

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman pepaya (*Carica papaya*. L) merupakan tanaman yang tumbuh adaptif di daerah beriklim tropis dan subtropis. Tanaman ini dapat tumbuh di pekarangan maupun dibudidayakan secara intensif, mulai dari daerah dataran rendah 50 m dpl sampai dataran tinggi 1000 m dpl. Pepaya dapat berbuah sepanjang tahun tanpa mengenal musim, buahnya disukai masyarakat karena banyak kandungan gizi dan manfaat lainnya. Tanaman pepaya merupakan tanaman *dioecious*, juga ada *gynodioecious*, bahkan ada *trigynodioceou*, terdapat tiga jenis tanaman berdasarkan tipe pembungaan yaitu tanaman dengan bunga jantan, tanaman dengan bunga betina dan tanaman dengan bunga sempurna (hermaprodit) (Nakasone 1986; Villegas 1997; Magdalita dan Mercado 2003; Ming dan Wang, *et al.* 2007); (Yu *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2010; Jimenez *et al.* 2014).

Indonesia memiliki beragam jenis pepaya, baik hasil hibridisasi, pepaya hasil penggaluran dan papaya lokal atau kampung yang tumbuh liar di tengah masyarakat. Salah satu varietas yang dilepas oleh Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika tahun 2011 (sekarang BSIP Buah Tropika) sebagai varietas unggul adalah pepaya Merah Delima yang memiliki karakter buah sedang <1200 g, (deskripsi Lampiran.1). Selain pepaya hasil perakitan dengan karakter buah sedang, ada juga pepaya Lokal Semangko dengan karakter buah besar >1200 g (Lampiran.2) yang biasa dimanfaatkan sebagai buah olahan.

Tipe seks (bunga) pepaya yang terbentuk mempengaruhi bentuk buah yang dihasilkan (Liao *et al.* 2017). Buah hermaprodit dan betina secara morfologis berbeda, karena buah hermaprodit cenderung memanjang, dan buah betina lebih bulat (Buren dan Ming, 2014). Buah pepaya yang umumnya disukai konsumen adalah buah berbentuk lonjong (*elongata*) yang berasal dari bunga hermaprodit, sedangkan tanaman dengan bunga jantan tidak produktif menghasilkan buah, bunga betina menghasilkan buah membulat dan di beberapa negara subtropis dipergunakan sebagai sumber getah (Magdalita dan Mercado 2003; Ming *et al.* 2007; Yu *et al.* 2007;Saran *et al.* 2015; Liao *et al.* 2017).

Buah yang lonjong memiliki karakter daging buah lebih tebal, warna lebih merah dan rasa lebih manis, sedangkan buah yang membulat daging buah cenderung lebih tipis, warna lebih muda dan rasa kurang manis. Buah elongata atau lonjong tersebut dihasilkan dari pohon pepaya bunga sempurna atau hermaphrodit sedangkan buah yang bulat atau seperti belimbing dihasilkan dari pohon dengan jenis bunga betina. Masyarakat di daerah tropis cenderung lebih menyukai buah berbentuk lonjong yang dihasilkan dari tanaman hermaphrodit (Tamaki *et al.* 2011; Pinto *et al.* 2013, Kanchana-udomkan *et al.* 2014). Indonesia sebagai salah satu negara tropis, masyarakat menyukai pepaya dengan bentuk buah lonjong atau elongata dibandingkan dengan buah membulat atau berbentuk seperti belimbing.

Petani mengharapkan tanaman pepaya yang ditanam semuanya menghasilkan tanaman hermaphrodit. Perbanyak tanaman pepaya yang biasa dan umum dilakukan petani, dengan benih generatif karena lebih murah, mudah dan cepat. Tetapi kelemahan cara ini adalah benih generatif mengalami segregasi dalam ekspresi seks tanaman (Marin *et al.* 2006; Ming *et al.*, 2007), sehingga menghasilkan keturunan dengan seks tanaman yang bermacam-macam. Ekspresi seks sejak awal sulit untuk ditentukan, apakah akan menjadi tanaman jantan, tanaman betina maupun tanaman sempurna (Parasnis *et al.* 1999; Suketi *et al.* 2010; Costa *et al.* 2011 Suketi *et al.*, 2011; Priyanka *et al.* 2016).

Petani masih menggunakan penanda morfologi bunga untuk mengetahui ekspresi yang akan muncul sehingga membutuhkan waktu 3-4 bulan sampai tanaman berbunga, akibatnya tidak efisien waktu dan input saprodi lain. Cara lain petani menggunakan 2-3 benih per lobang tanam untuk mengantisipasi peluang munculnya bunga yang tidak diinginkan (tanaman jantan atau betina) sehingga membutuhkan lebih banyak benih. Beberapa petani pepaya di Indonesia memiliki cara khusus sebagai langkah untuk mendeterminasi benih dan menentukan seks sejak dini. Diantaranya dengan menggunakan benih yang berasal dari bagian tengah buah, memisahkan benih berdasarkan warna serta berdasarkan bentuk perakaran benih. Penanda morfologi tersebut belum terbukti akurat, sehingga perlu pembuktian secara ilmiah dengan cara yang lebih cepat, akurat dan valid.

Pendugaan ekspresi seks tanaman pepaya merupakan permasalahan yang belum selesai sampai saat ini, deteksi melalui pendekatan penanda morfologi,

fisiologi (Reddy, 2006) dan sitologi (Datta 1971; Sri Prasertsak *et al.* 1988) telah dilakukan tetapi hasilnya belum dapat tervalidasi karena faktor lingkungan sangat mempengaruhi karakter yang muncul. Selain faktor genetik, hormon dan faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi diferensiasi jenis kelamin, karena perbedaan jenis kelamin diatur oleh interaksi faktor genetik, hormon tumbuhan, dan syarat lingkungan (Aryal dan Ming, 2014; Heikrujam *et al.*, 2015).

Pendekatan marka molekuler berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk deteksi seks pepaya diharapkan mampu menjadi solusi untuk mengetahui ekspresi seks sejak dini. Draft urutan genom pepaya sudah tersedia, namun gen untuk penentuan jenis kelamin belum teridentifikasi, kemungkinan karena struktur susunan sekuen kromosomnya yang rumit (Urasaki *et al.*, 2012). Marka molekuler berbasis keragaman sekuen DNA semakin luas digunakan dalam pemuliaan tanaman karena dapat berfungsi sebagai indikator tidak langsung untuk menyeleksi berbagai gen-gen atau karakteristik penting yang mempengaruhi sifat-sifat agronomis unggul pada tanaman (Raj *et al.* 2011). Salah satu marka molekuler yang bersifat polimorfik dan mampu berfungsi sebagai pembeda adalah marka SNAP (*single nucleotide amplified polymorphism*) (Ruangchai *et al.* 2011) yang dikembangkan berdasarkan keberadaan lokus SNPs (*single nucleotide polymorphism*) akibat keragaman DNA sekuen pada genom tanaman.

Peneliti di Thailand, India, Brazil, Jepang dan negara subtropis telah dan masih melakukan penelitian terkait ekspresi seks antara lain; metode analisis transkriptom Santos *et al.* (2021), metode sekuen RAD (*Restriction site Associated DNA*) sequencing (Hu *et al.* 2018) dan Ming *et al.* (2019) dengan pengembangan penanda molekuler berbasis PCR multiplex untuk deteksi jenis kelamin pada pepaya dilakukan Thammasorn *et al.* (2017). Penelitian identifikasi ekspresi seks pepaya berbasis sekuen SNP belum banyak dilakukan di Indonesia serta belum berhasil membedakan antara DNA jantan dan hermaphrodit, contoh SNP terkait identifikasi jenis kelamin dilakukan pada *Pistacia vera* (Kafkas *et al.*, 2015) hasilnya mendapatkan lokus SNP pada tanaman *Pistachio dioecious* dengan sistem penentuan jenis kelamin betina ZW/ZZ heterogametic.

Pengembangan marka SNAP (*Single Nucleotide Amplified Polymorphism*) berdasarkan keberadaan lokus SNP (*single nucleotide polymorphism*) pada fragmen

genom DNA tanaman jantan dan hermaphrodit penting dilakukan dan diharapkan dapat digunakan untuk mendeteksi ekspresi seks tanaman pepaya sejak dini. Marka molekuler dan marka morfologi yang biasa dilakukan petani perlu diuji dan divalidasi secara ilmiah sehingga dapat digunakan sebagai metode dan standar dalam produksi benih pepaya. Metode deteksi dini ekspresi seks tanaman pepaya bermanfaat bagi petani dan peneliti untuk mendisain pola perakitan varietas serta mengatur pola penanaman dengan lebih baik. (Thongbai *et al.* 2018, Sheeba *et al.* 2016, Tripathi *et al.* 2016)

B. Rumusan Masalah

Fenomena biologi ekspresi seks pepaya (*Carica papaya*.L) yang memiliki tiga tipe ekspresi seks yaitu jantan, betina dan sempurna (hermaphrodit) mengakibatkan bentuk buah beragam. Permintaan pasar dan konsumen cenderung menyukai buah dengan bentuk lonjong atau elongata yang dihasilkan dari bunga hermaphrodit (sempurna). Tanaman pepaya dengan bunga hermaphrodit sulit ditentukan sejak dini, sehingga petani memerlukan waktu 3-4 bulan untuk memastikan jenis ekspresi seks tanaman yang ditanam. Cara lain adalah petani menyediakan benih lebih banyak karena menanam lebih dari satu benih per lobang, sehingga mengakibatkan tidak efisien dari segi waktu dan input budidaya. Penanda morfologi yang digunakan petani selama ini belum terbukti keakuratannya, diperlukan pendekatan deteksi secara molekuler karena lebih cepat dan akurat.

Untuk mengidentifikasi masalah berdasarkan latar belakang dan alasan tersebut diatas, maka dilakukan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana perbedaan morfologi bunga menyebabkan perbedaan bentuk buah yang dihasilkan.
2. Bagaimana memilih primer SCAR terkait penanda seks papaya jantan, betina dan hermaphrodit.
3. Bagaimana mendapatkan susunan basa (nukleotida) tanaman jantan dan hermaphrodit yang menjadi pembeda antara keduanya.
4. Bagaimana mengembangkan marka molekuler SNAP berbasis *single nucleotide polymorphism* (SNP) dapat digunakan untuk membedakan tanaman jantan dan hermaphrodit.

5. Apakah marka SNAP yang didesain dapat digunakan sebagai alat mendeteksi ekspresi bunga sejak dini.
6. Apakah marka morfologi dapat tervalidasi secara molekuler sehingga dapat menjadi penanda terhadap ekspresi seks tanaman.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum: Pengembangan marka molekuler SNAP berbasis SNP jantan dan hermaphrodit sehingga dapat digunakan untuk deteksi sejak dini tanaman pepaya jantan dengan tanaman hermaphrodit serta tervalidasi dengan marka morfologi tanaman di lapangan.

Tujuan Khusus:

1. Mengkarakterisasi bunga jantan, betina dan hermaphrodit pepaya Merah Delima dan Lokal Semangko
2. Menyeleksi primer SCAR yang terkait determinasi seks pembeda jantan, betina dan hermaphrodit.
3. Mengidentifikasi fragmen spesifik terkait dengan seks tanaman jantan dan hermaphrodit untuk mengetahui SNP dari fragment tersebut.
4. Mengembangkan marka SNAP berbasis SNP dari fragmen SCAR tanaman jantan dan hermaphrodit.
5. Memvalidasi primer SNAP yang dihasilkan menggunakan tanaman pepaya di persemaian dan tanaman di lapangan.
6. Mendapatkan data karakter pertumbuhan vegetatif tanaman dan karakter kualitas daun.

D. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam sistem penentuan seks tanaman pepaya secara dini (lebih awal) sehingga proses seleksi jenis kelamin dapat dilakukan lebih akurat serta membantu petani dalam pengembangan tanaman pepaya.
2. Memperpendek waktu, biaya, saprodi dan tenaga kerja untuk mengembangkan tanaman hermaphrodit.
3. Meningkatkan pendapatan petani pengembang tanaman pepaya karena memproduksi buah sesuai selera konsumen dan berdaya saing.

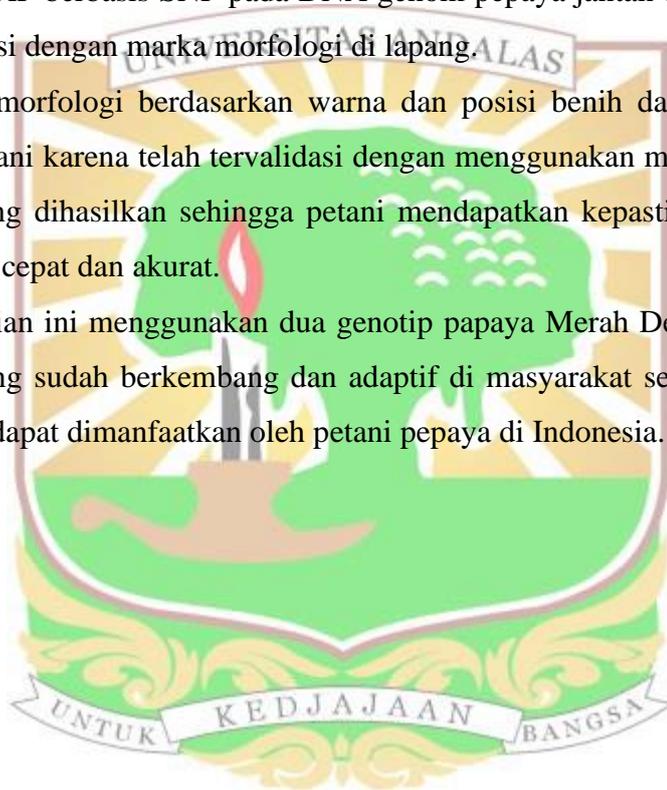
4. Marka molekuler yang dihasilkan dapat digunakan dalam mendukung pengembangan dan pemuliaan tanaman pepaya.

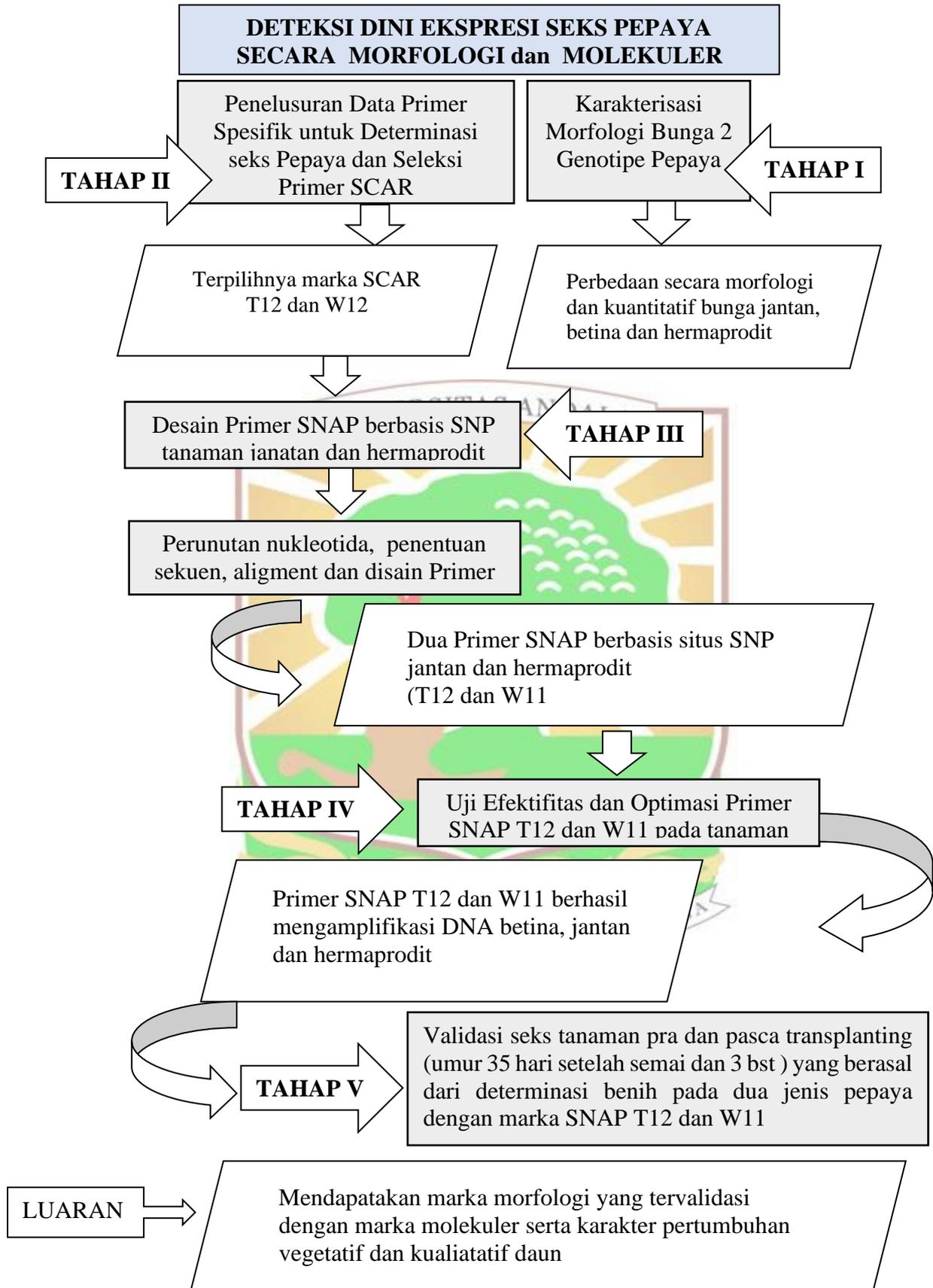
E. Kebaharuan (*Novelty*) Penelitian

Determinasi seks pepaya belum banyak dilakukan di Indonesia, sampai saat ini marka molekuler yang digunakan antara lain berdasarkan RAPD, SSR, ISSR, dan SCAR yang menghasilkan beberapa primer hanya membedakan tanaman betina dari tanaman jantan dan hermaphrodit tetapi belum dapat membedakan antara tanaman jantan dengan tanaman hermaphrodit. Penelitian ini menghasilkan marka molekuler SNAP berbasis SNP pada DNA genom pepaya jantan dan hermaphrodit yang tervalidasi dengan marka morfologi di lapang.

Marka morfologi berdasarkan warna dan posisi benih dalam buah dapat digunakan petani karena telah tervalidasi dengan menggunakan marka SNAP T12 dan W11 yang dihasilkan sehingga petani mendapatkan kepastian ekspresi seks tanaman lebih cepat dan akurat.

Penelitian ini menggunakan dua genotip pepaya Merah Delima dan Lokal Semangko yang sudah berkembang dan adaptif di masyarakat sehingga hasilnya penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh petani pepaya di Indonesia.





Gambar 1. Bagan Alir Penelitian