

ANALISIS FILOGENETIK MANGGA (*MANGIFERA* SPP.) BERDASARKAN GEN 5,8S RRNA

(*Analysis of Phylogenetic Manggo (Mangifera spp.) Based On RRNA 5,8S Gene*)

Olivia Anafarida dan Badruzsauhari

Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat,

Jalan A. Yani Km.36, Banjarbaru, Indonesia

Email: Olivia.anafarida@gmail.com

Article Submitted : 29-5-2020

Article Accepted : 03-6-2020

ABSTRACT

Phylogenetic analysis of mangoes species using the nucleotide sequences of 5.8S rRNA genes aimed to determine the cladistics and evolution of kinship amongst the species of the genus *Mangifera* to support the conservation and breeding efforts of local endemics of South Kalimantan. The analysis involved 23 nucleotide sequences of the 5.8S rRNA gene obtained from the GeneBank of NCBI which were aligned and trimmed into 655 bp using MEGA X software. The Kimura-2 parameter model and *Maximum-Likelihood* method used to construct a monophyletic tree of 4 clades. Clade I consists of *M. torquenda*, *M. sumatrana*, *M. kemanga*, *M. quadrifida*, *M. griffithii*, *M. casturi*, *M. lalijiwa*, *M. macrocarpa*, *M. flava*, *M. gracilipes*, *M. pentandra* and *M. caloneura*. Clade II consists of *M. foetida*, *M. cochinchinensis*, *M. gedebe*, *M. oblongifolia*, *M. indica*, *M. laurina*, *M. sylvatica*, and *M. zeylanica*. Clade III only consists of *M. andamanica*. Clade IV consists of *M. odorata* and *M. camptosperma*. The closest kinship occurred between *M. odorata* and *M. camptosperma* and the farthest kinship was *M. camptosperma*. *M. andamanica* has the farthest evolutionary distance with the longest branch.

Keywords: *Phylogenetic, Mangifera, evolution, kinship*

PENDAHULUAN

Mangifera merupakan genus dari mangga-mangga anggota famili Anacardiaceae, yang memiliki sekitar 49 spesies dengan 8 spesies berstatus belum *valid* sedangkan 41 spesies lainnya merupakan spesies yang sudah *valid*. Menurut Luo *dkk.*, (2010) mangga berasal dari India lebih dari 4000 tahun yang lalu dan tersebar di beberapa Negara meliputi India, Malaysia, Srilanka, Filipina, Papua Nugini, China dan Indonesia (Yadav & Singh, 2017). Genus ini tersebar di wilayah tropis baik dataran tinggi maupun dataran rendah (Kostermans & Boompard, 1993).

Mangga kasturi (*M. casturi*), mangga kuweni (*M. odorata*) dan mangga lalijawa (*M. lalijawa*) merupakan sebagian kecil spesies mangga yang ada di Indonesia. Genus ini dibagi menjadi 2 subgenus yaitu subgenus *Mangifera* dan subgenus limus. Subgenus *Mangifera* diantaranya yaitu *M. indica*, *M. camptosperma*, *M. casturi* dan *M. gedebe* sedangkan subgenus limus diantaranya yaitu *M. odorata*, *M. foetida* dan *M. gracilipes* (Kostermans & Bompard, 1993). Menurut Rhodes & Macted (2016) mangga kasturi (*M. casturi*) yang merupakan mangga endemik

Kalimantan Selatan berdasarkan kategori IUCN *Red List* masuk dalam kategori *Extinct in the wild* atau sudah tidak ditemukan lagi di habitat liarnya dan hanya ditemukan di habitat budidaya. Populasi *Mangifera* di alam semakin berkurang akibat tingginya deforestasi hutan. Areal hutan semakin berkurang akibat penebangan liar, pengalihan lahan, industrialisasi dan sebagainya (Fitmawati dkk., 2013). Konservasi serta budidaya perlu dilakukan untuk mencegah semakin banyaknya spesies *Mangifera* yang hilang. Banyak jenis mangga di dunia yang belum diketahui secara pasti hubungan kekerabatannya. Tindakan pertama untuk menentukan strategi konservasi serta cara budidaya yakni dengan mengetahui hubungan evolusi yang direkonstruksi dari spesies *Mangifera*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai kekerabatan antar spesies mangga sehingga keberhasilan dalam pelestariannya dapat dilakukan dengan mudah.

Identifikasi menggunakan data morfologi sulit dilakukan karena membutuhkan waktu yang lebih lama serta musim buah dan bunga yang tidak menentu (Lestari dkk., 2018). Sebaliknya identifikasi menggunakan data molekuler seperti DNA atau protein juga membutuhkan waktu yang lama karena menggunakan laboratorium serta peralatan canggih lainnya. Alternatif lain yang dapat digunakan untuk membuat pohon filogenetik adalah dengan menggunakan data sekunder. Menurut Sugiyono (2010) data sekunder merupakan data yang tidak diperoleh secara langsung yakni melalui internet, jurnal, buku dan sebagainya. Data sekunder yang digunakan berupa DNA atau protein yang berasal dari website NCBI. Dengan mengumpulkan data yang seragam maka data yang dihasilkan pun akan lebih akurat dan efektif dibandingkan penelitian secara langsung.

Analisis kekerabatan perlu dilakukan untuk mengetahui kekerabatan antar spesies dari genus *Mangifera*. Hubungan evolusi antar spesies dapat digambarkan melalui

analisis filogenetika menggunakan data molekuler berupa DNA atau protein (Dharmayanti, 2011). Data yang digunakan yaitu sekuens nukleotida 23 spesies mangga yang didapatkan dari website NCBI yakni gen 5,8S rRNA yang merupakan bagian penting ribosom eukariotik yang disalin oleh RNA polimerase I (Sequence Ontology, 2020).

Metode yang umum digunakan dalam analisis kekerabatan adalah filogenetika yang dapat digunakan untuk menafsirkan kekerabatan antar spesies dengan rekonstruksi filogenetik (Hidayat & Pancoro, 2008). Pohon filogenetik merupakan susunan yang dapat menggambarkan data yang berkerabat dalam bentuk pohon bercabang (Lubis, 2014). Berdasarkan garis evolusi studi filogenetik dengan penanda molekuler dapat menganalisis hubungan genetik antar kelompok organisme (Hidayat & Pancoro, 2008). Model Kimura-2 dipilih dalam pembuatan filogenetik untuk mengetahui kesamaan antar sekuens serta memiliki kelebihan cepat dan mudah untuk menganalisis sekelompok sekuens (Bhambri & Gupta, 2012). Analisis filogenetik ini bertujuan untuk mengetahui kladistika serta evolusi kekerabatan antar spesies dalam genus *Mangifera* sehingga dapat memudahkan dalam upaya konservasi serta pemuliaan mangga-mangga.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan data sekunder berupa sekuens nukleotida genus *Mangifera* 5,8S rRNA yang berasal dari GeneBank melalui website NCBI (*National Center for Biology Information*). Spesies *out group* yang dipilih adalah *Oryza sativa* cultivar Tongil. Sekuens dalam file format teks dipangkas (*trimmed*) mengikuti panjang sekuens terpendek yaitu 655 bp. Selanjutnya file tersebut dikonversi menjadi format Mega menggunakan *software* MEGA X (Tamura dkk., 2007).

Analisis

Sekuens nukleotida dianalisis pensejajaran sekuens (*edit/alignment build*) dengan Clustal-W dengan *software* MEGA X. Sekuens yang memiliki banyak kemiripan dipotong pada ujung 5', ujung 3' atau keduanya. Analisis filogenetika menggunakan metode *maximum likelihood* dengan *bootstrap* sebanyak 1000 menggunakan model Kimura 2-parameter. Pohon filogenetik yang sudah terbentuk terbagi menjadi 2 jenis yakni *original* dan hasil *bootstrap*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dua puluh tiga sekuens nukleotida gen 5,8S rRNA dari spesies yang termasuk dalam genus *Mangifera* dan 1 spesies *out group* dari genus *Oryza* dipilih untuk analisis disajikan pada Tabel 1. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan model Kimura-2 didapatkan 2 jenis pohon filogenetik yakni *bootstrap tree* (Gambar 1) dan *original tree* (Gambar 2).

Tabel 1. Daftar spesies yang diperoleh dari website NCBI (*National Center for Biology Information*)

No.	Spesies	Subgenus	No. Akses GenBank
1.	<i>Mangifera kemanga</i>	Limus	MF990368.1
2.	<i>Mangifera quadrifida</i>	<i>Mangifera</i>	MF678511.1
3.	<i>Mangifera torquenda</i>	<i>Mangifera</i>	MF990365.1
4.	<i>Mangifera sumatrana</i>	<i>Mangifera</i>	KX347961.1
5.	<i>Mangifera griffithii</i>	<i>Mangifera</i>	AB071685.1
6.	<i>Mangifera casturi</i>	<i>Mangifera</i>	MF678493.1
7.	<i>Mangifera lalijiwa</i>	<i>Mangifera</i>	MF678504.1
8.	<i>Mangifera oblongifolia</i>	<i>Mangifera</i>	AB071682.1
9.	<i>Mangifera gedebe</i>	<i>Mangifera</i>	AB071681.1
10.	<i>Mangifera foetida</i>	Limus	AB071680.1
11.	<i>Mangifera cochinchinensis</i>	<i>Mangifera</i>	AB071677.1
12.	<i>Mangifera macrocarpa</i>	Limus	AB071688.1
13.	<i>Mangifera gracilipes</i>	<i>Mangifera</i>	AB071686.1
14.	<i>Mangifera pentandra</i>	<i>Mangifera</i>	AB071684.1
15.	<i>Mangifera flava</i>	<i>Mangifera</i>	AB071679.1
16.	<i>Mangifera caloneura</i>	<i>Mangifera</i>	AB071678.1
17.	<i>Mangifera laurina</i>	<i>Mangifera</i>	AB071687.1
18.	<i>Mangifera odorata</i>	Limus	AB598044.1
19.	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera</i>	LN552225.1
20.	<i>Mangifera andamanica</i>	<i>Mangifera</i>	AB598046.1
21.	<i>Mangifera sylvatica</i>	<i>Mangifera</i>	AJ890470.1
22.	<i>Mangifera zeylanica</i>	<i>Mangifera</i>	AJ890469.1
23.	<i>Mangifera camptosperma</i>	<i>Mangifera</i>	AB598043.1
24.	<i>Oryza sativa</i> cultivar Tongil	<i>Oryza</i>	KM036286.1

Topologi pohon filogenetik yang dihasilkan bersifat monofiletik yang berarti bahwa kelompok tersebut memiliki satu leluhur yang mewariskan sifat genetik, morfologi serta biokimia pada semua keturunannya. Hal tersebut membuat

anggota monofiletik berkerabat sangat dekat antara satu dengan yang lain (Hidayat & Pancoro, 2008). Pernyataan tersebut sesuai dengan pohon filogenetik yang terbentuk, karena seluruh anggota dalam pohon filogenetik (kecuali *out group*) berasal dari

satu genus yang sama yakni genus *Mangifera*.

Kladogram dengan metode *maximum likelihood* membentuk 4 kelompok *in group* dan 1 *out group*. Kelompok *in group* terbagi dalam dua klad besar yakni klad I dan klad II serta dua klad kecil yakni klad III dan klad IV. Klad I terdiri dari 12 spesies yakni *M. torquenda*, *M. sumatrana*, *M. kemanga*, *M. quadrifida*, *M. griffithii*, *M. casturi*, *M. lalijiwa*, *M. macrocarpa*, *M. flava*, *M. gracilipes*, *M. pentandra* dan *M. caloneura*. Jenis-jenis tersebut disatukan oleh banyaknya urutan sekuens yang mempunyai kemiripan yang sama. Karakter morfologi yang memisahkan jenis tersebut dari klad yang lain adalah permukaan daun *glabrous* serta warna kulit buah yang unik pada beberapa spesies. *M. casturi*, *M. kemanga*, *M. torquenda*, *M. griffithii*, dan *M. quadrifida* memiliki warna buah yang gelap (hitam keunguan dan coklat) saat matang, sedangkan spesies lainnya memiliki warna kulit buah kekuningan dan berbintik-bintik (Kostermans & Boompard, 1993).

Klad IV terdiri dari 2 spesies yakni *M. odorata* dan *M. camptosperma*. Kedua spesies tersebut disatukan oleh banyaknya persamaan karakter sekuens yang dimiliki sehingga mengelompok dalam satu klad. Karakter morfologi daun *oblong-lanceolate*, bunga berwarna putih kemerahan serta daging buah yang hijau saat matang (Kostermans & Boompard, 1993).

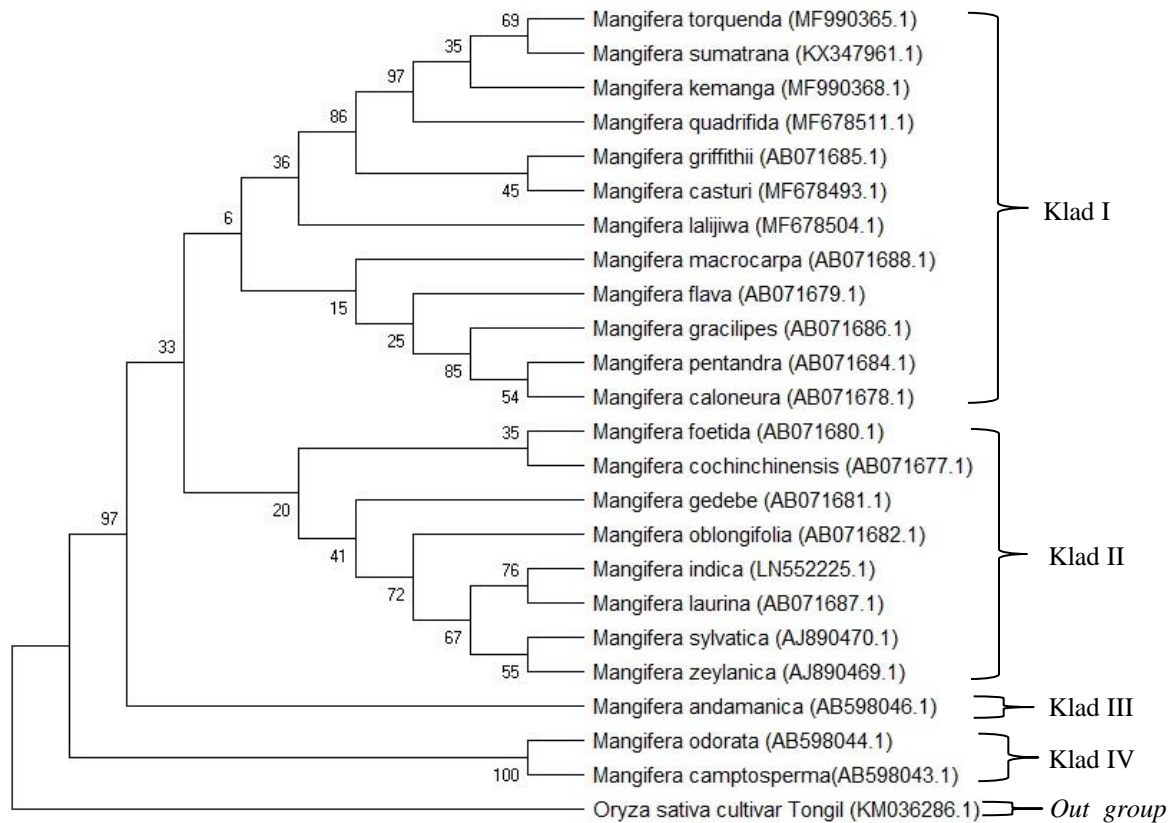
Kladogram pada Gambar 1 menunjukkan bahwa subgenus *Mangifera* dan *Limus* terletak pada cabang yang berbeda. Lestari *dkk.*, (2018) menegaskan, topologi pohon filogenetik yang dihasilkan melalui proses analisis terbagi menjadi beberapa klad yang tersusun dari subgenus yang sama. Pohon filogenetik yang dihasilkan berbeda dengan pernyataan tersebut. Subgenus *Mangifera* dan subgenus *Limus* tidak membentuk kelompok khusus melainkan tercampur satu sama lain. Hal tersebut disebabkan oleh penggunaan sekuens yang lebih spesifik dibandingkan karakter morfologi. Menurut

Klad II terdiri dari 8 spesies yakni *M. foetida*, *M. cochinchinensis*, *M. gedebe*, *M. oblongifolia*, *M. indica*, *M. laurina*, *M. sylvatica* dan *M. zeylanica*. Banyaknya kemiripan antar sekuens yang dimiliki ke enam spesies tersebut membuatnya masuk dalam klad yang sama. Jenis-jenis tersebut memiliki karakter morfologi yang mirip antara satu dengan yang lain, diantaranya yaitu susunan daun tersebar, bentuk daun *oblong*, struktur bunga dengan 5 helai *sepal* dan *petal*, bentuk buah seperti paruh serta permukaan buah yang mengkilap (Kostermans & Boompard, 1993).

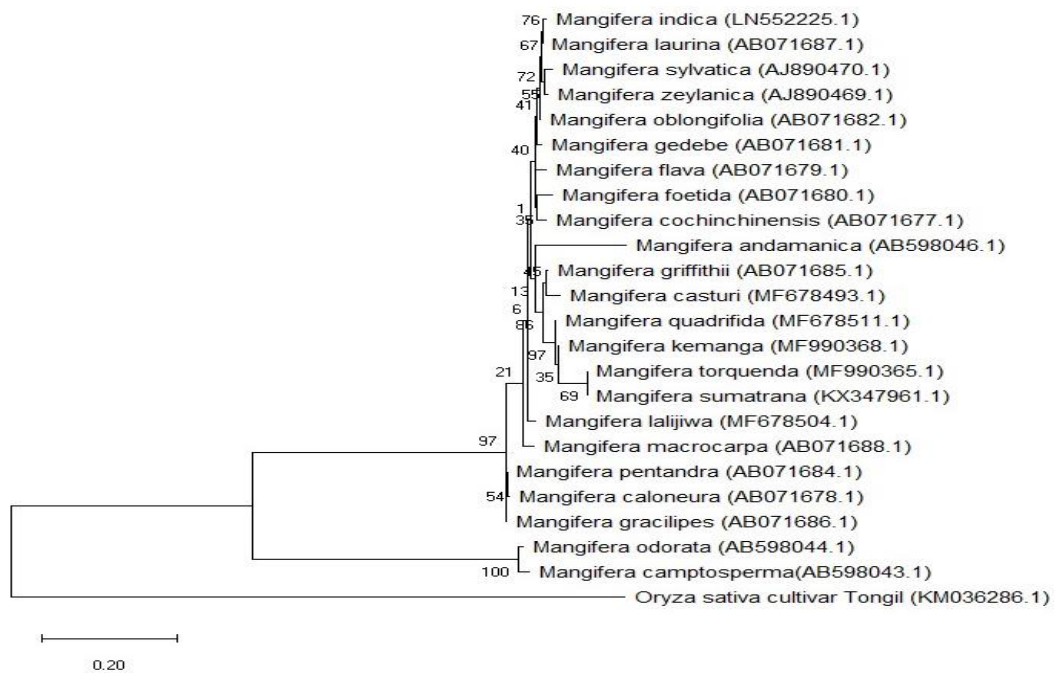
Klad III terdiri dari satu spesies yaitu *M. andamanica*. Spesies tersebut memiliki urutan sekuens yang jauh berbeda dengan anggota genus *Mangifera* yang lain sehingga membentuk kelompok tersendiri. Karakter morfologi spesies ini yaitu memiliki daun *spathulate* hingga *oblong*, bunga putih serta kelopak dan mahkota 4, buah elips, tidak berparuh (tidak meruncing) (Kostermans & Boompard, 1993).

Kostermans & Boompard (1993), Subgenus tersebut dibagi berdasarkan karakter morfologi bunga yaitu struktur pembungaan, bentuk helai mahkota dan ukuran helai mahkota, jumlah benang sari fertil, tipe perbungaan dan bentuk disc pada bunga (Swita *dkk.*, 2013). Berbeda cara pendekatan antara karakter morfologi dan karakter molekuler membuat kedua subgenus tersebut terpisah.

Berdasarkan letak cabang dan nilai *bootstrap*, kekerabatan terdekat dimiliki oleh *M. odorata* dan *M. camptosperma* dengan nilai *bootstrap* 100. Menurut Rosidiani *dkk.*, (2013) nilai *bootstrap* dengan rentang 70-100 menunjukkan peluang terjadinya perubahan pada klad kecil sedangkan nilai *bootstrap* kurang dari 70 menunjukkan peluang perubahan susunan klad besar. Besarnya nilai *bootstrap* serta letak garis yang sejajar membuat keduanya berkerabat dekat.



Gambar 1. Pohon filogenetik *bootstrap* *Mangifera* dengan 23 spesies *in group* dan 1 spesies *out group* berdasarkan urutan 5,8S rRNA. Direkonstruksi menggunakan *software* MEGA X. Nilai-nilai *bootstrap* (1000 ulangan) untuk setiap *node* ditampilkan di pangkal cabang



Gambar 2. Pohon filogenetik *original* *Mangifera* dengan 23 spesies *in group* dan 1 spesies *out group* berdasarkan urutan 5,8S rRNA.

Analisis metode *maximum likelihood* menggunakan model Kimura-2 merekonstruksi kekerabatan antar spesies berdasarkan panjang garis cabang. Panjang garis yang berbeda menunjukkan tingkat evolusi masing-masing spesies (Fitmawati *dkkl.*, 2013). Garis yang semakin panjang menunjukkan jarak evolusi semakin jauh sedangkan garis yang lebih pendek menunjukkan dekatnya jarak evolusi suatu spesies. Berdasarkan Gambar 2, garis terpanjang dimiliki oleh *M. andamanica* anggota klad III dengan cabang terpanjang. Hal tersebut menunjukkan bahwa spesies ini mempunyai sejarah evolusi yang panjang sehingga dianggap lebih primitif (Fitmawati *dkk.*, 2018). Cabang-cabang lain yang lebih pendek menunjukkan bahwa spesies-spesies lain memiliki evolusi pendek dengan sifat lebih maju, sehingga dianggap sebagai keturunan dari nenek moyangnya. Dengan demikian *M. andamanica* merupakan spesies yang memiliki umur molekuler terdahulu sebagai nenek moyang dari *Mangifera* lainnya.

Kladogram memberi petunjuk bahwa 23 jenis mangga kelompok *in group* mengelompok dalam masing-masing klad berdasarkan kemiripan sekuens nukleotida serta kemiripan pada beberapa karakter morfologi yang digunakan sebagai pendukung. Persamaan serta perbedaan karakter yang dimiliki antar spesies tersebut digunakan untuk mengetahui hubungan

kekerabatannya. Tingkat evolusi masing-masing spesies dapat dilihat dari panjang pendeknya cabang kladogram. Semakin panjang cabang menunjukkan bahwa spesies tersebut adalah nenek moyang dengan sifat kuno sedangkan semakin pendek cabang menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan keturunan dari spesies dengan nilai cabang panjang.

KESIMPULAN

Analisis filogenetik dari 23 spesies *Mangifera* berdasarkan sekuens 5,8S rRNA dapat disimpulkan bahwa kladogram yang dihasilkan menggunakan metode *maximum likelihood* bersifat monofiletik yang terbagi dalam 4 klad. Klad I terdiri dari *M. torquenda*, *M. sumatrana*, *M. kemanga*, *M. quadrifida*, *M. griffithii*, *M. casturi*, *M. lalijiwa*, *M. macrocarpa*, *M. flava*, *M. gracilipes*, *M. pentandra* dan *M. caloneura*. Klad II terdiri dari *M. foetida*, *M. cochinchinensis*, *M. gedebe*, *M. oblongifolia*, *M. indica*, *M. laurina*, *M. sylvatica* dan *M. zeylanica*. Klad III hanya terdiri dari *M. andamanica*. Klad IV terdiri *M. odorata* dan *M. camptosperma*. Berdasarkan letak cabang dan nilai *bootstrap* kekerabatan terdekat dimiliki oleh *M. odorata* dan *M. camptosperma*. Berdasarkan cabang terpanjang *M. andamanica* bersifat primitif sebagai nenek moyang dari *Mangifera* lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhambri, P., & Gupta, O. P. (2012). Development of phylogenetic tree based on Kimura's Method. *Proceedings of 2012 2nd IEEE International Conference on Parallel, Distributed and Grid Computing, PDGC 2012*, 1–3. <https://doi.org/10.1109/PDGC.2012.6449910>
- Dharmayanti, N. L. P. I. (2011). *Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme*. *Wartazoa*, 21(30), 1–10.
- Fitmawati, A., Suwita, N., & Sofiyanti, H. (2013). Eksplorasi dan Karakterisasi Keanekaragaman Plasma Nutfah Mangga (*Mangifera*) di Sumatera Tengah. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 307–312.
- Fitmawati, F., Riau, U., & Juliantari, E. (2018). *Phylogenetic Study of*

- Mangifera Central Sumatra Based on rbcl Sequences Phylogenetic Study of Mangifera Central Sumatra Based on rbcl Sequences.* (February).
- Hidayat, T. & Pancoro. A. (2008). Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek Topik. *AgroBiogen*, 4(1), 35–40.
- Kostermans, A. J. G. H. & Jean. M. B. (1993). *The Mangoes*. London: Academic Press Limited.
- Lestari, D. A., Azrianingsih, R., & Hendrian, H. (2018). Filogenetik Jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non-coding sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.22146/jtbb.28308>
- Lubis, K. (2014). Cara Pembuatan Pohon Filogeni. *Pengabdian Kepada Masyarakat*, 20(XX), 66–69.
- Luo, C., He, X. H., Chen, H., Ou, S. J., & Gao, M. P. (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(6), 1176–1184. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.11.004>
- Rhodes, L. & Maxted, N. (2016). *Mangifera casturi*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T32059A61526819. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T32059A61526819.en>
- Rosidiani, E. P., Arumingtyas, E. L., & Azrianingsih, R. (2013). Analisis Variasi Genetik *Amorphophallus muelleri* Blume dari Berbagai Populasi di Jawa Timur Berdasarkan Sekuen Intron trnL. *Floribunda*, 4(6), 129–137.
- Sequence Ontology. (2013). Categori:SO:04375 ! Rrna 5,8S. [http://www.sequenceontology.org/so_wiki/index.php/Category:SO:0000375 ! rRNA 5 8S](http://www.sequenceontology.org/so_wiki/index.php/Category:SO:0000375!rRNA_5_8S). Diakses 5 April 2020
- Sugiyono. (2010). *Metode Penelitian Kuantitatif, kualitatif dan R & D*. Bandung: Alfabeta.
- Swita, A. F. & M. (2013). Analisis Hubungan Kekerbatan Beberapa Jenis Mangga (*Mangifera*) Berdasarkan Karakter Morfologi dan Fluoresensi Klorofil. *Jurnal Produksi Tanaman*.
- Swita, A., & Sofyanti, N. (2013). Analisis Kekerbatan Morfologi *Mangifera* Dari Sumatera Tengah. *Floribunda*, 4(7), 169–174.
- Tamura K, J. Dudley, M. Nei & S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
- Yadav D & S. P., & Singh. (2017). Mango: History origin and distribution. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6), 1257–1262.