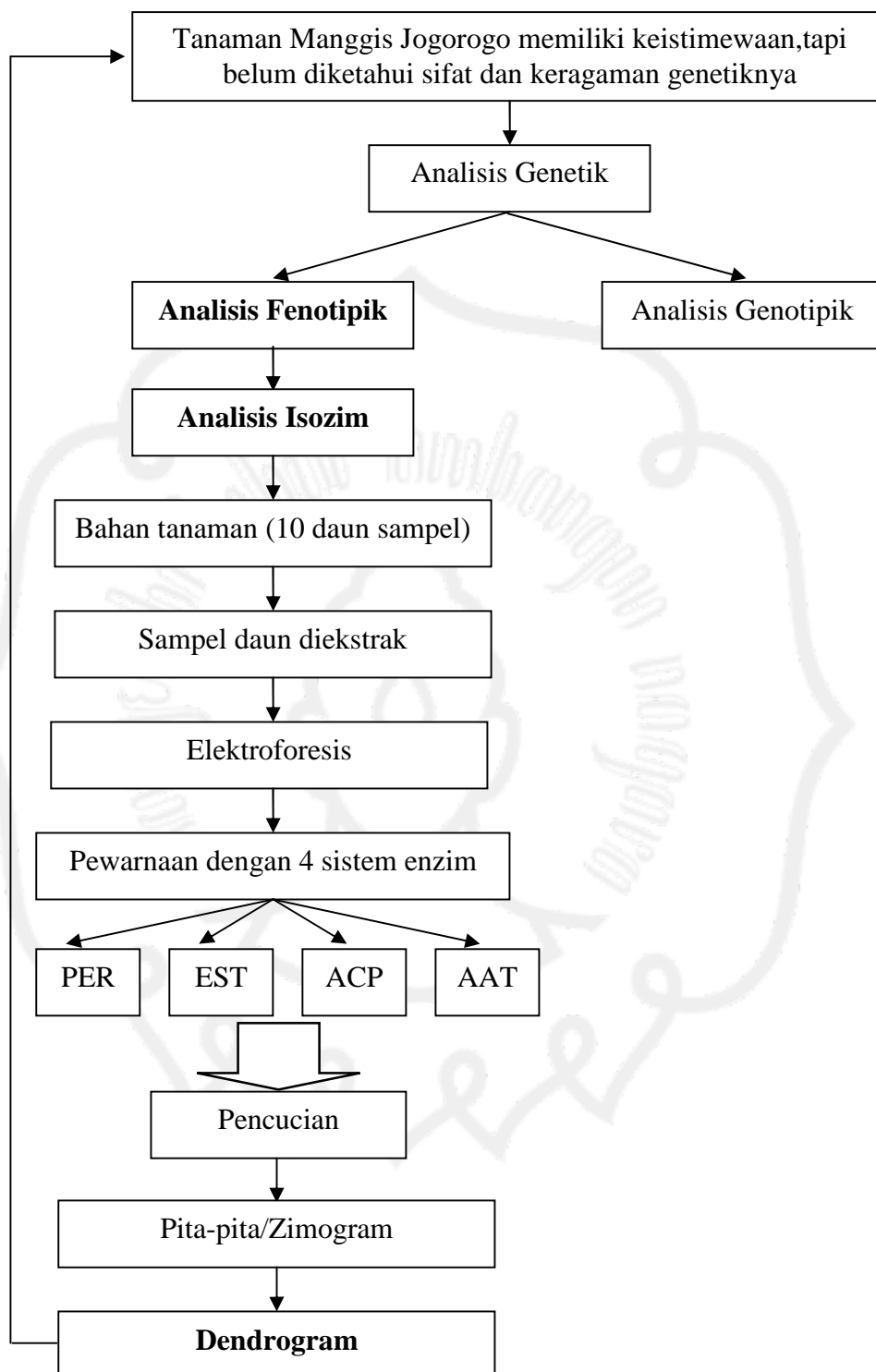
Keistimewaan buah manggis Jogorogo perlu diidentifikasi untuk melihat sifat dan keragaman genetik yang berkaitan pula dengan ciri morfologi. Ciri morfologi suatu tanaman berkaitan erat dengan pertumbuhan, kelangsungan hidup dan kemampuan menghasilkan produk buah yang bermutu. Salah satu upaya untuk mengetahui sifat dan keragaman genetik suatu tanaman adalah dengan analisis isozim. Melalui analisis isozim akan diketahui sifat dan keragaman genetik yang terlihat pada keragaman pola pita berdasarkan sistem enzim yang digunakan. Keragaman pola pita yang terinterpretasikan akan menunjukkan keragaman genetik antar tanaman dalam satu spesies. Keragaman genetik antar tanaman dalam satu spesies akan memberikan informasi mengenai hubungan kekerabatan antar tanaman tersebut.

Analisis isozim merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk estimasi tingkat variabilitas fenotip pada populasi alami. Studi variabilitas genetik dalam dan antar populasi berdasarkan sejumlah lokus isozim dapat dipertimbangkan untuk memperoleh informasi genetik dalam waktu singkat (Adams, 1983 *dalam* Mansyah *et al.*, 1999). Isozim adalah suatu enzim yang terdiri atas berbagai molekul aktif yang mempunyai struktur kimia yang berbeda tetapi mampu mengkatalis reaksi yang sama. Enzim merupakan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis tanaman yang pengadaan dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Na'iem, 1996).

B. Perumusan Masalah

Keragaman genetik tanaman sangat penting dalam ilmu pemuliaan tanaman. Plasma nutfah sebagai substansi sifat keturunan perlu mendapat perhatian, tidak hanya mengumpulkan dan memeliharanya saja, tetapi juga perlu dilakukan identifikasi (karakterisasi) dan evaluasi keragaman genetik dan fenotipnya.

Tanaman manggis Jogorogo merupakan salah satu plasma nutfah yang memiliki beberapa keistimewaan, seperti getah kuning sedikit, kulit buah halus dan mudah saat dibuka., namun informasi genetik tanaman manggis Jogorogo ini belum diketahui. Oleh sebab itu, perlu dilakukan identifikasi untuk mengetahui sifat dan keragaman genetiknya. Sifat dan keragaman genetik ini dapat diidentifikasi, salah satunya dengan analisis fenotipik melalui analisis keragaman pola pita isozim. Permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah seperti apakah keragaman pola pita isozim tanaman manggis Jogorogo. Hal ini dapat ditunjukkan dalam kerangka berpikir seperti berikut :



Gambar 1. Kerangka berpikir penelitian analisis keragaman pola pita isozim tanaman manggis Jogorogo.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari keragaman pola pita isozim tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) Jogorogo.

D. Hipotesis

Tanaman manggis di daerah Jogorogo, Ngawi, Jawa Timur terdapat keragaman pola pita isozim.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biologi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Tanaman manggis merupakan tanaman asli daerah tropis Asia Tenggara. Tanaman manggis semula tumbuh secara liar di kawasan kepulauan Sunda Besar dan Semenanjung Malaya. Secara umum manggis mempunyai susunan taksonomi sebagai berikut :

- Divisio : Magnoliophyta
- Sub-divisio : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Ordo : Guttiferales
- Familia : Guttiferae
- Genus : *Garcinia*
- Spesies : *Garcinia mangostana* L.

(Rukmana, 1995).

Tanaman manggis Jogorogo termasuk tanaman yang tinggi karena berukuran rata-rata ± 9 meter dengan rerata diameter batang berukuran 32,5 cm. Permukaan batang pohon manggis Jogorogo juga dikategorikan kasar. Bentuk kanopi tanaman manggis Jogorogo ada dua yaitu pyramidal dan spherical. Pola percabangan tanaman manggis berbentuk horisontal dengan

arah cabang utama membentuk sudut mendekati 90° dari sumbu atau batang utama. Daun manggis Jogorogo yang telah berkembang sempurna berwarna hijau tua, sedangkan daun muda yang berwarna coklat kemerahan. Bentuk ujung daun tanaman manggis Jogorogo meruncing (acuminate) dan bentuk pangkal daun tumpul atau oblique atau obtusus dengan tepi daun rata (integer). Bunga manggis adalah bunga banci (hermaphroditus) dengan jumlah banyak (planta multiflora). Buah kecil dengan bentuk bulat (spherical) dengan warna ungu hingga ungu tua saat matang, daging buah berasa manis dengan aroma aril yang lembut tidak terlalu tajam (Putro, 2008).

Buah manggis berbentuk bulat dan bercupat. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau sedangkan kulit buah yang telah matang berwarna ungu kemerahan. Kulit buah manggis mengandung zat pektin, tanin dan getah kuning. Cupat terdapat di bagian ujung buah yang menunjukkan jumlah segmen buah. Daging buah manggis bersegmen yang jumlahnya 5-8 segmen, berwarna putih dan bertekstur halus. Biji manggis berbentuk bulat pipih, berkeping dua dan bersifat poliembrioni. Biji manggis terbungkus arillode berwarna putih (Dede dan Cahyono, 2000).

Tempat yang cocok untuk pertumbuhan manggis pada ketinggian antara 0-600 mdpl. Tanaman manggis tumbuh baik dan berproduksi tinggi dilokasi pembudidayaan dengan suhu udara 25-32°C. Daerah beriklim basah dengan 10 bulan basah dalam 1 tahun dan curah hujan antara 1270-2500 mm/tahun sangat cocok untuk tempat tumbuh manggis. Kelembaban yang cocok untuk manggis adalah sekitar 80%. Intensitas sinar matahari yang diperlukan oleh tanaman manggis adalah 40%-70%. Pada masa awal pertumbuhan, tanaman manggis memerlukan naungan sedangkan menjelang dewasa memerlukan sinar matahari penuh untuk mempercepat masa awal produksi. Tanaman manggis menghendaki tanah berstruktur gembur yang kaya kandungan bahan organik dengan drainase yang baik. Tanaman manggis tidak menyukai tanah bersifat basa dan pH tanah yang dikendaki 5-7 (Dede dan Cahyono, 2000; Reza *et al.*, 1994).

Tanaman manggis dapat dikembangbiakan secara generatif dan vegetatif. Pembiakan secara generatif dilakukan dengan biji sedangkan pembiakan secara vegetatif dilakukan dengan cangkok, stek batang, sambung pucuk, penyusuan dan kultur jaringan. Pembiakan secara generatif menghasilkan bibit tanaman yang pertumbuhannya lambat sehingga masa berbuahnya sangat lambat antara 10-15 tahun. Bibit yang berasal dari pembiakan vegetatif mempunyai sifat berbuahnya tanaman lebih pendek yakni 5-6 tahun sejak penyambungan, penyediaan bibit dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat dapat dilakukan, tanaman memiliki ukuran yang seragam (Dede dan Cahyono, 2000).

Pembiakan manggis secara generatif dilakukan dengan biji. Biji tanaman manggis termasuk biji apomiksis. Apomiksis merupakan proses reproduksi tanaman dimana pembentukan lembaga tanpa adanya peristiwa pembuahan terlebih dahulu. Pembiakan dengan biji apomiksis menghasilkan tanaman baru yang sifatnya sama dengan induknya dan terjadi secara alamiah sehingga disebut perbanyakan vegetatif alami (Tjitrosoepomo, 2003; Mansyah *et al.*, 2003).

Apomiksis merupakan suatu fenomena pembentukan zigot tanpa melalui proses pembuahan. Oleh karena itu, tanaman apomiksis akan menghasilkan tanaman yang identik dengan induknya. Pengembangan sistem produksi tanaman yang identik dengan induknya akan mempertahankan karakter-karakter unggul yang sudah diperoleh. Penelitian tanaman apomiksis diarahkan untuk mengetahui dasar genetik dan mekanisme molekuler yang mengatur proses reproduksi tanaman apomiksis (Amien, 2005).

Ada 3 macam peristiwa yang digolongkan dalam apomiksis yaitu partenogenesis, apogami dan embrioni adventif. Partenogenesis adalah pembentukan lembaga tanpa pembuahan dari sel telur. Apogami adalah terjadinya lembaga tanpa proses pembuahan dari salah satu inti dalam kandung lembaga tetapi bukan dari sel telur. Sedangkan embrioni adventif adalah terbentuknya lembaga tanpa pembuahan dari salah satu bakal biji diluar kandung lembaga misalnya dari sel nuselus atau integumen. Peristiwa

apomiksis pada tanaman manggis merupakan partenogenesis. Biji yang dihasilkan tanaman manggis mengandung beberapa embrio sehingga bersifat poliembrioni (Mansyah *et al.*, 2003; Tjitrosoepomo, 2003; Erickson dan Atmowidjojo, 2001).

Produk utama dari tanaman manggis adalah buahnya. Masyarakat luas menggemari buah manggis untuk dikonsumsi sebagai “buah segar”, karena buah yang telah matang (masak) memiliki cita rasa yang khas, yakni manis, asam, dan menyegarkan. Kegunaan lain dari buah manggis adalah untuk bahan sirup, kolak, jell, sari buah, jenang atau lempak (buah kalengan). Isi buah manggis berkhasiat sebagai obat sariawan, obat luar, wasir dan borok. Tentang bagian tanaman manggis yang dapat dimanfaatkan untuk keperluan hidup dan penghidupan manusia, antara lain batang dan kulit batangnya. Batang tanaman manggis dapat digunakan untuk bahan bangunan, kayu bakar dan kerajinan. Kulit batangnya sering dimanfaatkan untuk bahan pewarna dan air rebusan kulit batang tersebut berkhasiat untuk pengobatan sakit mencret (Rukmana, 1995)

B. Penanda Keragaman pada Tanaman

Pengamatan rekombinasi genom pada tanaman dalam kegiatan pemuliaan tanaman selain dilakukan pengamatan secara langsung melalui fenotipe, juga dilakukan melalui berbagai penanda, antara lain penanda morfologi dan sitologi. Penanda morfologi adalah penanda yang berdasarkan bentuk organ-organ tanaman yang mudah diamati. Sedangkan penanda sitologi adalah penanda yang digunakan untuk membantu pemuliaan tanaman melalui ukuran kromosom, rasio tangan kromosom dan pola pita teknik-teknik pewarnaan kromosom (Asiedu *et al.*, 1989 dalam Kaidah, 1999).

Langkah awal sebelum melakukan analisis genetik suatu populasi diperlukan adanya penanda genetik. Dua macam penanda genetik yang dapat dipergunakan yaitu penanda morfologi dan penanda biokimia. Penanda morfologi menggunakan sifat-sifat, yang biasanya terekspresi dalam fenotipe suatu jenis untuk penanda genetik. Misalnya bentuk, letak, ukuran dan warna

dari bagian vegetatif maupun generatif tanaman. Penanda biokimia menggunakan hasil analisis biokimia untuk penanda genetik, misalnya melalui analisis isozim (Na'iem, 2000).

Ada dua tipe penanda (marker) biokimia untuk metode genetik, yaitu fenotipik (analisis isozim dengan elektroforesis protein) dan genotipik (analisis DNA). Pengamatan utama variasi protein sebagai penanda adalah polimorfisme dalam spesies dan populasi. Beberapa keuntungan dari penggunaan protein sebagai penanda yaitu dapat menganalisis sampel dengan cepat, bahan kimia yang digunakan relatif lebih sedikit, tekniknya lebih mudah beberapa lokus dapat diseleksi dan dapat digunakan sebagai data dasar untuk beberapa spesies. Kekurangannya dibutuhkan beberapa jaringan dalam jumlah relatif lebih banyak, sehingga dapat membutuhkan spesimen (Furgeson *et al.*, (1995); Wijana 1999 dalam Wigati (2003).

Kalangan genetika tumbuhan banyak menggunakan penanda isoenzim atau isozim. Penanda isoenzim bersifat kodominan sehingga dapat dipakai pada populasi segregasi dengan individu heterozigot (Nugraheni, 2006).

C. Isozim

Isozim (atau isoenzim) adalah bentuk molekul multipel suatu enzim yang dijumpai baik dalam satu individu atau pada anggota yang berbeda dari suatu spesies. Bentuk-bentuk molekuler atau molekul multipel yang menyusun isozim ini memiliki sifat enzim yang serupa tetapi tidak harus identik. Sebagai contoh, bentuk-bentuk molekuler ini mungkin mengkatalisis reaksi yang sama, tetapi berbeda dalam kinetiknya. Molekul-molekul ini bisa saja terdapat bersama-sama dalam sel yang sama, tetapi dapat juga ada perbedaan mencolok dalam pola pita isozim antara sel jaringan yang berlainan (Sofro, 1994).

Isoenzim adalah enzim-enzim yang terdiri dari molekul-molekul aktif yang memiliki struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalisis reaksi kimia yang sama. Enzim tersebut diproduksi berdasarkan kode-kode yang dikontrol oleh gen yang terdapat pada lokus yang berbeda atau lokus yang sama. Isoenzim merupakan produk langsung dari gen dan relatif bebas dari pengaruh

lingkungan, sehingga dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari dan mengidentifikasi keragaman individu atau suatu kultivar (Sukmajaya *et al.*, 1996).

Istilah isozim diperkenalkan pertama kali oleh Markert dan Moller pada tahun 1959. Isozim atau isoenzim disebutkan sebagai variasi yang terdapat pada enzim yang sama yang memiliki kemiripan fungsi dan terdapat pada individu yang sama. Isozim adalah suatu enzim yang terdiri atas berbagai molekul aktif yang mempunyai struktur kimia yang berbeda dan mengatalis reaksi yang sama. Enzim merupakan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis tanaman yang pengadaannya dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Na'iem, 1996).

Isozim adalah enzim yang merupakan produk langsung dari gen, terdiri dari berbagai molekul aktif yang mempunyai struktur kimia berbeda tetapi mengkatalisis reaksi yang sama. Enzim merupakan protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis tanaman yang pengadaannya dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Shannon, 1968 *dalam* Setianto 2001).

Analisis pola pita isozim selain dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar kultivar, juga dapat digunakan sebagai penanda genetik karena sifat isozim tidak berubah-ubah dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Dunn and Everitt, 1982 *dalam* Yuniastuti, 1996). Namun, dalam perkembangannya enzim dalam tanaman mengalami perubahan. Hal ini dipengaruhi oleh tipe jaringan, tingkat perkembangan tanaman, dan lingkungan tempat tumbuh (Yuniastuti, 1996).

Untuk analisis isozim bagian tanaman yang digunakan biasanya berasal dari bagian tanaman yang bersifat meristematis karena pada bagian tersebut diperkirakan aktivitas enzim tinggi, misalnya daun, batang ataupun akar. Penggunaan bagian tanaman yang meristematis dikarenakan aktivitas enzim cukup tinggi, sehingga mudah untuk diamati (Jarret and Litz, 1986 *dalam* Yuniastuti, 1996).

Pemilihan material untuk analisis isozim perlu mendapat perhatian penting. Sampel biasanya diperoleh dari jaringan vegetatif seperti helaian

daun, tangkai daun muda, bagian ujung akar atau kotiledon. Aktivitas metabolik khusus pada daun muda mengandung aktivitas enzim yang tinggi dan jaringan muda ini sering menjadi pilihan karena mudah didapat (Wendel dan Weeden, 1989).

Pemilihan bahan yang akan digunakan untuk elektroforesis merupakan hal yang sangat penting, tipe jaringan yang berbeda dapat digunakan untuk ekstraksi. Isozim tertentu dijumpai pada jaringan khusus, seperti pada bagian tertentu dari sel atau mungkin pada tingkat perkembangan yang dari siklus hidup tanaman. Dari alasan tersebut maka pemilihan tipe jaringan tertentu dan tingkat perkembangan tanaman yang sama selama studi isozim merupakan hal yang perlu diperhatikan. Sebagai contoh apabila menggunakan daun, maka contoh yang perlu digunakan adalah daun-daun yang diperkirakan berukuran (bentuk/dimensi) sama, posisi sama pada batang atau tangkai, dan diambil dari populasi alami ketika fase pertumbuhan yang sama pada musim tersebut (Conkle, 1982 *dalam* Setianto, 2001).

Isozim memiliki beberapa karakteristik dan keuntungan (Brown dan Weir, 1983 *dalam* Hadiati *et al.*, 2002), antara lain : 1). Produk dari alel yang berbeda bergerak pada muatan positif atau negatif pada gel, 2). Alel yang berbeda biasanya diwariskan secara kodominan, bebas dari epistasis, sehingga individu homozigot dapat dibedakan dari heterozigot, 3). Seringkali posisi pita merupakan produk dari suatu lokus, sehingga memungkinkan untuk mendeteksi jumlah gen yang mengkode suatu enzim dengan mengkatalisis pola pita dari enzim tersebut, 4). Peralatan dan bahan yang diperlukan relative tidak terlalu mahal dan percobaan dapat dilakukan dengan mudah di laboratorium, 5). Jumlah sample yang banyak dapat dianalisis dalam waktu singkat, 6). Dapat dilakukan pada fase bibit, sehingga dapat menghemat waktu, tempat maupun biaya.

Bila suatu enzim diselidiki dengan teknik elektroforesis, maka sering dijumpai lebih dari pita (stained zone) pada gel. Hal ini menunjukkan bahwa campuran warna awal tadi mengandung lebih dari satu jenis enzim yang dapat

berperan pada suatu substrat untuk memberikan hasil reaksi yang sama. Enzim-enzim ini disebut isozim atau iso-enzim (Lakitan, 2004).

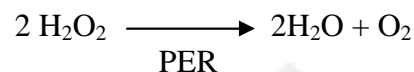
Produk langsung gen berupa protein dan enzim dapat dilacak dan dipelajari keragamannya dengan menggunakan gel dan elektroforesis. Isozim adalah enzim-enzim yang terdiri dari berbagai molekul aktif yang berbeda komposisi asam aminonya dan mengkatalisis reaksi yang sama. Perbedaan komposisi asam amino bisa disebabkan oleh alel berbeda dari lokus yang sama atau alel dari lokus yang berbeda (nonalel) (Novarianto *et al.*, 1999).

Elektroforesis adalah suatu cara pemisahan dalam suatu larutan atas dasar proses pemindahan partikel-partikel bermuatan karena pengaruh medan listrik. Molekul-molekul biologis yang bermuatan listrik dalam larutan akan bergerak ke arah elektroda yang polaritasnya berlawanan dengan muatan molekul. Pemisahan molekul-molekul dengan muatan yang berbeda merupakan prinsip yang digunakan dalam elektroforesis. Metode ini akan memisahkan nukleotida berbeda dan tiap protein (enzim) yang dianalisis ke dalam pola pita yang dapat dilihat melalui pewarnaan. Pita tersebut adalah hasil dari reaksi enzimatik dari substrat dengan enzim yang diamati. Perbedaan jarak migrasi pada pita-pita merupakan wujud dari perbedaan muatan dan bentuk molekul enzim (Nur dan Adijuwana, 1987).

Teknik elektroforesis isozim khususnya pada gel pati kentang merupakan metode yang telah lama dikembangkan untuk analisis keragaman genetik tanaman. Oleh karena kualitas pita enzim yang bagus sangat diperlukan untuk mendukung ketepatan analisis, maka dilakukan optimisasi metode elektroforesis yang meliputi pemilihan komposisi bufer pengekstrak, sistem bufer elektroforesis, prosedur pewarnaan enzim serta pemilihan material tanaman (Hartati, *et al.*, 2005).

Peroksidase (PER) merupakan anggota enzim reduktase yang dianggap mempunyai hubungan nyata dengan penyebab perubahan pada rasa, warna, tekstur, dan kandungan gizi buah-buahan dan sayuran yang belum diolah (Burnette, 1977 dalam Rouf, 2007). *Peroksidase* pada tanaman merupakan isozim yang berperan dalam pertumbuhan, diferensiasi dan pertahanan. Enzim

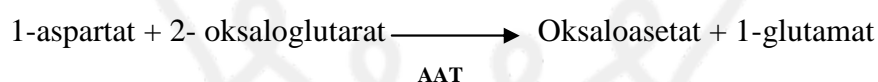
peroksidase (PER) tergolong dalam kelompok oksido reduktase. Enzim peroksidase terdapat di berbagai jaringan tanaman dan berasosiasi dengan berbagai fungsi katalis, seperti oksidasi IAA, sintesis etilen, lignifikasi dan ketahanan terhadap suatu penyakit. Reaksi yang terjadi dalam pewarnaan enzim adalah :



Peroksidase mengatalis H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 substrat senyawa fenilin diamin seperti *3-amino-9 etil karbozole* akan dioksidasi oleh oksigen hasil reduksi membentuk endapan berwarna merah kecoklatan (Vallejos, 1983 dalam Rouf, 2007).

Enzim *esterase* tergolong dalam enzim kelompok III (Hidrolase) yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asamanorganik, alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul rendah dan mudah larut. Reaksi yang terjadi adalah monoester fosfat + $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{esterase}}$ alkohol + fosfat organik. Substrat senyawa nitrofenil fosfat dihidrolisis oleh *esterase* menjadi nitrofenol dan fosfat an organik. Nitrofenol dalam garam diazonium seperti fast garnet GBC membentuk endapan berwarna coklat (Vallejos, 1983 dalam Triastuti, 2004).

Enzim AAT tergolong dalam protein fosfat piridoksal. Reaksi yang terjadi dalam analisis enzim AAT adalah sebagai berikut :



Oksaloasetat akan bereaksi dengan pewarna Fast blue BB salt secara spontan (Suketi, 1994).

Enzim ACP tergolong dalam kelompok hidrolase dengan reaksi sebagai berikut :



Substrat senyawa nitrofenil fosfat dihidrolisis oleh ACP menjadi nitrofenol dan fosfat anorganik nitrofenol dengan garam diazonium seperti *fast garnet GBC* membentuk endapan berwarna coklat (Suketi, 1994).

D. Penelitian Isozim di Bidang Pertanian

Menurut Hadiati *et al.*, (2002) pada penelitiannya menggunakan enam sistem enzim, yaitu *peroxidase* (PER), *phosphor-glucomutase* (PGM), *alcohol dehydrogenase* (ADH), *malate dehydrogenase* (MDH), *shikimate dehydrogenase* (SKDH), dan *glucose phosphate isomerase* (GPI). Enzim-enzim tersebut mempunyai pola pita yang jelas dan polimorfis, serta terbukti dapat digunakan untuk mengidentifikasi nanas.

Mansyah *et al.*, (1999) melakukan penelitian dengan judul “Variabilitas genetik tanaman manggis melalui analisis isozim dan kaitannya dengan variabilitas fenotipik”. Penelitian ini menggunakan metode gel pati model horisontal dengan pewarnaan untuk enam jenis isozim masing-masing *Acid phosphatase* (ACP), *Aspartate aminotransferase* (AAT), *Leucine aminopeptidase* (LAP), *Esterase* (EST), *Shikimic dehydrogenase* (ShDH) dan *Glucose Phosphate Isomerase* (GPI). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isozim GPI memberikan kualitas pola pita terbaik untuk identifikasi dan marka genetik manggis. Pola pita GPI tanaman sampel yang diuji tidak bervariasi, yang menggambarkan bahwa populasi manggis Sumatera Barat mempunyai variabilitas genetik yang sempit.

Penelitian yang dilakukan oleh Yuni Triastuti pada tahun 2004 dengan judul penelitian *Identifikasi Tanaman Kedelai Lokal Gunung Kidul melalui Uji Isozim*. Penelitian ini menggunakan sampel daun tanaman kedelai varietas lokal gunung kidul yaitu varietas Gedhe dari Desa Rongkop, varietas Ireng dari desa Gading dan varietas Cilik dari desa Nogosari. Sedangkan enzim yang digunakan adalah peroksidase dan *esterase*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berdasarkan pola pita isozim *peroksidase* dari tiga varietas kedelai tersebut, kedelai Gedhe dari Rongkop dan Cilik dari Nogosari memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Sedangkan berdasarkan pola pita isozim *esterase*, kedelai Gedhe dari Rongkop dan Ireng dari Gading memiliki hubungan kekerabatan yang dekat (Triastuti, 2004).

Penelitian yang dilakukan oleh Sriyono pada tahun 2005 dengan judul penelitian *Identifikasi dan keragaman genetik pohon induk durian (Durio zibethinus Murr) lokal di Jawa Tengah berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isozim*. Penelitian ini menggunakan enzim *peroksidase*, *esterase* dan *diaporase*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isozim *peroksidase* terdapat 5 pola pita, isozim *esterase* terdapat 6 pola pita, sedangkan berdasarkan isozim *diaporase* terdapat 5 pola pita (Sriyono, 2006).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta mulai bulan September sampai Oktober 2007.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan

a. Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan untuk analisis isozim adalah daun muda dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo. Tanaman manggis tersebut berasal dari daerah Jogorogo, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

b. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain, pati kentang, L-asam askorbat, L-sistein, triton-X-100, PVP-40, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, L-histidin monohidrat, asam sitrat monohidrat, tris hidroksimetil aminometan, sodium fosfat, α -naftil asetat, aseton, fast blue RR salt, natrium asetat, CaCl_2 , H_2O_2 , 3-amino-9 etilkarbasol, gliserol, etanol, pasir kuarsa, parafin cair, bromfenol biru, dan aquadest.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam analisis isozim adalah satu set alat elektroforesis model horizontal, *high voltase power supply*, penangas air atau *microwave*, lemari es atau ruang pendingin, alat pemotong gel, nampan tempat pewarnaan, mortar, kertas saring, plastik, pipet, timbangan elektrik, pengaduk elektrik, gelas ukur, erlenmeyer, termos dan penggaris.

C. Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan untuk analisis isozim adalah 10 sampel daun muda tanaman manggis Jogorogo yang masih segar.

2. Pembuatan Buffer Pengekstrak

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan buffer pengekstrak (untuk 40 ml) antara lain :

- 10 mM L-asam askorbat : 0,07045 g.
- 40 mM L-sistein : 0,1939 g.
- Triton-X-100 : 0,12 g.
- PVP-40 : 0,25 g.
- 0,1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Phosphate buffer) pH 7,0

3. Pembuatan Buffer Gel dan Elektrode

Buffer Gel, terdiri dari :

- 5mM L-Histidin monohidrat : 1,048 g/l.
- dicampur dengan tris sampai pH 6,0.

Buffer Elektrode, terdiri dari :

- 50 mM asam sitrat monohidrat : 10,5507 g.
- 150 mM tris hidroksimetil aminometan : 18,1650 g.

4. Pembuatan Gel Pati

Gel pati dibuat dari pati kentang khusus dengan proses hidrolisis. Banyak pati yang digunakan tergantung pada besar-kecil cetakan dengan

dengan konsentrasi sebesar 10%, dalam artian apabila volume buffer gel 225 ml maka padat pati yang digunakan adalah 22,5 gram.

Pembuatan gel pati dengan *microwave* : pati dicampur dengan sepertiga bagian dari buffer gel , dan dua pertiga bagian lagi dimasak lebih dulu memakai elenmeyer dalam *microwave* sampai mendidih. Setelah mendidih, larutan buffer gel diangkat lalu dicampurkan dengan campuran pati dan kemudian dimasak lagi sampai kelihatan bening, lalu divakum sampai gelembung udara dalam gel habis. Selanjutnya gel secepat mungkin dituang pada cetakan yang terlebih dulu diolesi paraffin cair dan lubang pada kaki cetakan ditutup dengan selotip. Sesudah gel menjadi dingin, ditutup dengan plastik yang telah diolesi dengan paraffin. Sebelum digunakan gel dapat disimpan pada suhu 5-10°C.

5. Ekstraksi Daun

Sampel daun segar ditimbang antara 100-200 mg lalu digunting halus, kemudian dimasukkan dalam mortar yang telah diberi pasir kuarsa dan buffer pengestrak sebanyak 0,5 ml, selanjutnya 10 sampel daun ditumbuk sampai halus. Kemudian kertas saring yang telah dipotong sesuai dengan ukuran yang dibutuhkan dimasukkan dalam mortar yang berisi hasil tumbukan daun sampel, untuk menyerap cairan sampel. Kertas saring yang telah menyerap cairan sampel dari masing-masing daun sampel tersebut disisipkan pada gel pati yang telah dilubangi dengan ukuran tertentu.

6. Elektroforesis

Gel pati disisipkan kertas saring yang telah mengandung contoh daun dimasukkan kedalam tray yang telah berisi buffer elektrode. Sebelum dimasukkan, selotip pada kaki cetakan dilepas, dan kaki cetakan harus terendam dalam buffer elektrode lalu diletakkan dalam ruangan atau lemari es pada suhu antara 5-10°C. Elektrolisis awal dilakukan selama 30 menit pada 100 volt dan selanjutnya pada 150 atau 200 volt selama 3-4

jam. Bromofenol biru diberikan pada salah satu sisi gel sebagai penanda dan untuk mengontrol jarak migrasi protein.

7. Pembuatan Larutan Pewarna

Setelah elektroforesis kertas saring dikeluarkan terlebih dahulu dari lubang-lubang, kemudian gel dipotong menjadi 2 dan dibelah menjadi 2 posisi horizontal diatas alat pemotong. Lembaran gel diletakkan dalam nampan kemudian memberi pewarna yang masing-masing telah disiapkan. Pewarna yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim *peroxidase* (PER), *esterase* (EST), *acid phosphatase* (ACP) dan *aspartate aminotransferase* (AAT).

Selanjutnya nampan ditutup dengan aluminium foil atau yang lainnya dan diinkubasi pada suhu ruang sampai muncul pita-pita pada gel yang cukup jelas. Perendaman dalam larutan pewarna memerlukan waktu antara 1-2 jam atau lebih tergantung dari sistem enzim.

Larutan pewarna (Wendel dan Weeden, 1989) :

a. Pewarna *Peroxidase* (PER) :

- 50 mM Natrium asetat pH 5,0 : 100 ml.
- CaCl₂ : 50 mg.
- H₂O₂ 3% : 0,5 ml.
- 3-Amino-9 etilkarbasol : 50 mg.

b. Pewarna *Esterase* (EST) :

- 100 mM Sodium fosfat pH 7,0 : 100 ml.
- α-Naftil asetat : 50 mg.
- β- Naftil asetat : 50 mg.
- Aseton : 5 ml.
- Fast Blue RR Salt : 100 mg.

c. Pewarna *Aspartate aminotransferase* (AAT) :

- Fast Blue BB Salt : 50 mg (1ml).
- H₂O : 800 ml.
- α-Ketoglutaric acid : 292 mg.
- L-aspartic acid : 1,07 g.

- PVP-40 : 4,00mg.
- EDTA, Na₂ Salt : 400 mg.
- Sodium phosphate,dibasic :11,36 g.

d. Pewarna *Acid phosphatase* (ACP) :

- 50 mM Na-acetate buffer, pH 5,0 : 50 ml.
- Na- α -naphtyl acid phosphate : 50 mg.
- MgCl₂ : 50 mg (1 ml).
- Fast Garnet GBG salt : 50 mg (1 ml).

8. Pencucian dan Fiksasi

Selesai pewarnaan gel dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya potongan gel yang berisi garis-garis atau pita-pita kemudian diamati dan ditentukan pola pitanya (Wendel dan Weeden, 1989).

9. Dokumentasi

Langkah terakhir dari kegiatan analisis isozim yaitu pengamatan atau dokumentasi. Karena daya tahan gel ini tidak bisa disimpan terlalu lama, maka sebaiknya setelah proses pencucian kalau tidak diawetkan segera digambar atau dipotret. Untuk memudahkan pengamatan atau pemotretan, gel dipindahkan dari bak pewarna dengan plastik transparan.

D. Analisis Data

Data hasil penelitian ini berupa zimogram atau pita-pita isozim. Data zimogram atau pita-pita isozim ini selanjutnya dibuat dalam data nilai jarak migrasi atau R_f (Retensi Frekuensi). Nilai jarak migrasi atau R_f ini diperoleh dari perbandingan antara pita yang terbentuk dengan jarak migrasi terjauh. Data R_f yang diperoleh dianalisis lebih lanjut dengan menghitung jarak ketidakmiripan atau “euclidean”, selanjutnya dilakukan analisis dendrogram.

Analisis dendrogram bertujuan untuk menyusun pohon filogenetik atau disebut dendrogram yang dapat digunakan untuk membedakan antar individu, varietas ataupun populasi dalam satu spesies dengan menggunakan data keragaman pola pita isozim yang terbentuk. Analisis dendrogram ini dilakukan

dengan menggunakan metode “hierarchical cluster analysis” pengelompokan secara “Average Linkage (Between Groups)” pada program SPSS 15.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

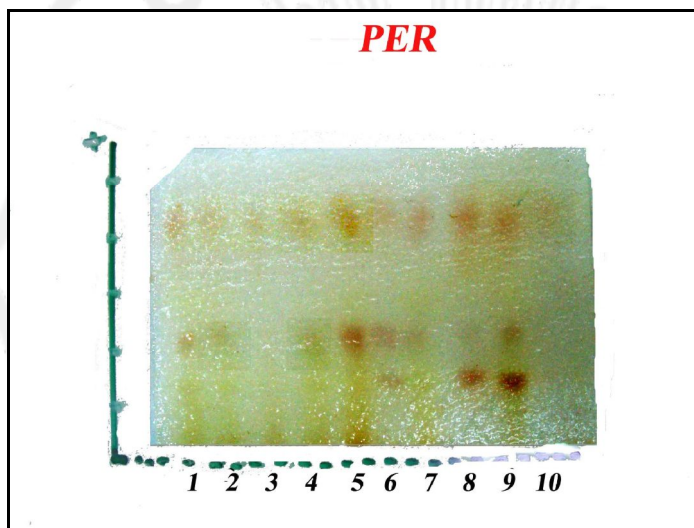
Penelitian ini menggunakan 10 sampel tanaman manggis yang diperoleh dari pekarangan masyarakat di daerah Jogorogo, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Sampel tanaman manggis tersebut dianalisis isozim dengan menggunakan 4 sistem enzim. Enzim tersebut antara lain, *peroxidase* (PER), *esterase* (EST), *acid phosphatase* (ACP) dan *aspartate aminotransferase* (AAT). Dari hasil elektroforesis menunjukkan bahwa terdapat pola-pola pita yang berbeda dari masing-masing isozim.

A. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *Peroxidase* (PER).

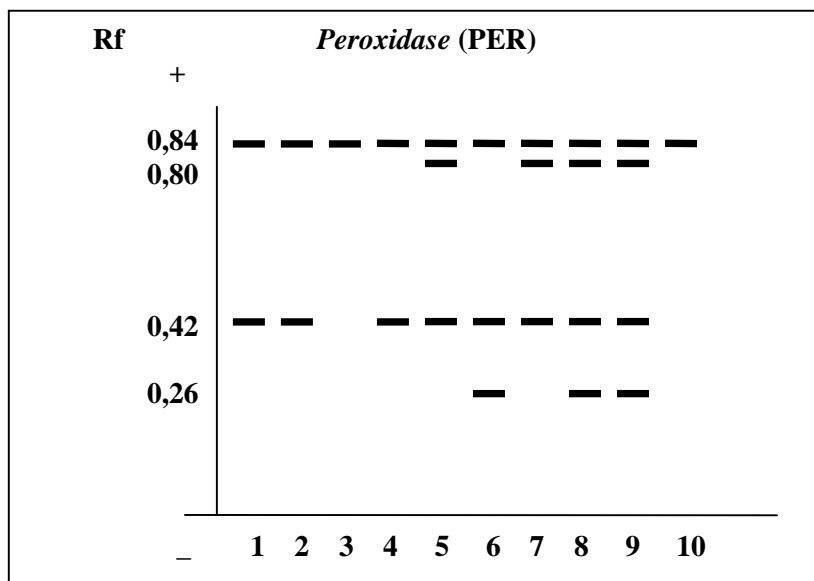
Pada analisis isozim sistem enzim *peroxidase* menunjukkan bahwa terdapat keragaman pola pita seperti yang terlihat dalam gambar 2 dan 3. Gambar 2 tersebut merupakan pemotretan secara langsung hasil pewarnaan gel pati dengan sistem enzim *peroxidase* yang terbentuk pita-pita berwarna merah kecoklatan. Menurut Cahyarini *et. al.*, (2004), dari hasil elektroforesis pada analisis isozim *peroksidase* yang berupa pita-pita setelah dilakukan pewarnaan, merupakan hasil dari reaksi enzimatik. *Peroksidase* mengkatalisis H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Substrat senyawa fenilin diamin seperti *3-amino-9 etil karbazole* yang terdapat dalam larutan pewarna akan dioksidasi oleh oksigen hasil reduksi *peroksidase* membentuk endapan berwarna merah kecoklatan. Warna merah kecoklatan yang timbul disebut pita dan berada pada jarak migrasi tertentu

Berdasarkan gambar 3, dari 10 sampel tanaman manggis, isozim *peroxidase* memiliki jumlah pita yang muncul bervariasi antara 1 – 4 pita.

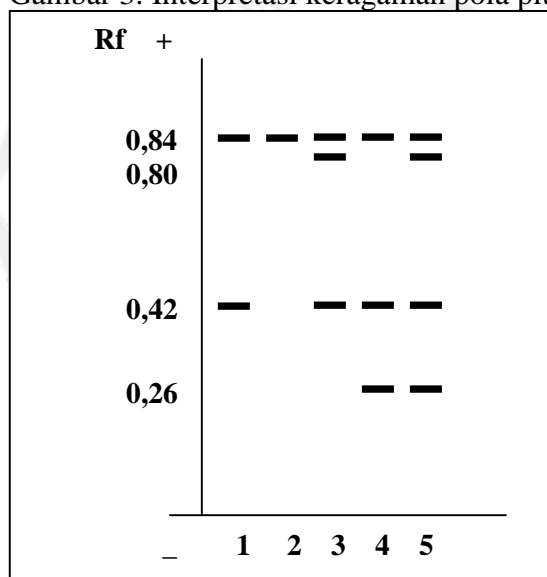
Gambar 3 juga menunjukkan jarak migrasi atau Rf (Retensi Frekuensi) yang terbentuk antara lain pada jarak 0,26; 0,42; 0,80; dan 0,84. Dari keempat jarak migrasi tersebut, hanya jarak migrasi 0,84 yang dapat ditunjukkan oleh semua sampel tanaman manggis. Aktivitas enzim *peroxidase* dapat dikelompokkan menjadi 2 daerah aktivitas enzim. Daerah aktivitas enzim I terletak pada Rf 0,26 – 0,42, sedangkan daerah aktivitas enzim II terletak pada Rf 0,80 – 0,84. Dari pengelompokan daerah aktivitas enzim *peroxidase* berdasarkan jarak migrasi (Rf), diduga ke-2 daerah aktivitas enzim tersebut disebabkan oleh lokus yang berbeda, sehingga isozim *peroxidase* ini memiliki 2 lokus.



Gambar 2. Foto pita isozim *peroxidase* (PER).



Gambar 3. Interpretasi keragaman pola pita isozim *peroxidase* (PER).

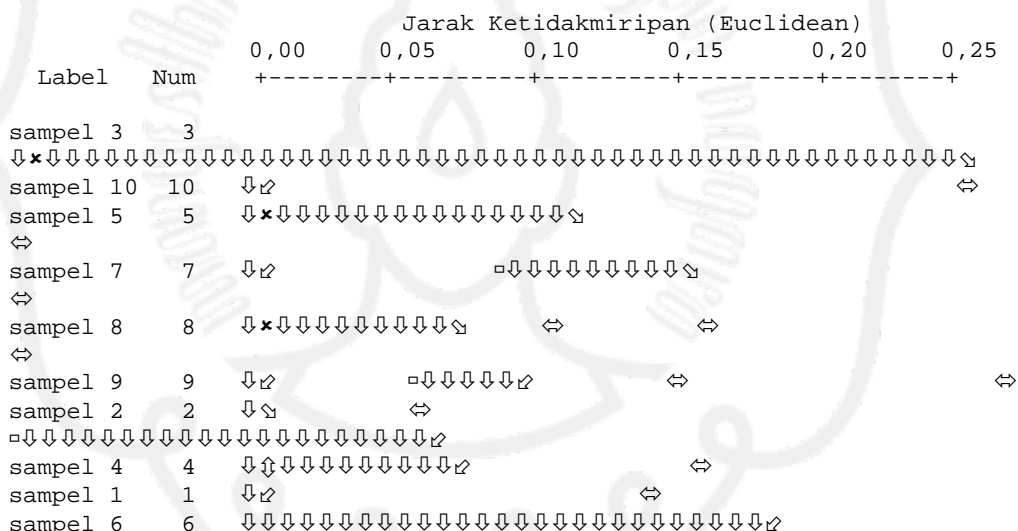


Gambar 4. Hasil identifikasi pola pita isozim *peroxidase* (PER).

Isozim *peroxidase* menurut gambar 4 diatas memiliki 5 pola pita. Pola pita 1 yang terdiri atas 2 pita (pada Rf 0,42 dan 0,84) dibentuk oleh sampel nomor 1, 2 dan 4. Untuk pola pita 2 yang terdiri atas 1 pita dibentuk oleh sampel nomor 3 dan 10, yaitu pada jarak migrasi 0,84. Sampel nomor 5 dan 7 yang membentuk 3 pita (pada Rf 0,42; 0,80 dan 0,84) merupakan bentuk pola pita 3. Pola pita 4 yang juga membentuk 3 pita (pada Rf 0,26; 0,42 dan 0,84) namun dalam pola pita atau jarak migrasi (Rf) yang berbeda ditunjukkan oleh

sampel nomor 6 saja. Sedangkan pola pita 5 yang terdiri atas 4 pita pada rentang Rf 0,26 – 0,84 diperlihatkan oleh sampel nomor 8 dan 9.

Gambar 4 menunjukkan bahwa terdapat 4 kelompok pita isozim peroxidase. Isozim *peroxidase* memperlihatkan adanya 1 kelompok pita dengan bentuk dan jarak migrasi yang sama, yaitu pada jarak migrasi 0.84. Sedangkan 3 pita lainnya memiliki jarak migrasi yang berbeda, yaitu jarak migrasi 0,26; 0,42 dan 0,80.



Gambar 5. Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim peroxidase (PER).

Kemiripan genetik antar kultivar dapat diuji dengan menggunakan analisis kluster (analisis rata-rata kelompok) yang hasilnya berupa dendrogram atau diagram pohon (Setianto, 2001). Pada analisis dendrogram ini, semakin besar angka ketidakmiripan genetik, maka kemiripan genetik sampel tanaman semakin jauh, sebaliknya jika angka ketidakmiripan genetik semakin kecil atau mendekati angka nol, maka kemiripan genetiknya semakin dekat.

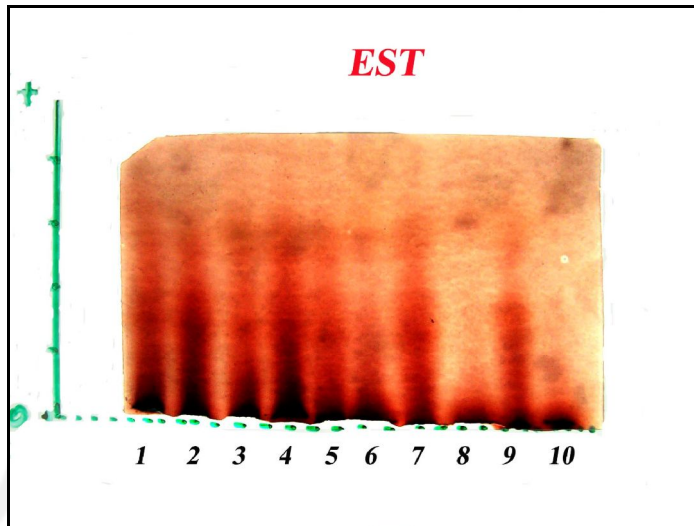
Berdasarkan gambar 5, dapat dilihat bahwa keragaman tanaman manggis Jogorogo pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,10 terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I terdiri atas 2 sampel, yaitu sampel nomor 3 dan 10 yang mengelompok pada jarak ketidakmiripan 0,00 yang berarti kedua sampel tanaman manggis tersebut memiliki kemiripan genetik sempurna. Hal ini dimungkinkan tanaman manggis sampel nomor 3 dan 10 ini berasal dari induk yang sama. Kelompok II terdiri atas 7 sampel, yaitu sampel nomor 5 dan 7 mengelompok pada jarak ketidakmiripan 0,00, demikian pula sampel nomor 8 dan 9. Tiga sampel lain, yaitu sampel nomor 2, 4 dan 1, yang merupakan anggota kelompok II, juga mengelompok pada jarak ketidakmiripan 0,00. Selanjutnya, kelompok III hanya terdiri atas satu tanaman, yaitu sampel nomor 6. Dari dendrogram berdasarkan isozim *peroxidase* dapat dikatakan bahwa tanaman manggis sampel nomor 6 memiliki tingkat ketidakmiripan genetik yang cukup tinggi dibandingkan dengan sampel-sampel lain atau jarak kemiripan genetik cukup jauh. Perbedaan ini terjadi karena tanaman manggis sampel nomor 6 mungkin berasal dari tanaman induk atau tetua yang berbeda dengan sampel tanaman manggis lain.

B. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *Esterase* (EST).

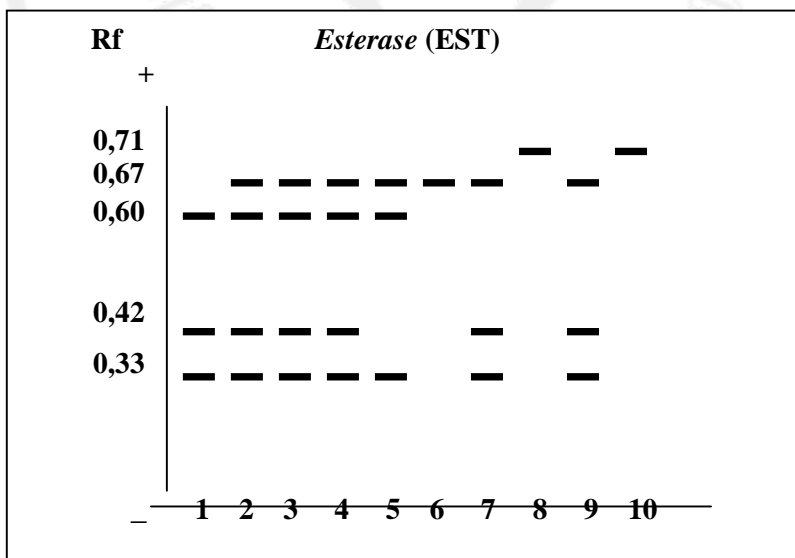
Pada analisis isozim *esterase* dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo yang diamati dari gambar 6, dapat diketahui bahwa terdapat keragaman pola pita. Menurut gambar tersebut, yang merupakan hasil pemotretan langsung setelah elektroforesis dan pewarnaan, pita-pita yang terbentuk berwarna agak kemerahan. Menurut Pasteur *et al.*, (1988) dalam Rahayu, *et al.*, (2006), untuk mengkarakterisasi isozim *Esterase* sebagai marker variasi genetik diperlukan metode pewarnaan isozim dengan substrat yang spesifik. Substrat spesifik yang digunakan dalam reaksi *Esterase* adalah senyawa *Naphthyl Ester* yang akan dihidrolisis oleh enzim *Esterase* menjadi Naphthol, β -or α selanjutnya dengan pewarna *Fast Blue RR* akan menghasilkan endapan berwarna merah.

Pita-pita isozim *esterase* lebih cepat terbentuk dan mudah muncul dibandingkan dengan isozim lain. Hal ini dijelaskan pula dalam Mansyah, *et*

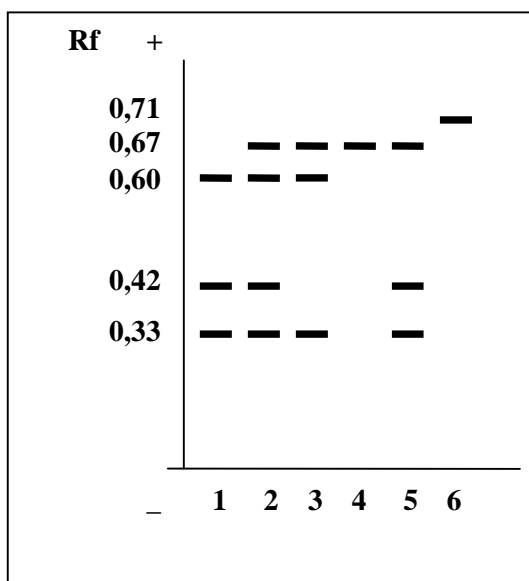
al., (1999), bahwa isozim EST mempunyai kelebihan di antara isozim yang lain, yaitu pita-pita isozim paling cepat dan paling mudah muncul pada pewarnaan dibanding dengan yang lain.



Gambar 6. Foto pita isozim *esterase* (EST).



Gambar 7. Interpretasi keragaman pola pita isozim *esterase* (EST).



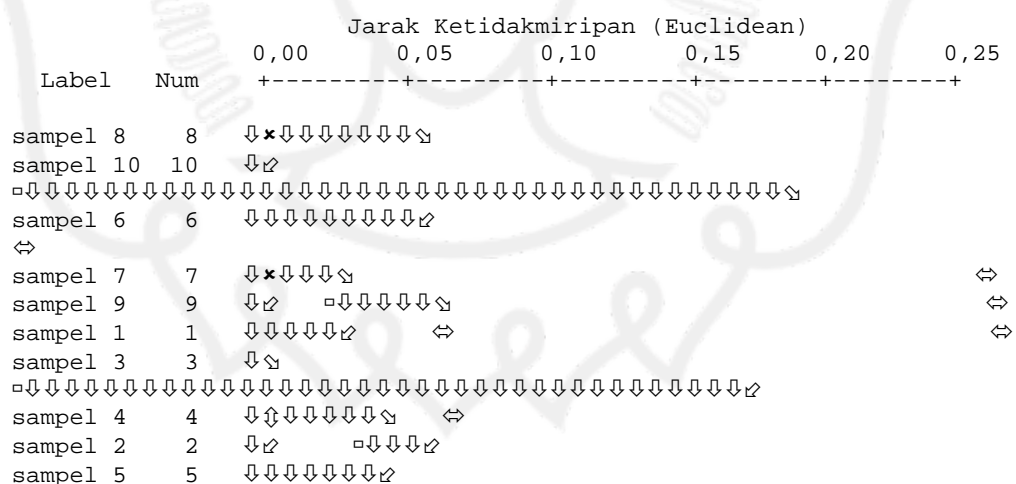
Gambar 8. Hasil identifikasi pola pita isozim *esterase* (EST).

Berdasarkan gambar 7, terlihat bahwa terdapat keragaman pola pita tanaman manggis Jogorogo. Keragaman pola pita ini ditunjukkan oleh jumlah pita yang muncul bervariasi antara 1 – 4 pita dari 10 sampel tanaman yang ditandai dengan terbentuknya 5 jarak migrasi (Rf), antara lain Rf 0,33; 0,42; 0,60; 0,67 dan 0,71. Dari kelima jarak migrasi tersebut, ada 2 jarak migrasi yang paling sering muncul dari 10 sampel tanaman, yaitu Rf 0,33 dan 0,67. Sedangkan yang paling jarang muncul adalah Rf 0,71. Pada analisis isozim esterase ini terlihat bahwa jumlah pita yang terinterpretasikan lebih banyak jika dibandingkan pada isozim lainnya. Crawford (1983) dalam Mansyah, *et al.*, (1999), melaporkan bahwa enzim-enzim dengan substrat nonspesifik, seperti *fosfatase* dan *esterase*, memberikan sejumlah besar pita-pita sehingga memberikan kesulitan lebih besar dalam interpretasi genetik.

Pada gambar 7, terlihat daerah aktivitas enzim esterase dapat dikelompokkan menjadi 2 daerah aktivitas. Jarak migrasi (Rf) antara 0,33 – 0,42 merupakan daerah aktivitas I. Daerah aktivitas II terletak pada jarak migrasi 0,60 – 0,71. Daerah aktivitas enzim *esterase* yang berbeda ini diduga disebabkan oleh lokus yang berbeda, sehingga isozim *esterase* diketahui memiliki 2 lokus.

Pola pita isozim *esterase* dapat dilihat pada gambar 8, terlihat bahwa isozim *esterase* memiliki 6 pola pita yang berbeda. Dalam penelitian Novarianto (1995), menyebutkan bahwa dari keempat kultivar kelapa yang dianalisis dengan sistem enzim *esterase* ternyata diperoleh empat pita yang muncul. Dari hasil analisis isozim *esterase* tersebut dapat digolongkan atas enam pola pita.

Hasil identifikasi pola pita isozim *esterase* menunjukkan, pola pita 2 yang terdiri atas 4 pita (pada Rf 0,33; 0,42; 0,60 dan 0,67) ditemui pada tanaman manggis sampel nomor 2, 3 dan 4. Pada pola pita 1, 3 dan 4 masing-masing hanya ditunjukkan oleh 1 sampel tanaman. Pola pita 1 yang terdiri atas 3 pita diperlihatkan oleh sampel nomor 1. Pola pita 3 juga terdiri atas 3 pita namun berbeda dalam tata pola pitanya, ditemui pada sampel nomor 5. Sedangkan, pola pita 4 ditemui pada sampel nomor 6 yang hanya terdiri atas 1 pita saja. Pada pola pita 5 dan 6 masing-masing diperlihatkan oleh 2 nomor sampel, yaitu pola pita 5 dibentuk sampel nomor 7 dan 9. Pola pita 6 yang terdiri atas 1 pita pada Rf 0,71 ditemui pada sampel nomor 8 dan 10.



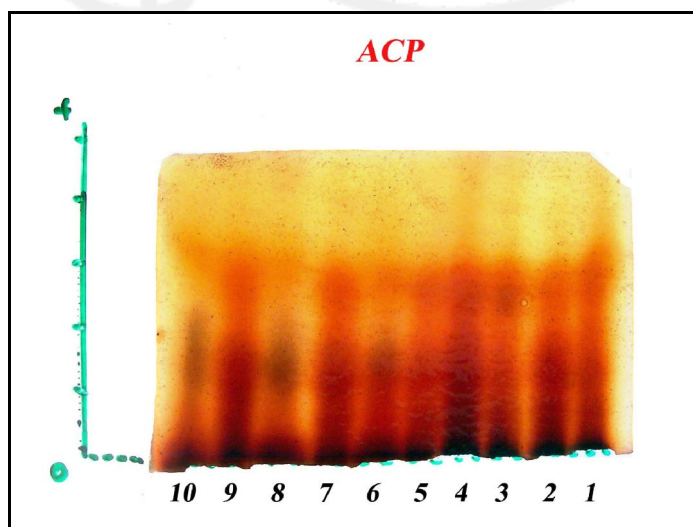
Gambar 9. Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim *esterase* (EST).

Berdasarkan gambar 9 diatas, dapat dilihat bahwa keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,10 terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok I terdiri atas 3 sampel, yaitu sampel nomor 8 dan 10 yang mengelompok pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,00,

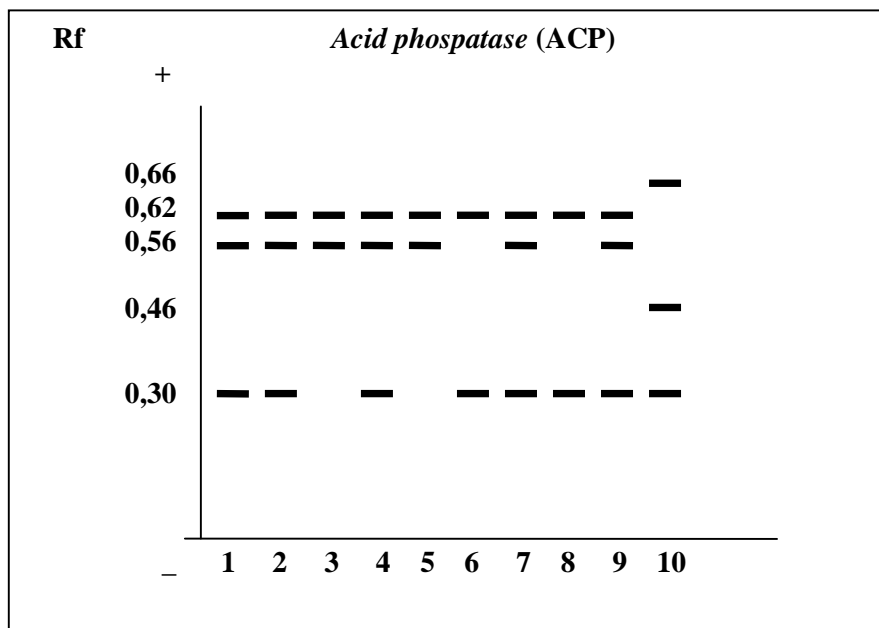
sedangkan sampel nomor 6 memisah dan baru mengelompok dengan sampel nomor 8 dan 10 pada jarak euclidean 0,04. Kelompok II yang mengelompok pada jarak euclidean 0,05 terdiri atas 7 sampel, yaitu sampel nomor 7 dan 9 mengelompok pada euclidean 0,00 dan sampel nomor 3, 4 dan 2 juga mengelompok pada jarak euclidean 0,00 serta sampel nomor 1 dan 5 yang masing-masing memisah. Sampel nomor 1 ini termasuk dalam kelompok II yang mengelompok dengan sampel nomor 7 dan 9 pada jarak euclidean 0,02. Sedangkan, sampel nomor 5 mengelompok dengan sampel nomor 3, 4 dan 2 pada jarak euclidean 0,03. Hasil dendrogram yang diperoleh dari analisis kluster (kelompok), angka nol pada analisis dendrogram menunjukkan tingkat kemiripan genetik yang sempurna dari anggota kelompok karena jarak ketidakmiripan adalah nol, sedangkan semakin lebih besar dari angka nol maka, kemiripan genetik semakin jauh atau ketidakmiripan semakin besar.

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

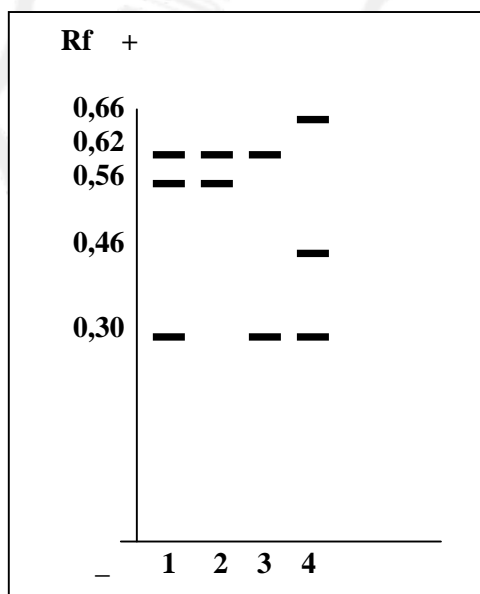
Analisis isozim berdasarkan isozim ACP menunjukkan keragaman pola pita seperti yang terlihat dalam gambar 10 dan 11. Gambar 10 merupakan hasil foto secara langsung setelah proses pewarnaan dengan isozim ACP, sedangkan gambar 11 merupakan interpretasi keragaman pola pita dari foto secara langsung tersebut.



Gambar 10. Foto pita isozim *acid phosphatase* (ACP).



Gambar 11. Interpretasi keragaman pola pita isozim *acid phosphatase* (ACP).

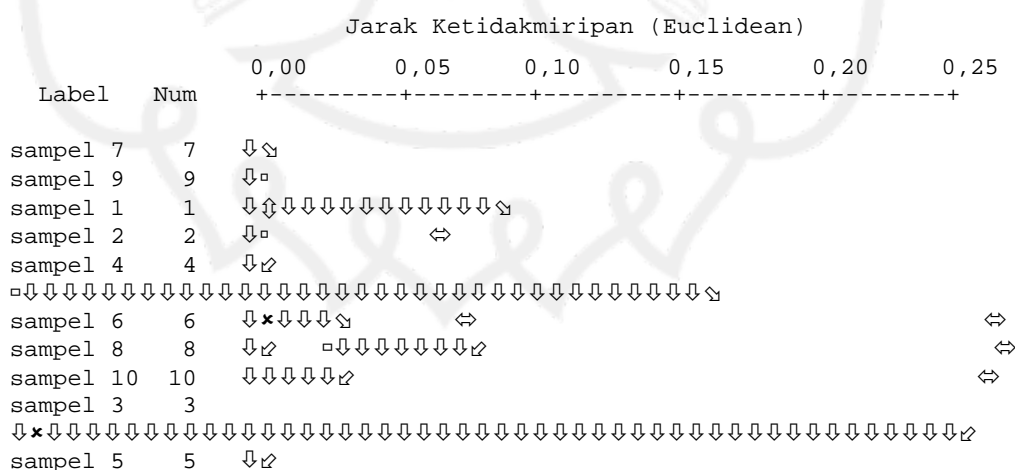


Gambar 12. Hasil identifikasi pola pita isozim *acid phosphatase* (ACP).

Pada analisis isozim ACP (gambar 11) menunjukkan adanya 2 daerah aktivitas enzim, sehingga diduga isozim ACP ini memiliki 2 lokus. Daerah aktivitas enzim I ditunjukkan pada Rf 0,30 – 0,46, sedangkan daerah aktivitas II pada Rf 0,56 – 0,66. Dari 2 daerah aktivitas enzim tersebut diperoleh 5 kelompok pita dengan jumlah pita yang muncul bervariasi antara 2 – 3 pita. Jarak migrasi (Rf) yang terbentuk antara lain, Rf 0,30; 0,46; 0,56; 0,62 dan

0,66, pada Rf 0,30 dapat muncul pada 8 sampel dan Rf 0,62 muncul pada 9 sampel. Sedangkan, pada jarak migrasi 0,46 dan 0,66 hanya muncul pada satu sampel saja, yaitu sampel nomor 10. Hal ini memperlihatkan bahwa sampel nomor 10 memiliki pola pita yang berbeda dengan sampel-sampel lain. Pola pita yang berbeda ini tentunya mengindikasikan adanya perbedaan sifat genetik.

Menurut gambar 12. Hasil identifikasi pola pita isozim Acid fosfatase (ACP), terlihat bahwa terdapat 4 pola pita yang berbeda. Pola pita 1 yang terdiri atas 3 pita (pada Rf 0,30; 0,56 dan 0,62) ditunjukkan oleh sampel nomor 1, 2, 4, 7, dan 9. Pola pita 2 dan 3 yang terdiri atas 2 pita, namun berbeda tata pola atau susunannya, masing-masing ditunjukkan oleh 2 nomor sampel, dimana 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 atas 3 pita pada jarak migrasi yang berbeda dengan pola pita 1 hanya diperlihatkan oleh sampel nomor 10 saja. Kesamaan pola pita antara sampel tanaman yang satu dengan sampel tanaman yang lainnya ini memperlihatkan bahwa, sampel yang sama pola pitanya tersebut memiliki sifat atau kemiripan genetik yang sama, atau dapat dikatakan berasal dari induk atau tetua yang sama.



Gambar 13. Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim acid fosfatase (ACP).

Dari gambar dendrogram diatas, diketahui keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo pada jarak ketidakmiripan 0,05 terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I terdiri atas 5 sampel, antara lain sampel nomor 7, 9, 1,

2 dan 4 yang mengelompok pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,00. Pada jarak ketidakmiripan 0,00 berarti bahwa sampel-sampel tanaman manggis Jogorogo tersebut memiliki kemiripan genetik yang sempurna. Kelompok II terdiri atas sampel nomor 6 dan 8 yang mengelompok pada jarak euclidean 0,00 dan sampel nomor 10 yang memisah tersendiri. Sampel nomor 10 baru mengelompok dengan sampel nomor 6 dan 8 pada jarak ketidakmiripan 0,02. Kelompok III yang mengelompok pada jarak euclidean 0,00 terdiri atas 2 sampel, yaitu sampel nomor 3 dan 5.

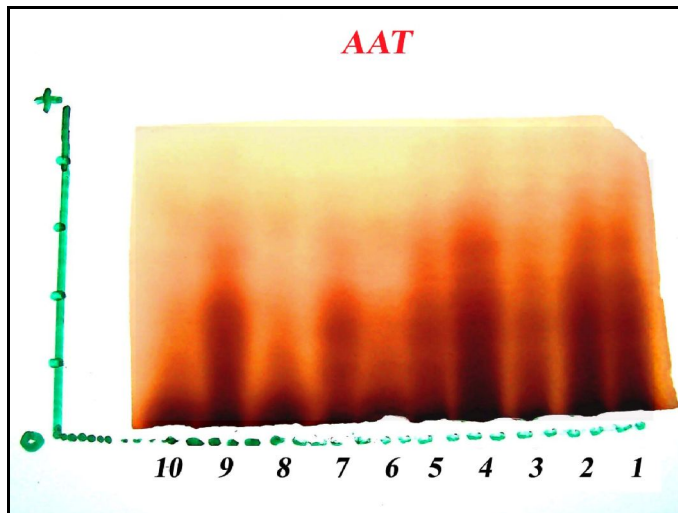
Pada jarak ketidakmiripan (euclidean) yang lebih jauh, yaitu euclidean 0,10 keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok I terdiri atas 8 sampel, antara lain sampel nomor 7, 9, 1, 2, 4, yang mengelompok pada jarak ketidakmiripan 0,00, begitu pula sampel nomor 6 dan 8 juga mengelompok pada jarak ketidakmiripan 0,00, sedangkan sampel nomor 10 memisah. Kelompok II terdiri atas 2 sampel, yaitu sampel nomor 3 dan 5 yang mengelompok pada jarak euclidean 0,00.

Semakin besar jarak ketidakmiripan genetik antar sampel tanaman, maka menunjukkan keragaman genetik antar sampel tanaman tersebut sangat tinggi. Keragaman genetik yang tinggi tentunya memiliki variasi sifat genetik yang tinggi pula, sehingga sangat bermanfaat dalam pemuliaan tanaman. Begitu pula sebaliknya, jika jarak ketidakmiripan antar sampel kecil, maka menunjukkan rendahnya keragaman genetik antar sampel tanaman.

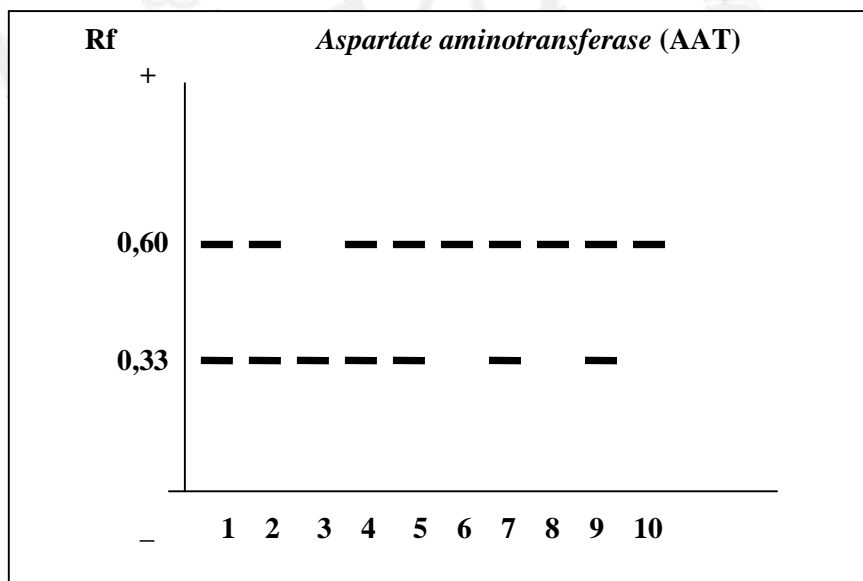
D. Pola Pita Isozim Berdasarkan Isozim *Aspartate aminotransferase* (AAT).

Dari pengamatan hasil analisis isozim berdasarkan sistem enzim AAT, diketahui keragaman pola pita isozim AAT seperti yang terlihat pada gambar 14 dan 15. Keragaman pola pita yang terbentuk dari proses elektroforesis dan pewarnaan dengan isozim AAT menunjukkan tingkat keragaman yang tidak terlalu tinggi, dimana hanya terbentuk 2 pita. Penelitian Mansyah, *et al.*, (1999) mengenai variabilitas genetik tanaman manggis melalui analisis isozim dan kaitannya dengan variabilitas fenotipik, menunjukkan bahwa isozim AAT

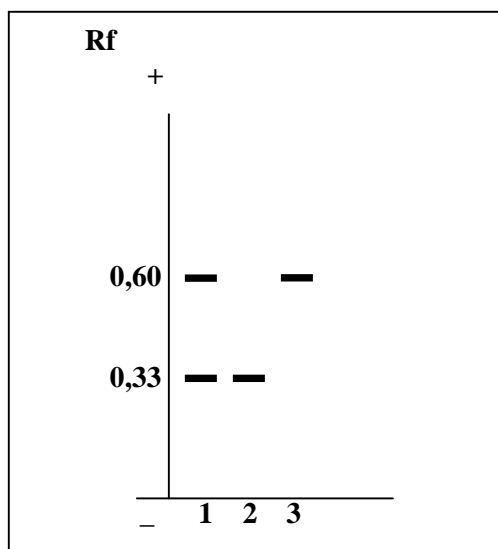
menghasilkan dua pita pada gel bagian anoda yang masing-masing terfiksasi. Pola pita yang dihasilkan sama untuk semua tanaman sampel yang diuji.



Gambar 14. Foto pita isozim *aspartate aminotransferase* (AAT).



Gambar 15. Interpretasi keragaman pola pita isozim *aspartate aminotransferase* (AAT).

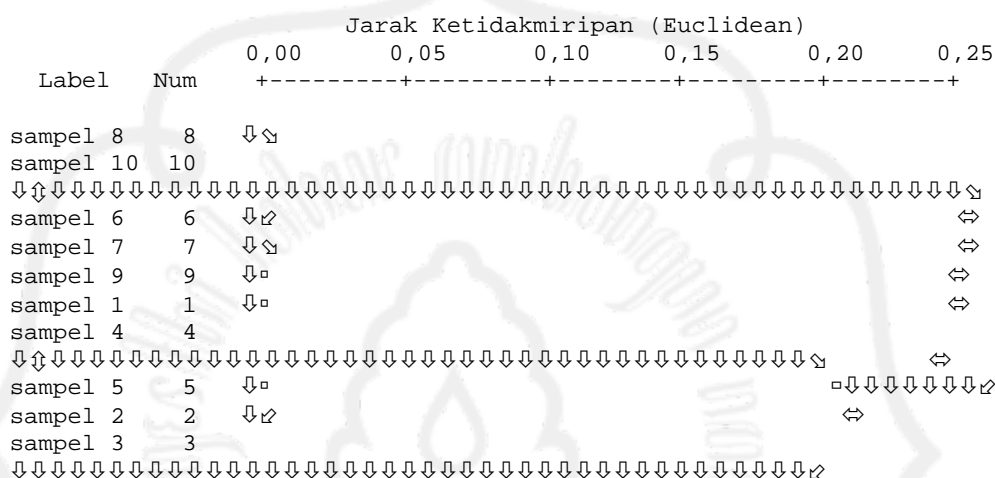


Gambar 16. Hasil identifikasi pola pita isozim *aspartate aminotransferase* (AAT).

Analisis isozim AAT seperti yang terinterpretasikan dalam gambar 15, menunjukkan bahwa terdapat 2 daerah aktivitas enzim, dimana daerah aktivitas I terletak pada Rf 0,33 dan daerah aktivitas II pada Rf 0,60. Kedua daerah aktivitas enzim tersebut diduga disebabkan oleh lokus yang berbeda, sehingga pada isozim AAT juga diduga memiliki 2 lokus. Pada gambar 14 juga menunjukkan terdapat 2 kelompok pita pada jarak migrasi (Rf) 0,33 dan 0,60, dengan jumlah pita yang muncul bervariasi antara 1 – 2 pita. Pada jarak migrasi 0,60 muncul di hampir semua sampel tanaman manggis Jogorogo, kecuali pada sampel nomor 3. Sedangkan, jarak migrasi 0,33 muncul pada 7 sampel. Interpretasi keragaman pola pita ini menunjukkan bahwa sampel-sampel tanaman manggis Jogorogo memiliki sifat genetik yang hampir sama.

Berdasarkan gambar 16 diatas, terlihat bahwa hasil identifikasi pola pita pada isozim AAT memiliki 3 pola pita. Pola pita 1 yang terdiri atas 2 pita (pada Rf 0,33 dan 0,60) ditunjukkan oleh sampel nomor 1, 2, 4, 5, 7 dan 9. Kesamaan pola pita pada 6 sampel tersebut memperlihatkan adanya kemiripan sifat genetik antar sampel tersebut. Pola pita 2 dan 3 masing-masing terdiri atas 1 pita, namun berbeda tata pola pitanya. Pola pita 2 hanya diperlihatkan oleh sampel nomor 3 dengan jarak migrasi (Rf) 0,33. Sedangkan, pola pita 3 ditunjukkan oleh sampel nomor 6, 8 dan 10 pada jarak migrasi 0,60. Sampel-

sampel tanaman yang memiliki pola pita yang sama tersebut, berarti sifat genetiknya sama yang kemungkinan sampel-sampel tanaman manggis berasal dari induk yang sama. Menurut Indriani, *et al.*, (2002), isozim dapat dipisahkan dengan metode elektroforesis pada gel pati maupun gel poliakrilamid, hasilnya berupa zimogram pola pita yang diperoleh setelah dilakukan pewarnaan. Zimogram hasil elektroforesis bercorak khas sehingga dapat digunakan sebagai ciri untuk mencerminkan perbedaan genetik



Gambar 17. Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim *aspartate aminotransferase* (AAT).

Pada dendrogram berdasarkan isozim AAT dapat dilihat ketidakmiripan genetik dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo. Pada jarak ketidakmiripan 0,05 terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I terdiri atas 3 sampel, yaitu sampel nomor 8, 10 dan 6 yang mengelompok pada jarak euclidean (ketidakmiripan) 0,00. Kelompok II yang juga mengelompok pada jarak euclidean 0,00 terdiri atas 6 sampel, antara lain sampel nomor 7, 9, 1, 4, 5, dan 2. Jarak ketidakmiripan 0,00 ini berarti bahwa masing-masing sampel memiliki kemiripan genetik sempurna. Kelompok III hanya terdiri atas 1 sampel, yaitu sampel nomor 10. Perbedaan antara kelompok I dan II dengan kelompok III, menunjukkan bahwa kelompok III yang hanya terdiri atas sampel nomor 10, memiliki tingkat ketidakmiripan genetik tinggi yang berarti sampel nomor 10 kemiripan genetiknya jauh dengan sampel-sampel tanaman pada kelompok I dan II.

E. Dendrogram 10 Sampel Tanaman Manggis Jogorogo Berdasarkan Empat Isozim (PER, EST, ACP dan AAT).

Hubungan kemiripan genetik antar varietas atau antar sampel dapat diuji dengan menggunakan analisis kluster (analisis rerata kelompok) yang hasilnya berupa dendrogram atau diagram pohon. Tujuan dari analisis dendrogram adalah untuk menyusun pohon filogenetik yang dapat digunakan untuk membedakan antar individu, varietas ataupun populasi dalam satu spesies dengan menggunakan data keragaman pola pita isozim. Analisis dendrogram dilakukan dengan menggunakan metode pengelompokan Cluster Metode Average Linkage (Between Groups) dengan menggunakan jarak ketidakmiripan (euclidean).



Gambar 18. Dendrogram berdasarkan keragaman pola pita isozim PER, EST, ACP dan AAT.

Hasil dendrogram berdasarkan 4 sistem enzim (PER, EST, ACP dan AAT) diketahui bahwa pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0,15 10 sampel tanaman manggis terbagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I terdiri atas 6 sampel tanaman manggis, antara lain sampel nomor 2, 4, 1, 9, 7 dan 5. Kelompok II dan kelompok IV masing-masing hanya terdiri atas 1 sampel tanaman manggis, yaitu sampel nomor 3 pada kelompok II dan sampel nomor 10 pada kelompok IV. Kelompok III terdiri atas 2 sampel, yaitu sampel nomor 6 dan 8. Menurut pengelompokan ini, terlihat bahwa kelompok I yang terdiri atas 6 sampel, memiliki tingkat ketidakmiripan genetik rendah, karena keenam

sampel ini masih berada satu kelompok ketika dilihat dari jarak ketidakmiripan 0,15. Hal ini berarti kelompok I memiliki kemiripan genetik 85 % atau disebut jarak kemiripan genetiknya dekat, sehingga dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo hanya 6 sampel (kelompok I) yang menunjukkan hubungan kekerabatannya dekat. Menurut Cahyarini, *et al.*, (2004), bahwa jarak kemiripan genetik bisa dikatakan jauh apabila kurang dari 0,6 atau 60 %.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Analisis keragaman pola pita isozim berdasarkan 4 sistem enzim (*peroxidase, esterase, acid phosphatase dan aspartate aminotransferase*) menunjukkan terdapat keragaman genetik dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo yang ditandai keberadaan 5 pola pita pada isozim *peroxidase*, 6 pola pita pada isozim *esterase*, 4 pola pita pada isozim *acid phosphatase* dan 3 pola pita pada isozim *aspartate aminotransferase*.
2. Keragaman pola pita isozim dari 10 sampel tanaman manggis Jogorogo berdasarkan 4 sistem enzim adalah polimorfis atau tidak ada pola pita yang sama diperlihatkan oleh semua sampel tanaman.
3. Hubungan kemiripan genetik yang diperlihatkan oleh dendrogram berdasarkan 4 sistem enzim (*peroxidase, esterase, acid phosphatase dan aspartate aminotransferase*) pada jarak ketidakmiripan (euclidean) 0.15 terbagi menjadi 4 kelompok, kelompok I terdiri atas 6 sampel (sampel nomor 2, 4, 1, 9, 7 dan 5) memiliki kemiripan genetik 85% yang berarti memiliki hubungan kekerabatan dekat.

B. Saran

1. Untuk mempelajari keragaman pola pita isozim tanaman manggis Jogorogo dapat dicoba dengan menambah sistem enzim yang digunakan termasuk 4 sistem enzim yang telah dilakukan (*peroxidase, esterase, acid phosphatase dan aspartate aminotransferase*).
2. Perlu dilakukan penelitian yang sama untuk mempelajari keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo berdasarkan pola pita isozim dengan ditambah sampel tanaman manggis dari daerah lain untuk melihat perbandingan genetiknya.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang keragaman genetik tanaman manggis Jogorogo berdasarkan penanda DNA, baik RAPD, AFLP maupun RFLP.

DAFTAR PUSTAKA

- Amien, S. 2005. Rekayasa genetika Pembentukan Biji apomiksis; Prospek pada Swasembada Varietas Ungul. *Dalam Prosiding Simposium PERIPI*, 5 – 7 Agustus 2004. IPB. Bogor. P. 462 – 466.
- Burnette, F.S. 1977. Peroxidase and its relationship to food flavour dan quality. *J. Food Sci.* 4 (2) : 1-5.
- Cahyarini, R. D., A. Yunus, dan E. Purwanto. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *J. Agrosains.* 6 (2) : 96-104.
- Dede, J. dan B. Cahyono. 2000. *Manggis : Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. Kanisius. Yogyakarta.
- Erickson, E. H. dan A.H. Atmowidjojo. 2001. Mangosteen (Garcinia mangostana). <http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/chap5/mangosteen.html>. Diakses tanggal 26 Oktober 2007.
- Hadiati, S., Murdaningsih H. K., Achmad Baihaki dan Neni Rostini. 2002. Variasi Pola Pita dan Hubungan Kekerbatan Nanas Berdasarkan Analisis Isozim. *Zuriat.* 13 (2) : 65-72.
- Hartati, et al., N. S., Sudarmonowati; Fahdiar, A.E., Siregar, U. J. 1997. Penggunaan teknik elektroforesis gel pati untuk mendeteksi variasi isozim empat jenis tanaman buah (Garcinia mangostana, Parkia javanica, Nephelium lappaceum, dan Artocarpus heterophyllus). <http://www.cifor.cgiar.org/Publications/Detail?pid=389>. Diakses tanggal 14 Januari 2008.
- Indriani, F. C., Sudjindro, A. N. Sugiharto, dan L. Soetopo, 2002. Keragaman genetik plasma nutfah kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan beberapa species yang sekerabat berdasarkan analisis isozim. <http://digilib.brawijaya.ac.id>. Diakses tanggal 4 Februari 2008.
- Jarret, R. L. and R. E. Litz. 1986. Isozymes as Genetic Marker in Banana and Plantains. *Euphytica.* 35 (5) 126-132.
- Kaidah, S. 1999. *Analisis keragaman genetik tanaman salak (Salacca sp) Indonesia dengan teknik RAPD*. Tesis S2 IPB. Bogor.
- Lakitan, B. 2004. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

- Mansyah, E., M. J. Anwarudinsyah, L. Sadwiyanti dan A. Susiloadi. 1999. Variabilitas Genetik Tanaman Manggis Melalui Analisis Isozim dan Kaitannya dengan Variabilitas Fenotipik. *Zuriat*. 10(1): 1-10.
- Mansyah, E., A. Baihaki, R. Setiamihardja, J.S. Darsa dan Sobir. 2003. Analisis Variabilitas Genetik Manggis di Jawa dan Sumatera Barat menggunakan Teknik RAPD. *Zuriat*. Vol 10 (1): 1-9 UNPAD. Bandung.
- Na'iem, M. 1996. *Pengenalan Analisis Isoenzim dan Pemanfaatannya dalam Budidaya Tanaman*. Yogyakarta.
- Na'iem, M. 2000. *Analisis isozim dan pemanfaatannya di bidang kehutanan*. Yogyakarta.
- Novarianto, H., A. Hartana, F. Rumawas, M. A. Rifai, E. Guhardja, A. H. Nasoetion. 1999. Studi Keterpautan Pola Pita Isozim dengan Karakter Kuantitatif Pada Bibit Kelapa F2. *Zuriat*. 10 (1) : 48-53.
- Nugraheni, Y. M. M. A. 2006. *Studi variasi genetik tanaman uji provenans *Glirisdia sepium* (Jacq.) steud di Wanagama I dengan analisis isozim*. Skripsi S1 Fakultas Kehutanan UGM. Yogyakarta.
- Nur, A., dan Adjuwana. 1987. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologi*. Depdikbud Dirjen Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. IPB. Bogor.
- Putro, P. W. N. 2008. *Deskripsi Morfologi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Jogorogo*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Rahayu, S., S.B., Sumitro, T. Susilawati, dan Soemarno. 2006. Analisis isoenzim untuk mempelajari variasi genetik sapi bali di Propinsi Bali. *J. Penelitian Hayati*. Vol. 12(1):. 1-5.
- Reza, M., Wijaya dan Enggis T. 1994. *Pembibitan dan Pembudidayaan Manggis*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rouf, A. 2007. *Studi keragaman genetik tanaman jarakp pagar (*Jatropha curcas* L.) Di Jawa Tengah*. Tesis S2 Program Pasca Sarjana UNS. Surakarta.
- Rukmana, R. 1995. *Budidaya Manggis*. Kanisius. Yogyakarta.
- Setianto, A. 2001. *Karakterisasi Jeruk Besar (*Citrus grandis* (L) Obsbeck) di Kecamatan Japon dan Jiken Kabupaten Blora Berdasarkan Penanda Isozim dan Morfologi Buah*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Sofro, A. S. M., 1994. *Keanekaragaman Genetik*. Andi Offset. Yogyakarta.

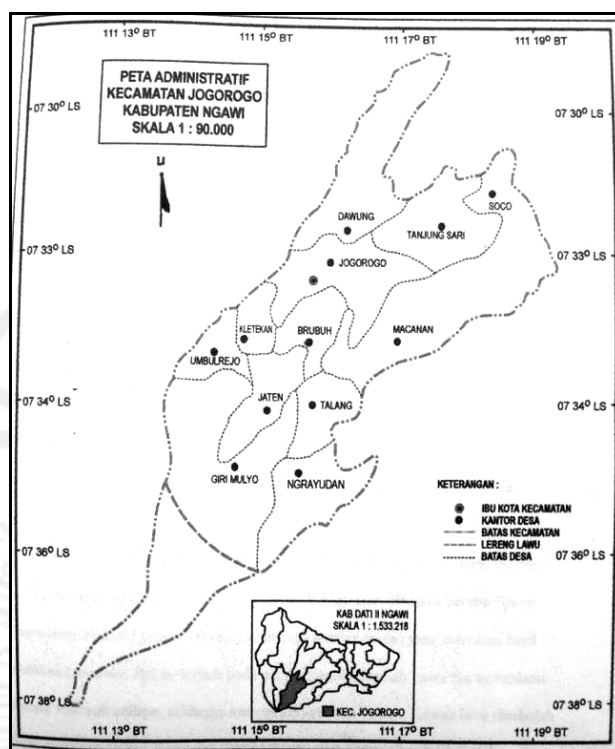
- Sriyono. 2006. *Identifikasi dan keragaman genetik pohon induk durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal di Jawa Tengah berdasarkan penanda morfologi dan pola pita isoenzim*. Tesis S2 Program Pasca Sarjana UNS. Surakarta.
- Suketi, K. 1994. *Studi karakterisasi bibit klonal durian berdasarkan morfologi daun dan pola-pita isozim*. Tesis S2 Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Sukmajaya, Husni, D.A., dan Marsika, I. 1996. Analisis isoenzim pada beberapa nomor panili hasil biak jaringan yang diinduksi dengan sinar gamma. *Bioteknologi Pertanian*. 1 (2) : 60-67.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2003. *Morfologi Tumbuhan*. Cetakan ke-14. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Triastuti, Y. 2004. *Identifikasi Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Lokal Gunung Kidul Melalui Studi Morfologi dan Uji Isozim*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Wendel, J. F. And N. F. Weeden. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozim, P 5 – 45 in D. E. Soltis and P. S. Soltis (Eds). *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press. Portland, Oregon.
- Wigati, E. 2003. *Variasi genetik ikan anggoli (*Pristipomoides multidens*) berdasarkan pola pita allozyme*. Skripsi S1 Fakultas MIPA UNS. Surakarta.
- Yuniastuti, E. 1996. *Pengaruh Keanekaragaman Genetik Terhadap Keberhasilan Embriogenesis Somatik Beberapa Kultivar Pisang (*Musa spp.*) Indonesia*. Tesis S2 Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi tanaman manggis dan kondisi agroklimat daerah Jogorogo.

Peta Kecamatan Jogorogo



Agroklimat Kecamatan Jogorogo.

	Jogorogo
Tinggi	± 449 m di atas permukaan laut
Luas	698.010 Ha (5,4 % luas Kabupaten Ngawi)
Letak Lintang	111° 13' BT - 111° 19' BT dan 07° 30' LS - 07° 38' LS
Topografi	Daerah Bergelombang
Kemiringan lahan	15-40%
Suhu	22 ° -32° C
Jenis tanah	Gromosol

Sumber : Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Kabupaten Ngawi.

Lampiran 2. Foto-foto tanaman manggis Jogorogo.



Foto tanaman manggis dewasa.

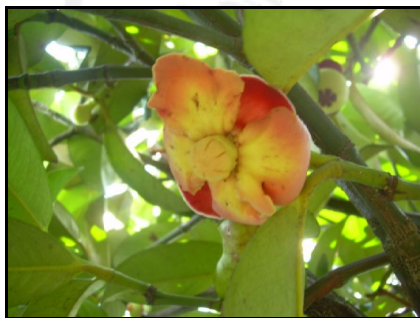


Foto bunga manggis.



Foto buah manggis muda.



Foto getah kuning pada buah manggis.



Foto buah manggis masak.

Lampiran 3. Alur pelaksanaan analisis isozim.

1. Penyiapan bahan tanaman.



2. Pembuatan Larutan buffer.



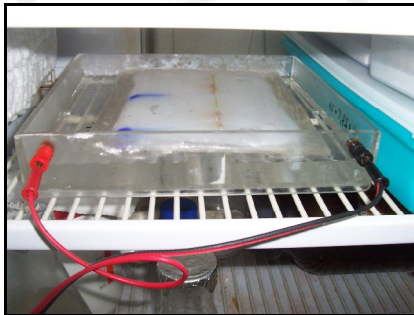
3. Pembuatan gel pati.



4. Ekstraksi daun.



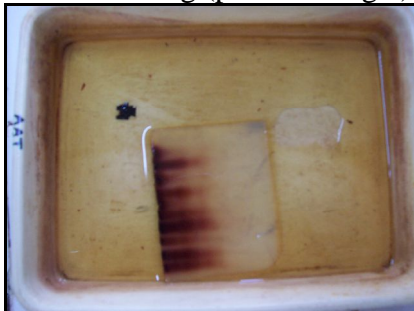
5. Elektroforesis.



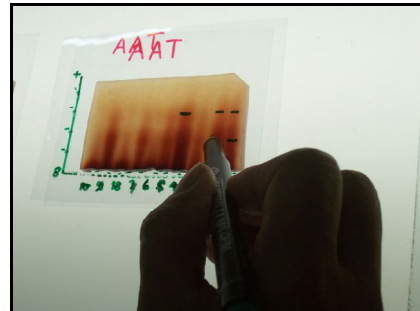
6. Pembuatan larutan pewarna.



7. Proses staining (pewarnaan gel).



8. Dokumentasi.



Lampiran 4. Foto pita isozim berdasarkan 4 sistem enzim.

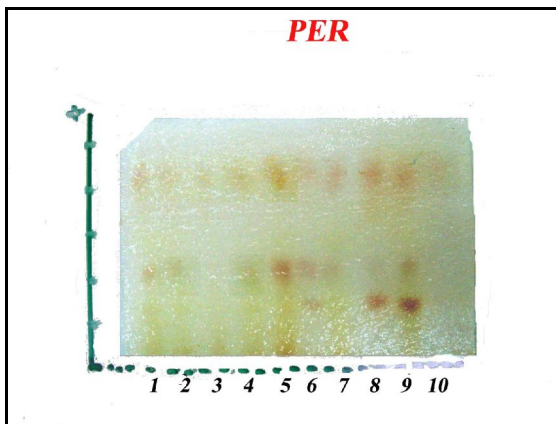


Foto pita isozim *peroxidase* (PER).

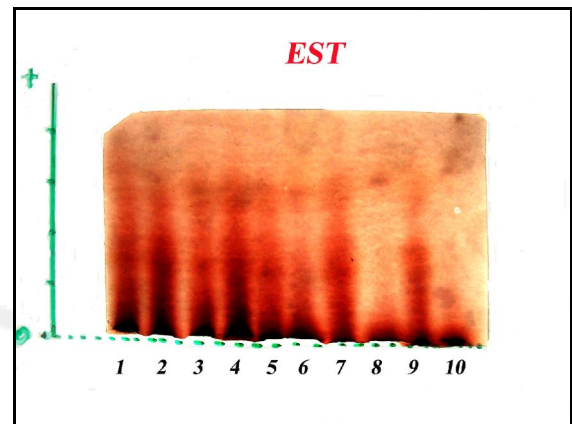


Foto pita isozim *esterase* (EST).

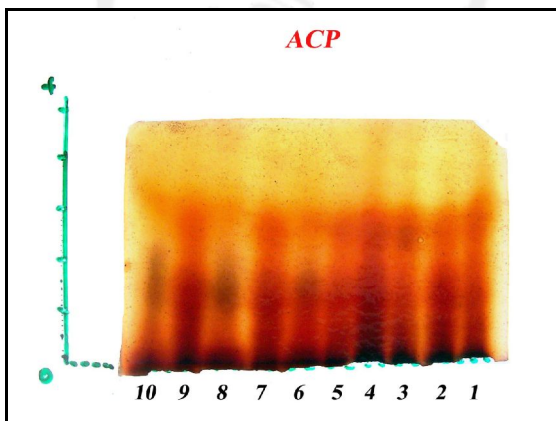


Foto pita isozim *acid phosphatase* (ACP).

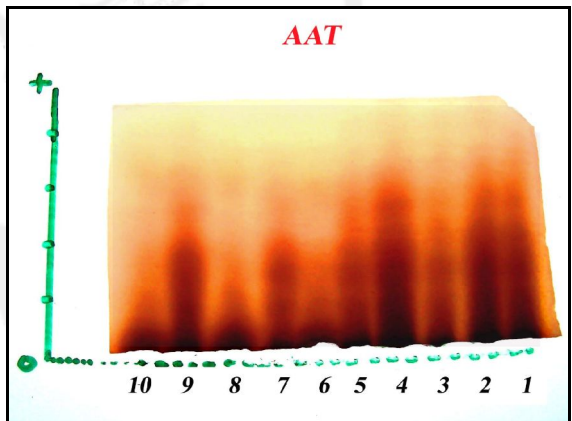


Foto pita isozim *aspartate aminotransferase* (AAT).

Lampiran 5a. Nilai Rf enzim *peroxidase* (PER).

	Nilai Rf enzim Peroxidase (PER)				Rf (rata-rata)
	1	2	3	4	
sample 1		0.42		0.84	0.63
sample 2		0.42		0.84	0.63
sample 3				0.84	0.84
sample 4		0.42		0.84	0.63
sample 5		0.42	0.8	0.84	0.69
sample 6	0.26	0.42		0.84	0.51
sample 7		0.42	0.8	0.84	0.69
sample 8	0.26	0.42	0.8	0.84	0.58
sample 9	0.26	0.42	0.8	0.84	0.58
sample 10				0.84	0.84

Lampiran 5b. Nilai Rf enzim *esterase* (EST).

	Nilai Rf enzim Esterase (EST)					Rf (rata-rata)
	1	2	3	4	5	
sample 1	0.33	0.42	0.60			0.45
sample 2	0.33	0.42	0.60	0.67		0.50
sample 3	0.33	0.42	0.60	0.67		0.50
sample 4	0.33	0.42	0.60	0.67		0.50
sample 5	0.33		0.60	0.67		0.53
sample 6				0.67		0.67
sample 7	0.33	0.42		0.67		0.47
sample 8					0.71	0.71
sample 9	0.33	0.42		0.67		0.47
sample 10					0.71	0.71

Lampiran 5c. Nilai Rf enzim *acid phosphatase* (ACP).

	Nilai Rf enzim Acid phosphatase (ACP)					Rf (rata-rata)
	1	2	3	4	5	
sample 1	0.3		0.56	0.62		0.49
sample 2	0.3		0.56	0.62		0.49
sample 3			0.56	0.62		0.59
sample 4	0.3		0.56	0.62		0.49
sample 5			0.56	0.62		0.59
sample 6	0.3			0.62		0.46
sample 7	0.3		0.56	0.62		0.49
sample 8	0.3			0.62		0.46
sample 9	0.3		0.56	0.62		0.49
sample 10	0.3	0.46			0.66	0.47

Lampiran 5d. Nilai Rf enzim *aspartate aminotransferase* (AAT).

	Nilai Rf enzim Aspartate aminotransferase (AAT)		Rf (rata-rata)
	1	2	
sample 1	0.33	0.6	0.46
sample 2	0.33	0.6	0.46
sample 3	0.33		0.33
sample 4	0.33	0.6	0.46
sample 5	0.33	0.6	0.46
sample 6		0.6	0.6
sample 7	0.33	0.6	0.46
sample 8		0.6	0.6
sample 9	0.33	0.6	0.46
sample 10		0.6	0.6

Lampiran 6a. Jarak euclidean enzim *peroxidase* (PER).

	Euclidean Distance									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	.000	.000	.210	.000	.060	.120	.060	.050	.050	.210
2	.000	.000	.210	.000	.060	.120	.060	.050	.050	.210
3	.210	.210	.000	.210	.150	.330	.150	.260	.260	.000
4	.000	.000	.210	.000	.060	.120	.060	.050	.050	.210
5	.060	.060	.150	.060	.000	.180	.000	.110	.110	.150
6	.120	.120	.330	.120	.180	.000	.180	.070	.070	.330
7	.060	.060	.150	.060	.000	.180	.000	.110	.110	.150
8	.050	.050	.260	.050	.110	.070	.110	.000	.000	.260
9	.050	.050	.260	.050	.110	.070	.110	.000	.000	.260
10	.210	.210	.000	.210	.150	.330	.150	.260	.260	.000

Lampiran 6b. Jarak euclidean enzim *esterase* (EST).

	Euclidean Distance									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	.000	.050	.050	.050	.080	.220	.020	.260	.020	.260
2	.050	.000	.000	.000	.030	.170	.030	.210	.030	.210
3	.050	.000	.000	.000	.030	.170	.030	.210	.030	.210
4	.050	.000	.000	.000	.030	.170	.030	.210	.030	.210
5	.080	.030	.030	.030	.000	.140	.060	.180	.060	.180
6	.220	.170	.170	.170	.140	.000	.200	.040	.200	.040
7	.020	.030	.030	.030	.060	.200	.000	.240	.000	.240
8	.260	.210	.210	.210	.180	.040	.240	.000	.240	.000
9	.020	.030	.030	.030	.060	.200	.000	.240	.000	.240
10	.260	.210	.210	.210	.180	.040	.240	.000	.240	.000

Lampiran 6c. Jarak euclidean enzim *acid phospatase* (ACP).

	Euclidean Distance									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	.000	.000	.100	.000	.100	.030	.000	.030	.000	.020
2	.000	.000	.100	.000	.100	.030	.000	.030	.000	.020
3	.100	.100	.000	.100	.000	.130	.100	.130	.100	.120
4	.000	.000	.100	.000	.100	.030	.000	.030	.000	.020
5	.100	.100	.000	.100	.000	.130	.100	.130	.100	.120
6	.030	.030	.130	.030	.130	.000	.030	.000	.030	.010
7	.000	.000	.100	.000	.100	.030	.000	.030	.000	.020
8	.030	.030	.130	.030	.130	.000	.030	.000	.030	.010
9	.000	.000	.100	.000	.100	.030	.000	.030	.000	.020
10	.020	.020	.120	.020	.120	.010	.020	.010	.020	.000

Lampiran 6d. Jarak euclidean enzim *aspartate aminotransferase* (AAT).

	Euclidean Distance									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
2	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
3	.130	.130	.000	.130	.130	.270	.130	.270	.130	.270
4	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
5	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
6	.140	.140	.270	.140	.140	.000	.140	.000	.140	.000
7	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
8	.140	.140	.270	.140	.140	.000	.140	.000	.140	.000
9	.000	.000	.130	.000	.000	.140	.000	.140	.000	.140
10	.140	.140	.270	.140	.140	.000	.140	.000	.140	.000

Lampiran 6e. Jarak euclidean berdasarkan 4 sistem enzim (PER, EST, ACP, AAT).

	Euclidean Distance									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	.000	.050	.271	.050	.141	.289	.063	.301	.054	.363
2	.050	.000	.266	.000	.120	.253	.067	.259	.058	.329
3	.271	.266	.000	.266	.201	.477	.224	.449	.309	.362
4	.050	.000	.266	.000	.120	.253	.067	.259	.058	.329
5	.141	.120	.201	.120	.000	.297	.117	.285	.160	.298
6	.289	.253	.477	.253	.297	.000	.305	.081	.256	.333
7	.063	.067	.224	.067	.117	.305	.000	.300	.110	.316
8	.301	.259	.449	.259	.285	.081	.300	.000	.279	.260
9	.054	.058	.309	.058	.160	.256	.110	.279	.000	.381
10	.363	.329	.362	.329	.298	.333	.316	.260	.381	.000

