

Pulau Bengkalis diperkirakan menyimpan kekayaan plasma nutfah manggis yang cukup besar dan dapat dikembangkan untuk meningkatkan produksi manggis di Provinsi Riau. Manggis Bengkalis memiliki keunikan dapat tumbuh di rawa-rawa dan mempunyai sistem perakaran untuk batang bawah (*root-stock*) dalam budidaya manggis. Keunggulan lainnya adalah umur pertama kali berbunga manggis Bengkalis lebih cepat (7 tahun) dibandingkan dengan manggis dari daerah lain (lebih dari 10 tahun). Masa berbunga manggis di Bengkalis terjadi lebih awal (mulai bulan Maret hingga Juni) dibandingkan dengan masa berbunga manggis di Pulau Jawa (mulai bulan Agustus hingga November).

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Muchlis 2010, komunikasi pribadi), manggis di Pulau Bengkalis memiliki keanekaragaman morfologi yang cukup tinggi dan diperoleh 13 aksesori kandidat tetua manggis unggul asal Pulau Bengkalis yang dapat direkomendasikan sebagai manggis unggul. Berdasarkan informasi ini, maka dilakukan penelitian keanekaragaman genetik manggis secara molekuler terhadap 13 aksesori kandidat tetua manggis unggul Bengkalis tersebut.

Studi genetik tanaman dapat dilakukan melalui uji keturunan dan persilangan, tetapi ini sulit dilakukan terhadap manggis karena panjangnya siklus hidup manggis (Mansyah *et al.* 2003), sehingga analisis genetik kandidat tetua manggis unggul Bengkalis akan dilakukan dengan menggunakan penanda molekuler yaitu ISSR (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Penanda ISSR memiliki beberapa keunggulan, yaitu sangat polimorfik bahkan untuk spesies yang berkerabat dekat (mampu mendeteksi variasi genetik dalam level sangat rendah), memerlukan DNA dalam jumlah kecil, bersifat universal, kodominan, mudah dalam penggunaan, tingkat keberhasilan tinggi dan tidak perlu lebih dahulu mengetahui susunan basa (*sequence*) dari genom tanaman (Wahyuni *et al.* 2004). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variabilitas genetik kandidat tetua manggis unggul di Pulau Bengkalis dengan menggunakan penanda molekuler ISSR.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau Pekanbaru dan

Laboratorium Bioteknologi Pertanian Universitas Andalas pada Mei sampai November 2010.

Sebanyak 13 sampel daun (Tabel 1) aksesori manggis diambil dari 10 lokasi di Pulau Bengkalis Provinsi Riau yang telah diseleksi dan memiliki karakter unggul yang dapat dikembangkan serta berpotensi menjadi kandidat tetua unggul. Karakter yang menjadi pertimbangan seleksi aksesori manggis pada penelitian ini meliputi ukuran buah sedang sampai besar (3.42-6.02 cm), rasa asam manis, *edible portion* tinggi (18.83-50.51%), memiliki aril yang tebal (0.55-1.21 cm), masa berbunga lebih awal (bulan Maret hingga Juni) dan habitat tergenang.

Tabel 1. Kandidat Tetua Manggis Unggul Pulau Bengkalis Provinsi Riau.

NO	Sandi Individu Aksesori Manggis	Keterangan
1	SS1	Buah sedang dan seragam, rasa manis, biji sedikit dan berbuah banyak.
2	SS2	Buah sedang, rasa asam manis dan aril cukup tebal.
3	SS3	Buah besar, rasa asam manis dan aril cukup tebal.
4	NP2	Buah sedang, berkulit tipis, aril tebal, rasa asam manis, biji sedikit dan kecil, berbuah di luar musim dan habitat tanah gambut.
5	NT1	Buah sedang, aril cukup tebal, rasa asam manis, hampir tidak memiliki biji, mulai berbuah sejak berumur 7 tahun dan berbuah setiap tahun.
6	NT8	Buah sedang, aril cukup tebal dan hampir tidak memiliki biji.
7	NK2	Buah besar, rasa asam manis dan biji sedikit.
8	NA4	Buah besar, rasa asam manis, biji sedikit dan habitat tergenang.
9	NS5	Habitat tergenang
10	SM2	Buah besar, rasa asam manis dan biji kecil.
11	SD7	Buah sedang, berkulit tipis dan berbiji kecil.
12	SR1	Buah besar dan rasa asam manis.
13	SG1	Buah sedang, aril cukup tebal, rasa asam manis dan berbiji sedikit.

(komunikasi pribadi, Muchlis 2010)

Ekstraksi DNA

Metode ekstraksi DNA yang dilakukan dalam penelitian ini mengikuti metode CTAB dengan beberapa modifikasi Carmen Castillo (2006), Sobir (2007) dan Fitmawati (2009), yaitu menggunakan CTAB 10% dengan penambahan β -mercapto.

Amplifikasi PCR, Elektroforesis dan Dokumentasi Hasil PCR.

Sebanyak 6 primer ISSR diseleksi dengan cara mengamplifikasi DNA dari semua aksesori kandidat tetua manggis unggul Pulau Bengkalis. Selanjutnya, primer yang menghasilkan lebih dari satu pita dan bersifat polimorfik dipilih untuk mengamplifikasi seluruh sampel (Tabel 2).

Tabel 2. Primer yang digunakan dalam Analisis ISSR

No	Nama Primer	5'-3'	TM (°C)
1	PKBT-1	(AC)8TG	54
2	PKBT-2	(AC)8TT	52
3	PKBT-3	(AG)8T	52
4	PKBT-4	(AG)8AA	52
5	PKBT-10	(GT)9A	54
6	PKBT-11	(GT)9C	54

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR (MultiGene labnet), sebanyak 35 siklus setelah pra PCR selama 1 menit 94⁰C. Setiap siklus terdiri dari 1 menit 94⁰C untuk denaturasi, 1 menit 52-54⁰C untuk penempelan primer, 1 menit 72⁰C untuk pemanjangan fragmen DNA dan selanjutnya ekstensi 4 menit 72⁰C. Fragmen DNA hasil amplifikasi dielektroforesis bersama DNA standar 1 kb DNA ladder pada gel agarose 0.8% dalam larutan Buffer TBE 1X. Elektroforesis dilakukan selama 60 menit pada tegangan 60 volt, suhu ruang.

Analisis Data

Analisis Similaritas dan Analisis Kluster

Data yang diperoleh dari hasil elektroforesis diolah untuk melihat tingkat similaritas semua aksesori manggis dan di analisis kluster. Kemunculan pita menjadi data biner. Analisis similaritas data molekuler dilakukan dengan prosedur yang sama dengan data morfologi yaitu menggunakan prosedur SIMQUAL pada program NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate System*) versi 2.01 (Rolf 1998),

tetapi dihitung dengan metode koefisien DICE dari Nei dan Li (1979) untuk menyusun matriks kesamaan genetik dengan persamaan:

Keterangan :

S adalah nilai kesamaan genetik antara individu tanaman a dan b

n_{ab} adalah jumlah pita yang sama posisinya pada individu a dan b

n_a dan n_b adalah jumlah pita pada masing-masing individu a dan b

Berdasarkan nilai kesamaan genetik tersebut, dilakukan analisis pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram pohon kekerabatan menggunakan metode SAHN-UPGMA melalui program NTSYS versi 2.01 (Rolf 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi DNA Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Ekstraksi DNA yang dilakukan terhadap daun dari 13 aksesori manggis Bengkulu mengalami beberapa kesulitan, diantaranya tingginya pencemar DNA seperti polifenol dan kemurnian DNA yang rendah yang dapat diatasi dengan pencucian DNA berulang. Kesulitan lain yang dialami adalah banyaknya pita DNA yang dapat diatasi dengan penambahan RNase kedalam DNA template.

Hasil Amplifikasi DNA dengan Menggunakan Penanda Molekuler ISSR

Berdasarkan hasil amplifikasi DNA dari 13 aksesori kandidat tetua manggis unggul Pulau Bengkulu diperoleh informasi tingkat polimorfisme ke 6 primer ISSR yang digunakan (Tabel 3).

Tabel 4. Tingkat polimorfisme dari enam primer yang digunakan berdasarkan pola pita yang dihasilkan dari 13 aksesori manggis (*Garcinia mangostana* L.)

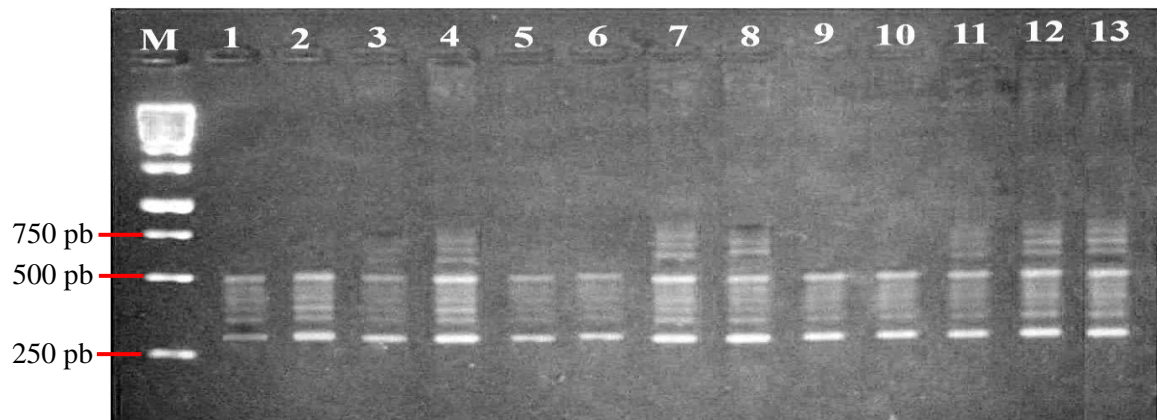
No	Primer	5'-3'	Ukuran Pita (pb)	Pita Monomorfik	Pita Polimorfik	Total
----	--------	-------	------------------	-----------------	-----------------	-------

						Pita
1	PKBT-1	(AC)8TG	300-800	6 (60%)	4 (40%)	10
2	PKBT-2	(AC)8TT	375-1125	2 (20%)	8 (80%)	10
3	PKBT-3	(AG)8T	300-875	2 (20%)	8 (80%)	10
4	PKBT-4	(AG)8AA	300-900	6 (66.67%)	3 (33.33%)	9
5	PKBT-10	(GT)9A	300-600	2 (50%)	2 (50%)	4
6	PKBT-11	(GT)9C	500-1000	3 (50%)	3 (50%)	6
Total				21 (42.86%)	28 (57.14%)	49

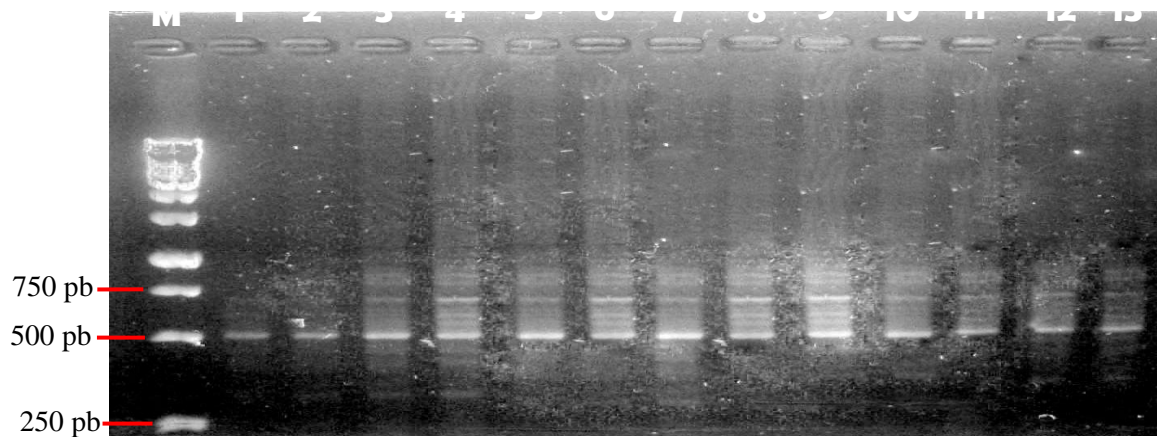
Amplifikasi DNA manggis Bengkalis dengan menggunakan 6 primer ISSR menghasilkan jumlah pita per sampel per primer bervariasi antara 4-10 pita. Jumlah pita secara keseluruhan berjumlah 49 pita dengan ukuran fragmen DNA yang teramplifikasi berkisar 300-1125 pb. Diantara 49 pita yang dihasilkan oleh 6 primer ISSR diperoleh 28 (57.21%) pita polimorfik dan 21 (42.86%) pita monomorfik. Dua primer dari enam primer yang digunakan menunjukkan tingkat polimorfisme yang tinggi (80%), yaitu primer PKBT-2 dan PKBT-3, sedangkan primer yang menghasilkan pita paling sedikit 4 pita (8.16%), yaitu PKBT-10 dan primer yang menghasilkan pita terbanyak 10 pita (20.4%), yaitu PKBT-1, PKBT-2 dan PKBT-3. Perbedaan pola pita DNA hasil amplifikasi terutama jumlah dan ukuran pita berperan sangat penting dalam menentukan tingkat variabilitas genetik tanaman manggis (Fauza *et al.* 2007).

Persentase polimorfisme yang tinggi tidak umum bagi tanaman manggis sebagai tanaman apomiksis obligat (Richards 1997). Munculnya variasi kemungkinan disebabkan karena manggis dihasilkan tidak dari persilangan satu kali diantara tetuanya (Mansyah 2010). Hibridisasi berulang diantara tetua manggis memungkinkan munculnya variasi genetik yang lebih luas diantara tetuanya (Sobir dan Poerwanto 2007). Selain itu variabilitas keturunan apomiksis obligat pada tanaman manggis menurut Richards (1990 dan 1997), serta Sobir dan Poerwanto (2007) dapat disebabkan oleh mutasi alami sehubungan dengan telah dibudidayakannya tanaman manggis sejak ribuan tahun yang lalu (Ramage *et al.*

2004). Menurut Richards (1997) beberapa tanaman apomiksis obligat, termasuk manggis mungkin menghasilkan variabilitas genetik melalui rekombinasi somatik dan atau melalui autosegregasi. Hasil amplifikasi DNA menggunakan 2 primer ISSR menunjukkan bahwa jumlah dan intensitas pita DNA yang dihasilkan oleh setiap primer ISSR bervariasi (Gambar 1).



(a)



(b)

Gambar 1. Hasil elektroforensis dari hasil amplifikasi DNA manggis (a). PKBT-1 (b). PKBT-3. M= marker, 1=NT8 (Bantan Tengah8), 2=NT1 (Bantan Tengah1), 3=NP2 (Teluk Pambang2), 4=NS5 (Selat Baru5), 5=NK2 (Kembung Luar2), 6=NA4 (Bantan Air4), 7=SM2 (Meskom2), 8=SD7 (Pematang Duku7), 9=SR1 (Air Putih1), 10=SG1 (Senggoro1), 11=SS1 (Sebauk1), 12=SS2 (Sebauk2) dan 13=SS3 (Sebauk3)

Menurut Tingey *et al.* (1994) jumlah pita DNA yang terdeteksi oleh setiap primer bergantung pada urutan basa primer dan ada tidaknya variasi dalam genotipe tersebut. Persentase aksesori identik berdasarkan pita DNA untuk setiap primer bervariasi, berturut-turut 46% (PKBT-1), 23% (PKBT-2), 23% (PKBT-3), 31% (PKBT-4), 46% (PKBT-10) dan 23% (PKBT-11), sedangkan berdasarkan semua primer persentase aksesori identik adalah 38.3% atau proporsi aksesori yang bervariasi secara genetik adalah 61.7%.

Perbedaan jumlah dan ukuran fragmen DNA polimorfik dan monomorfik dalam analisis keanekaragaman genetik sangat menentukan tingkat keanekaragaman suatu populasi. Tingkat polimorfisme manggis dengan penanda ISSR dalam penelitian ini lebih rendah (57.14%) jika dibandingkan dengan menggunakan penanda lain seperti RAPD (82.35%) dan AFLP (100%) yang telah dilakukan berturut-turut oleh Sinaga (2008) dan Mansyah (2002). Ini disebabkan karena jenis primer dan penggunaan jumlah sekuens primer RAPD dan AFLP lebih banyak dibandingkan dengan primer ISSR (Noorrohmah 2010).

Analisis Similaritas 13 aksesori Manggis Bengkalis Berdasarkan Pita ISSR

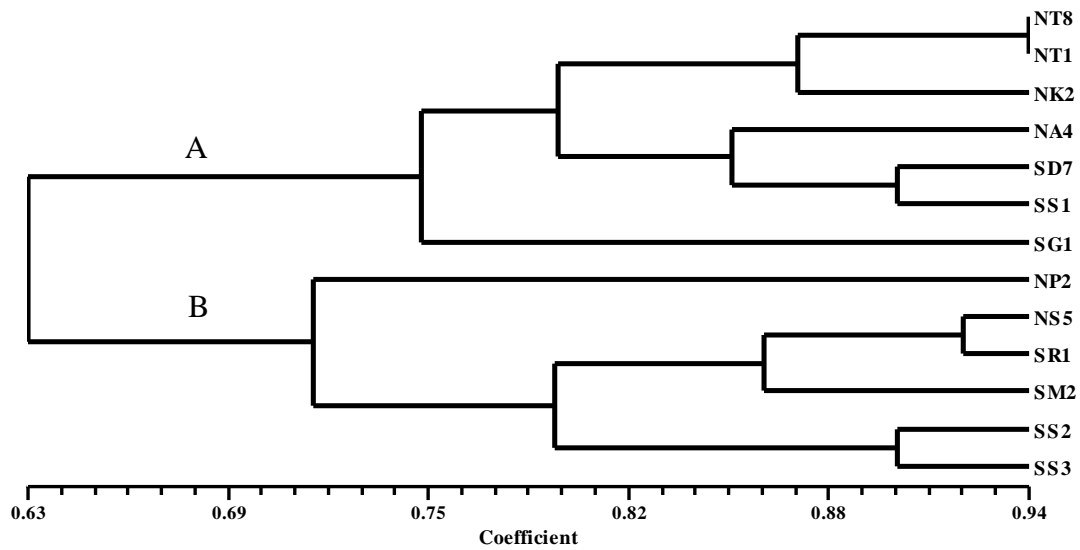
Tingkat similaritas atau hubungan kekerabatan antar 13 aksesori manggis diperoleh dengan melakukan analisis similaritas berdasarkan ada tidaknya pita DNA hasil amplifikasi menggunakan enam primer ISSR. Matriks koefisien similaritas antar 13 aksesori manggis yang diturunkan dari matriks Simqual menunjukkan rentang nilai kemiripan berkisar antara 0.94–0.51 (Tabel 4).

Tabel 4. Matriks similaritas genetik antar 13 aksesori manggis Bengkalis

	NT8	NT1	NP2	NS5	NK2	NA4	SM2	SD7	SR1	SG1	SS1	SS2	SS
NT8	1.00												3
NT1	0.94	1.00											
NP2	0.71	0.73	1.00										
NS5	0.55	0.57	0.71	1.00									
NK2	0.90	0.84	0.65	0.57	1.00								

NA4	0.84	0.82	0.55	0.59	0.86	1.00							
SM2	0.51	0.53	0.71	0.88	0.53	0.59	1.00						
SD7	0.78	0.76	0.65	0.65	0.76	0.86	0.61	1.00					
SR1	0.59	0.61	0.63	0.92	0.61	0.63	0.84	0.57	1.00				
SG1	0.80	0.78	0.71	0.63	0.78	0.80	0.63	0.65	0.67	1.00			
SS1	0.80	0.82	0.67	0.67	0.73	0.84	0.67	0.90	0.59	0.71	1.00		
SS2	0.59	0.57	0.76	0.84	0.57	0.63	0.84	0.65	0.76	0.71	0.67	1.00	
SS3	0.65	0.63	0.78	0.82	0.67	0.65	0.78	0.71	0.73	0.69	0.73	0.90	1.0

Analisis kluster dilakukan untuk mengelompokkan 13 aksesi manggis Bengkulu berdasarkan tingkat kemiripan yang menghasilkan dendrogram dengan koefisien kemiripan berkisar antara 0.63–0.94 (63–94%) atau terdapat keanekaragaman genetik sebesar 6–0.37 (6–37%) (Gambar 7). Pengelompokan 13 aksesi manggis menunjukkan pemisahan aksesi ke dalam dua kluster utama, yaitu kluster A dengan koefisien kemiripan 0.75 (NT8, NT1, NK2, NA4, SD7, SS1 dan SG1) dan kluster B koefisien kemiripan 0.715 (NP2, NS5, SR1, SM2, SS2 dan SS3), pengelompokan terjadi berdasarkan lokasi populasi dan kemiripan secara genetik. Pada kluster A terdapat subkluster yang mengelompok berdasarkan lokasi populasi manggis yaitu NT8 dan NT1 dengan tingkat kemiripan 0.94 (94%) atau dengan keragaman genetik 0.06 (6%) dan pada kluster B juga terdapat subkluster yang mengelompok berdasarkan lokasi populasi manggis, yaitu SS2 dan SS3 dengan tingkat kemiripan 0.90 (90%) atau dengan keragaman genetik 0.10 (10%).



Gambar 2. Dendrogram 13 aksesi manggis Bengkulu berdasarkan profil pita DNA dengan teknik ISSR

Berdasarkan dendrogram di atas dapat dilihat bahwa pengelompokan 13 aksesi manggis Bengkulu memiliki tingkat kemiripan sebesar 63-94%. Nilai ini lebih rendah jika dibandingkan dengan pengelompokan yang diperoleh Mansyah (2003) pada manggis di Jawa dan Sumatera Barat dengan menggunakan RAPD (tingkat kemiripan 73-100%) dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan pengelompokan yang diperoleh Mansyah (2010) pada 23 manggis wilayah Sumatera dengan ISSR (tingkat kemiripan 44-96%). Dendrogram di atas menunjukkan bahwa walaupun tanaman manggis bersifat apomiksis obligat, tetapi tetap dijumpai adanya variasi secara genetik.

Keragaman genetik yang ditemukan pada tanaman apomiktik manggis diduga akibat proses persilangan yang terjadi secara berulang dengan beberapa genotipe tetua manggis. Richards (1990) menyatakan tanaman manggis merupakan tanaman hibrid yang dihasilkan dari satu kali persilangan tunggal antara *G. hombroniana* dan *G. malaccensis* dan mewarisi sifat apomiksis dari kedua tetuanya. Menurut Walbot dan Cullis (1985) variabilitas genetik pada tanaman apomiksis dianggap sebagai hasil dari variasi somaklonal, autosegregasi, pindah silang somatik, amplifikasi atau hilangnya materi DNA, penyusunan kembali kromosom dan aktivitas transposon.

Keanekaragaman genetik pada tanaman apomiksis obligat, kemungkinan juga terjadi melalui mekanisme akumulasi mutasi DNA, rekombinasi somatik dari translokasi kromosom dan mutasi terjadi akibat perubahan pada genom maternal berkaitan dengan sifat apomiksis (Richards 1977 *dalam* Mansyah 2010). Variasi genetik yang lebih luas diantara progeninya disebabkan oleh hibridisasi berulang allotetraploid diantara tetua manggis (Sobir dan Poerwanto 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Amplifikasi DNA dengan 6 primer ISSR menghasilkan 49 pita DNA yang bervariasi (300-1125 pb) terdiri atas 28 pita polimorfik dan 21 pita monomorfik. Hasil penelitian ini menunjukkan variabilitas genetik yang cukup tinggi berdasarkan analisis kluster yang membentuk 2 kluster utama dengan koefisien kemiripan berkisar 63-94% dan keanekaragaman genetik 6-37%. Analisis komponen utama berdasarkan pita DNA ISSR dan kombinasi data morfologi dengan molekuler menunjukkan persentase keanekaragaman yang tinggi 96% dan 90% pada 49 dan 152 karakter.

Saran

Hasil korelasi antar karakter morfologi dan profil pita DNA diharapkan dapat dimanfaatkan untuk menyeleksi bibit unggul pada fase dini tanpa menunggu tanaman berbuah untuk mengetahui karakter yang diinginkan. Pada penelitian ini tidak ditemukannya MAS rasa manis, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui MAS rasa manis dengan menggunakan primer yang telah dipetakan untuk mengenali pita penyandi rasa manis pada tanaman manggis dan menggunakan lebih banyak aksesori manggis serta primer yang digunakan untuk mendapatkan MAS tanaman manggis.

DAFTAR PUSTAKA

- Carmen Del Castillo, Winkel T, Mahy G, Binzoux JP. 2006. Genetic structure of quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd.*) from the bolivian altiplano as revealed by RAPD markers. *Genet resour crop evol* springer science business media B.V9p.
- Cox JEK. 1976. *Garcinia mangostana* - Mangosteen. p. 361–375. *In: Gardner, R. J. dan S.A. Chaudhary (eds.). The Propagation of Tropical Fruit Trees.* England: FAO and CAB..
- Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2003. Road Map Pengembangan Agroindustri Manggis. Bogor: Direktorat Jenderal Pertanian.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan dan Hortikultura, 2006. Pedoman Produksi Manggis. Jakarta: Agromania.
- Fitmawati, Hartana A, Purwoko BS. 2009. Taksonomi mangga budidaya Indonesia dalam Praktik: *J. Agron.* 37 (2): 130-137.
- Gunawan E. 2007. Hubungan Agroklimat dengan Fenofisiologi Tanaman dan Kualitas Buah Manggis di Lima Sentra Produksi di Pulau Jawa. Bogor: Program Studi Agronomi Sekolah Pascasarjana IPB.
- Kurokawa S, Shimizu N, Uozumi S and Yoshimura Y. 2003. ISSRvariation in a worldwide collection of weedy strains (*abutilon theophrasti*) and the genetic background of weedy strains mingied in grains imported into japan. *Weed Biology and Management* 3:179-183.
- Mansyah E, Edison Hs, Winarno M. 1992. Eksplorasi dan studi keragaman tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Sumatera Barat: I. Karakteristik kuantitatif antar tanaman di berbagai lokasi. *Penelitian Hortikultura* 5 : 1– 15.
- _____, Jawal M, Lukitariati S, Susiloadi A. 1994. Studi keragaman tanaman manggis di Sumatera Utara dan Sumatera Selatan. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Tanaman Buah Solok.
- _____, M. Jawal A. , Lukitariati S. , dan A. Susiloadi. 1999. Variabilitas Genetik Tanaman Manggis Melalui Analisis Isozim dan Kaitannya dengan Variabilitas Fenotipik. *Zuriat* 10 (1): 1-9.
- _____. 2002. Genetics variability analysis of mangosteen population in java and Sumatra island their phenotypic performance and RAPD technique (Thesis). Graduate School, Padjadjaran University, 108 pp.

- _____, Sobir, E Santosa, Roedhy P. 2010. Assessment of inter simple sequence repeat (ISSR) technique in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) grown in different Sumatra region. *Journal of Horticulture and Forestry* 2(6): 127-134.
- Nei M, Li W.H. 1979. *Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases*. Proc. Natl. Acad. Sci. 76(10):5269–5273.
- Noorrohmah S. 2010. Analisis konsistensi pola genetik empat generasi manggis (*Garcinia mangostana* L.) Berdasarkan marka ISSR. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Poerba, Y.S. dan Yuzammi. 2008. Pendugaan keragaman genetik *Amorphophallus titanum* Becc. berdasarkan marka Random Amplified DNA. *Biodiversitas* 9 (2): 103-107.
- Richards, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical fruit trees: Agamospermy. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 103: 233–250.
- _____. 1997. *Plant Breeding Systems*. Second Edition. Departemen of Agricultural and Environmental Science University of Newcastle Upon Tyne. Chapman and Hall. London. 529 pp.
- Rolf FJ. 1998. NTSys-pc. *Numerical Taxonomy and Multivariate System*. Version 2.02. New York: Exeter Software.
- Sinaga S. 2008a. Analisis Keanekaragaman Fenotip dan Genetik, Analisis Multivariat, Analisis Lintas, Dan Seleksi Tanaman Manggis Tasikmalaya dengan Penanda Morfologi dan RAPD. Bogor: Pascasarjana Disertasi IPB.
- Sinaga S. 2008b. Analisis Keanekaragaman Fenotip dan Genetik Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kerabat Dekatnya . Disertasi. Bogor: IPB.
- Sobir and Roedhy Poerwanto. 2007. Mangosteen genetic and improvement. *International Journal of Plant Breeding*. Global Science Books.
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, and M.K. Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech (eds.). *Plant Molecular Biology*. Berlin: Springer-Verlag.
- Wahyuni Sri, DH Xu, N Bermawie, H Tsunematsu dan T Ban. 2004. Skrining ISSR primer studi pendahuluan Kekerabatan antar jahe merah, jahe emprit dan jahe besar. *Buletin TRO* 15: 33-40.
- Yu K, and KP Paul. 1999. The use of RAPD analysis to tag genes and determine relatedness in heterogenous plant population using tetraploid Alfalfa as an example. In: PCR Technology Current Innovation (H.G. Griffin and A.M. Griffin. Editor). London: CRC Press.