

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Gambir adalah ekstrak daun dan ranting tanaman *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. yang dikeringkan. Tanaman ini pantas menyandang gelar tanaman serbaguna, karena tidak cuma penyirih yang membutuhkannya sebagai teman pinang dan sirih tetapi juga berbagai jenis industri seperti industri minuman, kosmetik, obat-obatan, dan lain-lain. Indonesia adalah negara pengekspor gambir utama dunia. Negara tujuan ekspor gambir Indonesia antara lain adalah Bangladesh, India, Pakistan, Singapura, Malaysia, Jepang dan beberapa negara Eropa (Nazir, 2000).

Dewasa ini, kondisi produksi tanaman gambir di Indonesia masih tergolong rendah. Dhalimi, (2006) menyatakan bahwa permasalahan utama dari tanaman gambir saat ini adalah rendahnya produktivitas dan kualitas produk sebagai akibat dari cara bercocok tanam dan proses pascapanen (pengolahan) yang belum optimal dan minimnya dukungan teknologi.

Fauza, (2011) menyatakan bahwa dalam hal perakitan varietas unggul, sampai saat ini belum dihasilkan bahan perbanyakan berupa varietas unggul, yang dapat berkontribusi dalam meningkatkan produktivitas gambir. Penelitian-penelitian tentang pemuliaan tanaman gambir sangat jauh tertinggal dibandingkan dengan komoditas pertanian lainnya. Oleh sebab itu perlu dilakukan peningkatan, yang berpeluang besar untuk peningkatan itu adalah dengan modifikasi material genetik secara bioteknologi. Sehingga di bidang pertanian perlu ditingkatkan pemahaman mengenai pengaplikasian teknik tersebut.

Ekstrak gambir mengandung senyawa fungsional yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol dan senyawa ini merupakan hasil metabolit sekunder tanaman yang menyusun golongan tanin. Salah satu yang termasuk dalam senyawa polifenol adalah flavanoid (Paul, 1977).

Leung, (1980) menyatakan bahwa kandungan utama pada tanaman gambir adalah d- dan l-katekin ($C_{15}H_{14}O_6$). Menurut Gumbira *et al.*, (2009), katekin merupakan senyawa yang paling tinggi kadarnya di dalam tanaman gambir, sekitar 7 - 33%. Dalam kaitannya dengan pemanfaatan gambir selanjutnya oleh

konsumen, karakteristik mutu gambir tidak hanya didasarkan pada mutu fisik tetapi juga mutu kimianya. Kandungan katekin sebagai komponen utama pada gambir menjadi syarat utama dalam menentukan mutu gambir.

Xie *et al.*, (2004) menyatakan DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) merupakan enzim kunci yang mengkatalis langkah terakhir dari biosintesis antosianidin, mengkondensasi tanin (*proanthocyanidins*), dan jenis flavonoid lainnya yang juga dibutuhkan untuk pertahanan tanaman dan kebutuhan akan nutrisi manusia. Murray dan Wesley (1991) telah melaporkan bahwa enzim DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) mengkatalis formasi *leucocyanidin* dari *dihydroquercetin* yang nantinya akan mengarah pada pembentukan katekin. Penelitian yang dilakukan oleh Sharma *et al.*, (2010) tentang studi identifikasi senyawa metabolis sekunder pada tanaman teh (*Camellia sinensis*) menyatakan bahwa enzim yang juga terlibat dan juga penting peranannya dalam biosintesis flavonoid adalah DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*).

Genetika dan regulasi dari aktifitas enzim DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) ini sudah banyak diteliti di beberapa jenis spesies tanaman, dari beberapa kasus penelitian yang telah dilakukan dilaporkan bahwa gen penyandi DFR ini hadir dalam bentuk *single gene* atau berupa beberapa gen family. Diantaranya penelitian yang dilakukan pada beberapa tanaman seperti barley (*Hordeum vulgare*) bahwa gen DFR hadir sebagai gen tunggal di dalam genom tanaman ini, dan juga beberapa jenis tanaman lain seperti Arabidopsis, tomat (*Lycopersicon esculentum*), anggur (*Vitis vinifera*), snapdragon (*Antirrhinum majus*), dan padi (*Oryza sativa*); Kristiansen dan Rohde, 1991; Winkel-Shirley *et al.*, 1992; Bongue-Bartelsman *et al.*, 1994; Sparvoli *et al.*, 1994; Holton dan Cornish, 1995; Chen *et al.*, 1998).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ferita *et al.*, (2011), pengujian primer Udtg1 dan Udtg2 diuji pada DNA genom awal, belum menunjukkan hasil/produk. Sedangkan pengujian kombinasi primer Udtg3 dan Udtg4 ternyata mampu menghasilkan produk sebesar 41,7% terhadap genom awal. Namun dari beberapa kali pengujian untuk kombinasi primer tersebut masih belum menunjukkan akurasi 100%, karena masih dijumpai fragmen produk amplifikasi pada satu sampel DNA Udang katekin rendah (tidak sesuai harapan). Primer spesifik hasil

disain oleh Ferita *et al.*, 2011 dan 2012 yaitu UtgF dan UtgR, belum dapat menunjukkan produk sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai primer spesifik yang dapat digunakan pada isolasi gen penyandi *Flafonone3-hydroxilase*, *dihydroflavonol 4-reductase*, dan *leucoanthocyanidin reductase* pada tanaman gambir.

Menurut hasil penelitian Lestari (2014) bahwa pengujian primer UtgF dan UtgR yang dilakukan tidak didapatkan fragmen, baik pada katekin tinggi maupun pada katekin rendah. Padahal amplifikasi pada semua sampel telah dilakukan beberapa kali. Hal ini dapat disebabkan karena pada sampel memang tidak ada produk, artinya tidak adanya *binding site* dari DNA template yang sesuai dengan sekuen primer tersebut.

Mengisolasi DNA tanaman gambir terutama gen yang terlibat dalam pembentukan katekin perlu dilakukan sebagai salah satu cara untuk meningkatkan kualitas dan mutu gambir, terutama pada saat akan memilih bibit dengan produksi tinggi yang akan ditanam di lapangan. Dalam mendukung program pemuliaan tanaman dan menghasilkan varietas gambir yang unggul serta memiliki hasil yang tinggi juga dapat dilakukan dengan teknik molekuler. Jamsari (2013) menyatakan bahwa kemajuan teknologi amplifikasi DNA secara *in-vitro* atau disebut juga dengan teknik PCR (*polymerase chain reaction*) dengan segala kemudahan yang bisa ditawarkannya, salah satu diantaranya kemudahan terhadap isolasi gen target. Jamsari (2007) juga menyatakan bahwa kloning berbasis PCR dapat diterapkan untuk mengisolasi gen-gen yang memiliki homologi antara satu dengan lainnya. Menurut Jamsari (2013) sekuen gen-gen tersebut dapat diamplifikasi menggunakan primer degeneratif. Pendisainan primer dilakukan pada daerah yang lestari (*conserved*) yakni posisi sekuen yang memiliki banyak persamaan setelah dilakukan *multialignment*.

Sehubungan dengan itu, telah dilakukan pendisainan primer degeneratif untuk mengisolasi gen DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) yakni salah satu gen yang ikut terlibat dalam biosintesis pembentukan katekin. Primer tersebut diharapkan memiliki *binding side* dari DNA fungsional tanaman gambir yang ikut sebagai gen pengendali pembentukan katekin.

B. Rumusan Masalah

Dalam pelaksanaan penelitian ini yang menjadi rumusan masalah adalah sulitnya membedakan di lapangan antara bibit tanaman gambir yang memiliki kadar katekin tinggi dengan yang berkadar katekin rendah yang akan ditanam di lapangan, sehingga dapat berproduksi dengan maksimal dan meminimalkan biaya produksi, serta bagaimana pendisainan primer degeneratif yang dapat digunakan di dalam kegiatan isolasi sekuen gen DFR pada tanaman gambir dan apakah genom dari isolasi DNA tanaman gambir memiliki *binding site* dengan primer yang telah didisain.

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan sekuen gen DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.)
2. Untuk melihat tingkat homologi gen DFR (*dihydroflavonol 4- reductase*) pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) secara *in-silico* dengan tanaman lainnya .

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai sumbangannya dalam perkembangan ilmu pengetahuan dan dalam aplikasinya guna mempermudah kedepannya di dalam melakukan seleksi bahan perbanyakan pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) sehingga dapat meminimalkan resiko penanaman tanaman gambir berproduksi rendah di lapangan.