

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara mega biodiversitas karena memiliki kawasan hutan tropika basah dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi di dunia. Keanekaragaman hayati yang tinggi meliputi berbagai jenis tanaman, termasuk tanaman buah tropis. Berbagai macam buah-buahan dapat ditemukan di Indonesia, diantaranya adalah buah mangga (Coronel, 1996).

Plasma nutfah mangga di Indonesia cukup besar, yaitu sekitar 292 varietas (Coronel, 1996). Purwanto (2000) melaporkan bahwa di Indonesia, khususnya Kalimantan terdapat banyak plasma nutfah mangga yang cukup tinggi. Plasma nutfah mangga di Indonesia yang cukup tinggi ini perlu dilindungi sebagai upaya untuk konservasi dan pemuliaan tanaman. Upaya tersebut dilakukan oleh pemerintah Indonesia dengan membuat kebun percobaan dan koleksi mangga, diantaranya adalah kebun percobaan tanaman mangga Cukurgondang Pasuruan Jawa Timur, yang memiliki koleksi tanaman mangga terlengkap se-Asia Tenggara (Rebin, 2013).

Plasma nutfah tumbuhan yang beraneka ragam jenisnya dan bermanfaat untuk manusia telah dijelaskan dalam surat Asy-syuara ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : *Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*

Kata *يرو* yang artinya ‘memperhatikan’ dalam surat Asy-syuara ayat 7 mengandung unsur keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan matanya untuk melihat bukti nyata yang terhampar di muka bumi, yaitu *زوج* yang berarti tumbuh-tumbuhan. Kata *كريم* yang artinya ‘baik’ menjelaskan tentang tumbuh-tumbuhan yang memiliki banyak manfaat bagi manusia dan makhluk hidup lainnya (Shihab, 2002). Untuk mengetahui manfaat tumbuh-tumbuhan dapat dilakukan dengan mengeksplorasi potensi yang dimiliki oleh tumbuhan, melestarikan dan melakukan pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas-varietas unggul dengan sifat yang diinginkan, sehingga tumbuh-tumbuhan dapat dimanfaatkan secara optimal untuk kebutuhan manusia.

Salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat adalah mangga. Mangga merupakan tanaman tropis dengan komoditas buah yang paling penting di pasar Eropa dan Amerika. Buah mangga merupakan sumber β -karoten (pro vitamin A) dan vitamin C yang bagus (Crozier *et.al*, 2006). Mangga juga mengandung serat yang dapat membantu sistem pencernaan. Sebagian besar serat larut dalam air dan dapat menjaga kolesterol agar tetap normal (Ide, 2004). Berbagai kandungan buah mangga yang bermanfaat dan rasanya yang enak membuat mangga digemari oleh masyarakat sehingga menjadikan mangga sebagai buah yang bernilai komersial.

Dalam rangka peningkatan kualitas mangga, pemerintah dan pemulia tanaman mangga melakukan upaya pemuliaan tanaman mangga. Pemuliaan tanaman mangga selama bertahun-tahun menghasilkan ratusan tanaman mangga hibrida. Tetapi, evaluasi tanaman mangga hibrida tersebut memerlukan waktu

yang lama. Tanaman mangga seperti kebanyakan spesies pohon lainnya memiliki periode juvenile yang lama yaitu 7 tahun dan waktu yang diperlukan untuk mengevaluasi hasil hibrida dapat mencapai 12 tahun. Oleh karena itu, diperlukan metode efisien yang tidak bergantung pada tahap perkembangan tumbuhan (Wardiyati, 2010).

Karakterisasi molekuler dapat mempercepat proses seleksi tanaman mangga karena untuk mengetahui sifat buah yang dihasilkan tanaman mangga tidak perlu menunggu sampai pohon mangga berbuah (Liu *et.al*, 2006). Proses penyeleksian hasil persilangan mangga secara molekuler membutuhkan penanda molekuler. Penanda molekuler yang sering digunakan adalah RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) karena relatif cepat, murah dan sampel yang digunakan dapat dengan jumlah besar. Namun, primer RAPD bersifat acak karena panjang basanya hanya 10 bp, sehingga tidak semua primer RAPD bisa menghasilkan pita amplifikasi yang polimorfik. Oleh karena itu, diperlukan pemilihan primer RAPD yang tepat untuk bisa menganalisa variasi genetik mangga.

Primer RAPD yang digunakan pada penelitian ini yaitu OPA 12, OPA 13 dan OPL 17. Pemilihan primer-primer tersebut berdasarkan persentase polimorfisme hasil amplifikasi DNA mangga Alfonso (Manchekar, 2008). Persentase polimorfisme primer OPA 12, OPA 13 dan OPL 17 berturut-turut adalah 71,4%, 16,66% dan 66,66 %. Persentase tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan primer OPD 20, OPA 18, OPA 11 yang persentase polimorfismenya 0%.

Manchekar (2008) telah mengevaluasi variasi genetik pada klon mangga Alfonso dengan menggunakan marka RAPD yang dibandingkan dengan karakterisasi fenotipe buah secara fisik dan kimia. Analisa genetik klon mangga Alfonso menghasilkan 2 kelompok. Pola pengelompokan mangga Alfonso selain sesuai dengan asal wilayahnya, juga mengelompok berdasarkan parameter fisik dan kimia buah. Kelompok 1 memiliki rata-rata kandungan asam askorbat, total gula, persentase daging buah dan perbandingan kulit dengan daging buah yang lebih tinggi dari kelompok 2.

Salah satu karakter buah yang diamati pada penelitian Manchekar (2008) adalah kandungan asam askorbat (vitamin C). Kandungan asam askorbat berhubungan dengan kandungan karotenoid yang bertanggung jawab dalam warna buah dan kedua senyawa kimia tersebut seringkali digunakan sebagai parameter kualitas buah. Masithoh (2013) mengamati kualitas buah tomat selama proses pematangan dan hasil penelitiannya menunjukkan bahwa parameter kualitas buah yaitu karoten total, asam sitrat, dan vitamin C akan mengalami perubahan secara signifikan. Karoten total dan vitamin C mengalami kenaikan signifikan ditandai dengan perubahan warna buah menjadi lebih merah atau oranye, sedangkan asam sitrat akan mengalami penurunan secara signifikan selama penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan vitamin C berkorelasi positif dengan kandungan karoten, sehingga kemungkinan primer RAPD yang digunakan oleh Manchekar (2008) juga bisa digunakan untuk mengelompokkan mangga berdasarkan kandungan karoten buahnya.

Beta karoten merupakan salah satu sifat yang sangat dipertimbangkan dalam pemuliaan tanaman mangga. Selain bertanggungjawab dalam warna buah sehingga terlihat merah dan menarik, karoten juga memiliki manfaat lain. Karotenoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu menghambat radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker (Panjaitan, 2008). Selain berfungsi sebagai antioksidan, vitamin A memiliki manfaat lain yaitu menjaga kesehatan mata (Ide, 2004).

Kandungan beta karoten buah mangga yang bermanfaat untuk kesehatan manusia menjadi hal yang penting untuk diteliti. Berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa kandungan beta karoten pada kulit buah mangga lebih tinggi daripada daging buahnya (Crozier *et.al*, 2006). Ekstrak kulit buah mangga diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang sangat bagus terhadap berbagai macam radikal bebas seperti DPPH, hydroxyl, peroksil dan mengubah ion feri menjadi fero (Ajila, 2007). Selain itu, penelitian Ram (2009) menunjukkan bahwa kandungan karotenoid dalam kulit buah lebih stabil dibandingkan dengan kandungan karotenoid dalam daging buah apabila disimpan pada kondisi yang sama.

Kandungan beta karoten kulit buah mangga dapat diketahui dari warnanya. Penelitian Wardiyati, dkk (2010) menunjukkan bahwa varietas mangga yang kulit buahnya merah oranye, oranye, atau kuning oranye memiliki kandungan beta karoten yang lebih tinggi daripada varietas mangga lain yang berkulit buah hijau. Kulit buah mangga yang matang dengan warna yang berubah

menjadi merah atau oranye kekuningan juga mengandung senyawa antioksidan yang lebih banyak dari kulit buah yang belum matang (Ajila, 2007).

Penyeleksian tanaman mangga dengan marka umum RAPD pada tahap awal perlu dilanjutkan dengan marka spesifik agar menghasilkan data yang lebih akurat. Namun, sampai saat ini belum ditemukan marka molekuler spesifik yang dapat membantu penyeleksian tanaman mangga berdasarkan warna kulit buahnya, sehingga perlu dilakukan upaya pengembangan marka molekuler spesifik. Primer spesifik dapat didesain dari salah satu gen yang bertanggungjawab secara langsung dalam warna buah. Pigmen alami yang terdapat dalam kulit buah mangga dalam jumlah besar adalah beta karoten. Studi literatur menunjukkan bahwa penelitian mengenai gen yang berperan langsung dalam biosintesis karotenoid tanaman mangga sangatlah jarang. Namun, Luo *et. al* (2011) telah mengkloning dan meneliti ekspresi gen PSY (*phytoene synthase*) dari buah mangga kultivar Jinhuang. Mangga kultivar Jinhuang merupakan buah mangga yang warna kulit buahnya oranye dan kandungan beta karotennya tinggi.

Gen PSY merupakan gen yang mengkode enzim *phytoene synthase*. Enzim *phytoene synthase* merupakan enzim kunci dalam biosintesis senyawa karotenoid karena mengawali biosintesis beta karoten dengan mengubah *geranyl geranyl diphosphate* (GGDP) menjadi *phytoene* (Fuad, 2010). Aktivitas PSY dianggap sebagai tahap dasar yang sangat penting pada biosintesis karotenoid karena cara kerja enzim yang irreversible mengubah GGDP menjadi *phytoene* (Cunningham *et.al*, 1998). PSY menempati persimpangan pada jalur metabolisme dan aktivitasnya mungkin memiliki pengaruh yang luas terhadap produksi

isoprenoid pada tumbuhan. Peran penting enzim ini membuatnya menjadi langkah awal yang logis untuk mengidentifikasi perbedaan akumulasi karotenoid pada buah mangga (Mlalazi, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana variasi genetik beberapa varietas mangga dengan menggunakan teknik RAPD?
2. Bagaimana variasi genetik beberapa varietas mangga dengan menggunakan penanda molekuler gen PSY?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui variasi genetik beberapa varietas mangga dengan menggunakan teknik RAPD.
2. Untuk mengetahui variasi genetik beberapa varietas mangga dengan menggunakan penanda molekuler gen PSY.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini memberikan informasi kepada masyarakat, khususnya kepada para peneliti dan pemulia tanaman mangga tentang :

1. Variasi genetik beberapa varietas mangga yang warna kulit buahnya berbeda.

2. Pengembangan marka molekuler spesifik untuk membantu proses penyeleksian tanaman mangga yang menghasilkan buah dengan warna menarik dan mengandung antioksidan tinggi.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah :

1. Sampel mangga yang digunakan yaitu Garifta merah merupakan mangga introduksi dari Taiwan, Gedong Gincu berasal dari Majalengka, Podang Kuning berasal dari Kediri dan Arumanis berasal dari Probolinggo. Sampel mangga didapatkan dari Kebun Percobaan dan Koleksi Mangga Cukurgondang, Grati, Pasuruan, Jawa Timur.
2. Bagian tanaman mangga yang digunakan untuk isolasi DNA adalah daun yang diisolasi dengan metode CTAB (*Cethyl Trimethyl Ammonium Bromida*) dari Doyle and Doyle yang dimodifikasi.
3. Primer RAPD yang digunakan yaitu OPA 12, OPA 13 dan OPL 17.
4. Primer spesifik yang digunakan pada penelitian ini didesain dari gen PSY (phytoene synthase) mangga Jinhuang dari Cina (kode akses NCBI. JQ277716.1).
5. Parameter penelitian ini yaitu kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi, jumlah dan panjang produk amplifikasi, persentase lokus polimorfik, jarak genetik dan dendogram hubungan kekerabatan.