



## Analisis keragaman genetik manggis (*Garcinia mangostana*) diiradiasi dengan sinar gamma berdasarkan penanda ISSR

ALFIN WIDIASTUTI<sup>1</sup>\*, SOBIR<sup>2</sup>, MUH. R. SUHARTANTO<sup>2</sup>

Widiastuti A, Sobir, Suhartanto MR. 2013. *Genetic variability analysis of mangosteen (Garcinia mangostana) irradiated by gamma ray based on ISSR marker. Bioteknologi 10: 15-22.* The aim of the research was to know the increasing of genetic variation within mangosteen based on banding pattern of ISSR marker as a response to some doses of irradiation gamma rays. Five dosages of irradiation gamma rays were 0 Gy, 20 Gy, 25 Gy, 30 Gy, 35 Gy and 40 Gy. The source of the seed that have been irradiated was from Cegal, Leuwiliang, Bogor. The results showed that gamma ray irradiation affecting mangosteen genetic changed. Because the randomize of gamma irradiation, it changed was individually. Gamma irradiation successfully increase genetic variability (5%).

**Keywords:** *Garcinia mangostana*, gamma ray, genetic variability

Widiastuti A, Sobir, Suhartanto MR. 2013. *Analisis keragaman genetik manggis (Garcinia mangostana) diiradiasi dengan sinar gamma berdasarkan penanda ISSR. Bioteknologi 10: 15-22.* Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peningkatan variasi genetik dalam manggis berdasarkan pola pita ISSR dari penanda sebagai respon terhadap beberapa dosis iradiasi sinar gamma. Lima dosis iradiasi sinar gamma adalah 0 Gy, 20 Gy, 25 Gy, 30 Gy, 35 Gy dan 40 Gy. Sumber benih yang telah diiradiasi adalah dari Cegal, Leuwiliang, Bogor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sinar gamma iradiasi mempengaruhi manggis genetik berubah. Karena mengacak iradiasi sinar gamma, berubah itu secara individual. Iradiasi sinar gamma berhasil meningkatkan keragaman genetik (5%).

**Kata kunci:** *Garcinia mangostana*, sinar gamma ray, keragaman genetik

### ♥ Alamat korespondensi:

<sup>1</sup> Besar Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura (BPPMBTPH)  
Jl. Raya Tapos, Kotak Pos 20, Cimanggis, Depok 16957, Jawa Barat, Indonesia.  
Tel./Fax.: +62-21-8755046/8754225.

<sup>2</sup> Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia.

Manuskrip diterima: 13 Desember 2009. Revisi disetujui: 2 Maret 2010.

## PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah komoditas buah asli Indonesia yang mempunyai prospek sangat baik untuk dikembangkan. Manggis merupakan salah satu buah tropis yang sangat terkenal, dan disebut sebagai *Queen of Fruit* karena rasa buahnya yang lezat dan banyak digemari (Uji 2007). Selain itu, manggis telah lama dimanfaatkan sebagai obat-obatan diantaranya sebagai anti inflamasi (Chen et al. 2008), antibakteri (Chomnawang et al. 2009), serta sebagai perlakuan terhadap infeksi dan luka (Obolskiv et al. 2009). Perbaikan varietas manggis bertujuan untuk mendapatkan varietas unggul yang diarahkan untuk mempercepat pertumbuhan manggis melalui perbaikan sistem perakaran, cepat berproduksi (genjah), produktivitas tinggi dan kualitas buahnya baik.

Pemuliaan tanaman manggis untuk memperbaiki sifat-sifat tersebut terkendala karena tanaman manggis memiliki variabilitas genetik yang rendah dan tidak dimungkinkannya peningkatan variabilitas genetik tanaman manggis melalui persilangan karena bunga jantan mengalami rudimentasi (Morton 1987).

Tanaman manggis merupakan jenis tanaman dengan masa juvenil yang sangat panjang, dimana lambatnya pertumbuhan diantaranya disebabkan oleh buruknya sistem perakaran, penyerapan hara dan air lambat, rendahnya laju fotosintesis dan rendahnya laju pembelahan sel pada meristem pucuk (Wible et al. 1992; Ramlan et al. 1992). Biji manggis terbentuk secara apomiktik dan berkembang dari embrio adventif secara aseksual (Sobir dan Poerwanto 2007). Regenerasi tanaman manggis yang berlangsung

aseksual mengakibatkan variabilitas genetik tanaman ini rendah (Richard 1990) dan secara genetik tanaman manggis mewarisi sifat tetua betinanya (Koltunow et al. 1995). Menurut Ramage et al. (2004), berdasarkan studi *Randomly Amplified DNA Fingerprinting* (RAF) terhadap 37 aksesori tanaman manggis, 70% menunjukkan tidak adanya variasi. Hasil penelitian Mansyah et al. (1999) pada 30 tanaman manggis yang berasal dari daerah-daerah di Sumatera Barat menyimpulkan bahwa variabilitas genetik melalui uji isozim dikategorikan sempit, walaupun beberapa karakter memperlihatkan variasi fenotip yang luas.

Upaya perbaikan sifat tanaman manggis dengan meningkatkan keragaman genetiknya perlu dilakukan. Seperti telah diketahui, modal dasar pemuliaan tanaman adalah adanya keragaman yang luas. Dengan adanya variabilitas yang luas, proses seleksi dapat dilakukan secara efektif karena akan memberikan peluang yang lebih besar untuk diperoleh karakter-karakter yang diinginkan. Salah satu alternatif yang dapat diaplikasikan dalam rangka peningkatan variabilitas pada tanaman apomiktik adalah melalui teknik mutasi buatan (Sobir dan Poerwanto 2007). Penggunaan radiasi dengan menimbulkan mutasi atau perubahan susunan genetik telah banyak menimbulkan dampak positif terhadap bertambahnya jumlah varietas tanaman baru. Teknik ini memberikan kontribusi dalam meningkatkan keragaman genetik dan diharapkan dari mutan-mutan yang dihasilkan ada yang memiliki karakter unggul.

Fauza et al. (2005) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma pada biji manggis memperlihatkan adanya peningkatan variabilitas fenotip pada beberapa karakter yang diamati seperti tinggi tanaman, jumlah daun per tanaman, diameter batang, dan lebar daun. Pada tanaman padi, radiasi dengan sinar gamma pada dosis tertentu diketahui dapat menginduksi mutasi klorofil dan meningkatkan variasi genetik ketahanan terhadap penyakit blas (Mugiono 1996). *Institute of Radiation Breeding* di Jepang telah menggunakan induksi mutasi sejak tahun 1969 untuk mendapatkan mutan-mutan potensial. Beberapa varietas baru pada tanaman apel, tebu, barley, dan tanaman hias telah dilepas sampai tahun 1998 (*Institute of Radiation Breeding* 2001).

Dalam penelitian sebelumnya, Widiastuti et al. (2010) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 0, 20 Gy, 25 Gy, 30 Gy, 35

Gy, dan 40 Gy meningkatkan keragaman morfologi manggis sebesar 30%. Peningkatan keragaman tertinggi pada manggis didapat pada: (i) dosis iradiasi 25 Gy, (ii) pemotongan biji menjadi dua sama besar, dan (iii) pemotongan biji yang dilakukan setelah iradiasi sinar gamma. Peningkatan keragaman manggis terbesar diperoleh dengan metode iradiasi pada biji dengan dosis 25 Gy kemudian biji dipotong melintang menjadi dua sama besar. Kerapatan stomata memiliki korelasi positif dengan tinggi tanaman sebesar 90%. Kerapatan stomata dapat dijadikan sebagai kriteria seleksi untuk menduga pertumbuhan manggis. Untuk mendapatkan manggis dengan keragaman lebih besar, disarankan untuk melakukan iradiasi pada manggis dengan dosis 25 Gy dengan jumlah materi penelitian lebih banyak.

Radiasi adalah penyinaran dengan sinar radioaktif yang dapat menimbulkan mutasi. Radiasi energi tinggi biasanya merupakan bentuk-bentuk yang melepaskan tenaga dalam jumlah besar dan kadang-kadang disebut radiasi ionisasi karena ion-ion dihasilkan dalam bahan yang ditembus oleh energi tersebut (Crowder 1997). Mutasi dengan radiasi dapat meningkatkan variasi genetik. Sel yang dapat bertahan hidup dengan baik sesudah penyinaran akan mengalami beberapa perubahan secara fisiologis atau genetik. Perubahan ini dapat menghasilkan tanaman yang berpenampilan lebih baik (tanaman unggul) dari sebelumnya (Harahap 2005). Mutasi dihasilkan dari segala macam tipe perubahan materi yang diturunkan. DNA yang merupakan komponen utama dari gen sebagai pembawa informasi genetik dari generasi ke generasi, merupakan sasaran utama dari pemberian radiasi. Perubahan DNA yang terjadi akibat adanya mutasi, akan menimbulkan variasi genetik baru yang akan diturunkan pada turunannya. Perubahan genetik yang terjadi akibat iradiasi dapat terlihat secara fenotipik namun dapat juga tidak terekspresi. Keberhasilan mutasi dapat diamati melalui perubahan morfologi, anatomi, maupun pada tingkat DNA.

Dewasa ini telah banyak dikembangkan teknik-teknik molekuler berdasarkan DNA dan merupakan alat yang sangat baik untuk menganalisis genom tanaman. Salah satu penanda molekuler yang dikembangkan dari daerah mikrosatelit adalah *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). ISSR merupakan bagian mikrosatelit yang tidak mengkode protein (non coding region) dan biasanya berupa mono, di

atau trinukleotida (Anon 2008). Marker ISSR memperbaiki kekurangan teknik RAPD, dimana ISSR lebih sensitif mendeteksi diversitas genetik pada tingkat rendah namun relatif mudah dan sama ekonomisnya dengan teknik RAPD (Bradford 2008). Penanda ISSR telah banyak digunakan di antaranya pada analisis mandul jantan, jantan fertile, dan hibrid tanaman pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) (Kumar, et al. 2006) dan polimorfisme genetik hasil persilangan pada tanaman kelapa (*Cocos nucifera*) (Manimekalai et al. 2004). Penanda ISSR juga diketahui telah dapat memetakan peta keterpautan genetik pada tanaman *Catharanthus roseus* (Gupta, et al. 2007), serta telah digunakan untuk mempelajari keanekaragaman DNA polimerisme tanaman jati (Narayanan, et al. 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman genetik pada manggis hasil iradiasi dengan sinar gamma dengan penanda ISSR.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2009 sampai Agustus 2009 bertempat di rumah kaca dan laboratorium Pusat Kajian Buah Tropika (PKBT), Institut Pertanian Bogor dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi (IP3TIR), Badan Tenaga Nuklir (Batan) Jakarta.

### Pelaksanaan percobaan

Biji manggis yang telah diekstraksi dan dibersihkan, selanjutnya dipisah-pisah untuk dibagi ke dalam dua kelompok. Kelompok 1 (percobaan 1) biji dibelah setelah dilakukan perlakuan radiasi dan kelompok 2 (percobaan 2) biji dibelah sebelum dilakukan perlakuan radiasi. Perlakuan 1 biji dibiarkan utuh, sedangkan perlakuan 2 dan 3 masing-masing biji dibelah menjadi 2 dan 3 secara sama rata. Selanjutnya biji dipisahkan ke dalam kantong kertas yang berbeda dan masing-masing dipisahkan untuk perlakuan dosis radiasi sinar gamma. Satu wadah merupakan satuan percobaan. Perlakuan selanjutnya adalah radiasi dengan sinar gamma sesuai dengan tarafnya. Biji yang telah diradiasi ditanam dalam polibag ukuran 10x15 cm sesuai dengan perlakuan masing-masing.

### Analisis molekuler ISSR

Bahan yang digunakan untuk analisis molekuler adalah daun manggis yang masih muda. Sebanyak 0.2 g daun digunakan untuk ekstraksi genomik DNA menggunakan metode CTAB (Lian et al. 2005). Secara singkat, sampel dilumatkan menggunakan pestel dan mortar steril pada suhu rendah dan ditambahkan 300 µl buffer ekstraksi, lalu segera dimasukkan ke dalam tabung 1.5 ml. Buffer ekstraksi terdiri atas 3% CTAB, 100 mM Tris HCl pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl dan 0.2% merkaptoetanol. Sampel kemudian disentrifus pada 15,000 rpm selama 10 menit dan supernatan dibuang. Ke dalam pelet (pelet dari dua tabung digabungkan), kemudian ditambahkan 600 µl IAA (isoamilalkohol: kloroform 24:1) dan dikocok dengan menambahkan batu zirkonia. Sampel kemudian diinkubasi selama 30 menit pada 65°C dan disentrifuse pada 15,000 rpm pada suhu 18°C selama 10 menit.

Supernatan diambil 500 µl, lalu dipindahkan ke tabung 1.5 ml baru dan ditambahkan 500 µl isopropanol dingin, kemudian dikocok perlahan dan diinkubasi pada suhu -30 °C selama 10-15 menit, dan disentrifuse pada 15,000 rpm suhu 4°C. Supernatan dibuang dan ditambahkan etanol 70% dingin dan disentrifus ulang pada 15,000 rpm selama 3-5 menit. Etanol dibuang dan pelet dikeringkan selama 20-30 menit dan ditambahkan air steril (ion free) sebanyak 50 µl dan simpan pada suhu 4 °C atau -30 °C untuk digunakan kemudian. RNase sebanyak 0.1 µl ditambahkan ke dalam masing-masing tabung DNA dan diinkubasi pada 37°C selama 30 menit.

Kualitas DNA diamati pada agarose gel 1% menggunakan 1x buffer TAE pada 500 mA selama 30 menit. Gel kemudian warnai dengan EtBr 0.1% selama 30 menit dan dibaca menggunakan UV. Konsentrasi DNA diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260nm dan 280nm. Pengenceran dilakukan sehingga diperoleh DNA dengan konsentrasi 50 ng/µl. PCR dilakukan dengan komposisi reaksi: DNA sampel 5 ng (2 µl), PCR Mix (Go Taq Green Master) (6 µl), Air bebas ion (4 µl), Primer ISSR 5 mM (0.5 µl), jumlah total (12.5 µl). Daftar primer disajikan pada Tabel 1.

PCR dijalankan dengan predenaturasi 94°C, selama 4 menit, denaturasi 94°C, selama 4 menit, annealing 37°C, selama 1 menit, amplifikasi 72°C, selama 1 menit, ekstensi 72°C, selama 5 menit dan proses PCR tersebut diulang sebanyak 35 siklus.

**Tabel 1.** Daftar primer ISSR (inter simple squence repeat) yang digunakan untuk analisis keragaman genetik manggis.

Nama primer	5' to 3'	TM (°C)
PKBT-1	(AC)8TG	52
PKBT-2	(AC)8TT	52
PKBT-3	(AG)8T	52
PKBT-4	(AG)8AA	52
PKBT-5	(AG)8TA	52
PKBT-6	(AG)8TT	52
PKBT-7	(GA)9-A	53
PKBT-8	(GA)9-C	55
PKBT-9	(GA)9-T	53
PKBT-10	(GT)9-A	53
PKBT-11	(GT)9-C	53
PKBT-12	(GT)9-T	53
RED18	(TCT)5	53

#### Analisis data

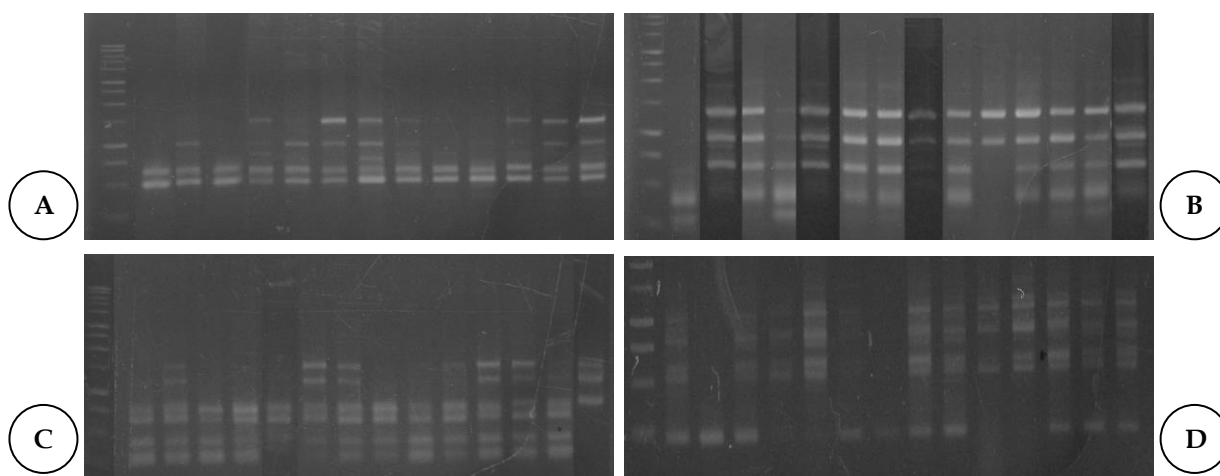
Pita yang diperoleh disekor secara biner '0' absen dan '1' ada. Data biner ISSR dianalisis menggunakan SAHN, setelah dihitung matrik kesamaannya menggunakan program NTSYS ver. 2.01. Data selanjutnya ditampilkan dalam bentuk dendogram. Pengelompokan memperlihatkan hubungan kesamaan antar setiap individu manggis berupa dendogram kesamaan genetik. Jarak genetik adalah selisih nilai persentase kesamaan terhadap nilai 100%. Dari dendrogram dapat dilihat seberapa jauh perubahan tanaman hasil radiasi jika dibandingkan dengan tanaman kontrol.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan DNA dilakukan pada 14 tanaman manggis yang diseleksi berdasarkan pengamatan morfologi yang menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan tanaman yang lain. Amplifikasi DNA dilakukan untuk melihat polimorfisme DNA dengan menggunakan 12 primer acak, namun hanya 8 primer yang dapat menghasilkan pita optimal. Amplifikasi dari 8 primer yang digunakan terhadap 14 tanaman yang dipilih menghasilkan jumlah pita DNA setiap primer bervariasi 3-8 pita dengan rata-rata 6 pita DNA per sampel. Primer RED 18 menghasilkan pita paling sedikit (3 pita) dan seluruh pitanya monomorfik, sedangkan pita DNA terbanyak didapat dari primer PKBT 7 sebanyak 8 pita (Tabel 2, Gambar 1). Satu primer yaitu PKBT 1 sama sekali tidak menghasilkan amplifikasi.

**Tabel 2.** Jumlah pita hasil amplifikasi manggis dengan delapan primer ISSR.

Primer	Ukuran Pita (Bp)	Jumlah Pita	Jumlah Profil Dna	
			Mono-morfik	Poli-morfik
PKBT2	700-1500	7	0	7 (100%)
PKBT3	250-1000	6	0	6 (100%)
PKBT4	250-1000	5	3	2 (40%)
PKBT5	500 1500	6	2	4 (66,7%)
PKBT6	250-1500	6	0	6 (100%)
PKBT7	600-1250	8	5	3 (60%)
PKBT9	200-1750	7	0	7 (100%)
RED18	250-750	3	3 (100%)	0



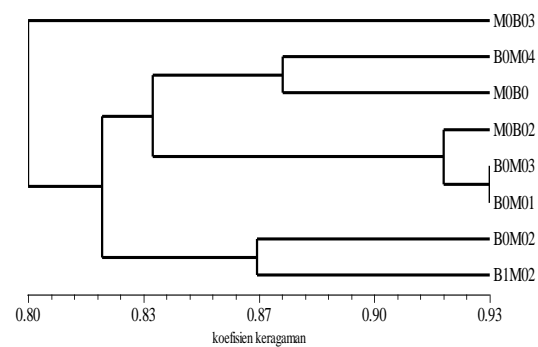
**Gambar 1.** Hasil amplifikasi DNA manggis dengan primer PKBT5 (A), PKBT2 (B), PKBT 3 (C), dan PKBT6 (D).

Ukuran pita DNA manggis yang diamplifikasi berkisar antara 250-2000 bp. Menurut Upadhyay et al. (2004), jumlah pita DNA yang terdeteksi dalam setiap primer tergantung pada urutan basa dari primer dan ada tidaknya variasi dalam genotip tertentu. Pada penelitian ini digunakan jenis primer ISSR yang termasuk primer mikrosatelit yaitu primer yang didesain dari daerah mikrosatelit yang merupakan sekuen berulang. Jumlah pita yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuen primer di daerah mikrosatelit. Salah satu sifat penting dari sekuen berulang ini adalah memiliki kecenderungan untuk mutasi yang lebih tinggi dibandingkan yang lain dan biasanya menyebabkan perubahan susunan panjangnya (Udupa dan Baum 2001). Mikrosatelit memiliki sifat ketidakstabilan spontan yang didasarkan pada kerentanannya dibandingkan daerah lain atau ketidakseimbangan proses replikasi atau rekombinasi yang tidak sama, dan rata-rata yang tinggi dari kedua proses tersebut membuat lokus ini menjadi rapuh terhadap induksi radiasi (Bridges 2001). Diasumsikan juga bahwa beberapa radiasi menginduksi daerah bukan target memicu sekuen berulang secara genetik menjadi tidak stabil, namun daerah pasti dimana hal ini terjadi masih belum diketahui (Kovalchuk et al. 2000; Bridges 2001; Boufflet et al. 2006).

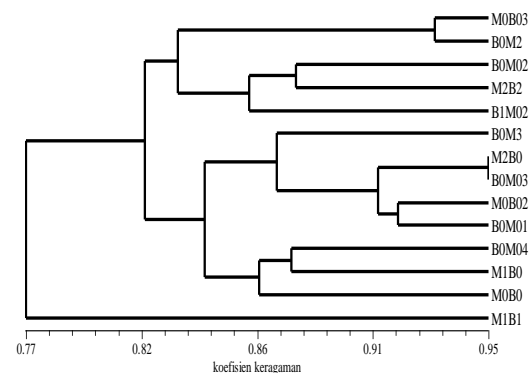
Tingkat polimorfisme pita DNA manggis yang dihasilkan cukup tinggi yaitu 75.5%. Dari 49 pita DNA yang dihasilkan terdapat 12 pita yang monomorfik dan 37 pita polimorfik. Polimorfisme yang dihasilkan dari teknik ISSR berasal dari variasi sekuen DNA pada tempat penempelan primer.

Hasil PCR dengan 8 primer menunjukkan bahwa tidak ada pola pengelompokan khusus manggis antara tanaman kontrol dengan tanaman hasil iradiasi sinar gamma. Tanaman yang tidak mendapatkan iradiasi sinar gamma terbagi menjadi dua kelompok yaitu tanaman yang berasal dari biji utuh dan tanaman yang berasal dari biji yang dibelah menjadi dua sama besar. Nilai kemiripan pada tanaman yang tidak mendapat perlakuan iradiasi sinar gamma berkisar antara 80-93% (Gambar 2), sedangkan pada tanaman hasil iradiasi berkisar antara 77-95% (Gambar 3). Iradiasi sinar gamma memberikan peningkatan keragaman genetik yang tidak terlalu besar (5%). Pada penelitian ini, dijumpai satu tanaman hasil iradiasi sinar gamma yang memiliki kemiripan 95% dengan

tanaman kontrol. Koefisien kemiripan terkecil didapat dari tanaman hasil iradiasi 20 Gy yaitu sebesar 77% (Gambar 3). Nilai kofenetik MXComp yang dihasilkan dari tanaman kontrol adalah ( $r = 0.79$ ) dengan *goodness fit* sangat tidak sesuai, sementara tanaman hasil iradiasi sebesar ( $r = 0.72$ ).



**Gambar 2.** Dendrogram tanaman manggis tanpa perlakuan sinar gamma berdasarkan pola pita DNA ISSR.



**Gambar 3.** Dendrogram tanaman manggis hasil iradiasi sinar gamma berdasarkan pola pita DNA ISSR.

## Pembahasan

Respon setiap individu tanaman terhadap induksi radiasi berbeda-beda. Mutasi hasil iradiasi bersifat acak. Shikazono et al. (2005) menyatakan dengan penambahan iradiasi yang digunakan sebagai mutagenesis, lokus yang berkaitan dengan lokus yang dianalisis juga penting untuk mempelajari bermacam-macam mutasi. Gustafson dan Ekberg (1977) menyatakan mutasi dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu mutasi genom, mutasi kromosom (termasuk mutasi gen) dan mutasi di luar inti. Mutasi genom terjadi apabila satu atau lebih jumlah set kromosom mengalami penambahan. Mutasi kromosom terbagi menjadi mutasi jumlah kromosom dan struktur kromosom. Mutasi

jumlah kromosom terjadi apabila jumlah kromosom bertambah atau berkurang setelah dimutasi, sedangkan mutasi struktur kromosom terjadi apabila segmen kromosom mengalami pengurangan (delesi), translokasi, duplikasi atau inversi. Menurut Mohr dan Schopfer (1995), mutasi di luar inti terjadi apabila organel-organel di luar inti seperti DNA plastid, DNA mitokondria dan lainnya mengalami perubahan akibat perlakuan mutagenesis.

Pada pengamatan berdasarkan marka molekuler, pengelompokan yang didapatkan juga tidak menunjukkan pola khusus antara tanaman hasil iradiasi dengan tanaman tanpa perlakuan iradiasi. Beberapa tanaman menunjukkan jarak kemiripan yang cukup dekat dengan tanaman tanpa perlakuan (Gambar 2). Menurut van Harten (1998), keberhasilan program induksi mutasi sangat bergantung pada materi tanaman yang mendapat perlakuan mutagen. Qosim (2006) dalam penelitiannya terhadap kalus nodular manggis, menyebutkan bahwa induksi radiasi sinar gamma menghasilkan keragaman genetik dengan menggunakan teknik RAPD dengan keragaman genetik antara 60-91%. Sementara Harahap (2005) dalam penelitian dengan menggunakan biji manggis hasil iradiasi sinar gamma yang ditanam secara *in vitro*, didapat keragaman genetik yang diperoleh sebesar 62-100%. Sobir dan Poerwanto (2007) menyatakan berdasarkan analisis RAPD pada bibit manggis hasil iradiasi sinar gamma menggunakan lima primer acak, terbukti keragaman genetik tanaman hasil iradiasi lebih besar (62%) dibandingkan variabilitas aksesori manggis di Jawa (27%). Dalam penelitian ini, keragaman genetik yang diperoleh dari hasil iradiasi sinar gamma sebesar 77-95%, meningkat sebesar 5% dibandingkan tanaman tanpa perlakuan iradiasi sinar gamma.

Sinar gamma termasuk mutagen yang menghasilkan ion dan radikal bebas dalam bentuk hidroksil (OH $\cdot$ ). Jika radikal hidroksil menempel pada rantai nukleotida dalam DNA, maka utas tunggal DNA akan patah dan mengalami perubahan gen (Mohr dan Schopfer 1995). Radiasi ionisasi diklasifikasikan dalam dua tipe berdasarkan linear energi transfer (LET) yaitu: radiasi LET rendah (seperti sinar  $\gamma$  dan sinar X) dan LET tinggi (seperti partikel  $\alpha$  dan partikel ion berat). Proses molekuler dari mutasi yang disebabkan radiasi ionisasi dapat berbeda tergantung pada LET. Radiasi dengan LET tinggi dilaporkan lebih menyebabkan penyusunan kembali DNA dengan ukuran delesi/insersi

yang lebih kecil dibandingkan radiasi dengan LET rendah. Hal ini terutama disebabkan ketebalan dan lokasi ionisasi yang dihasilkan LET tinggi pada sel yang diradiasi (Goodhead 1995, Shikazono et al. 2001).

Beberapa pita yang dihasilkan oleh primer-primer yang digunakan menghasilkan pita monomorfik. Ini menunjukkan bahwa mutasi yang menghasilkan polimorfisme dapat berupa mutasi titik atau insersi/delesi kecil di sekitar daerah binding primer. Jenis primer yang digunakan dalam penelitian ini merupakan primer yang didesain dari daerah mikrosatelit yang merupakan sekuen berulang. Salah satu sifat penting dari sekuen berulang ini adalah memiliki kecenderungan untuk mutasi yang lebih tinggi dibandingkan lainnya yang biasanya menyebabkan perubahan susunan panjangnya (Udupa dan Baum 2001). Mikrosatelit memiliki sifat ketidakstabilan spontan yang didasarkan pada kerentanannya dibandingkan daerah lain atau ketidakseimbangan proses replikasi atau rekombinasi yang tidak sama, dan rata-rata yang tinggi dari kedua proses tersebut membuat lokus ini menjadi rapuh terhadap induksi radiasi (Bridges 2001). Diasumsikan juga bahwa beberapa radiasi menginduksi daerah bukan target memicu sekuen berulang secara genetik menjadi tidak stabil, namun daerah pasti dimana hal ini terjadi masih belum diketahui (Kovalchuk et al. 2000; Bridges 2001; Boufflet et al. 2006). Dalam penelitian ini dijumpai satu primer (PKBT1) sama sekali tidak menghasilkan amplifikasi. Ye et al. (2005) menyatakan pada analisis ISSR yang berhasil, pasangan SSRs (*inversely oriented*) harus terdapat dalam suatu jarak yang berdekatan pada kromosom yang sama, yang dapat diamplifikasi oleh reaksi PCR untuk menghasilkan pita yang dapat diserap oleh gel agarose atau polyacrylamide. Lokus SSR pada genom yang tidak terdeteksi dengan analisis ISSR karena jarak antara dua motif SSR yang orientasinya berlawanan berjauhan atau meskipun motif mengelompok pada jarak yang dapat diamplifikasi oleh pendeteksian PCR, namun motif SSR tidak berorientasi seperti yang dibutuhkan dalam amplifikasi PCR. Bahkan pada kasus kombinasi campuran dari dua primer ISSR yang berbeda pada reaksi PCR yang sama, masih terdapat banyak lokus SSR yang tidak akan terdeteksi.

Teknik induksi mutasi dalam bidang pemuliaan tanaman telah banyak digunakan dan terbukti berhasil, baik untuk tujuan menambah keragaman untuk membentuk populasi awal

sebagai sumber seleksi, maupun untuk tujuan perbaikan sifat tertentu. Fauza et al. (2005) menyatakan bahwa iradiasi sinar gamma pada biji manggis memperlihatkan adanya peningkatan variabilitas fenotip pada beberapa karakter yang diamati seperti tinggi tanaman, jumlah daun per tanaman, diameter batang, dan lebar daun. Pada tanaman padi, radiasi dengan sinar gamma pada dosis tertentu diketahui dapat menginduksi mutasi klorofil dan meningkatkan variasi genetik ketahanan terhadap penyakit blas (Mugiono 1996). *Institute of Radiation Breeding* di Jepang telah menggunakan induksi mutasi sejak tahun 1969 untuk mendapatkan mutan-mutan potensial. Beberapa varietas baru pada tanaman apel, tebu, barley, dan tanaman hias telah dilepas sampai tahun 1998 (*Institute of Radiation Breeding* 2001). Hartati (2002) menyatakan bahwa mutasi sinar gamma pada tanaman tomat berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah cabang, umur berbunga, umur berbuah, umur panen, dan persentase daun gugur. Latado et al. (2006) dalam penelitiannya membuktikan bahwa induksi sinar gamma berhasil mendapatkan galur mutan jeruk *sweet orange* yang tidak berbiji dan tahan terhadap kanker. Di Korea, teknik pemuliaan mutasi telah berhasil menghasilkan berbagai kultivar baru berbagai tanaman padi, barley, kedelai, wijen, dan *Hibiscus* (Kang et al. 2007).

## KESIMPULAN

Induksi iradiasi sinar gamma dapat meningkatkan keragaman genetik manggis. Keragaman genetik akibat iradiasi sinar gamma berdasarkan marka ISSR meningkat sebesar 5% dibandingkan tanpa iradiasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anon. 2008. ISSR Information. <http://www.biosci.ohiostate.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>. [16 Juni 2008].
- Bradford K. 2008. Comparing the ability of two PCR based techniques, RAPD and ISSR to detect low levels of genetic diversity, to detect low levels of genetic diversity. Chicago Botanic Garden, Glencoe, IL. [www.chicagobotanic.org/downloads/conservation/Poster1.pdf](http://www.chicagobotanic.org/downloads/conservation/Poster1.pdf) [5 Sept 2008].
- Bridges BA. 2001. radiation and Germline mutation at Repeat Sequence: are we in the middle of paradigm shift? *Radiat Res* 156: 631-641.
- Chen LG, Yang LL, Wang CC. 2008. Anti-Inflamantory Activity of mangosteen from *Garcinia mangostana*. *Food Chem Toxicol* 46:688-693
- Chomnawang MT, Surassmo S, Wongsariya K, Bunyapraphatsara N. 2009. Antibacterial activity of Thai medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia* 80(2):102-4.
- Cox JEK. 1988. *Garcinia mangostana*. Mangosteen In Gardner RJ And Chaudari, SA (Eds). The Propagation Of Tropical Fruits Trees. Anthony Rowe Ltd. Chippenham, Wiltshire, England.
- Crowder LV. 1997. Genetika Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Fauza H, Karmana MH, Rostini N, Mariska I. 2005. Pertumbuhan dan variabilitas fenotipik manggis hasil iradiasi sinar gamma. *Zuriat* 16(2):133-144.
- Goodhead DT. 1995. Molecular and cell models of biological effects of heavy ion radiation. *Radiat Environ Biophys* 34:67-72.
- Gupta PK, Varshney RK, Prasad M. 2002. Molecular Markers: Principles and Methodology. In: Jain SM., Brar DS, Ahloowalia BS. (Eds.). *Molecular Techniques in Crop Improvement*.
- Harahap F. 2005. Induksi Variasi Genetik Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana*). Dengan Radiasi Sinar Gamma. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hartati S. 2002. Penampilan Genotip Tanaman Tomat (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Hasil Mutasi Buatan Pada Kondisi Stress Air Dan Kondisi Optimal. *Agrosains* 2(2): 35-42.
- Institut of Radiation Breeding. 2001. National Institute of Agrobiological Resources, MAFF. PO Box 3, Ohmiya Macni, Nacagun, Ibaraki, 312-22, Japan.
- Kang SY, Kim DS, Lee GJ. 2007. Genetic Improvement of Crop Plant by Mutation Technique in Korea. *Plant Mutation Reports* 1(3):7-15.
- Koltunow A M, Grossniklaus U. 2003. Apomixis: A developmental Prespective. *Ann Rev Pl Biol* 54:547-574
- Kovalchuk O, Dubrova YE, Arhkipov A, Hohn B, Kovalchuk I. 2000. Wheat mutation rate after Chernobyl. *Nature* 407: 583-584.
- Kumar A, Arya L, Kumar V, Sharma S. 2006. Inter simple sequence repeat (ISSR) analysis of cytoplasmic male sterile, male fertile lines and hybrids of pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.]. *Indian J Crop Sci* 1(1-2): 117-119
- Latado RR, Tulmann Neto AT, Pompeu Jr J, Figueiredo JO, Pio RM, Machado MA, Namekata T, Ceravolo L, Montes SMNM, Rossi AC. 2006. Seedless and Citrus Cranker Tolerant Mutant Clones in Sweet Orange Induced by Gamma Rays. *Pl Mutation Rep* 1(2): 21-25.
- Lian CL, Wadud MA, Geng QF, Shimatani K, Hogetsu T (2006) An improved technique for isolating codominant compound microsatellite markers. *J Pl Res* 119, 415-417
- Manimekalai R, Nagarajan P, Bharathi M, Naresh kumar S. 2003. DNA polymorphism among coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars and reciprocal cross derivatives differing in drought tolerance. *J Pl Crops* 32 : 117-122
- Mansyah E, Anwarudinsyah MJ, Sadwiyanti L, Susilohadi A. 1999. Variabilitas genetik tanaman manggis melalui analisis isozim dan kaitannya deonngan variabilitas fenotipiknya. *Zuriat* 10(1):1-10.
- Mohr H, Schopfer. 1995. *Plant Physiology*. Springer-Verlag. Berlin.
- Morton, J. 1987. Breadfruit. In: *Fruits of warm climates*. Miami, FL p. 50-58.
- Mugiono. 1996. Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma Terhadap Mutasi Klorofil dan variasi genetik Ketahanan Penyakit Blas pada padi Gogo. *Zuriat* 7(1): 15-21.
- Narayanan, C, Wali SA., Shukla N, Kumar R, Mandal AK, Ansar SA.. 2007. RAPD and ISSR Markes for Molecular Characterization Of Teak (*Tectona grandis*) Plus Trees. *J Trop For Sci* 19(4): 218-225
- Qosim, W A. 2006. studi Irradiasi Sinar Gamma Pada Kultur Kalus Nodular Manggis Untuk Meningkatkan Keragaman

- Genetik Dan Morfologi Regeneran. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ramage CM, Sando L, Peace CP, Carroll BJ, Drew RA. 2004. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). *Euphytica* 136: 1-10.
- Rismunandar. 1986. Mengenal Tanaman Buah-Buahan. Sinar Baru. Bandung.
- Shikazono N, Tanaka A, Watanabe H, Tano S. 2001. Rearrangement of the DNA in carbon ion induced mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 157: 379-387.
- Sobir, Poerwanto R. 2007. Mangosteen genetic and Improvement. *Intl J Pl Breed* 1(2): 105-111
- Udupa S, Baum M. 2001. High mutation rate and mutation bias at (TTA)<sub>n</sub> microsatellite loci in chickpea (*Cicer arietenum* L.). *Mol Gen Genomics* 265:1097-1103.
- Uji T. 2007. Keanekaragaman, Persebaran, dan Potensi Jenis-Jenis *Garcinia* di Indonesia. *Berk Penel Hayati* 12:129-135.
- Van Harten AM. 1998. *Mutation Breeding. Theory and Practical Application*. Press Syndicate of the Univ. of Cambridge. UK.
- Wible J, Chack EK, Downton WJS. 1992. Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) A Potential Crop for Tropical Northern Australia. *Acta Hor* 321:132-137.
- Widiastuti A, Sobir, Suhartanto MR. 2010. Diversity analysis of mangosteen (*Garcinia mangostana*) irradiated by gamma ray based on morphological and anatomical characteristics. *Nus Biosci* 2: 23-33.
- Ye C, Yu Z, Kong F, Wu S, Wang B. 2005. R-ISSR as a New Tool for Genomic Fingerprinting, Mapping, and Gene Tagging. *Pl Mol Bio Rep* 23: 167-177.