

Analisis Variabilitas Genetik Mangga Sulawesi Berdasarkan Penanda Molekular E-RAPD

Fitmawati
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

Berpijak pada fakta bahwa Sulawesi adalah pusat asal persebaran mangga poliembrioni Indonesia, diprediksi daerah ini mempunyai kekayaan genetik mangga yang sangat melimpah. Kekayaan genetik mangga dapat digunakan sebagai bahan baku pemuliaan mangga apabila teridentifikasi, karakterisasi, dan evaluasi dengan baik. Plastisitas ciri morfologi, menyulitkan dalam membuat batasan jenis, sehingga dilakukan penelusuran untuk mengungkap variasi genetik mangga Sulawesi menggunakan penanda E-RAPD dengan keunggulan pita yang dihasilkan lebih jelas, reproduibilitas tinggi, teknik mudah dan biaya lebih murah dibanding metoda lainnya. Menggunakan 14 primer E-RAPD diperoleh sebanyak 112 pita berukuran 200-1300 pb dengan tingkat polimorfisme sebesar 70,32 %. Variasi genetik mangga Sulawesi berkisar antara 62-89%. Pada nilai kemiripan 69% mangga Sulawesi mengelompok dalam lima kelompok. Nenek moyang umum mangga yaitu Hiku mengelompok bersama mangga tengguni, macan dan Kue, semua anggota kelompok ini asli berasal dari Sulawesi. Kelompok kedua terdiri dari Mukmusang, Banyak papan 1 dan 2, serta Manalagi, kelompok ketiga terdiri dari Apel, Golek, Balik papan dan Madu, kelompok ke empat terdiri dari Gola, Kandre jawa, Kue2 dan Arumanis. Mangga Galongkong terpisah dari kelompok lainnya dan memiliki kemiripan genetik paling kecil (62%).

Kata kunci: Variasi genetik, mangga Sulawesi, E-RAPD

PENDAHULUAN

Mangga termasuk marga *Mangifera* L. dari keluarga Anacardiaceae. Marga ini setidaknya mempunyai 14 jenis mangga yang biasa dimakan dari 68 jenis mangga yang ada (Kostermans & Bompard 1993). Secara morfologi ke-14 jenis mangga tersebut mirip dan sulit dibedakan. Pada umumnya yang dikenal sebagai mangga adalah anggota *Mangifera indica*. *Mangifera* lainnya yang dapat dimakan mempunyai kualitas buah yang lebih rendah dan umumnya dikenal sebagai mangga liar (kerabat mangga). Marga *Mangifera* berasal dari Asia tropika, sebagian besar jenisnya ditemukan di Semenanjung Malaysia, Sumatera, Jawa, Kalimantan, dan Sulawesi seperti *Mangifera laurina* Bl., *M. aplanata* Kosterm., *M. lalijiwa* Kosterm., dan *M. indica* L yang bersifat poliembrioni,

sedangkan *M. indica* yang berasal dari India dan Myanmar bersifat monoembrioni.

Penelusuran nenek moyang *M. laurina* dan kerabatnya menggunakan cpDNA *trnL-F intergenic spacer* diperoleh mangga Hiku sebagai kerabat liar dan diduga sebagai tetua bersama *M. laurina* dan kerabatnya. Hal ini memperkuat Indonesia adalah pusat keanekaragaman mangga terutama yang poliembrioni (Fitmawati, 2009).

Mangga mudah beradaptasi pada lingkungan budidayanya dan merupakan salah satu komoditas buah tropis paling populer. Mangga telah dibudidayakan selama ribuan tahun dan menjadi bagian dari budaya di banyak tempat, sehingga penyebutan mangga berbeda-beda sesuai dengan kultur dan bahasa yang ada. Penamaan mangga yang berbeda tersebut mencerminkan asal-usul dan penyebarannya. Nama-nama mangga lebih mengikuti pola penamaan yang berkembang di kawasan Asia-Pasifik sesuai dengan daerah dan negara asalnya.

Identifikasi, karakterisasi, dan evaluasi kultivar mangga baik budidaya maupun kerabat dekatnya sampai saat ini belum tuntas dilakukan, terutama untuk kultivar mangga di luar Pulau Jawa. Sebagian kultivar mangga di Jawa telah diidentifikasi berdasarkan ciri morfologi oleh Kusumo *et al.* (1975) dan Efendy *et al.* (2003). Pertautan ciri antar kultivar mangga dan besarnya plastisitas ciri morfologi, menyulitkan dalam membuat batasan kultivar, sehingga perlu didukung sumber data dengan pendekatan lain yang lebih komprehensif.

Identifikasi, karakterisasi, dan hubungan filogeni mangga selain menggunakan ciri morfologi juga dapat dilakukan dengan analisis genetik. Analisis ini, dapat dilakukan dengan menggunakan penanda molekuler baik pada DNA sitoplasma maupun pada DNA inti. Ciri molekuler juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi kultivar dan menduga kekerabatan antar plasmanutfah, sehingga variasi genotipe antar kultivar dapat dibedakan dengan jelas dan dapat dihindari adanya duplikasi aksesori. Analisis genetik pada DNA inti dapat dilakukan dengan mempelajari pola pemisahan pita DNA hasil amplifikasi teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) atau dengan teknik *Enhanced-RAPD* (E-RAPD).

Teknik E-RAPD (*Enhanced/emphasized-RAPD*) merupakan konversi RAPD bersifat sederhana dan efisien untuk membuat pita minor (samar) menjadi lebih jelas (Tanaka dan Taniguchi, 2002). Teknik E-RAPD menggunakan primer yang sama dengan RAPD tetapi pada ujung 5' atau 3' ditambah 1-2 basa sehingga menjadi 11-12 mer. DNA templat dapat diamplifikasi dengan primer E-RAPD atau dikombinasikan dengan primer aslinya. Analisis selanjutnya sama dengan teknik RAPD seperti yang dikembangkan William *et al.* (1990). Kejelasan pita target dapat ditingkatkan dan pita yang samar dapat dikurangi. Hasil penelitian Tanaka dan Taniguchi (2002), memperlihatkan pita hasil E-RAPD lebih jelas dengan reproduibilitas lebih tinggi dibanding pita dari primer aslinya yang dicobakan pada tanaman teh. Mudah, murah, dan singkat merupakan syarat mutlak untuk melakukan analisis DNA dalam program pemuliaan.

Analisis variabilitas genetik, identifikasi genotip, dan seleksi berdasarkan penanda (*marker-assisted selection* - MAS) untuk tujuan pemuliaan tanaman membutuhkan penanda DNA yang jelas, alel spesifik, terkait erat dengan karakter tertentu, dan reproduibilitas yang tinggi. Analisis E-RAPD telah dilakukan terhadap tanaman teh (Tanaka & Taniguchi 2002), pada tanaman manggis (Sobir *et al.* 2008), untuk membedakan jenis *Mangifera aplanata* dengan jenis mangga yang berkerabat dekat lainnya (Fitmawati, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis keanekaragaman genetik dan hubungan kekerabatan kultivar mangga Sulawesi berdasarkan penanda E-RAPD, menyediakan sistem rujukan yang efektif bagi pengelompokan kultivar mangga asal Sulawesi dan menyediakan data dasar bagi pemulia tanaman mangga, serta merekomendasikan kultivar-kultivar mangga yang potensial untuk dikembangkan. Informasi yang lengkap mengenai keanekaragaman kultivar mangga Sulawesi memudahkan dalam menyusun kebijakan dan pelaksanaan konservasinya.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Contoh tanaman mangga yang berasal dari Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Utara, dan Sulawesi Tengah, dianalisis menggunakan

penanda molekular E-RAPD (*Enhanced Random Amplified Polymorphism DNA*) analisis dilakukan di :Laboraturium Genetika Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Riau.

Tabel 1. Aksesori mangga dan kerabatnya yang digunakan

No.	Nama	Asal	No.	Nama	Asal
1.	Hiku	Kendari, Sultra	9	Golek	Makasar, Sulsel
2	Tengguni	Kendari, Sultra	10	Arumanis	Makasar, Sulsel
3.	Kweni	Kendari, Sultra	11	Manalagi	Makasar, Sulsel
4	Apel	Kendari, Sultra	12	Mukmusang	Makasar, Sulsel
5	Gola	Kendari, Sultra	13	Balik Papan	Selayar, Sulsel
6	Kue	Kendari, Sultra	14	Galongkong	Makasar, Sulsel
7	Kandre Jawa	Maros, Sultra	15	Madu	Kendari, Sultra
8	Banyak Papan	Makasar, Sulsel	16	Macan	Kendari, Sultra

Metode

Ekstraksi dan Purifikasi DNA

Contoh daun dan preparasi sebelum ekstraksi DNA untuk analisis E-RAPD. Ekstraksi DNA mengikuti prosedur CTAB (Doyle dan Doyle 1987) dan (Carmin del Castillo 2006) dengan beberapa modifikasi. Purifikasi DNA dilakukan dengan penambahan campuran Chloroform:Isoamil Alkohol (24:1 v/v) sebanyak 500ul. Pemisahan fraksi dilakukan dengan mengambil supernatan (fase cair bagian atas) dan dipindahkan ke tabung steril mikro baru setelah disentrifugasi 11000 rpm selama 10 menit. Untuk mendapatkan kualitas DNA yang baik tahapan ini dilakukan dua kali. Supernatan pada tabung baru ditambah 1 volume isopropanol dingin dan disimpan pada suhu -20°C selama 3 jam. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 11000 rpm selama 10 menit. Pelet DNA dicuci dengan 100 ul ethanol 70% dan dikeringanginkan selama 1-2 jam. Selanjutnya pelet dilarutkan dengan 50-100 ul air bebas ion steril sebagai stok DNA. Pemurnian DNA dapat dilanjutkan dengan menambahkan 5 ul RNase (10mg/ml) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1-2 jam untuk menghilangkan RNA dari larutan stok DNA. Uji Konsentrasi DNA dilakukan dengan elektroforesis yang dimigrasikan dengan DNA standar (DNA lamda) 10

dan 100 ng/ml pada gel agarose 1.2% dalam buffer TBE 1 X dengan tegangan 80 volt selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran konsentrasi DNA sesuai dengan teknik atau penanda yang digunakan.

Teknik E-RAPD mengikuti metode Tanaka dan Taniguchi (2002). Sebanyak 4 random primer dan 3 kombinasinya (E1E2, E1E4, dan E2E4) yang dimodifikasi dari primer SBH 13 (5'-GACGCCACAC-3') yaitu dengan menambahkan satu basa pada ujung 3' (Sobir 2006, komunikasi pribadi) digunakan mengamplifikasi produk PCR yang polimorf disajikan pada Tabel 2.

Amplifikasi PCR, Elektroforesis, dan Dokumentasi Hasil PCR.

Komposisi reaksi PCR terdiri dari 1X larutan penyangga (50mM KCL, 10 mM Tris-HCL pH 9, 0.01% Tripton X-100), 2.5 mM MgCl₂, 200 uM dNTP, 0.4 mM primer, 1 unit Taq polimerase DNA dan 5-10 ng DNA genom dengan volume akhir reaksi 25 ul. Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR (GeneAmp PCR sistem 2400 Perkin Elmer), sebanyak 35 siklus setelah pra PCR selama 5 menit 94⁰C. Setiap siklus terdiri dari 1 menit 94⁰C untuk denaturasi, 1 menit 37⁰C untuk penempelan primer, 1 menit 72⁰C untuk pemanjangan fragmen DNA dan selanjutnya ekstensi 5 menit 72⁰C. Fragmen DNA hasil amplifikasi dielektroforesis bersama DNA standar 1 KB DNA ladder (Fermentas) pada gel agarose 1.2% dalam larutan penyangga TBE 1X. Elektroforesis dilakukan selama 120 menit pada tegangan 60 volt, suhu ruang. Seperti pada percobaan kedua dan ketiga, pengamatan pita hasil amplifikasi dilakukan menggunakan alat dokumentasi gel dan direkam ke dalam disket.

Tabel 2. Primer acak 11-mer yang digunakan dalam analisis E-RAPD

N0	Primer	Sekuen 5'-3'
1	E1	GACGCCACACT
2	E2	GACGCCACACG
3	E3	GACGCCACACA
4	E4	GACGCCACACC

Analisis Data

Analisis Kemiripan dan Analisis Kluster

Data yang diperoleh dari teknik E-RAPD diolah dengan analisis kluster untuk melihat kemiripan genetik semua aksesori mangga asal Sulawesi. Setelah kemunculan pita diterjemahkan menjadi data biner, selanjutnya data tersebut digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik. Analisis similaritas data molekuler juga dilakukan seperti pada prosedur percobaan kedua dan ketiga yaitu menggunakan prosedur SIMQUAL pada program NTSYS PC versi 2.02 (Rolf 2000), kemudian dihitung dengan metode koefisien DICE dari Nei dan Li (1979) untuk menyusun matriks kesamaan genetik. Selanjutnya dilakukan analisis pengelompokan data matrik (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram pohon kekerabatan menggunakan metode SAHN-UPGMA melalui program NTSYS.

Analisis Komponen Utama

Analisis komponen utama dilakukan seperti pada percobaan sebelumnya dengan mengekstrak nilai ragam dari *eigenvector* dari *eigenvalue* utama menggunakan analisis multivariat pada program Minitab versi 14.

HASIL DAN PEMBAHASAN

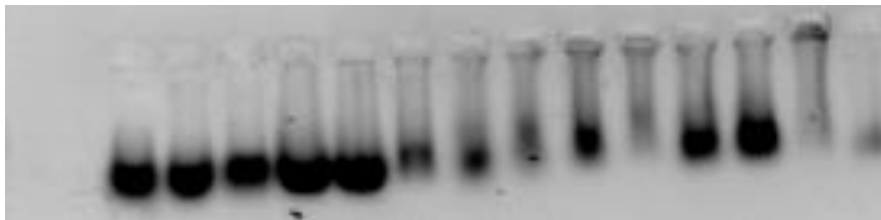
Pemilihan Sampel Bahan Tanaman

Dari penelitian sebelumnya (Fitmawati, 2009), tentang analisis filogenetik *Mangifera laurina* dan kerabatnya menggunakan cpDNA *intergenic spacer* diketahui bahwa Sulawesi merupakan pusat keanekaragaman *M. laurina* dan kerabatnya dengan ditemukannya nenek moyang *M. laurina* di Sulawesi, maka dipilih 36 aksesori mangga asal Sulawesi untuk dianalisis keanekaragamannya menggunakan penanda E-RAPD.

Ekstraksi dan Purifikasi DNA

Isolasi DNA adalah bagian yang sangat penting dari penelitian ini. Metode yang awal digunakan adalah metode Doyle and Doyle atau yang sering disebut metode CTAB yang biasa digunakan dan efektif untuk tanaman hortikultura. Namun ada kalanya DNA tidak muncul sama sekali atau berkualitas kurang baik dengan banyaknya pita DNA yang *smearing* (Gambar 1). Kesulitan teknis yang juga dialami adalah kurangnya ketersediaan nitrogen cair pada saat melakukan ekstraksi DNA. Disamping itu, daun *M. laurina* dan kerabatnya umumnya tebal, tulang daun yang kasar dan bergetah. Faktor-faktor ini diperkirakan mempengaruhi keberhasilan dalam memperoleh DNA dalam jumlah banyak dengan kualitas baik. Upayakan untuk mendapatkan DNA yang berkualitas baik terus dilakukan dengan berbagai modifikasi.

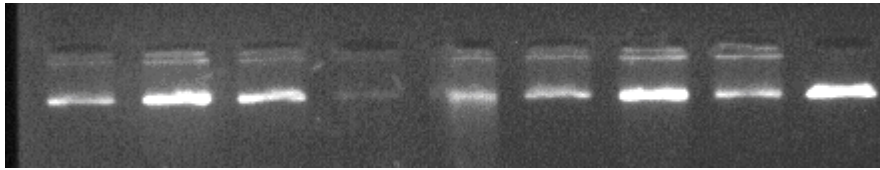
Metode CTAB memiliki kelebihan antara lain bahan yang digunakan sedikit, proses sederhana, relatif cepat dan menggunakan tabung kecil (1.5 ml) sehingga lebih hemat. Metode ini lebih menguntungkan dari segi penggunaan bahan dan lamanya pengerjaan.



Gambar 1. Contoh profil DNA *M. laurina* yang diekstraksi dengan metode CTAB standar (tanpa modifikasi)

Teknik pemurnian DNA dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu dengan mencampurkan hasil isolasi DNA sebelumnya dengan fenol: kloroform: isoamil alkohol (25:24:1), setelah disentrifugasi dan fase atasnya diambil dan ditambah dengan kloroform: isoamilalkohol (24:1). Atau dengan cara setelah dilarutkan dengan TE ditambah dengan 40% NaCl 5 M, dihomogenkan dan ditambahkan 2.5 volume etanol absolut dan diinkubasi pada -20°C selama 30 menit. Modifikasi pemurnian DNA lainnya hādala dengan mengganti buffer ekstrak menurut. Untuk 100 ml buffer ekstrak dibuat dengan mencampurkan 2 g CTAB, 10 ml Tris Cl 1 M pH 8.0, 4 ml EDTA 0.5 M pH 8.0, 40 ml NaCl 5 M, dan 2 g PVP. Bila hasil elektroforesis DNA menunjukkan *smearing*, pemurnian DNA dilakukan dengan

penambahan RNase. Setelah itu DNA di elektroforesis kembali untuk melihat apakah DNA sudah seperti yang diharapkan (Gambar 2).



Gambar 2. Contoh profil DNA *M. laurina* yang diekstraksi dengan metode CTAB (beberapa modifikasi) dan dimurnikan

Dari 36 aksesi bahan tanaman yang diekstraksi yang berhasil diperoleh DNA dengan jumlah dan kualitas yang baik hanya 16 aksesi (Tabel 1) yang dapat dilanjutkan untuk analisis dengan penanda E-RAPD.

Skrining dan optimasi primer E-RAPD

Primer E-RAPD pada tanaman teh (Tanaka dan Taniguchi, 2002) dan tanaman manggis (Sinaga, 2008) diuji coba diterapkan pada tanaman mangga. Primer tersebut digunakan dengan beberapa modifikasi pada prosedur PCR. Skrining 23 primer yang didesain, baru 4 primer yang akan dioptimasi pada tanaman mangga (Tabel 2). Skrining awal telah dilakukan untuk primer E1, E2 dan E4. Hasil yang diperoleh disajikan pada Tabel 3.

Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa optimasi pada beberapa genotipe mangga menunjukkan adanya polimorfisme pada Primer 1, Primer 2, dan Primer 4. Mangga Hiku berbeda secara genetik dengan mangga lainnya. Adanya polimorfisme tersebut menunjukkan bahwa primer E-RAPD cukup prospektif untuk dikembangkan sebagai marka molekuler pada tanaman mangga. Pada saat ini masih berjalan kegiatan optimasi untuk primer yang lain pada aksesi yang berbeda, sehingga didapatkan data molekuler untuk dianalisis variabilitas genetik *M. laurina* dan kerabatnya di Sulawesi. Informasi ini sangat berguna dalam rangka pengembangan program pemuliaan dan konservasi mangga khas Sulawesi.

Analisis Data E-RAPD

Semua primer acak mampu mengamplifikasi semua DNA aksesi (Tabel 2). Jumlah pita/sampel/primer bervariasi antara 7-12 pita dengan rata-rata 9 pita DNA/sampel. Primer E1 dan E4 menghasilkan pita paling sedikit (7 pita),

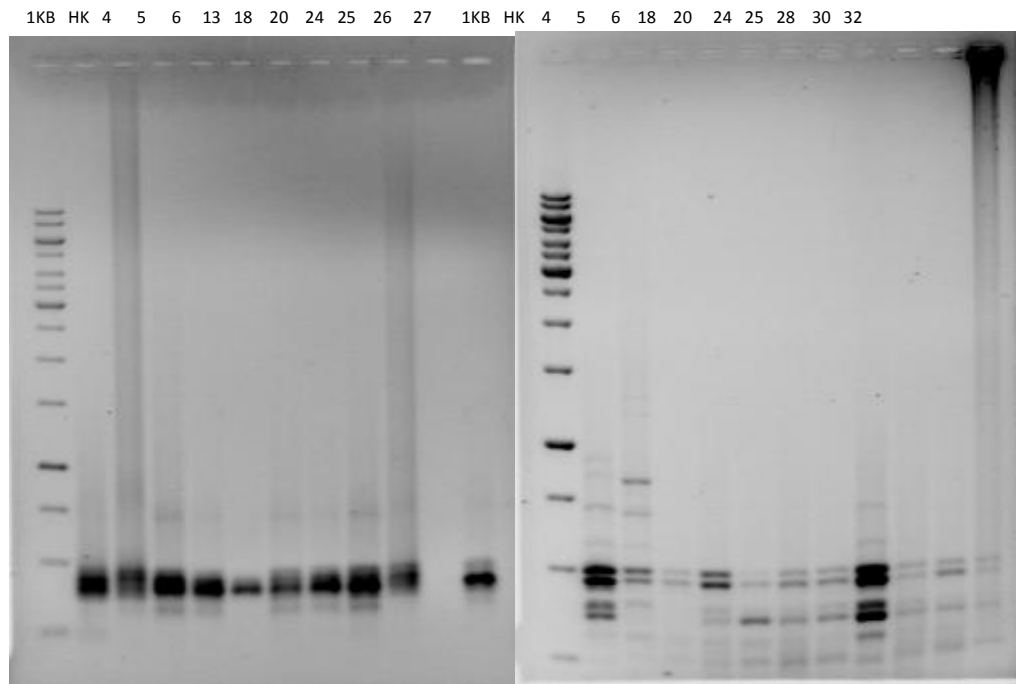
sedangkan pita terbanyak dihasilkan oleh primer E2 (12 pita). Ukuran pita yang diamplifikasi oleh primer E-RAPD berkisar antara 200-1300 pb dengan polimorfis tinggi (70,37%). Perbedaan jumlah dan ukuran pita menentukan tingkat keragaman genetik aksesori mangga dan kerabat dekatnya.

Tabel 3. Jumlah pita hasil amplifikasi tiga primer dengan teknik E-RAPD terhadap *M. laurina* dan kerabatnya

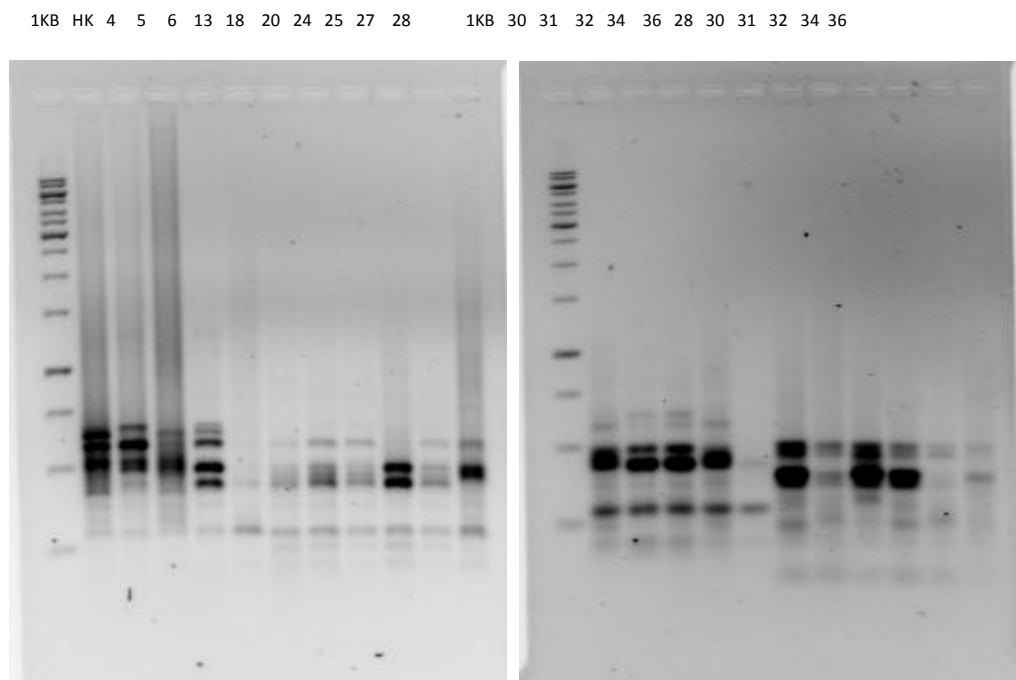
Primer	Ukuran pita (pb)	Jumlah pita polimorfik	Jumlah pita
E1	250-750	4	7
E2	250-1300	9	12
E3	200-700	5	8
E4	200-600	7	11
E1-4	250-700	5	7
E1-5	250-600	6	8
E1-6	250-700	5	8
E1-7	200-600	7	9
E1-8	150-500	9	11
		70,37%	100%

E-1

E-2



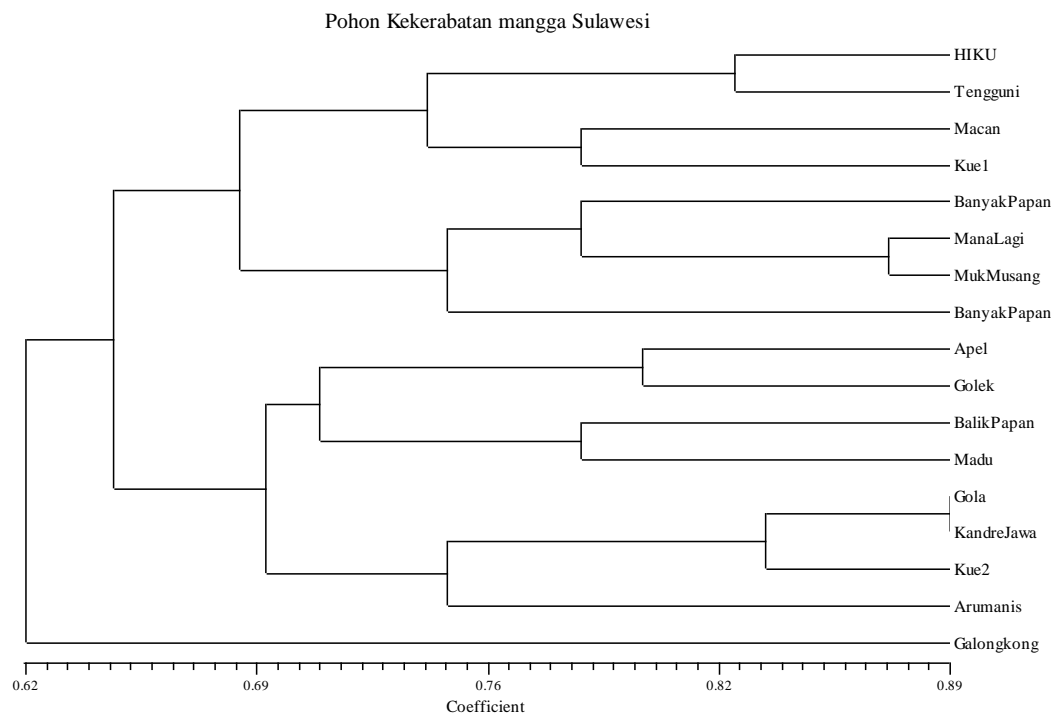
E-4



Gambar 3. Profil pita DNA tanaman mangga asal Sulawesi dengan penanda E-RAPD Primer E-1, E-2, dan E-4.
 Ket: HK = Hiku 4 = Tengguni 6= Kue 5= Macan 13 = Apel 18 = Gola 20 =Kue 24 = Kandre Jawa 25 = Arumanis 27 = Banyak Papan 28 = Mana Lagi 30 = Muk Musang 31 = Balik Papan 32 = Banyak Papan 2 34 = Galongkong 36 = Madu.

Pada Gambar 3 dapat dilihat variasi pola pita DNA yang terjadi antara *M. laurina* dan kerabatnya asal Sulawesi berupa hilangnya pita DNA tertentu dan adanya tambahan pita DNA baru tanpa kehilangan DNA. Kisaran ukuran pita yang dihasilkan dalam analisis E-RAPD ini relatif lebih pendek, jumlahnya lebih sedikit serta jarak antar pita lebih rapat dibandingkan pita yang dihasilkan oleh primer RAPD biasa. Diduga hal ini disebabkan oleh peningkatan spesifikasi pita yang diamplifikasi akibat penambahan basa pada primer E-RAPD. Jumlah pita yang dihasilkan oleh tiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuen primer pada genom.

Analisis Hubungan Kekerbatan



Analisis hubungan kekerabatan menggunakan NTSys 20.02 menggunakan 113 karakter pita DNA. Hasil analisis diperoleh pohon kekerabatan antara mangga Sulawesi dengan nilai kemiripan 62% atau dengan 38% variabilitas genetiknya. Pada tingkat kemiripan 70% terdapat 4 kelompok kultivar, kelompok pertama terdiri dari mangga hiku yang diduga kultivar liar progenitor mangga yang ada di Sulawesi, anggota lainnya adalah mangga tengguni, macan dan mangga kue. Kelompok pertama ini berasal dari Sulawesi Tenggara, di daerah ini mangga

tumbuh sepanjang pesisir pantai sehingga banyak nama daerah diilhami oleh nama daerah mangga seperti Taipa, pantai Toronipa di Kabupaten Konawe Selatan Sultra.

Kelompok kedua terdiri dari mangga mukmusang, banyak papan, banjar papan dan manalagi, kelompok ini berasal dari Sulawesi selatan. Kelompok ketiga terdiri dari mangga apel, balik papan, golek dan madu. Terlihat bahwa anggota kelompok ini anggotanya sebagian berasal dari Sulawesi selatan dan dari Pulau Jawa. Kemungkinan kelompok ini tumbuh dan tersebar berdasarkan migrasi dan pencampuran penduduk di kedua pulau.

Kelompok terakhir terdiri dari mangga gola, arumanis, kandre jawa, kue dan galongkong. Kelompok ini terdiri dari mangga asli Sulawesi dan satu kultivar mangga yang banyak dijumpai di pulau Jawa yaitu arumanis. Hasil ini menguatkan pendapat bahwa Sulawesi adalah pusat asal persebaran mangga poliembrioni di Indonesia.

KESIMPULAN

Dari 36 aksesori bahan tanaman yang diekstraksi yang berhasil diperoleh DNA dengan jumlah dan kualitas yang baik hanya 16 aksesori yang dapat dilanjutkan untuk analisis dengan penanda E-RAPD. Dari 23 primer yang diskriminasi terdapat 4 primer yang bersifat polimorfik dan mampu membedakan aksesori *M. laurina* dan kerabat dekatnya.

Diperoleh 4 kelompok mangga yang mengelompok berdasarkan daerah asal penyebarannya. Terlihat adanya intearksi antara budaya suatu daerah dengan penamaan daerah di Sulawesi. Persebaran mangga juga terkait dengan migrasi penduduk antara pulau Sulawesi dan Pulau Jawa.

DAFTAR PUSTAKA

Carmen del Castillo, T Winkel, G Mahy, JP Bizoux. 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.V. 9p.

- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Efendy AR, Sugianto A, Sakur, Hanafi, Endriyanto. 2003. Laporan Akhir Eksplorasi, Karakterisasi, Seleksi dan Konservasi Plasmanutfah Mangga. Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Sub-Tropik. Badan Penelitian dan Pengembangan. DEPTAN. 39 hal.
- Fitmawati, Hartana A, Rifai MA, Purwoko BS, 2006. Using RAPD and Enhanced-RAPD markers to distinguish between *Mangifera aplanata* Kostermans. and related species. *Floribunda* 3 (2) Oktober 2006.
- Fitmawati, Hartana A, 2009. Phylogenetic study of *M. laurina* and related species based on cpDNA trnL-F intergenic spacer. *Hayati inpress*.
- Kostermans AJGH, Bompert JM, 1993. *The Mangoes Their Botany Nomenclature and Utilization*. IBPGR. Academic Press.
- Kusumo S, Suhendro R, Purnomo, Suminto T. 1975. *Mangga*. Puslitbang Hortikultura-Pasarminggu. Jakarta. DEPTAN
- Nei M, Li WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl acad Sci USA* 76: 5269-5273
- Rolf FJ. 1998. NTSys-pc. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 2.02. Exeter Software. New York.
- Sinaga S. Analisis Keanekaragaman Genetik Dan Fenotip Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Dan Kerabat Dekatnya Disertasi. Institut Pertanian Bogor. 140 hal.
- Sobir, Poerwanto R, Sinaga S, Mansyah E. 2008. Genetic Variability in Apomictic Mangosteen. Di dalam: Mitori K, editor. *Toward Harmonization between Development and Environmental Conservation in Biological Production*. The final seminar; 28-29 February 2008. Tokyo: JSPS-DGHE Core University Program in Applied Biosciences. hlm: 84-95
- Tanaka J, Taniguchi F. 2002. Emphasized-RAPD (e-RAPD): a simple and efficient technique to make RAPD band clearer. *Breed Sci* 52: 22-229
- William JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Ravalski JA, Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*. 18: 6531-6535.