

repository.ub.ac.id

**KARAKTERISASI MORFOLOGI, KANDUNGAN
KAROTENOID, DAN SEKUEN GEN *Ccs* PADA CABAI RAWIT
G1 *ORIGINAL TYPE* DAN MUTAN G1/M13**

SKRIPSI

oleh

NUR RAHMATTULLAH

145090101111017



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

**KARAKTERISASI MORFOLOGI, KANDUNGAN
KAROTENOID, DAN SEKUEN GEN *Ccs* PADA CABAI RAWIT
G1 *ORIGINAL TYPE* DAN MUTAN G1/M13**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi**

oleh

NUR RAHMATTULLAH

145090101111017



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

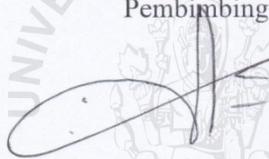
**KARAKTERISASI MORFOLOGI, KANDUNGAN
KAROTENOID, DAN SEKUEN GEN *Ccs* PADA CABAI RAWIT
G1 ORIGINAL TYPE DAN MUTAN G1/M13**

NUR RAHMATTULLAH

145090101111017

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 9 Mei 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

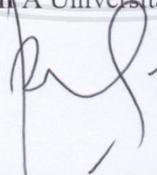
Menyetujui
Pembimbing



Prof. Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas, M.Sc. St.

NIP.19630818 198802 2 001

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya



Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D

NIP.19700128 199412 2 001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Rahmattullah
NIM : 145090101111017
Jurusan : Biologi
Penulis Skripsi Berjudul : Karakterisasi Morfologi, Kandungan Karotenoid, dan Sekuen Gen *Ccs* pada Cabai Rawit G1 *Original Type* dan Mutan G1/M13.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 23 Mei 2018
Yang menyatakan

Nur Rahmattullah
145090101111017

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



repository.ub.ac.id

Karakterisasi Morfologi, Kandungan Karotenoid, dan Sekuen Gen *Ccs* pada Cabai Rawit G1 *Original Type* dan Mutan G1/M13

Nur Rahmattullah, Estri Laras Arumingtyas
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya
2018

ABSTRAK

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) mengandung karotenoid yang dalam biosintesisnya diatur oleh gen *Ccs* (*Capsanthin-Capsorubin Synthase*). Tujuan dari penelitian ini adalah mendeskripsikan variasi morfologi, mengetahui kandungan karotenoid total pada berbagai umur buah (30, 45, 60 hari setelah pembungaan atau HSP), korelasi antara morfologi dan kandungan karotenoid, dan mengidentifikasi perbedaan sekuen gen *Ccs* antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13, dan menentukan hubungan antara karakteristik morfologi dan karotenoid total. Tanaman mutan G1/M13 secara signifikan memiliki sifat morfologi kuantitatif yang secara signifikan lebih besar dibandingkan kontrol/*original type* walaupun terdapat variasi antar tanaman G1/M13. Berat buah secara signifikan berkorelasi sangat kuat ($0,75 < R_s < 0,99$) terhadap jumlah biji. Lebar buah secara signifikan berkorelasi kuat terhadap berat buah dan tinggi tanaman ($0,50 < R_s < 0,75$). Kandungan karotenoid total secara keseluruhan meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) seiring dengan bertambahnya umur buah. Kandungan karotenoid total secara signifikan berkorelasi kuat terhadap warna buah pada umur 30 dan 45 HSP. Analisis sekuen gen *Ccs* menunjukkan adanya *reverse/back mutation* pada basa nomor 462 dan 809 bila dibandingkan sekuen dari *original type* dan referensi *genebank*. Dengan demikian, tanaman mutan memiliki kandungan karotenoid dan morfologi yang lebih baik dibandingkan *original type* dan perbedaan basa pada gen *Ccs* diindikasikan berdampak positif terhadap kandungan karotenoid cabai rawit mutan G1/M13.

Kata kunci: Cabai rawit, *Capsanthin-capsorubin synthase*, karotenoid

repository.ub.ac.id

Characterization of Morphologies, Carotenoid Content, and *Ccs* Gene Sequence of Cayenne Pepper Original Type and G1/M13 Mutant

Nur Rahmattullah, Estri Laras Arumingtyas

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
University of Brawijaya
2018

ABSTRACT

Cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) contains carotenoid biosynthesized by *Ccs* (Capsanthin-Capsorubin Synthase) gene. This research was aimed to describe morphological variation, determine total carotenoid at various ages of fruit (30, 45, 60 days after flowering or DAF), correlation between morphology and total carotenoid content, and *Ccs* gene sequence differences between G1 *original type* and G1/M13 mutant in cayenne pepper. The result showed that overall G1/M13 had high value of quantitative morphology traits compared with *original type* although there were variations between G1/M13. Fruit weight significantly had strong correlation against seed numbers ($0.75 < R_s < 0.99$). Fruit diameter significantly had strong correlation against fruit weight and plant height ($0.50 < R_s < 0.75$). Overall, total carotenoid significantly increased with fruit ages ($p < 0.05$). Total carotenoid significantly had strong correlation with fruit color at 30 and 45 DAF. *Ccs* gene sequence between control and G1/M13 showed reverse/back mutation at base number of 462 and 809 compared with original type and genebank reference sequence. Thus, G1/M13 mutant had better morphologies and higher total carotenoid compared to original type and change of base was indicated had beneficial impact for total carotenoid of G1/M13.

Key words: Carotenoid, Cayenne pepper, *Capsanthin-capsorubin synthase*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Alamiin, dengan ungkapan rasa syukur pada Allah Yang Maha Kuasa akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas, M.Sc.St. selaku dosen pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengarahan serta tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
2. Ir. Retno Mastuti, M.Ag.Sc., D.Ag.Sc dan Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan saran yang bermanfaat demi penyusunan skripsi.
3. Orang tua penulis atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang tidak terkira.
4. Ayu Zahrotul, Wahyuningyan Arini, dan Diki Rizzal Fauzi sebagai teman satu tim penelitian Capsicum “*ELA squad*” dan Ria Reinnata dan Edia Dwi yang telah membantu penyelesaian penelitian penulis baik moril maupun materiil.
5. Mochamad Efendi sebagai teman yang telah memberikan motivasi dan dorongan serta lingkungan yang kondusif selama penelitian penulis.
6. Rekan-Rekan Biologi Angkatan 2014 “*Amino*” dan seluruh civitas akademik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini merupakan upaya optimal penulis sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Cabai Rawit (<i>Capsicum frutescens</i>)	5
2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Distribusi dan klasifikasi	5
2.1.3 Habitat dan syarat tumbuh	7
2.1.4 Cabai rawit genotip G1 (Kultivar Cakra Hijau)	7
2.1.5 Morfologi dan fisiologi perkembangan buah cabai rawit	8
2.2 Karotenoid	10
2.2.1 Definisi dan jenis-jenis karotenoid	10
2.2.2 Biosintesis karotenoid	12
2.3 Gen <i>Ccs</i> (<i>Capsanthin-Capsorubin Synthase</i>)	14
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	14
2.5 Analisis Morfologi Cabai	15
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Penanaman dan Pemeliharaan	20
3.3 Karakterisasi Morfologi Cabai Rawit	20
3.4 Ekstraksi Karotenoid Total Buah Cabai Rawit	21
3.5 Ekstraksi DNA <i>Whole Genome</i> Cabai Rawit	23
3.6 Uji Kuantitatif DNA	23
3.7 Uji Kualitatif DNA	24

3.8	Amplifikasi Gen Ccs dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	24
3.9	Analisis Profiling Genetik	24
3.10	Rancangan Penelitian	25
3.11	Analisis Data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		26
4.1	Karakteristik Morfologi Cabai Rawit G1 <i>Original Type</i> dan Mutan G1/M13	26
4.1.1	Karakteristik vegetatif	26
4.1.2	Karakteristik generatif (Buah)	30
4.2	Korelasi antar Karakter Morfologi	36
4.3	Kandungan Karotenoid Total pada Buah Cabai Rawit G1 <i>Original Type</i> dan Mutan G1/M13	38
4.4	Korelasi antara Morfologi dan Kandungan Karotenoid Total pada Buah Cabai Rawit	41
4.5	Profil Gen Ccs Cabai Rawit G1 <i>Original Type</i> dan Mutan G1/M13	43
BAB V KESIMPULAN		48
5.1	Kesimpulan	48
5.2	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
DAFTAR LAMPIRAN		55

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Jenis tanaman cabai rawit yang digunakan	20
2. Deskripsi karakterisasi morfologi pada organ vegetatif	21
3. Deskripsi karakterisasi morfologi pada organ generatif	22
4. Umur panen cabai rawit	22
5. Korelasi antar karakter morfologi pada cabai rawit	37
6. Korelasi antara karakter morfologi dan kandungan karotenoid total pada buah cabai rawit	42



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Morfologi tanaman cabai rawit.	6
2. Morfologi tanaman cabai rawit Genotip (G) 1.	9
3. Morfologi tanaman cabai rawit G1 kontrol dan perlakuan EMS.	9
4. Jenis-jenis warna buah cabai rawit berdasarkan tahapan atau proses pematangan.	11
5. Jenis-jenis karotenoid berdasarkan gugus fungsi pada kedua ujung rantai isoprenoid.	12
6. Biosintesis karotenoid.	13
7. Deskriptor tanaman cabai secara vegetatif.	17
8. Posisi bunga pada aksiler.	17
9. Deskriptor buah cabai rawit.	18
10. Karakteristik tanaman cabai rawit G1.	26
11. Panjang daun cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	27
12. Lebar daun cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	28
13. Tinggi tanaman cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	29
14. Tampilan buah cabai rawit pada semua tanaman dengan waktu pemanenan yang berbeda.	31
15. Panjang buah cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	32
16. Lebar buah cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	33
17. Berat buah cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	33
18. Jumlah biji per buah cabai rawit G1 <i>original type</i> dan mutan G1/M13.	34
19. Kandungan karotenoid total pada buah cabai rawit berdasarkan umur buah.	39
20. Penyejajaran atau <i>alignment</i> sekuen gen <i>Ccs</i> pada cabai KM037706.1 dari genebank NCBI (<i>Capsicum annuum</i> cv. Landrace Jarales, complete CDS), cabai rawit G1 kontrol (<i>original type</i>), dan cabai rawit mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7).	44

21. Estimasi komponen asam amino pada enzim CCS pada cabai KM037706.1 dari genebank NCBI (*Capsicum annuum* cv. Landrace Jarales, complete CDS), cabai rawit G1 kontrol (*original type*), dan cabai rawit mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7).45



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Analisis Data Karakterisasi Morfologis	55
2. Analisis Data Kandungan Karotenoid Total	58
3. Analisis Korelasi antar Parameter	62
4. Hasil Elektroforesis pada Gel Agarosa 1 %	64



DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan	Keterangan
%	Persen
μ l	Mikroliter
A ₂₃₀	Absorbansi 230 nm
A ₂₆₀	Absorbansi 260 nm
A ₂₈₀	Absorbansi 280 nm
A ₄₈₀	Absorbansi 480 nm
A ₆₄₅	Absorbansi 645 nm
A ₆₆₃	Absorbansi 663 nm
bp	<i>Base pair</i>
CCD	<i>Carotenoid cleavage deoxygenase</i>
CCS/Ccs	<i>Capsanthin capsorubin synthase</i>
CDS	<i>Coding sequence</i>
CI	Kloroform isoamilalkohol
cm	Sentimeter
Co ²⁺	Ion kobalt (II)
cv.	Kultivar
DAF	<i>Day after flowering</i>
dH ₂ O	Akuades
DMAPP	<i>Dimethylallyl diphosphate</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EMS	<i>Ethyl methane sulphonate</i>
g	Gram
G1	Genotip 1
G1/M13	Genotip 1, tanaman mutan EMS 0,01 % ke-13
GGPP	<i>Geranylgeranyl diphosphate</i>
ha	Hektar
HSP	Hari setelah pembungaan
Ip	Isopren
IPP	<i>Isopentenyl phosphate</i>
K ⁺	Ion kalium
kDa	Kilodalton
L.	Linneaus
LYC-B	<i>Lycopene-β-cyclase</i>
m	Molar
mdpl	Meter diatas permukaan laut

MEP

mg/g F.W

Mg²⁺

mM

mm

MSS

nm

°C

PCI

PCR

pH

R

RNA

rpm

RT PCR

sp.

TRV

UV-Vis

v/v

VDE

ZEP

Zn²⁺

2-C-methyl-D-erythriol 4-phosphate

Miligram per gram berat basah

Ion magnesium

Milimolar

Milimeter

Minggu setelah panen

Nanometer

Derajat celcius

Fenol kloroform isoamilalkohol

Polymerase chain reaction

Puissance d'hydrogene (tingkat keasaman)

Gugus rantai samping

Ribonucleic acid

Rotasi per menit

Reverse transcriptase PCR

Spesies

Tobacco rattle virus

Ultraviolet visual

Volume per volume

Violaxanthin de-epoxidase

Zeaxanthin epoxidase

Ion seng (II)



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Buah cabai rawit merupakan komponen utama dalam kebanyakan bumbu masakan di Indonesia karena memiliki cita rasa pedas. Hal ini menyebabkan kebutuhan akan cabai rawit di Indonesia tinggi dan membuat Indonesia menjadi negara dengan produksi cabai terbesar ke-2 di dunia setelah Cina. Persentase luas panen cabai rawit di Indonesia sekitar 9,22 % dan perkiraan rata-rata pertumbuhan konsumsi cabai rawit sekitar 4,04 % per tahun dari 2015-2019 (Nuryati dkk., 2015). Produksi cabai rawit di Indonesia pada tahun 2014 berjumlah 470.651 ton dengan luas panen 82.025 ha di Pulau Jawa, 139.195 ton dengan luas panen 19.685 ha di Pulau Sumatra, 95.060 ton dengan luas panen 10.674 ha di Bali dan Nusa Tenggara, 20.401 ton dengan luas panen 5.314 ha di Pulau Kalimantan, 62.677 ton dengan luas panen 13.385 ha di Sulawesi, dan 12.490 ton dengan luas panen 3.799 ha di Papua dan Maluku (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015).

Cabai rawit tidak hanya mengandung capsaicin yang menyebabkan cita rasa pedas tetapi juga mengandung nutrisi lain. Kandungan nutrisi tersebut yaitu ion mineral (K^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , dan Co^{2+}), vitamin (vitamin C, vitamin A, dan vitamin K), zat fitokimia (zat alkaloid, fenolik, limonoid) sehingga digunakan dalam dunia medis untuk melawan berbagai jenis penyakit seperti kanker, diabetes, dan obesitas. Selain itu, buah cabai rawit juga mengandung senyawa isoprenoid seperti karotenoid (Ikpeme dkk., 2014).

Karotenoid merupakan salah satu zat fitokimia isoprenoid yang tersusun dari delapan isopren dan terakumulasi di bagian kloroplas dan kromoplas buah cabai rawit. Karotenoid disintesis secara *de novo* atau hasil degradasi dari klorofil pada proses pematangan buah cabai rawit. Karotenoid dibagi menjadi dua jenis berdasarkan warna pada buah cabai rawit diantaranya karotenoid pembentuk warna kuning (*violaxanthin*, *antheraxanthin*, dan *zeaxanthin*), jingga (β -*carotene*), dan merah (capsanthin dan capsorubin). Adanya akumulasi karotenoid yang terjadi pada buah cabai rawit menjadikan adanya transisi warna dari hijau menuju kuning dan merah dan menandakan buah matang dan siap dipanen (Garcia & Neftali, 2013).

Komposisi dan kandungan karotenoid pada buah cabai rawit dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah umur panen

(*harvest time*). Terdapat tiga tahap pemanenan buah yang didasarkan pada indikator warna dan umur buah. Tahap S1 adalah buah dengan umur 30 hari setelah pembungaan (HSP) dengan ciri-ciri kandungan karotenoid paling rendah namun kandungan klorofil paling tinggi (0 % merah). Tahap S2 adalah buah berumur 45 HSP yang ditandai dengan peningkatan akumulasi karotenoid dan klorofil yang mengalami degradasi serta rentang warna 25—75 % merah. Tahap S3 adalah buah berumur 60 HSP dengan kandungan karotenoid paling tinggi dan klorofil yang paling rendah serta komposisi warna merah di atas 75 % (Uribe dkk., 2012; Agriculture of Western Australia, 2016). Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa umur buah dari berbagai varietas cabai merah genus *Capsicum* memengaruhi kandungan karotenoid terutama capsanthin, β -carotene, β -cryptoxanthin, dan zeaxanthin (Ha dkk., 2007).

Produksi karotenoid disebabkan adanya beberapa enzim yang berperan dalam biosintesis *de novo* karotenoid seperti ZEP (*zeaxanthin epoxidase*), LYC-B (*lycopene- β -cyclase*), VDE (*violaxanthin de-epoxidase*), CCD (*carotenoid cleavage dioxygenase*), dan CCS (*capsanthin-capsorubin synthase*). Enzim CCS merupakan enzim yang mengkatalis reaksi sintesis kelompok karotenoid berwarna kuning (*antheraxanthin* dan *violaxanthin*) menjadi kelompok karotenoid berwarna merah atau oleoresin (*capsorubin* dan *capsanthin*) (Garcia & Neftali, 2013). Ekspresi protein CCS dipengaruhi oleh regulasi dari gen *Ccs* yang terletak pada lokus Y (Uribe dkk., 2012).

Kandungan karotenoid pada buah cabai rawit juga dipengaruhi oleh genotip atau varietas dari buah cabai rawit. Adanya ekspresi gen *Ccs* yang terdeteksi pada beberapa kultivar buah cabai rawit merah juga diiringi dengan transisi atau perubahan warna buah. Delesi bagian promoter dan *coding region* gen *Ccs* pada cabai rawit kuning (Y) menyebabkan warna buah matang yang ditunjukkan hanya kuning sedangkan cabai rawit putih adalah warna putih (Uribe dkk., 2012; Ha dkk., 2007). Proses segregasi dan co-segregasi pada proses pembentukan gamet juga berpengaruh terhadap tingkat kandungan karotenoid pada buah cabai rawit keturunan selanjutnya (Garcia & Neftali, 2013).

Segregasi adalah proses pemisahan alel (bentuk variasi) dari suatu gen sedangkan co-segregasi adalah kecenderungan suatu gen yang berkaitan (*linked-gene*) untuk mengalami segregasi. Adanya polimorfisme gen *Ccs* ditandai dengan delesi pada bagian *upstream* gen *Ccs* akibat proses segregasi dan co-segregasi. Proses tersebut terjadi pada

populasi *Capsicum annuum* filial kedua (persilangan cv. msGTY-1 jingga X cv.227long merah) sehingga kandungan karotenoid merah (*capsanthin*) tidak terdeteksi (Sasakuma dkk., 2004).

Proses segregasi dan co-segregasi yang bergantung pada tingkat variabilitas genetik juga berpengaruh pada morfologi tanaman cabai *Capsicum annuum* baik fase vegetatif maupun generatif. Tingkat variabilitas genetik akan menentukan kualitas genotip keturunan atau *segregant*-nya dimana variabilitas yang tinggi memiliki keturunan yang baik. Penelitian yang dilakukan oleh Rohini dkk. (2017) membuktikan bahwa persilangan antara *Capsicum annuum* cv K1 dengan PKM 1 yang keduanya memiliki tingkat variabilitas genetik paling tinggi menghasilkan variasi keturunan paling banyak dibandingkan persilangan pada kultivar yang lain.

Beberapa penelitian juga melaporkan adanya keterkaitan faktor morfologi tanaman terhadap kandungan karotenoid. Keterkaitan tersebut yaitu adanya investigasi mengenai kandungan karotenoid yang semakin tinggi seiring dengan pertambahan tinggi tanaman (Lisiewska dkk., 2005). Keterkaitan morfologi yang lain yaitu adanya faktor ukuran daun terhadap peningkatan ekspresi faktor transkripsi gen karotenoid terutama gen *Psy* (Bramley, 2002; Lu & Li, 2008).

Proses pemuliaan cabai rawit menjadi hal yang perlu dilakukan untuk meningkatkan kualitas tanaman baik secara morfologi dan fisiologi. Penelitian mengenai pengaruh mutagen EMS pada tanaman telah dilakukan oleh Arruvitasari (2016) pada cabai rawit G1. Pemberian EMS akan meningkatkan jumlah cabang dibandingkan cabai rawit kontrol. Namun, penelitian tersebut belum menjelaskan mengenai tanaman mutan G1 pada keturunan selanjutnya (filial kedua atau F2) dan mengidentifikasi perbedaan antar tanaman dalam satu perlakuan konsentrasi EMS yang sama. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengidentifikasi kandungan karotenoid pada buah cabai rawit merah (*Capsicum frutescens*) dari tanaman genotip G1 *original type* dan 10 tanaman filial kedua (F2) dari G1/M13 (genotip 1 tanaman ke-13 hasil mutan EMS 0,01 %) pada umur buah yang berbeda (30, 45, dan 60 hari setelah pembungaan) dan konfirmasi gen *Ccs* melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Selain itu, analisis molekuler pada gen *Ccs* secara sekuensing dan karakterisasi morfologis pada cabai rawit G1 *original type* dan mutan perlu dilakukan untuk mengetahui perbedaan sekuen DNA antar cabai rawit.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Apakah terdapat variasi morfologi antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 maupun antar mutan?
2. Apakah terdapat pengaruh umur buah cabai rawit terhadap kandungan karotenoid?
3. Apakah terdapat hubungan antara karakteristik morfologi dengan kandungan karotenoid total?
4. Apakah terdapat perbedaan sekuen gen *Ccs* antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 maupun antar mutan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Mendeskripsikan variasi morfologi antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 maupun antar mutan.
2. Mengetahui pengaruh umur buah cabai rawit terhadap kandungan karotenoid.
3. Mengetahui hubungan antara karakteristik morfologi dengan kandungan karotenoid.
4. Menentukan perbedaan sekuen gen *Ccs* antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 maupun antar mutan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Menentukan umur panen cabai rawit yang paling baik khususnya genotip 1 (G1) *original type* dan mutan G1/M13 berdasarkan kandungan karotenoid terbanyak.
2. Memilih keturunan cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 dengan morfologi, fisiologi, dan molekuler yang baik dan menguntungkan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*)

2.1.1 Morfologi

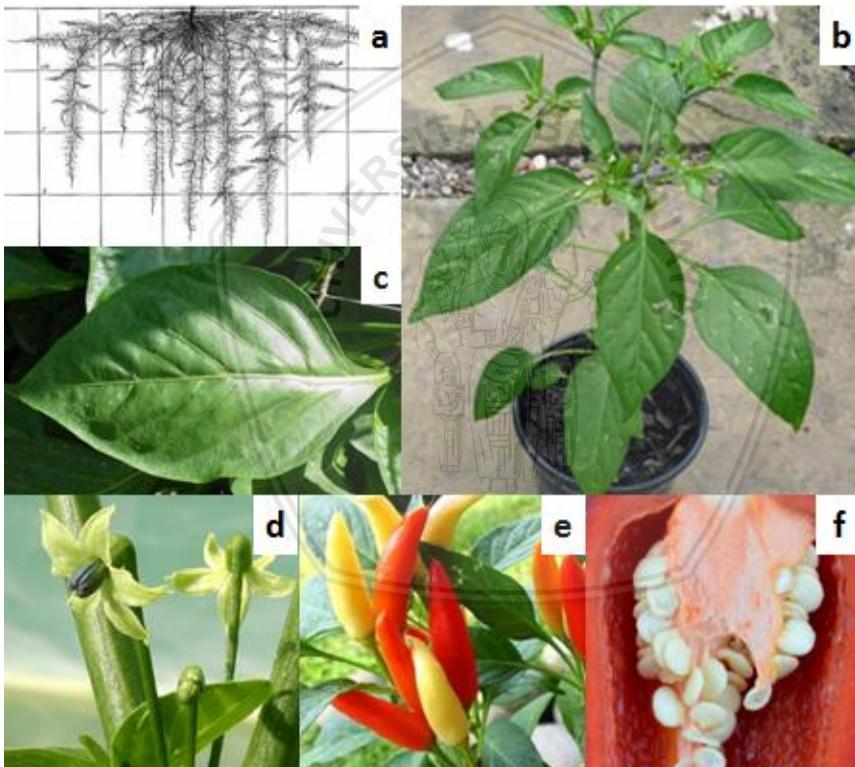
Cabai rawit (*Capsicum frutescens*) merupakan tanaman perdu annual yang tergolong pada famili Solanaceae (terung-terungan) dengan tinggi mencapai 150 cm. Struktur tubuh tanamannya terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Akarnya merupakan akar tunggang dan tipe perakarannya dibagi menjadi stadium bibit dengan akar tunggang yang sangat kokoh dan stadium tanaman kebun yang disebut tipe perakaran *diarchous root* (akar-akar samping berkembang dari akar utama yang rusak) (Gambar 1a). Batangnya berwarna hijau muda dan lunak ketika masih muda dan hijau tua hingga coklat dan berkayu ketika tua. Percabangan pada cabai rawit terbentuk mulai ketinggian antara 30-45 cm. Cabangnya terdiri dari cabang biasa, ranting (*ramulus*), dan cabang wiwilan (tunas liar) (Gambar 1b). Daunnya merupakan daun tunggal berbentuk bulat telur dengan ujung runcing dan tepi daun integer, tulang daun menyirip, dan kedudukan agak mendatar (Gambar 1c). Bunga merupakan bunga tunggal dengan bangun bintang, tumbuh pada ketiak daun dengan posisi menunduk, mahkota berwarna putih berjumlah 5, jumlah stamen 5 dan putik 1, dan penyerbukan dilakukan dengan sendiri atau silang (Gambar 1d) (Cahyono, 2003; Seed for Africa, 2016).

Buah cabai rawit berbentuk oval dengan ujung mengerucut. Ukuran buah bervariasi mulai dari panjang 2—2,5 cm dan lebar 0,5 cm pada buah berukuran kecil serta panjang 3,5 cm dan lebar 1,2 cm pada buah yang berukuran besar (Gambar 1e) (Cahyono, 2003). Buah cabai rawit terdiri dari bagian eksokarp (kulit buah), mesokarp (daging buah), dan endokarp yang mengakumulasi pigmen klorofil dan karoten serta plasenta yang mengandung kelenjar capsaicin dan tempat berkembangnya biji-biji cabai rawit. Biji buah cabai rawit berbentuk bulat pipih, berwarna putih kekuningan, tersusun bergerombol dengan menempel pada empulur plasenta (Gambar 1d) (Rukmana, 2002; Cahyono, 2003).

2.1.2 Distribusi dan Klasifikasi

Cabai rawit pertama kali berasal dari Benua Amerika. Cabai rawit mulai dipergunakan secara luas di benua tersebut oleh penduduk suku Indian antara 5200—3400 SM. Cabai tersebut dipopulerkan oleh

Christopher Colombus pada abad XV ke Benua Eropa sehingga cabai rawit di Eropa memiliki nama yang beragam (Zainudin, 2015). Cabai rawit di Inggris dikenal dengan nama *bird pepper*, *chillies*, dan *goet pepper*; *piment de cayenne* di Perancis; serta *guincarp ferffer* dan *piment enränge* di Jerman. Pertama kali, cabai rawit dibawa oleh Penjajah Belanda dan ditanam di Indonesia. Penanaman cabai rawit di berbagai tempat di Indonesia menyebabkan munculnya nama lokal diantaranya cabe setan, ladeau jarum, ladeau pentek, lacina sipane, lada limu, lada matra, dan sitadu cangit di Sumatra (Cahyono, 2003). Namun, penelitian mengenai nama lokal yang dihubungkan dengan morfologi dan ciri-ciri khusus masih belum ada.



(Cahyono, 2003)

Gambar 1. Morfologi tanaman cabai rawit. (a) akar; (b) batang dan cabang; (c) daun; (d) bunga; (e) buah; (f) plasenta dan biji

Klasifikasi cabai rawit adalah sebagai berikut (Centre of Agriculture and Bioscience International, 2018).

Domain : Eukaryota
Kingdom : Plantae
Filum : Spermatophyta
Subphylum : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo (bangsa) : Solanales
Famili (suku) : Solanaceae
Genus (marga) : *Capsicum*
Spesies (jenis) : *Capsicum frutescens* L.

2.1.3 Habitat dan syarat tumbuh

Tanaman cabai rawit membutuhkan syarat-syarat tumbuh yang sesuai agar proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman menjadi baik. Ketinggian tempat tanam yang sesuai untuk pertumbuhan cabai rawit adalah 0—500 mdpl. Ketinggian yang lebih dari 1000 mdpl masih memiliki daya tumbuh yang baik namun masa panen yang lama. Suhu udara rata-rata tahunan yang sesuai berkisar antara 18—27 °C. Suhu yang terlalu tinggi atau rendah menyebabkan perkecambah dan produktivitas tanaman menjadi buruk. Kelembapan udara yang sesuai adalah 60—80 %. Kelembapan udara yang terlalu rendah akan menyebabkan tanaman menjadi klorosis dan kering sedangkan kelembapan yang terlalu tinggi menyebabkan pembusukan akar dan meningkatkan pertumbuhan bakteri atau cendawan perusak. Curah hujan yang sesuai agar proses pembungaan dan reproduksinya menjadi baik adalah 600—1250 mm per tahun dengan 0—5 bulan basah dan 4—6 bulan kering (D3/E3). Sifat fisik tanah yang sesuai adalah pH 6,0—7,0 dan tekstur tanah lempung berpasir atau liat berpasir dengan struktur remah (Rukmana, 2002; Cahyono, 2003).

2.1.4 Cabai rawit genotip G1 (Kultivar Cakra Hijau)

Cabai rawit genotip G1 (Kultivar Cakra Hijau) memiliki ciri-ciri hipokotil berwarna ungu dan trikoma yang relatif rapat. Daun kotiledon berbentuk *oblong* dengan panjang dan lebar daun rata-rata masing-masing adalah $18,15 \pm 1,29$ mm dan $7,25 \pm 0,44$ mm. Warna batang cabai ketika disemai berwarna ungu (Gambar 2a). Pertumbuhan cabai rawit G1 relatif tegak dengan batang bersudut dan sedikit berbulu. Tinggi tanaman semaian adalah $55,9 \pm 16,06$ cm dengan lebar kanopi rata-rata adalah $51,4 \pm 5,54$ cm. Panjang batang adalah $27,2 \pm 10,81$ cm dengan

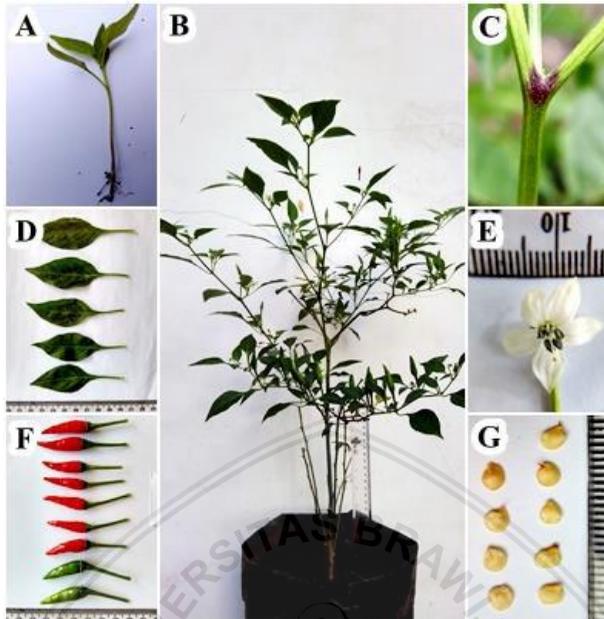
diameter adalah $6,54 \pm 1,70$ cm (Gambar 2b). Nodus batang berwarna ungu dengan susunan daun berhadapan, daun memiliki bangun delta, dan tepi daun *ciliate* (Gambar 2c dan d). Warna nodus ungu pada cabai rawit ini merupakan ciri khas yang dimiliki oleh cabai rawit G1 dibandingkan dengan cabai rawit genotip lainnya (Ratih, 2016).

Cabai rawit G1 mulai berbunga pada 72 hari setelah persemaian. Bunga cabai rawit ini terbentuk pada setiap cabang lateral dengan posisi tegak. Bunga yang terbentuk pada daerah aksilar adalah satu buah dengan posisi tegak. Mahkota bunga berbentuk *rotate*, berwarna putih, dan panjang sekitar $9,00 \pm 0,0$ mm. Stamen memiliki anthera berwarna biru dengan panjang 2 ± 0 mm, tangkai sari berwarna putih dengan panjang 2 ± 0 mm. Posisi kepala putik lebih menonjol daripada kepala sari (Gambar 2e). Buah berbentuk memanjang, berwarna hijau tua ketika mentah, totol-totol coklat pada buah menjelang matang, dan berwarna merah tua ketika matang. Buah memiliki panjang dan lebar masing-masing $30,6 \pm 3,0$ dan $9,2 \pm 0,7$ mm, berat mencapai $1,21 \pm 0,20$ g, dan tebal perikarp adalah $0,90 \pm 0,16$ mm. Bentuk buah pada pangkal adalah runcing, tidak memiliki leher buah, ujung buah *pointed* tanpa *blossom end appendage*. Jumlah lokulus adalah dua dengan panjang plasenta lebih dari $\frac{1}{2}$ dari panjang buah (Gambar 2f). Biji cabai berwarna kekuningan, permukaan halus, berdiameter sekitar $3,23 \pm 0,25$ mm, dan berjumlah 38—52 buah (Gambar 2g) (Ratih, 2016).

Cabai rawit genotip G1 pada penelitian yang dilakukan oleh Arruvitasari (2016) telah dimutasi dengan agen kimia mutagenik EMS (*ethyl methane sulfonate*) dengan jenjang konsentrasi 0, 0,01, 0,02, dan 0,04 %. Hasilnya menunjukkan bahwa menyebabkan penambahan jumlah cabang dibandingkan kontrol. Jumlah cabang yang terbanyak terjadi pada perlakuan EMS 0,02 %. Namun, perlakuan EMS tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman (Gambar 3). Selain itu, pemberian berbagai konsentrasi EMS tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan capsaicin baik pada batang dan daun cabai rawit (Arruvitasari, 2016).

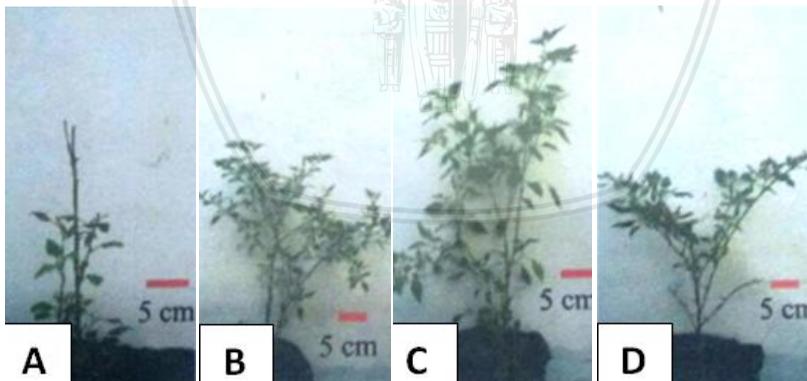
2.1.5 Morfologi dan fisiologi perkembangan buah cabai rawit

Buah cabai rawit pada dasarnya berkembang dari bakal buah (ovarium) setelah penyerbukan terjadi. Bakal buah yang berkembang menjadi buah mengalami tiga fase perkembangan yaitu fase imatur, hijau matang (*mature green*), dan pematangan buah. Fase imatur buah cabai rawit ditandai dengan pembesaran ukuran buah akibat pembelahan



(Ratih, 2016)

Gambar 2. Morfologi tanaman cabai rawit Genotip (G) 1. (a) semaian; (b) habitus; (c) warna nodus; (d) daun; (e) bunga; (f) buah; (g) biji



(Arruvitasari, 2016)

Gambar 3. Tanaman cabai rawit G1 kontrol dan mutan perlakuan EMS. (a) kontrol (0%), (b) 0,01 %, (c) 0,02 %, (d) 0,04 %

dan elongasi sel. Fase kedua yaitu hijau matang dimana aktivitas translokasi fotosintat dan air menyebabkan penebalan dinding buah atau perikarp sehingga buah tampak lebih sukulen dan keras. Fase ini biasanya membutuhkan waktu 30—35 hari setelah pembungaan. Buah pada fase hijau matang ini mulai dapat dipanen dan dikonsumsi. Fase ketiga yaitu pematangan dimana buah cabai rawit yang berwarna hijau, perikarp tebal, dan tekstur keras akan mengalami perubahan warna dan pelunakan perikarp. Buah cabai rawit yang tergolong buah non-klimakterik (buah yang tidak mengalami peningkatan respirasi dan produksi etilen secara autokatalitik) akan mengalami empat tahap pematangan buah yaitu tahap 25, 50, 75, dan 100 % merah (Gambar 4).

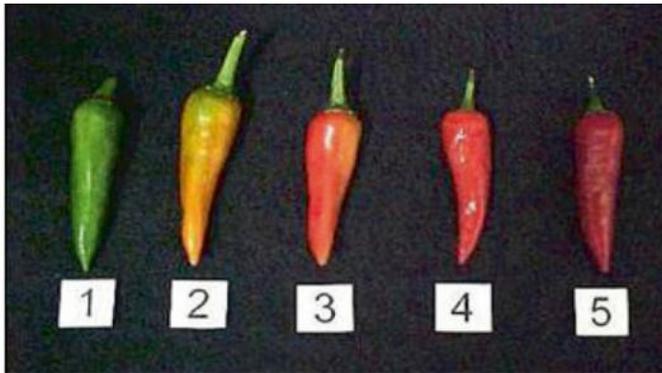
Terdapat tiga tahap pemanenan buah yang didasarkan pada indikator warna dan umur panen buah. Tahap S1 adalah buah dengan umur 30 hari setelah pembungaan (HSP) dengan ciri-ciri kandungan karotenoid sangat rendah dan kontaminan klorofil yang tinggi. Tahap S2 adalah buah berumur 45 HSP dengan komposisi warna 25—50 % merah dimana terjadi akumulasi karotenoid. Tahap S3 adalah buah berumur 60 HSP dengan komposisi warna merah di atas 75 %. Fase ini adalah fase final dimana seluruh klorofil mengalami degradasi dan terkonversi menjadi karotenoid (Uribe dkk., 2012; Agriculture of Western Australia, 2016; Rego dkk., 2016) (Gambar 4).

Fase perubahan buah cabai rawit dari hijau matang menjadi merah membutuhkan waktu 20—25 hari setelah buah hijau matang (Agriculture of Western Australia, 2016; Rego dkk., 2016). Penggunaan merah sebagai warna indikator pada pematangan buah disebabkan salah satu kandungan karotenoid yang mendominasi. Karotenoid tersebut yaitu oleoresin (karotenoid berwarna merah) sebesar 80 % dari karotenoid yang ada dan terdiri atas capsanthin dan capsorubin. Kandungan karotenoid lain seperti β -karoten, β -cryptoxanthin, dan zeaxanthin hanya berkisar 1,5—16 % sedangkan lutein tidak pernah terdeteksi lebih dari 0,3 % (Uribe dkk., 2012).

2.2 Karotenoid

2.2.1 Definisi dan Jenis-Jenis Karotenoid

Karotenoid merupakan kelompok molekul isoprenoid yang terdiri dari 8 unit isopren (ip) dan identik dengan pigmen berwarna kuning hingga merah pada tanaman. Nama karotenoid berasal dari nama ilmiah wortel (*Daucus carota*) yang mengakumulasi pigmen tersebut dengan jumlah banyak di akar tunggang. Karotenoid dapat ditemukan di semua

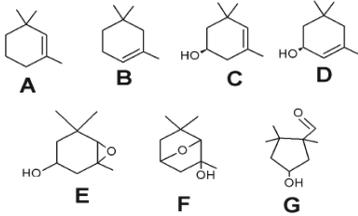
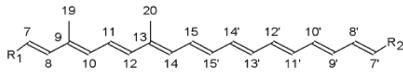


(Rego dkk., 2016)

Gambar 4. Jenis-jenis warna buah cabai rawit berdasarkan tahapan atau proses pematangan. (1) hijau tua (S1); (2) 25 % merah (S2); (3) 50 % merah (S2), (4) 75 % merah (S3); (5) 100 % merah (matang) (S3)

jenis organisme fotosintetik mulai dari sianobakteri hingga tanaman tingkat tinggi seperti *Arabidopsis* sp. dan *Capsicum frutescens* (Sola & Manuel, 2012; Garcia & Neftali, 2013). Organisme pada dasarnya memproduksi karotenoid untuk melindungi sel dan organel dari kerusakan oksidatif dengan cara berinteraksi dengan oksigen tunggal dan radikal peroksida (Garcia & Neftali, 2013).

Karotenoid dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan pigmen atau warna yang tampak. Kelompok tersebut diantaranya kelompok karotenoid berwarna kuning-jingga, dan merah. Kelompok karotenoid berwarna kuning-jingga diantaranya β -karoten, zeaxanthin, violaxanthin, dan β -cryptoxanthin. Kelompok karotenoid berwarna merah diantaranya capsanthin, capsorubin, dan cryptoxanthin. Banyaknya jenis karotenoid didasarkan pada perbedaan kombinasi delapan jenis gugus fungsi yang berbeda baik siklik maupun asiklik pada R_1 dan R_2 . Karotenoid juga dapat dibagi berdasarkan siklik pada gugus samping yaitu asiklik, monosiklik, dan bisiklik. Karotenoid asiklik memiliki gugus rantai samping yang tertutup seperti lycopene. Karotenoid monosiklik memiliki salah satu gugus rantai samping yang tertutup seperti γ -karoten. Karotenoid bisiklik memiliki kedua gugus samping yang tertutup seperti β -karoten (Gambar 5) (Arimboor dkk., 2015).



	R1	R2
Beta carotene	A	A
Alpha carotene	A	B
Capsanthin	C	G
Capsanthin-5,6-epoxide	E	G
Capsanthin-3,6-epoxide	F	G
Capsorubin	G	G
Cryptocapsin	A	G
Alpha crtptoxanthin	C	B
Beta cryptoxanthin	C	A
Lutein	C	D
Antheraxanthin	E	C
violaxanthin	E	E
zeaxanthin	C	C

(Arimboor dkk., 2015)

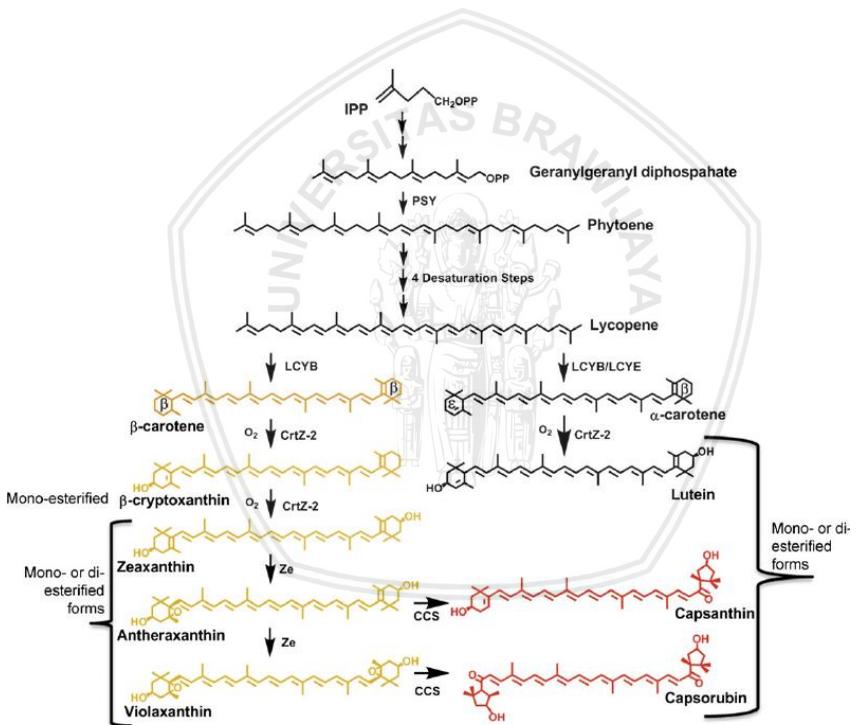
Gambar 5. Jenis-jenis karotenoid berdasarkan gugus fungsi pada kedua ujung rantai isoprenoid.

2.2.2 Biosintesis Karotenoid

Karotenoid pada tumbuhan disintesis dan diakumulasi di bagian kromoplast (plastida yang menghasilkan pigmen selain hijau). Karotenoid disintesis dari senyawa *isopentenyl diphosphate* (IPP) dan *dimethylallyl diphosphate* (DMAPP) dan proses konversi senyawa berada pada jalur biosintesis plastidial 2-C-*methyl-D-erythriol 4-phosphate* (MEP). DMAPP akan terkonversi menjadi *geranylgeranyl diphosphate* (GGPP) dan menjadi prekursor bagi isoprenoid plastida yaitu karotenoid. Kondensasi dari GGPP menyebabkan terbentuknya *phytoene* (C-40). Desaturasi dan isomerasi dari *phytoene* menyebabkan terbentuknya *lycopene* (karotenoid kuning). Siklisasi dari ujung rantai *polyene lycopene* merupakan titik awal dari cabang biosintesis sehingga menghasilkan dua jenis karotenoid yaitu α -*carotene* (satu cincin β dan satu cincin ϵ) atau β -*carotene* (dua cincin β). Cincin *carotene* yang mengalami hidroksilasi menyebabkan perubahan senyawa menjadi xanthophyll seperti lutein dari α -*carotene* dan *zeaxanthin* dari β -*carotene*. *Zeaxanthin* mengalami epoksidasi dua kali sehingga menghasilkan *violaxanthin* dan tahap selanjutnya terkonversi menjadi *neoxanthin* (Gambar 6) (Sola & Manuel, 2012).

Biosintesis karotenoid pada dasarnya membutuhkan beberapa jenis enzim. Enzim-enzim tersebut diantaranya isopentenyl pyrophosphate isomerase (IPI), karotenoid isomerase (CRTISO), lycopene- β -cyclase (LCY-B), *zeaxanthin* epoxidase (ZEP), dan capsanthin-capsorubin synthase (CCS) (Gambar 6) (Garcia & Neftali, 2013).

Enzim kunci dalam konversi karotenoid berwarna kuning-jingga menjadi merah pada buah cabai adalah capsanthin-capsorubin synthase (CCS). Enzim CCS yang berbentuk prekursor memiliki berat molekul 55,6 kDa dan residu sebanyak 498 sedangkan enzim yang fungsional berukuran 50 kDa (Hugueney dkk., 1995). Enzim ini akan mengkonversi antheraxanthin menjadi capsanthin dan violaxanthin menjadi capsorubin. Analisis RT-PCR menunjukkan bahwa varietas cabai merah secara keseluruhan dan sebagian kecil dari cabai kuning memiliki sekuen gen *Ccs*. Namun, tidak adanya aktivitas ekspresi pada cabai kuning menyebabkan karotenoid berwarna kuning tidak terkonversi menjadi karotenoid berwarna merah (oleoresin) (Li dkk., 2013).



(Uribe dkk., 2012)

Gambar 6. Biosintesis karotenoid

2.3 Gen *Ccs* (*Capsanthin-Capsorubin Synthase*)

Gen *Ccs* merupakan gen dominan dari lokus Y yang bertanggungjawab dalam menyandi enzim *Capsanthin-Capsorubin Synthase* (CCS). Pematangan buah yang diperantarai oleh gen *Ccs* adalah mengkonversi komponen karotenoid berwarna kuning atau jingga menjadi karotenoid berwarna merah yaitu oleoresin (*capsanthin* dan *capsorubin*). Adanya delesi pada gen ini berakibat pada pematangan buah hanya berwarna kuning atau jingga. Persilangan antara cabai rawit aksesori cv.msGTY-1 (cabai rawit kuning) dan aksesori cv.227long (cabai rawit merah) menyebabkan pembentukan polimorfisme dalam pola-pola amplifikasi DNA. Pola yang ditunjukkan adalah adanya delesi pada bagian hulu (*upstream*) gen *Ccs*. Delesi ini menyebabkan transkripsi gen tidak terdeteksi pada buah yang matang berdasarkan analisis RT-PCR (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*). Namun, bagian hilir (*downstream*) gen *Ccs* sepanjang 211 bp tetap lestari (*conserve*) (Lang dkk., 2004).

Adanya gen *Ccs* yang bertanggungjawab dalam pembentukan warna merah cabai dibuktikan dengan adanya efek *silencing*. Efek *silencing* gen *Ccs* yang dilaporkan pada buah cabai merah (*Capsicum annum* L.) menyebabkan buah gagal membentuk warna merah pada saat pematangan akhir. Efek *silencing* tersebut disebabkan penyisipan sekuen TRV/*Ccs* pada gen *Ccs* buah cabai rawit melalui perantara *Agrobacterium tumefaciens*. Vektor TRV yang berintegrasi dengan fragmen gen dan bersifat sebagai *silencing* ketika terjadi infeksi (Tian dkk., 2014).

2.4 *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) atau reaksi polimerasi berantai adalah metode replikasi DNA secara *in vitro* dengan reaksi enzimatik. Teknik ini ditemukan dan dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1983 berdasarkan tiga jenis *waterbath* dengan suhu yang berbeda-beda. Prinsip kerja dari PCR adalah DNA target akan direplikasi secara berulang-ulang antara 30-35 siklus hingga sehingga jumlah *copy*-DNA mengalami pertumbuhan secara eksponensial (Maftuchah dkk., 2014).

Polymerase chain reaction terdiri dari tiga tahap yaitu denaturasi, *annealing* (penempelan), dan ekstensi. Tahap denaturasi yaitu pemisahan untai ganda (*double strand*) DNA menjadi untai tunggal (*single strand*). Suhu denaturasi yang hampir mencapai titik didih air (92—95 °C) menyebabkan ikatan hidrogen antar untai terputus dan

menyiapkan DNA sebagai *template* atau cetakan replikasi. Tahap *annealing* atau penempelan yaitu penempelan primer pada DNA cetakan yang komplementer. Suhu penempelan ini biasanya antara 55-60 °C dan bersifat spesifik berdasarkan jenis primer dan komposisi basa nukleotida pada primer. Suhu yang tidak sesuai menyebabkan gagalnya penempelan atau kesalahan penempelan. Tahap ekstensi adalah tahap polimerisasi DNA komplementer sesuai dengan DNA cetakan. Tahap polimerisasi ini dilakukan oleh enzim *Taq* DNA polimerase dengan menambah nukleotida pada ujung 3' primer. Enzim ini dapat bertahan hingga suhu lebih dari 100 °C dan aktivitas optimumnya pada suhu 72 °C (Fatchiyah dkk., 2011; Maftuchah dkk., 2014).

PCR terdiri dari enam komponen yaitu cetakan DNA, primer, *Taq* DNA polimerase, buffer PCR dan konsentrasi Mg^{2+} , nukleotida, dan *thermal cycler*. Cetakan DNA sangat memengaruhi waktu ekstensi atau polimerisasi. Jika cetakan DNA yang berukuran 500 bp maka waktu ekstensinya adalah 30 menit, 500—1000 bp adalah 45 detik, dan lebih dari 1000 bp adalah 1 menit. Komponen selanjutnya adalah primer yang terdiri dari 2 jenis yaitu primer *forward* dan *reverse*. Primer berfungsi dalam mengawali proses polimerisasi DNA. Komponen selanjutnya adalah buffer PCR yang mempertahankan pH pada larutan reaksi. Selain itu, konsentrasi ion Mg^{2+} akan memengaruhi proses penempelan primer, suhu denaturasi, dan katalisator kimiawi pada enzim polimerase. Konsentrasi ion Mg^{2+} yang berlebihan menyebabkan munculnya produk PCR yang tidak diinginkan. Komponen nukleotida yang terdiri dari dATP, dTTP, dGTP, dan dCTP merupakan bahan baku polimerisasi DNA. Komponen yang terakhir adalah *thermal cycler* yang dapat mengatur suhu masing-masing tahap dan siklus secara tepat sehingga hasil amplifikasi menjadi lebih tepat (Fatchiyah dkk., 2011).

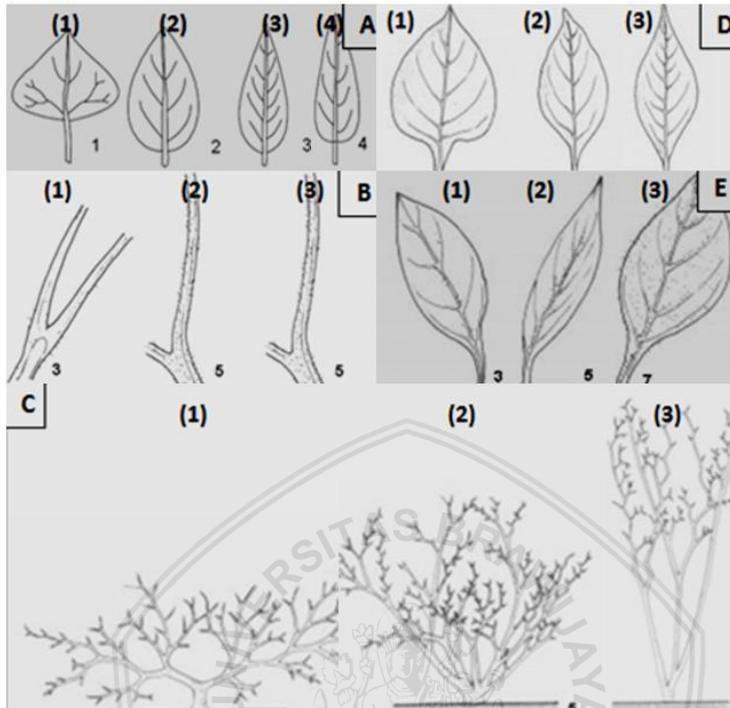
2.5 Analisis Morfologi Cabai

Analisis morfologi merupakan pengamatan karakter atau fenotip pada tanaman dengan metode pencandraan (menggunakan panca indra). Analisis morfologi pada tanaman cabai rawit menjadi penting untuk mengetahui variasi dan variabilitas pada cabai rawit selain data secara molekuler. Analisis morfologi pada cabai rawit terdiri dari 70 deskriptor morfologi secara umum pada genus *Capsicum* (IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).

Deskriptor morfologi dikelompokkan menjadi dua jenis yaitu deskriptor vegetatif dan generatif. Deskriptor vegetatif dibagi menjadi dua bagian yaitu tanaman semai (ukuran tunas apikal 1—2 mm) dan

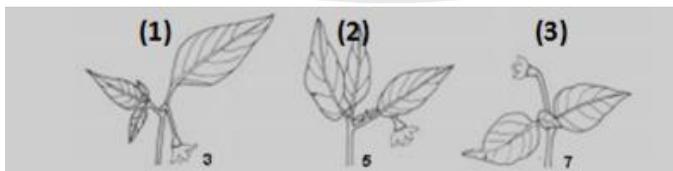
deskriptor tanaman. Pengamatan pada tanaman semaian terdiri dari warna hipokotil (putih, hijau, dan ungu), bulu hipokotil (tersebar, *intermediet*, dan rapat), warna daun kotiledon (hijau muda, biasa, dan gelap; ungu muda, biasa, dan tua; kuning), bentuk kotiledon (delta, *ovate*, lanset, dan delta memanjang), panjang, dan lebar kotiledon (Gambar 7a). Deskriptor tanaman adalah siklus hidup (annual, biennial, dan perennial), warna batang (hijau, hijau dengan strip ungu, ungu, dan lain-lain), pigmen nodus (hijau; ungu muda, biasa, dan tua), bentuk batang (silindris, bersudut, dan pipih), bulu-bulu batang (tersebar, *intermediet*, dan rapat) (Gambar 7b), tinggi tanaman (< 25, 25—45, 46—65, 66—85, > 85 cm), habitus (rebah, *intermediet*, tegak, dan lain-lain) (Gambar 7c), lebar kanopi, panjang batang (pangkal hingga cabang dikotom), diameter batang, tipe percabangan (tersebar, *intermediet*, dan rapat), *tillering* atau anakan (menyebar, *intermediet*, dan rapat), dan kerapatan daun (tersebar, *intermediet*, dan rapat). Selain itu, deskriptor tanaman pada bagian daun meliputi warna (kuning; hijau muda, biasa, dan gelap; ungu muda dan biasa; dan lain-lain), bentuk (delta, *ovate*, dan lanset), tepian daun (rata, bergelombang, dan berbulu) (Gambar 7d), bulu daun (tersebar, *intermediet*, dan rapat) (Gambar 7e), panjang dan lebar daun matang (IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).

Deskriptor generatif dibagi menjadi dua bagian yaitu infloresens dan buah. Deskriptor infloresens dilakukan ketika bunga mekar sempurna pada periode perbungaan awal. Deskriptor infloresens terdiri dari hari pembungaan (transplantasi atau penebaran benih hingga tanaman memiliki sedikitnya satu bunga), jumlah bunga per aksiler (satu, dua, tiga atau lebih, dan bergerombol tetapi masing-masing bunga dalam aksiler sendiri), posisi bunga (menggantung, *intermediet*, dan tegak) (Gambar 8), warna korola (putih; kuning muda, biasa, dan kehijauan; ungu dengan dasar putih, putih dengan dasar ungu, ungu, dan lain-lain), warna bintik korola (putih, kuning, kuning kehijauan, hijau, ungu, dan lain-lain), bentuk korola (bintang, lonceng, dan lain-lain), panjang korola (< 1,5, 1,5—2,5, > 2,5 cm), warna anther (putih, kuning, hijau pucat, biru, ungu, dan lain-lain), panjang anther (minimal 10 bunga secara representatif), warna tangkai sari (putih, kuning, hijau, biru, ungu muda, ungu, dan lain-lain), panjang tangkai sari, posisi strigma (terinsersi, rata, dan terekserisi), sterilitas jantan (0: tidak ada atau 1: ada), pigmentasi kaliks (0: tidak ada atau 1: ada), tepian kaliks (rata, *intermediet*, bergigi, dan lain-lain), dan kontriksi annular kaliks (0: tidak ada atau 1: ada) (IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).



(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995)

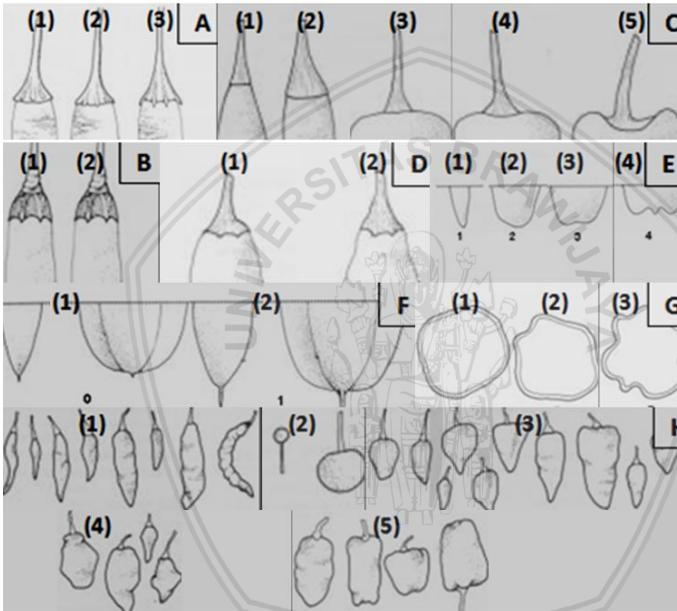
Gambar 7. Deskriptor tanaman cabai secara vegetatif. (a) bentukkotiledon (1: delta, 2: *ovate*, 3: lanset, dan 4: delta memanjang). (b) bulu-bulu batang (1: tersebar, 2: *intermediet*, dan 3: rapat). (c) habitus (1: rebah, 2: *intermediet*, dan 3: tegak). (d) tepian daun (1: rata, 2: bergelombang, dan 3: berbulu). (e) bulu-bulu daun (1: tersebar, 2: *intermediet*, dan 3: rapat).



(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995)

Gambar 8. Posisi bunga pada aksiler (1: menggantung, 2: *intermediet*, 3: tegak).

Deskripsi buah dilakukan pada saat buah matang dan dipanen pertama kali. Deskriptor buah terdiri tepi kaliks (rata, *intermediet*, dan bergerigi) dan kontriksi anular (ada atau tidak), panjang, lebar, dan berat buah, panjang pedisel, ketebalan perikarp, bentuk buah pada perlekatan pedisel (runcing, tumpul, romping, bentuk jantung, dan berlekuk), bentuk ujung buah (runcing, tumpul, *sunken*, *sunken* dan runcing), ada atau tidaknya ujung tambahan buah, jumlah lokulus, tingkat kerutan buah (sedikit berkerut, *intermediet*, berkerut), permukaan buah, dan bentuk buah (memanjang, membulat, segitiga, lonceng, menyerupai kotak) (Gambar 9) (IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).



(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995)

Gambar 9. Deskriptor buah cabai rawit. (a) tepi kaliks (1: rata, 2: *intermediet*, 3: bergigi). (b) kontriksi annular kaliks (1: ada, 2: tidak). (c) bentuk buah pada bagian pedisel (1: runcing, 2: tumpul, 3: romping, 4: bentuk jantung, 5: berlekuk). (d) leher buah (1: ada, 2: tidak). (e) bentuk ujung buah (1: runcing, 2: tumpul, 3: *sunken*, 4: *sunken* dan runcing). (f) tambahan pada ujung buah (1: ada, 2: tidak). (g) bentuk kerutan buah (1: sedikit berkerut, 2: *intermediet*, dan (3) berkerut). (h) bentuk buah (1: memanjang, 2: membulat, 3: segitiga, 4: lonceng, dan 5: menyerupai kotak).

Deskriptor biji meliputi warna biji (kuning, coklat, hitam, dan lain-lain), permukaan biji (halus, kasar, mengkerut), ukuran (kecil, *intermediet*, besar), diameter biji, berat per 1000 biji, dan jumlah biji per buah (< 20, 20—50, > 50) (IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 hingga bulan Mei 2018. Penanaman, perawatan, pengumpulan data morfologi, dan pemanenan buah cabai rawit dilakukan di kebun cabai rawit di Jalan Margobasuki nomor 31, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Analisis fisiologi dan molekuler serta analisis data morfologi, fisiologi, dan molekuler dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Kultur Jaringan Tumbuhan, dan Mikroteknik Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

3.2 Penanaman dan Pemeliharaan

Biji cabai rawit G1 *original type* (1 tanaman) dan mutan (G1/M13) filial II (10 tanaman) disemai pada polybag berdiameter 28 cm dan berisi media campuran kompos dan tanah (1:1, v/v) (Tabel 1). Biji cabai rawit yang telah berkecambah diletakkan pada kondisi cahaya matahari yang cukup hingga daun cabai berjumlah 4—5 helai. Cabai rawit dengan jumlah daun 4—5 helai dipindahtanamkan ke media tanam baru dalam polybag dengan ukuran yang sama dan terdiri dari media campuran kompos dan tanah (1:1, v/v). Cabai rawit ditumbuhkan dalam kondisi cahaya yang cukup, penyiraman setiap hari secara teratur, dan pengontrolan dari gulma dan organisme pengganggu tanaman (OPT).

3.3 Karakterisasi Morfologi Cabai Rawit

Karakterisasi morfologi dilakukan pada cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13. Karakterisasi morfologis meliputi organ vegetatif dan generatif. Karakterisasi morfologi pada organ vegetatif menurut Saraswati dkk. (2012) dilakukan pada tanaman cabai rawit berusia 16 minggu setelah semai (MSS). Pengamatan di bagian organ vegetatif secara kualitatif adalah habitus dan secara kuantitatif yaitu tinggi tanaman,

Tabel 1. Jenis tanaman cabai rawit yang digunakan

No.	tanaman	Keterangan	Jumlah tanaman
1.	G1/0	Genotip 1 kontrol	1
2.	G1/M13	Genotip 1 tanaman mutan ke-13 hasil mutan EMS 0,01 %	10 (U_1 hingga U_{10})

panjang daun, dan lebar daun (Tabel 2). Pengamatan pada organ generatif secara kualitatif adalah bentuk dan warna buah sedangkan secara kuantitatif meliputi panjang, lebar, dan berat buah serta jumlah biji. Karakterisasi morfologi pada organ generatif dilakukan setiap periode pemanenan yang meliputi 30, 45, dan 60 HSP dengan jumlah 3 buah setiap periode (Tabel 3).

3.4 Ekstraksi Karotenoid Total Buah Cabai Rawit

Buah cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 yang digunakan adalah buah dengan umur panen 30, 45, dan 60 HSP (Tabel 4). Prosedur ekstraksi dan kuantifikasi dilakukan berdasarkan Gayathri dkk. (2016). Daging buah atau perikarp cabai rawit dipisahkan dari biji dan ditimbang 0,5 g. Sampel perikarp digerus dengan mortar dan pestel. Sampel ditambah dengan 10 ml aseton 80 % dan dihomogenasi dengan pestel. Sampel disaring pada kertas saring. Filtrat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 480, 645, dan 663 nm (aseton 80 % sebagai blanko). Kuantifikasi konsentrasi karotenoid berdasarkan rumus konsentrasi karotenoid total (Persamaan 1). Pengukuran konsentrasi dilakukan sebanyak 3 ulangan.

$$\text{Karotenoid (mg/g F.W)} = A_{480} + (0,114 \times A_{663}) - (0,638 \times A_{645}) \dots\dots(1)$$

Tabel 2. Deskripsi karakterisasi morfologi pada organ vegetatif

No.	Karakterisasi	Keterangan	Literatur
1.	Habitus (n:1)	Tiga kategori berdasarkan rasio terkecil tinggi dan lebar tanaman: tegak (3:1); inter-mediet (1:1); rebah (1:3).	(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995)
2.	Panjang dan lebar daun (n:9).	Daun dipilih minimal pada posisi 5 helai dari ujung atau pucuk tanaman. Daun yang diukur merupakan daun dewasa yang terbesar pada masing-masing tanaman.	
3.	Tinggi tanaman (n:4)	Tinggi diukur pada bagian pangkal batang hingga bagian tertinggi dari tanaman. Pengamatan dilakukan seminggu sekali.	

Tabel 3. Deskripsi karakterisasi morfologi pada organ generatif

No.	Karakterisasi	Keterangan	Literatur
1.	Bentuk buah (n:1)	Bentuk buah diukur berdasarkan rasio terkecil rerata panjang dan lebar buah, diantaranya: (1) memanjang (4:1), pucuk runcing, pangkal datar; (2) segitiga (3:1), pucuk runcing, membulat di bagian pangkal; (3) bulat (1:1) dan seluruh bagian membulat; (4) lonceng (3:1), pucuk runcing, membulat dibagian tengah.	(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).
2.	Warna buah (n:3).	Warna buah diamati pada masing-masing periode pemanenan. Lima kategori merah: 0, 25, 50, 75, dan 100 %.	(Rego dkk., 2016).
3.	Panjang buah (n:9).	Panjang diukur dari bagian pangkal hingga pucuk buah.	(IPGRI, AVRDC, & CATIE, 1995).
4.	Lebar buah (n:9).	Pengukuran dilakukan pada bagian buah yang paling lebar.	
5.	Berat buah (n:9).	Berat buah segar secara keseluruhan tanpa tangkai buah.	
6.	Jumlah biji (n:9).	-	

Tabel 4. Umur panen cabai rawit

No.	Kode	Keterangan
1.	H ₃₀	30 hari setelah pembungaan (HSP)
2.	H ₄₅	45 hari setelah pembungaan (HSP)
3.	H ₆₀	60 hari setelah pembungaan (HSP)

3.5 Ekstraksi DNA *Whole Genom* Cabai Rawit

DNA *whole genom* cabai rawit diekstrak atau diisolasi dari daun cabai rawit yang masih muda pada tanaman cabai rawit G1 *original type* (1 tanaman) dan mutan G1/M13 (10 tanaman). Metode ekstraksi DNA genom dilakukan berdasarkan metode Fatchiyah dkk. (2011). Daun muda yang telah dibekukan diambil sebanyak 0,1 g, ditambahkan nitrogen cair, dan digerus. Sampel ditambahkan *buffer* ekstrak dan dimasukkan ke tabung *microtube*. Sampel divorteks, diinkubasi (65 °C, 30 menit), dan disentrifugasi (13.000 rpm, 4 °C, 10 menit). Supernatan dipindah ke tabung *microtube* baru, ditambah *buffer* PCI (1 volume), divorteks, dan disentrifugasi (13.000 rpm, 4 °C, 5 menit). Supernatan dipindah ke tabung *microtube* baru, ditambah *buffer* CI (1 volume), divorteks, dan disentrifugasi (13.000 rpm, 4 °C, 5 menit). Supernatan dipindah ke tabung *microtube* baru dan ditambah ammonium asetat 7,5 M (0,1 volume) serta etanol absolut 500 µl. Sampel di-*tapping* sejenak hingga terbentuk benang-benang DNA atau larutan menjadi keruh. Sampel diinkubasi (-20 °C, 1 jam), disentrifugasi (13.000 rpm, 4 °C, 15 menit), dan supernatan dibuang. Pellet dicuci dengan 500 µl etanol 70 %, dihomogenkan, dan disentrifugasi (13.000 rpm, 4 °C, 15 menit). Pellet dikeringanginkan dalam inkubator pada suhu 55 °C selama 5—7 menit. Pellet yang telah kering diresuspensi dengan 20—40 µl *buffer* TE pH 7,6 dan disimpan pada suhu -20°C. DNA hasil isolasi diuji secara kuantitatif dan kualitatif.

3.6 Uji Kuantitatif DNA

Uji secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 230, 260, dan 280 nm dengan faktor pengenceran (FP) 200 (5 µl sampel DNA dilarutkan dalam 1000 µl ddH₂O steril). Kemurnian DNA dari RNA dan protein ditentukan dengan rasio A_{260}/A_{280} sedangkan kemurnian DNA dari polisakarida ditentukan dengan rasio A_{260}/A_{230} . Isolat DNA dinyatakan murni dari protein apabila nilai rasio A_{260}/A_{280} lebih dari 1,8 sedangkan dari RNA kurang dari 2,0. Isolat juga dinyatakan murni dari polisakarida apabila nilai rasio A_{260}/A_{230} sebesar 0,5. Konsentrasi DNA sampel ditentukan dengan persamaan 2 sebagai berikut

$$[DNA] = A_{260} \times FP \times 50 \mu g/ml \dots \dots \dots (2)$$

3.7 Uji Kualitatif DNA

Uji secara kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 1 %. Sampel atau isolat DNA dicampur dengan *loading dye* (1:1), masing-masing 2 μ l. Isolat DNA dimasukkan ke dalam sumuran bersama dengan *marker* GeneOn 1 kb dan di-*running* pada 80 V, 30 menit. Hasil elektroforesis didokumentasi pada *gel doc* UV-Vis Transiluminator.

3.8 Amplifikasi Gen *Ccs* dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) DNA dilakukan untuk mengamplifikasi sekuen DNA pada gen *Ccs*. Primer yang didesain digunakan untuk mengamplifikasi sekuen dari gen *Ccs* sepanjang 787 bp berdasarkan *Capsicum annuum* cv. *Landrace Jarales CCS gene*, dengan kode akses *KM037706.1* pada *genebank* NCBI. Primer terdiri dari forward (5'-TGG ACC GGG CTG AAT TCG AC-3') dan reverse: 5'-GAA TCC GCG GAA GTG GTC CT-3'). Larutan reaksi PCR terdiri dari 17 μ l akuades steril, 20 μ l PCR mix, 1 μ l primer forward (10 pmol), 1 μ l primer reverse (10 pmol), dan 1 μ l isolat DNA. Amplifikasi DNA diawali dengan pra denaturasi pada suhu 94 °C selama 5 menit. Amplifikasi DNA dilakukan dengan 35 siklus denaturasi (94 °C, 45 detik), annealing (54,8 °C, 45 detik), dan ekstensi (72 °C, 45 detik). Final ekstensi dilakukan pada suhu 72 °C selama 5 menit. Produk PCR dielektroforesis pada gel agarosa 1 % dengan tegangan 60 V selama 45 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan *gel doc* UV-Vis transiluminator. Produk PCR atau ampikon juga dikirim ke Lembaga Biomedis Papua, Jayapura untuk proses sekuensing DNA.

3.9 Analisis Profiling Genetik

Data hasil sekuensing diamati dengan *software* Sequence Scanner v.01 untuk mengetahui kualitas peak yang dihasilkan. Analisis penyejajaran (*alignment*) dilakukan antar mutan dan kontrol menggunakan analisis *ClustalW Multiple Alignment* yang terdapat pada *software* *BioEdit*. Hasil *multiple alignment* dibandingkan dengan *Capsicum annuum* cv. *Landrace Jarales CCS gene*, dengan kode akses *KM037706.1* pada *genebank* NCBI.

3.10 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian untuk pengukuran kandungan karotenoid merupakan *true experimental* menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Masing-masing ulangan terdiri dari tiga jenis waktu pemanenan buah cabai rawit yang berbeda. Waktu pemanenan diantaranya 30, 45, dan 60 HSP. Rancangan penelitian untuk karakterisasi morfologis dan molekuler pada cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13 adalah metode deskriptif. Rancangan penelitian untuk mengetahui hubungan antara kandungan karotenoid dan karakter morfologis pada cabai rawit menggunakan metode korelasi. Metode korelasi meliputi interpretasi deskriptif maupun inferensial (signifikansi hubungan).

3.11 Analisis Data

Analisis data morfologis dilakukan dengan uji statistik Mann-Whitney pada taraf 5 % menggunakan *software Excell 2007* untuk mengetahui perbedaan antara kontrol dan mutan maupun antar mutan. Analisis data fisiologis dilakukan dengan analisis sidik ragam satu arah atau *analysis of variance (ANOVA) one-way*. Analisis data lanjutan dilakukan dengan uji beda nyata terkecil atau *least significant difference (LSD)* pada taraf 5 % menggunakan *software Excell 2007* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pemanenan terhadap kandungan karotenoid buah cabai rawit. Perbedaan rata-rata antar populasi sampel pada data fisiologis berdasarkan masing-masing umur buah diuji dengan uji *t-independent* pada taraf 5 % sedangkan uji *t-dependent* 5 % digunakan untuk menganalisis perbedaan antar populasi sampel berdasarkan masing-masing tanaman. Analisis hubungan antara fisiologi dan morfologi serta morfologi dan morfologi dilakukan dengan uji korelasi *Spearman* pada taraf 5 % menggunakan *software PAST3*.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Morfologi Cabai Rawit G1 *Original Type* dan Mutan M13

4.1.1 Karakteristik vegetatif

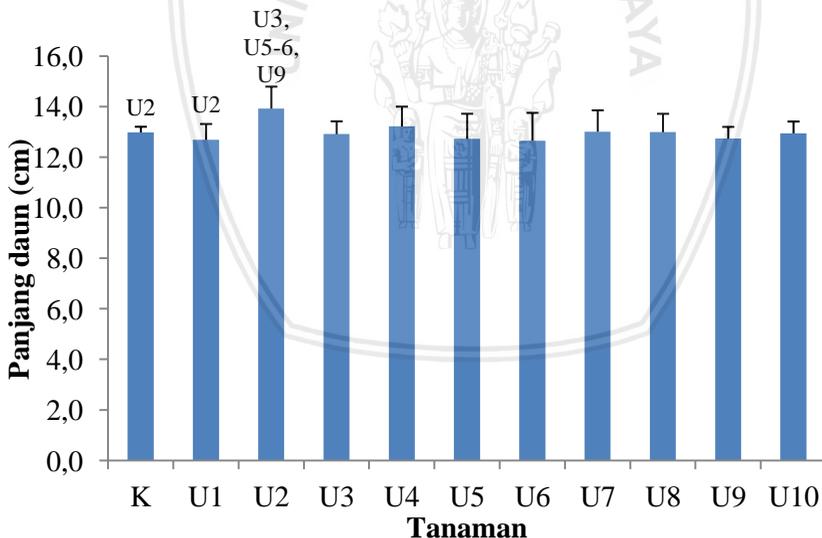
Cabai rawit G1 atau dalam nama kultivarnya atau varietasnya disebut sebagai cabai rawit Cakra Hijau memiliki kecenderungan penampilan yang berbeda-beda baik pada kontrol (K) atau *original type* maupun pada beberapa mutan G1/M13 filial kedua. Tanaman kontrol atau *original type* secara jelas menunjukkan penampilan daun yang kurang lebat dibandingkan tanaman mutan G1/M13. Tanaman U1, U3, dan U5 menunjukkan penampilan atau habitus yang tegak sedangkan U4, U6, U8, U9, dan U10 menunjukkan habitus intermediet (Gambar 10).



Gambar 10. Karakteristik tanaman cabai rawit G1. (a) G1 kontrol atau *original type*; mutan G1/M13 yang terdiri dari (b) U1; (c) U2; (d) U3; (e) U4; (f) U5; (g) U6; (h) U7; (i) U8; (j) U9; (k) U10.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antar tanaman memiliki ukuran daun yang berbeda-beda baik pada kontrol/*original type* maupun mutan G1/M13 (U1—10). Daun dewasa pada semua tanaman cabai rawit memiliki panjang lebih dari 12 cm (12,66—13,92 cm). Panjang daun antar tanaman sebagian besar menunjukkan ukuran yang tidak berbeda secara signifikan berdasarkan uji beda rata-rata Mann-Whitney U-test pada taraf 5 % (U test < U kritis: 17). Namun, daun pada tanaman U2 menunjukkan panjang yang berbeda secara signifikan dibandingkan kontrol (K)/*original type* dan beberapa tanaman mutan G1/M13 (U1, U3, U5, U6, dan U9). Tanaman U2 sebagian besar memiliki ukuran daun yang terpendek dengan panjang 13,9 cm sedangkan ukuran daun terpendek dimiliki oleh U1, U5, U6, dan U9 dengan panjang 12,7 cm (Gambar 11).

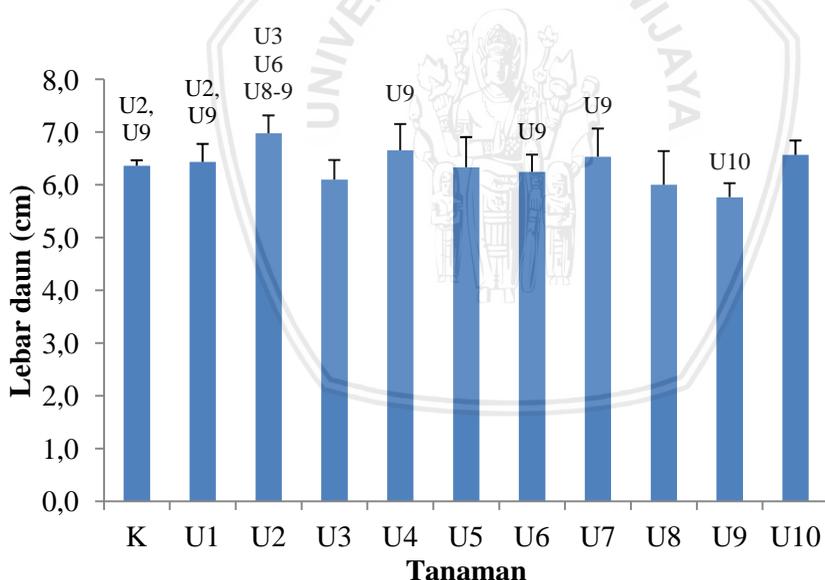
Lebar daun cabai rawit secara keseluruhan berkisar antara 5,8—7,0 cm. Lebar daun antar tanaman sebagian besar berbeda secara signifikan terhadap U2 dan U9 berdasarkan uji beda rata-rata Mann-Whitney U-test pada taraf 5 % (U test < U kritis: 17). Lebar daun U2 berbeda secara signifikan terhadap kontrol/K, U1, U3, U6, U8, dan U9 sedangkan lebar



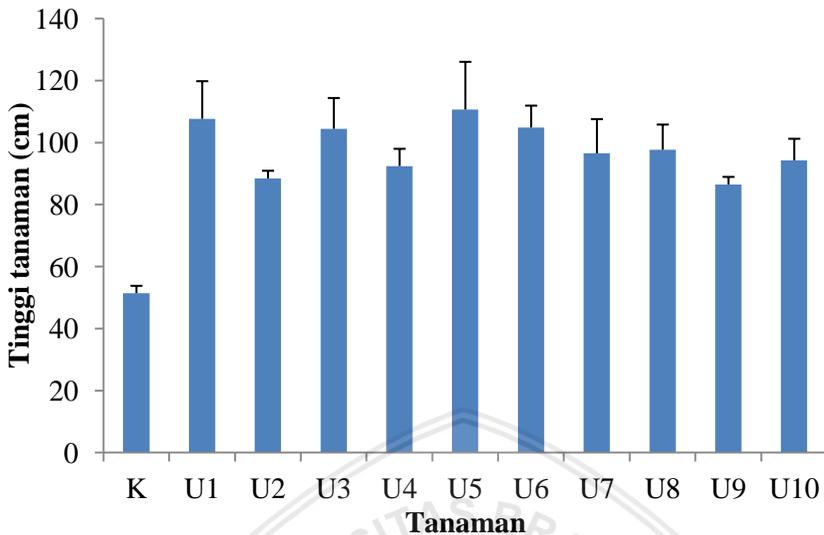
Gambar 11. Panjang daun cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10). Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.

daun U9 berbeda secara signifikan terhadap K, U1, U2, U4, U6, U7, dan U10. Hasil konsisten ditunjukkan pada tanaman U1, U5, dan U6 yang memiliki lebar daun relatif sama atau tidak berbeda signifikan berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 % ($U \text{ test} > U \text{ kritis}$: 17) dengan ukuran masing-masing 6,4, 6,3, dan 6,2 cm (Gambar 12). Hal ini mengindikasikan bahwa U2 sebagian besar memiliki ukuran daun yang paling besar dibandingkan tanaman lain baik panjang maupun lebarnya.

Cabai rawit mutan G1/M13 secara keseluruhan memiliki ukuran yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (K) atau *original type*. Tinggi tanaman cabai rawit G1/M13 berkisar antara 86,5—110,7 cm. Tanaman G1/M13 paling tinggi berada pada U5 sebesar 110,7 cm. Namun, tinggi tanaman tersebut cenderung tidak berbeda terhadap U1, U3, dan U6 yang memiliki tinggi lebih dari 100 cm (masing-masing 107,7, 104,4, dan 104,9 cm) (Gambar 13). Hal ini mengindikasikan adanya kecenderungan persamaan karakteristik morfologi secara kuantitatif antara U1, U3, U5, dan U6 baik dari ukuran panjang dan lebar daun maupun tinggi tanaman.



Gambar 12. Lebar daun cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10). Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.



Gambar 13. Tinggi tanaman cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10).

Penanaman cabai rawit yang dilakukan pada bulan Juli 2017 hingga Januari 2018 melewati musim hujan yang intens pada bulan November 2017 hingga Januari 2018. Curah hujan di wilayah Malang tergolong cukup tinggi dengan nilai 400—500 mm di bulan November 2017, 200—300 mm di bulan Desember 2017, 400—500 mm di bulan Januari 2018) (Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika, 2017; 2018a; 2018b). Curah hujan yang tinggi merupakan salah satu bentuk stres air berlebih terhadap beberapa jenis tanaman pertanian. Cabai (*Capsicum annum*) menurut Ayoub (1986) merupakan tanaman yang sangat sensitif terhadap stres air. Cabai tidak dapat hidup atau tumbuh dengan bagus apabila tingkat kelembapan tanahnya terlalu tinggi atau air di dalam tanah yang berlebihan. Tingkat kelembapan yang dapat ditoleransi berkisar antara 25—75 %.

Penelitian yang dilakukan oleh Ashrafuzzaman dkk. (2011) mengenai pengaruh intensitas air hujan terhadap performa tanaman dan hasil panen juga membuktikan bahwa cabai yang terpapar oleh curah hujan yang tinggi dan media tanam yang tidak dilindungi oleh plastik menyebabkan performa dan produktivitas cabai menurun. Namun, secara umum, tanaman-tanaman cabai rawit mutan G1/M13 yang menunjukkan performa yang lebih bagus dibandingkan G1 *original type* menandakan bahwa mutasi pada tanaman bersifat menguntungkan

repository.ub.ac.id

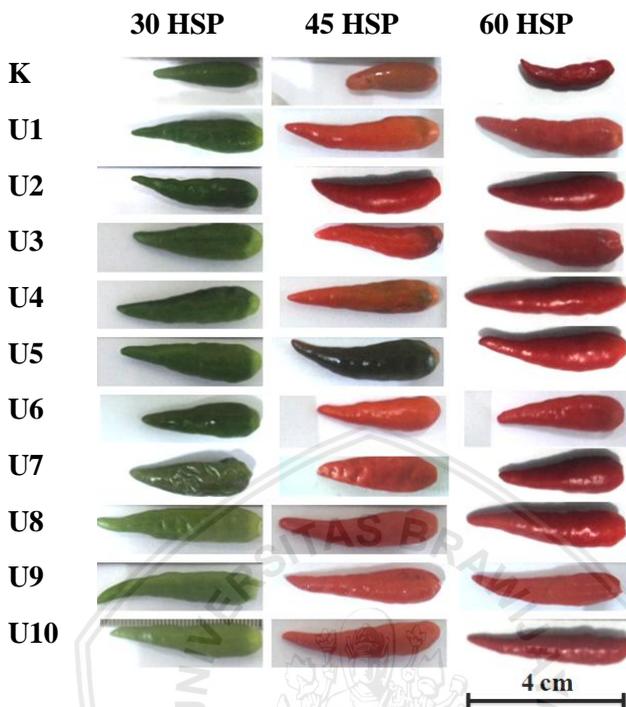
dalam menghasilkan sifat agronomis yang positif. Sifat agronomis kuantitatif yang lebih baik dibandingkan kontrol menunjukkan adanya daya adaptasi yang lebih baik terhadap lingkungan maupun cuaca. Sebaliknya, tanaman yang memiliki ukuran yang lebih kecil mengindikasikan bahwa tanaman kurang mampu menghadapi stres yang diakibatkan oleh faktor lingkungan.

Ethyl methane sulfonate (EMS) merupakan senyawa mutagenik yang menyebabkan mutasi titik secara acak pada materi genetik. Efek mutagenik EMS pada cabai dilaporkan satu basa per 50 kb DNA (Pathriana, 2012; Just dkk., 2013). Adanya mutasi pada DNA secara acak tersebut menyebabkan adanya perubahan sifat baik menguntungkan maupun yang merugikan apabila terjadi interaksi dengan lingkungan. Penelitian yang dilakukan oleh Arisha dkk. (2015) mengenai pengaruh EMS terhadap cabai (*Capsicum annuum*) menunjukkan adanya tiga fenotip yang ditunjukkan pada tiga populasi tanaman mutan. Tiga fenotip tersebut diantaranya berdaun hijau kekuningan, berukuran kerdil, dan daun yang lebih tebal dan hijau dibandingkan dengan *original type*.

4.1.2 Karakteristik generatif (Buah)

Buah cabai rawit yang dipanen memiliki bentuk yang bervariasi dan menunjukkan tampilan buah yang cenderung mirip antara umur buah 30, 45, dan 60 hari setelah pembungaan (HSP). Buah cabai rawit kontrol (K)/*original type*, U1, U2, U3, U5, U6, dan U7 memiliki bentuk menyerupai lonceng dengan kontrol yang berukuran lebih kecil dibandingkan G1/M13. Buah cabai rawit U4, U8, U9, dan U10 memiliki bentuk memanjang. Namun, buah cabai rawit U8, U9, dan U10 memiliki bentuk buah yang lebih memanjang dibandingkan U4 (Gambar 14).

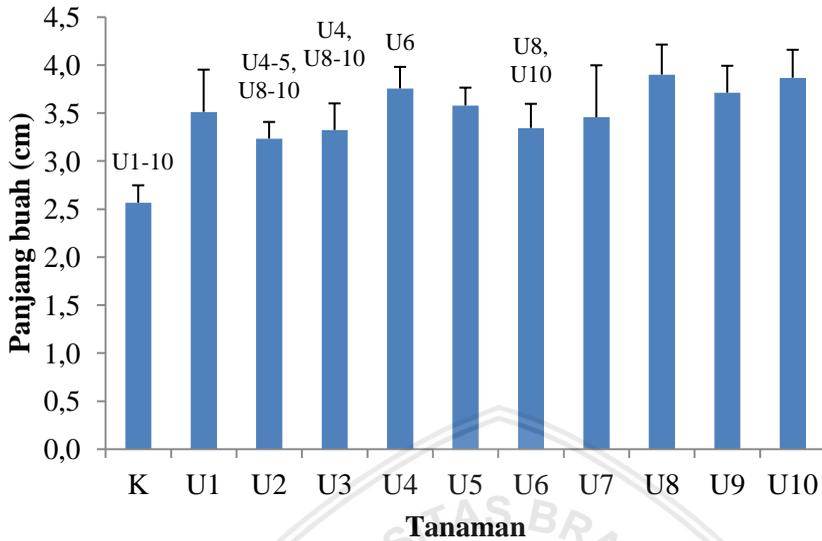
Buah cabai rawit yang dipanen pada umur yang berbeda-beda (30, 45, dan 60 HSP) menunjukkan adanya transformasi warna dari hijau menuju merah. Buah yang dipanen pada umur 30 HSP secara keseluruhan menunjukkan warna hijau baik pada kontrol maupun mutan G1/M13. Buah yang dipanen pada umur 45 HSP menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menuju jingga (75 % merah) pada hampir semua buah, kecuali pada buah cabai rawit U5 yang menunjukkan warna hijau-coklat gelap. Buah yang dipanen pada umur 60 HSP secara keseluruhan telah memiliki warna merah 100 % baik pada kontrol maupun mutan G1/M13 (Gambar 14).



Gambar 14. Tampilan buah cabai rawit pada semua tanaman dengan waktu pemanenan yang berbeda.

Cabai rawit yang dipanen memiliki ukuran buah yang bervariasi secara kuantitas. Buah pada cabai rawit mutan G1/M13 keseluruhan berukuran lebih panjang secara signifikan berdasarkan uji Mann-Whitney pada taraf 5 % ($U \text{ test} < U \text{ kritis}: 17$) daripada kontrol (K)/*original type*. Cabai rawit G1/M13 yang memiliki panjang buah yang pendek adalah tanaman U2 yaitu 3,23 cm. Panjang buah pada U2 secara statistik menunjukkan nilai yang tidak berbeda secara signifikan dibandingkan U3, U6, dan U7 ($U \text{ test} > U \text{ kritis}: 17$) dengan panjang buah berkisar 3,32—3,46 cm atau dibawah 3,5 cm. Akan tetapi, nilai tersebut berbeda secara signifikan ($U \text{ test} < U \text{ kritis}: 17$) dibandingkan U4, U5, U8, U9, dan U10 yang memiliki panjang buah berkisar 3,58—3,90 cm atau di atas 3,5 cm (Gambar 15).

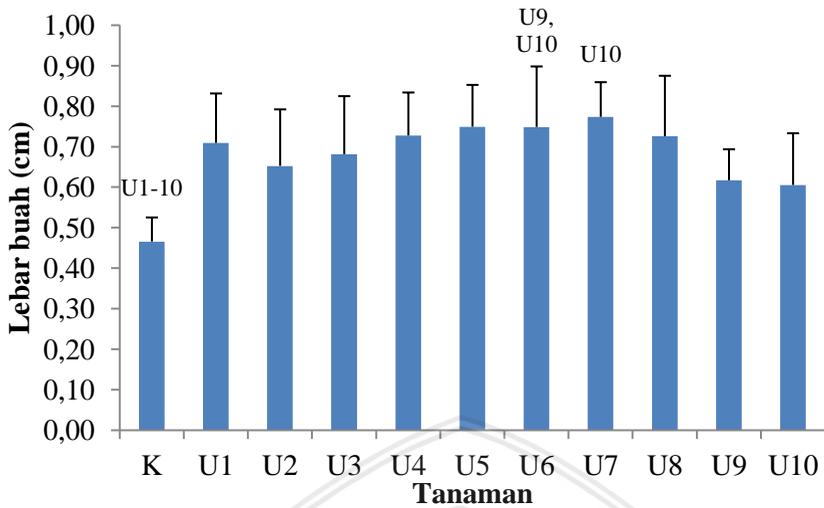
Buah cabai rawit G1/M13 secara keseluruhan juga memiliki lebar buah yang secara signifikan lebih besar dibandingkan kontrol berdasarkan uji Mann-Whitney pada taraf 5 % ($U \text{ test} < U \text{ kritis}: 17$). Buah cabai rawit yang dihasilkan dari G1/M13 memiliki lebar lebih dari



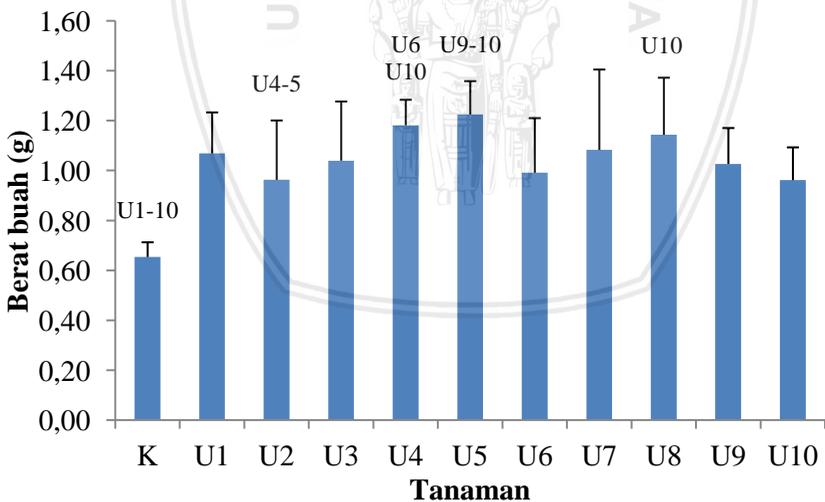
Gambar 15. Panjang buah cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10). Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.

0,60 cm dengan lebar terkecil pada buah U10 dengan nilai 0,61 cm sedangkan lebar terbesar pada U7 yaitu 0,77 cm. Nilai antara U10 dan U7 tersebut berbeda signifikan (U value < U kritis: 17) sedangkan terhadap G1/M13 yang lain saling tidak berbeda signifikan (U test > U test: 17) (Gambar 16).

Buah cabai rawit yang dipanen memiliki berat yang bervariasi baik kontrol (K)/*original type* maupun G1/M13 mutan (U1—U10). Buah cabai rawit kontrol secara signifikan memiliki berat paling rendah yaitu 0,65 g dibandingkan buah dari G1/M13 (U test < U kritis: 17). Terdapat buah cabai rawit yang memiliki berat lebih dari 1,00 g yaitu U1, U3, U4, U5, U7, U8, dan U9 dengan berat masing-masing 1,07, 1,04, 1,18, 1,23, 1,08, 1,14, dan 1,03 g. Namun, buah U9 memiliki berat yang berbeda signifikan dibandingkan buah lain yang memiliki bobot lebih dari 1,00 gram. Buah cabai rawit G1/M13 yang memiliki berat kurang dari 1,00 g adalah U2, U6, dan U10 dengan berat masing-masing 0,96, 0,99, dan 0,96 g. Berat tersebut berbeda secara signifikan terhadap U4 dan U5 yang memiliki kategori berat buah lebih dari 1,00 g (Gambar 17).



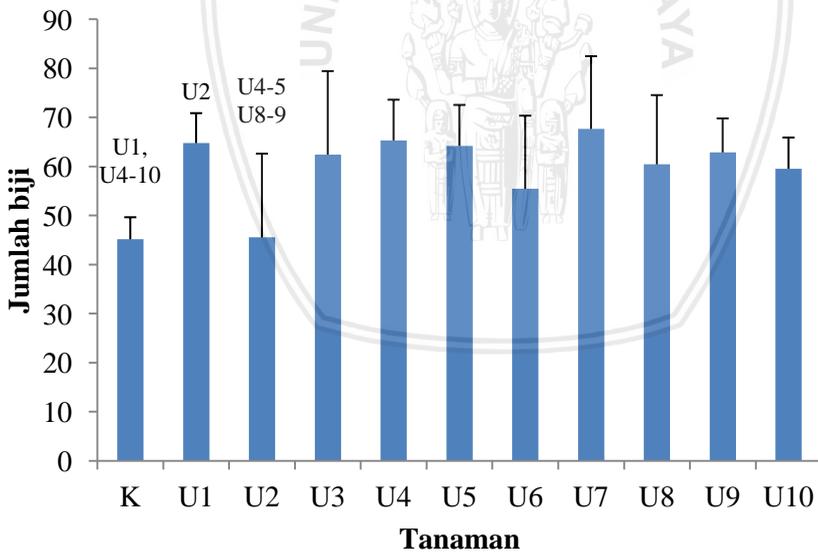
Gambar 16. Lebar buah cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10). Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.



Gambar 17. Berat buah cabai rawit G1 *original type* (K) dan mutan G1/M13 (U1—U10). Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.

Biji yang dihasilkan dari buah cabai rawit memiliki jumlah yang bervariasi. Hampir sebagian cabai rawit G1/M13 secara signifikan ($U \text{ test} < U \text{ value: } 17$) memiliki jumlah biji lebih banyak dibandingkan kontrol (K)/*original type*, kecuali pada U2 dan U3. Biji yang dihasilkan tersebut memiliki jumlah berkisar antara 55—68 buah. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada buah U1, U3, U4, U5, U7, U8, dan U9 yang memiliki berat buah lebih dari 1,00 g dimana jumlah biji yang dihasilkan tergolong lebih dari 60 buah. Namun, sebagian besar buah yang memiliki berat kurang dari 1,00 g memiliki jumlah biji kurang dari 60 buah (Gambar 18). Hal ini terdapat indikasi bahwa semakin banyak biji yang dihasilkan maka berat buah semakin meningkat. Namun, hal ini memerlukan adanya uji korelasi untuk membuktikan adanya hubungan secara statistik antar karakter morfologis tersebut.

Variasi tampilan buah yang terjadi antar tanaman menunjukkan bahwa terdapat proses segregasi yang terjadi pada generasi pertama cabai rawit mutan G1/M13. Segregasi tersebut menghasilkan dua jenis populasi buah yaitu berbentuk memanjang dan lonceng. Buah yang memanjang memiliki populasi yang lebih banyak dibandingkan lonceng.



Gambar 18. Jumlah biji per buah cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13. Grafik yang diikuti oleh label (Un; n: 1—10) menunjukkan berbeda nyata terhadap populasi sampel yang lain berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 %.

memanjang bersifat dominan terhadap genotip yang membawa sifat bentuk lonceng. Menurut Thomas dkk. (2017), Bagian-bagian tanaman seperti biji, organ vegetatif, dan jaringan yang dikultur akan mengalami mutasi apabila diberikan perlakuan berupa zat mutagen. Jika tanaman atau sel tersebut diasumsikan sebagai homozigot yang diberikan perlakuan dengan zat mutagen, maka beberapa gen akan mengalami mutasi menjadi alel baru, dan kebanyakan sel akan mengalami heterozigot. Generasi M1 mengalami segregasi berdasarkan hukum Mendelian dan menghasilkan keturunan M2 yang bersifat homozigot.

Penelitian mengenai pengaruh zat mutagen terhadap perubahan alel pernah dilakukan oleh Feiz dkk. (2008) terhadap tanaman gandum (*Triticum aestivum*). Penelitian tersebut berfokus pada gen-gen yang terletak pada lokus *Ha* (*hardness*) yang mengontrol tekstur bulir gandum. Adanya pemberian EMS sebagai zat mutagen menyebabkan terbentuknya alel baru yang teridentifikasi pada generasi M2, yaitu alel yang membawa sifat tekstur keras dan lembut.

Perubahan warna yang terjadi antar umur buah cabai rawit menandakan adanya proses biosintesis dan akumulasi karotenoid pada bagian perikarp atau daging buah. Terdapat dua fase utama pada perubahan warna buah cabai rawit. Fase pertama yaitu buah mengalami akumulasi klorofil hingga mencapai puncaknya pada umur 30—35 HSP. Fase kedua yaitu buah mengalami biosintesis karotenoid secara *de novo* yang diikuti dengan terdegradasinya klorofil. Fase yang membutuhkan waktu 50—60 HSP ini diawali dengan akumulasi β -karoten yang ditandai dengan warna jingga. Senyawa β -karoten akan mengalami konversi dengan bantuan beberapa enzim sehingga terjadi akumulasi oleoresin (capsanthin dan capsorubin) yang memberikan warna merah pada cabai rawit (Uribe dkk., 2012; Agriculture of Western Australia, 2016; Rego dkk., 2016).

Buah cabai rawit U5 pada umur buah 45 HSP menunjukkan warna yang unik dibandingkan buah yang lain dimana buahnya berwarna coklat kemerahan sedangkan lainnya berwarna jingga. Terdapat dua transisi warna secara utama pada cabai rawit, yaitu buah hijau yang berisi zat klorofil dan merah yang didominasi kuat oleh karotenoid. Adanya warna coklat gelap pada buah menunjukkan adanya proses biosintesis secara intensif tetapi kandungan klorofil yang mulai terdegradasi (Kevresan dkk., 2009). Selain itu, warna coklat pada buah cabai rawit juga mengindikasikan adanya akumulasi β -karoten dalam jumlah banyak. Kandungan β -karoten pada fase warna tersebut berkisar antara 12—166 $\mu\text{g/g}$ F.W dan karotenoid total sekitar 900 $\mu\text{g/g}$ F.W

(Wall, Cynthia, & Paul, 2001). Hal ini sesuai dengan hasil pengukuran karotenoid total dimana buah U5 pada umur 45 HSP mencapai 0,82 mg/g F.W.

4.2 Korelasi antar Karakter Morfologi

Hasil penelitian menunjukkan hubungan antar karakter morfologi sebagian besar bersifat tidak signifikan berdasarkan uji korelasi Spearman ($p > 0,05$). Namun, terdapat beberapa karakter morfologi yang menunjukkan hubungan atau korelasi yang signifikan ($p < 0,05$). Antar karakter morfologi tersebut adalah berat buah (BB) terhadap lebar buah (LB), berat buah (BB) terhadap jumlah biji (JB), lebar buah (LB) terhadap tinggi tanaman (T). Tingkat korelasi LB terhadap BB dan LB terhadap T bersifat kuat ($0,5 < R_s < 0,75$) sedangkan BB terhadap JB adalah sangat kuat ($0,75 < R_s < 0,99$) (Tabel 3).

Tabel 5. Korelasi antar karakter morfologi pada cabai rawit

		PB	LB	BB	JB	PD	LD
	R_s	0,160					
LB	P	0,639					
	R_s	0,519	0,732*				
BB	P	0,102	0,010				
	R_s	0,409	0,584	0,793*			
JB	P	0,212	0,059	0,004			
	R_s	0,291	0,155	0,255	0,273		
PD	P	0,385	0,649	0,449	0,417		
	R_s	-0,160	-0,172	-0,204	-0,073	0,342	
LD	P	0,639	0,613	0,548	0,831	0,303	
	R_s	0,155	0,653*	0,556	0,355	-0,245	0,027
T	P	0,650	0,029	0,076	0,285	0,467	0,936

Keterangan: PB: panjang buah; LB: lebar buah; BB: berat buah; JB: jumlah biji; PD: panjang daun; LD: lebar daun; R_s: Tingkat korelasi; p: nilai probabilitas (0—1). *Hubungan antar karakter morfologi bersifat signifikan berdasarkan uji korelasi spearman pada taraf 5 % ($p < 0,05$).

repository.ub.ac.id

Berat buah dan jumlah biji yang secara signifikan memiliki korelasi positif yang kuat juga didukung pada penelitian lain. Penelitian yang dilakukan oleh Tiwari dkk (2011) menunjukkan bahwa jumlah biji berkorelasi positif sangat kuat dan hampir mendekati sempurna terhadap berat buah cabai rawit. Penelitian yang dilakukan oleh Imanishi dan Iwao (1975) juga menunjukkan adanya korelasi positif yang erat antara berat buah dan kandungan biji pada tanaman tomat. Hal ini disebabkan adanya akumulasi biji pada buah saat proses perkembangan buah. Biji yang semakin banyak akan menambah massa buah sehingga berat buah semakin meningkat. Berat buah merupakan salah satu karakter kuantitatif yang menentukan ukuran dari buah. Adanya korelasi yang kuat antara berat dan lebar buah menandakan bahwa buah yang berukuran lebar memiliki ketebalan perikarp yang lebih besar sehingga meningkatkan massa buah (Carvalho dkk., 2014).

4.3 Kandungan Karotenoid Total pada Buah Cabai Rawit G1 *Original Type* dan Mutan G1/M13

Buah cabai rawit secara keseluruhan menunjukkan peningkatan kandungan karotenoid total dari umur buah 30, 45, dan 60 HSP. Perlakuan pemanenan dengan periode atau umur buah yang berbeda memiliki pengaruh signifikan terhadap peningkatan kandungan karotenoid total berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) one-way pada taraf 5 %. Antar umur panen pada sebagian besar sampel menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada sampel U4 yang menunjukkan peningkatan kandungan karotenoid total yang tidak signifikan pada umur buah 30—45 HSP. Selain itu, kandungan karotenoid total antar cabai rawit juga berbeda signifikan, kecuali antara U2 dan U3 (Gambar 19).

Kandungan karotenoid total antar cabai rawit berdasarkan masing-masing umur buah menunjukkan signifikansi yang berbeda-beda berdasarkan uji t-dependen pada taraf 5 %. Kandungan karotenoid total pada umur buah 30 HSP menunjukkan nilai kurang dari 0,5 mg/g F.W. Kandungan karotenoid total pada umur ini sebagian besar tidak berbeda nyata antar tanaman dan cenderung memiliki kandungan karotenoid total yang sama. Kandungan karotenoid pada kontrol (K)/*original type* secara signifikan lebih rendah terhadap U6, U4 secara signifikan lebih tinggi terhadap U6 dan U9, dan U6 secara signifikan dibandingkan U9. Kandungan karotenoid total terendah berada pada U3 dengan nilai 0,282

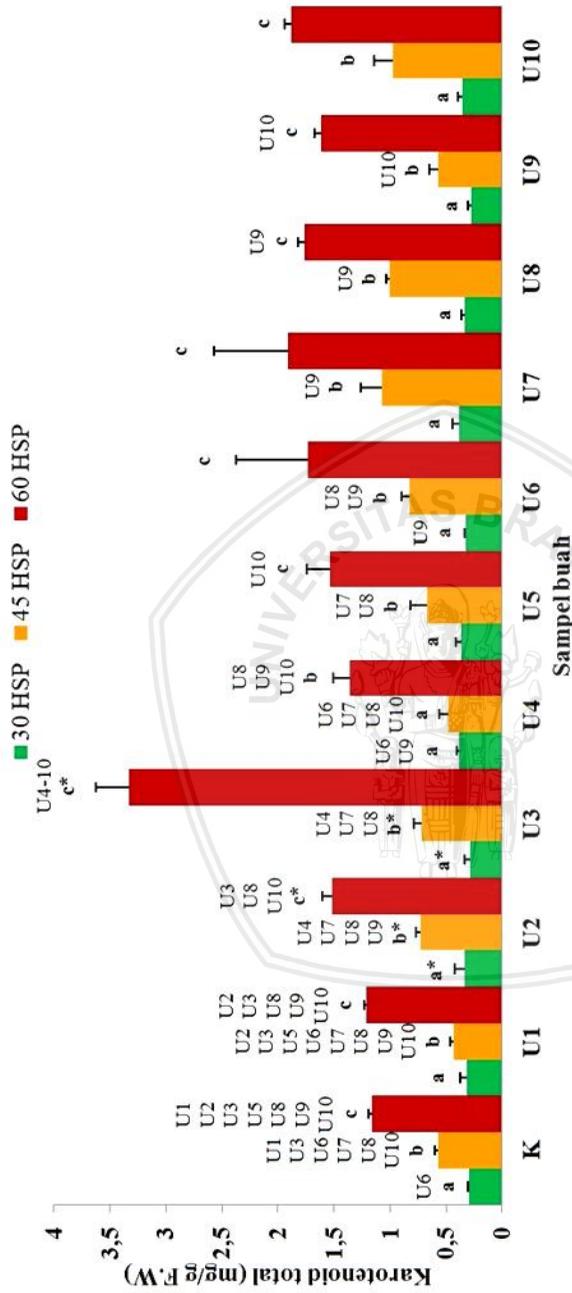
mg/g F.W tapi nilai tersebut tidak berbeda signifikan terhadap kontrol dengan nilai 0,297 mg/g F.W (Gambar 19).

Kandungan karotenoid total pada umur buah 45 HSP mulai menunjukkan perbedaan yang signifikan antar tanaman. Kandungan karotenoid total secara keseluruhan memiliki nilai lebih dari 0,55 mg/g F.W. Buah kontrol menunjukkan kandungan karotenoid lebih rendah secara signifikan terhadap beberapa tanaman lain yaitu U1, U3, U6, U7, U8, dan U10. Namun, kandungan karotenoid kontrol cenderung lebih tinggi dibandingkan U1 dan U4. Kandungan karotenoid total tertinggi berada pada U7 dengan nilai 1,075 mg/g F.W (Gambar 19).

Kandungan karotenoid total pada umur buah 60 HSP mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan 45 HSP dengan nilai secara keseluruhan lebih dari 1 mg/g F.W. Buah kontrol (K) memiliki kandungan karotenoid paling rendah dengan nilai 1,164 mg/g F.W dan berbeda signifikan terhadap U1, U2, U3, U5, U8, U9, dan U10. Hampir semua tanaman tidak memiliki buah dengan kandungan karotenoid total lebih dari 2 mg/g F.W, tetapi buah U3 menunjukkan hasil yang paling tinggi yaitu 3,323 mg/g F.W dan berbeda nyata terhadap semua tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar buah yang dihasilkan pada U3 memiliki kuantitas kandungan karotenoid total paling baik dibandingkan tanaman cabai rawit lain (Gambar 19).

Perbandingan secara visual pada pengamatan morfologi menunjukkan bahwa warna merah yang terlihat pada buah berumur 60 HSP relatif sama sedangkan kandungan karotenoid ada yang lebih tinggi dan lebih rendah secara signifikan. Hal ini menjadi menarik dan menandakan adanya faktor kapasitas karotenogenik pada masing-masing tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Mendez dkk. (2000) terhadap lima buah cabai merah dari individu yang berbeda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kandungan karotenoid total walaupun berada dalam kategori merah 100 % (*deep-red*). Hal ini disebabkan adanya batas akumulasi dalam produksi karotenoid oleoresin (capsanthin dan capsorubin) sedangkan senyawa prekursor berupa violaxanthin, antheraxanthin, dan zeaxanthin terakumulasi pada jaringan.

Kapasitas karotenoid total minimal juga merupakan faktor dalam pembentukan warna merah pekat atau 100 % (*deep-red*) pada buah cabai rawit. Buah cabai rawit umur 60 HSP dengan warna yang relatif seragam menunjukkan kandungan karotenoid total lebih dari 1 mg/g F.W. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan karotenoid minimal yang diperlukan buah untuk mencapai warna merah pekat (*deep-red*) adalah 1



Gambar 19. Kandungan karotenoid total pada buah cabai rawit berdasarkan umur buah. Huruf yang sama antar umur panen yang berbeda pada tanaman yang sama, menunjukkan hasil yang tidak signifikan berdasarkan uji LSD taraf 5 %. Grafik yang diikuti oleh label Un menunjukkan berbeda nyata terhadap tanaman lain pada umur buah yang sama berdasarkan uji Mann-Whitney taraf 5 % (n: 1—10). *Karotenoid total pada semua umur buah tidak berbeda nyata antar tanaman cabai rawit berdasarkan uji t-dependen pada taraf 5 %.

mg/g F.W. Penelitian yang dilakukan oleh Mendez dkk. (2000) juga menunjukkan batas minimal kandungan karotenoid total untuk membentuk warna merah pekat adalah 7000 mg/kg D.W sedangkan lebih dari itu menunjukkan tidak ada perbedaan warna secara visual.

Dinamika atau perubahan dalam kandungan karotenoid pada buah menandakan bahwa terdapat aktivitas biosintesis karotenoid. Kandungan karotenoid pada buah akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya umur perkembangan buah. Adanya perbedaan kemampuan tanaman dalam mengakumulasi karotenoid menandakan adanya variasi genetik dalam alel spesifik dari kelompok enzim biosintesis karotenoid (Uribe dkk., 2012). Terdapat tiga jenis lokus yang bertanggungjawab pada aktivitas biosintesis karotenoid. Interaksi antara tiga lokus yang saling tidak berhubungan tersebut diduga berperan dalam pembentukan delapan jenis warna atau pigmentasi pada cabai rawit, mulai dari putih hingga merah. Lokus tersebut diantaranya *Y*, *C1*, dan *C2*. Gen *Ccs* memiliki posisi pada lokus *Y* sedangkan *Psy* pada lokus *C2* (Thorup dkk., 2000).

Gen *Ccs* sebagai gen yang bertanggungjawab dalam akumulasi karotenoid terlihat dari adanya perbedaan komponen basa antara kontrol (*K*)/*original type* terhadap *G1/M13* mutan. Kontrol yang memiliki kandungan karotenoid pada 60 HSP lebih rendah dibandingkan *G1/M13* mengindikasikan adanya perbedaan ekspresi karotenoid (Subbab 4.5). Hal ini disebabkan karotenoid sebagian besar tersusun dari 80 % oleoresin (*capsanthin*), 16 % *zeaxanthin* dan β -*carotene*, dan 4 % karotenoid lain (Ha dkk., 2007). Dengan demikian, terdapat indikasi bahwa perubahan komponen basa pada gen *Ccs* akan mengubah kemampuan akumulasi karotenoid.

Kandungan karotenoid total berdasarkan pada penelitian memiliki nilai yang saling berbeda signifikan antar tanaman *G1/M13* tetapi tidak memiliki perbedaan komposisi basa pada sekuen parsial gen *Ccs* (Subbab 4.5). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kandungan karotenoid total secara langsung tidak ditentukan oleh gen *Ccs* melainkan gen lain yang bertanggungjawab dalam proses biosintesis karotenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Thorup dkk. (2000) menunjukkan bahwa gen putative *Psy* pada lokus *C2* merupakan faktor pembatas pada produksi karotenoid. Hal ini berdasarkan bukti bahwa karotenoid total pada buah cabai rawit pada kelas *cream* dan *peach* (resesif *C2*) sangat rendah (masing-masing 0,065 dan 0,043 mg/g D.W) dibandingkan kelas *red* (dominan *C2*) (2,6—5,6 mg/g D.W). Hal ini menunjukkan bahwa gen *Psy* yang berperan pada bagian hulu

repository.ub.ac.id

biosintesis karotenoid memiliki peran paling penting dalam mengekspresikan protein pembentuk senyawa prekursor bagi kelompok karotenoid lain, termasuk capsanthin dan capsorubin.

Senyawa prekursor menjadi sangat penting dalam proses biosintesis karotenoid selanjutnya. Jika senyawa prekursor tidak ada walaupun cabai rawit memiliki gen *Ccs* maka tidak terbentuk senyawa capsanthin maupun capsorubin yang bertanggungjawab dalam pembentukan pigmen merah pada buah. Namun, karotenoid total menunjukkan tingkat atau nilai yang berbeda-beda pada buah yang berwarna merah pekat atau 100 %. Hal ini mengindikasikan adanya tingkat ekspresi prekursor karotenoid yang berbeda-beda yang berdampak pada akumulasi senyawa karotenoid selanjutnya (*β-carotene*, *zeaxanthin*, *capsanthin*, *capsorubin*, dan lain-lain) seperti yang pernah diteliti oleh Kaur dkk. (2017) pada tanaman pisang. Terdapat korelasi positif antara ekspresi gen meta *Psy1* dengan kandungan β -karoten pada buah pisang dibawah tekanan dan perlakuan stres (asam absisat, metil jasmonat, asam salisilat, dan gelap). Hal ini sesuai dengan pernyataan sebelumnya dimana intensitas hujan yang tinggi antara bulan November 2017 hingga Januari 2018 merupakan bentuk stres abiotik terhadap tanaman sehingga menstimulasi produksi dan akumulasi berbagai macam senyawa seperti karotenoid (Subbab 4.1.1).

4.4 Korelasi antara Morfologi dan Kandungan Karotenoid Total pada Buah Cabai Rawit

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir secara keseluruhan karakter morfologis vegetatif (panjang dan lebar daun, tinggi tanaman) maupun generatif (panjang, lebar, dan berat buah, jumlah biji) tidak memiliki korelasi yang signifikan terhadap kandungan karotenoid total pada umur 30, 45, dan 60 HSP. Namun, karakter warna buah secara signifikan memiliki korelasi positif yang kuat ($0,5 < R_s < 0,75$) terhadap kandungan karotenoid total pada umur 45 HSP. Karakter morfologis yaitu panjang daun, lebar buah, dan berat buah memiliki korelasi positif yang kuat ($0,5 < R_s < 0,75$) terhadap kandungan karotenoid pada umur 30 HSP tetapi tidak bersifat signifikan (Tabel 6).

Salah satu karakteristik morfologi yang berkaitan dengan akumulasi dan biosintesis karotenoid adalah ukuran daun. Karotenoid merupakan salah satu senyawa yang berperan sebagai pigmen aksesori dari *light harvesting complexes* (LHC) pada plastida daun. Pigmen aksesori tersebut sangat peka terhadap spektrum cahaya biru (400—500 nm) dan

Tabel 6. Korelasi antara karakter morfologi dan kandungan karotenoid total pada buah cabai rawit

Parameter Morfologis	Kandungan Karotenoid (Fisiologis)					
	30 HSP		45 HSP		60 HSP	
	Rs	P	Rs	P	Rs	P
Panjang daun	0,545	0,083	0,336	0,312	0,291	0,385
Lebar daun	0,237	0,482	-0,210	0,535	-0,178	0,600
Panjang buah	0,418	0,201	0,091	0,790	0,218	0,519
Lebar buah	0,566	0,069	0,306	0,360	0,279	0,407
Berat buah	0,538	0,088	-0,082	0,811	0,114	0,739
Jumlah biji	0,436	0,180	-0,191	0,574	0,145	0,670
Tinggi tanaman	0,182	0,593	0,082	0,811	0,255	0,450
Warna buah	0,000*	0,000	0,658*	0,028	0,516	0,104

Keterangan: Rs: tingkat korelasi; p: nilai probabilitas (0—1).
 *Hubungan antar karakter morfologi bersifat signifikan berdasarkan uji korelasi spearman pada taraf 5 % ($p < 0,05$).

akan menghasilkan stimulus untuk biosintesis karotenoid yang lain (Woitsch & Romer, 2003). Penelitian lain mengenai regulasi biosintesis pada buah menunjukkan bahwa sebagian gen karotenogenik diregulasi oleh faktor transkripsi. Faktor transkripsi yang telah teridentifikasi adalah RAP2.2 dan PIFs yang berinteraksi secara langsung dengan promoter gen *Psy* (Lu & Li, 2008). Hal ini menunjukkan semakin panjang atau/dan lebar sebuah daun maka faktor transkripsi yang dihasilkan semakin banyak sehingga aktivitas biosintesis karotenoid pada buah semakin besar. Walaupun pada buah yang masih hijau memiliki aktivitas menyerupai daun, namun daun masih berperan dominan dalam produksi faktor transkripsi tersebut (Bramley, 2002).

Korelasi karakteristik morfologi secara kuantitatif terhadap kandungan karotenoid maupun sebaliknya yang sebagian besar menunjukkan hubungan tidak signifikan menandakan adanya faktor di luar morfologi yang memengaruhi kandungan karotenoid total. Beberapa penelitian melaporkan bahwa kandungan karotenoid total dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan/atau genetik. Kondisi stres air dan salinitas menjadi faktor kunci dalam stimulasi dan akumulasi produksi senyawa karotenoid. Stres lingkungan secara umum pada tanaman akan menyebabkan tekanan oksidatif berupa produksi *reactive oxygen species* (ROS). Produksi ROS secara langsung akan menstimulasi aktivitas antioksidan berupa produksi senyawa bioaktif.

Salah satu jenis bioaktif tersebut yaitu karotenoid. Karotenoid akan beroksidasi baik secara enzimatis maupun non-enzimatis menghasilkan beberapa senyawa turunan diantaranya β -cyclocitral, β -ionone, β -ionylidene-acetaldehyde, dan β -apo-13-carotenone (Havaux, 2013).

Penelitian lain membuktikan bahwa efek lingkungan berupa stres lingkungan memengaruhi dinamika kandungan karotenoid. Stres lingkungan yang berdampak positif terhadap peningkatan kandungan karotenoid diteliti pada penelitian lain mengenai efek kualitas tomat yang ditanam pada kondisi air yang cukup dan stres air. Tomat yang ditanam pada kondisi stres air memiliki kandungan bioaktif (salah satunya karotenoid) yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kondisi air yang cukup (Klunklin & Geoffrey, 2017). Namun, stres lingkungan yang berdampak pada penurunan kandungan karotenoid total diteliti pada penelitian lain mengenai melon kultivar Galia C8. Melon yang tergolong bukan dalam famili Solanaceae seperti tomat dan cabai menunjukkan respon sebaliknya dimana kandungan klorofil dan karotenoid menurun secara signifikan apabila berada pada kondisi stres salinitas atau kekeringan (Yarsi dkk., 2017).

Adanya korelasi positif yang kuat dan signifikan antara warna buah dan kandungan karotenoid menandakan bahwa tingkat akumulasi karotenoid akan semakin banyak ketika persentase warna merah semakin meningkat. Warna buah cabai menunjukkan hubungan yang tidak signifikan terhadap kandungan karotenoid pada umur 60 HSP. Hal ini mengindikasikan adanya faktor batas kepekaan warna atau kapasitas karotenogenik terhadap senyawa oleoresin (karotenoid merah) (Subbab 4.3). Selain itu, paparan sinar UV juga merupakan faktor pembatas terhadap akumulasi karotenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Kasim & Rezzan (2017) membuktikan bahwa radiasi ultraviolet terutama UV-B akan menurunkan kualitas karotenoid pada cabai merah yang diasosiasikan dengan tingkat kecerahan (*lightness* atau L^*) yang meningkat.

4.5 Profil Gen *Ccs* Cabai Rawit G1 *Original Type* dan Mutan G1/M13

Gen *Ccs* yang diamplifikasi adalah gen parsial dengan panjang produk 787 bp. Hasil sekuensing, *trimming* atau pemotongan, dan penyejajaran menghasilkan produk sekuensing dengan ukuran 543 bp. *Alignment* dilakukan dengan menggunakan sampel kontrol (K)/*original type* dengan mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7) serta

dibandingkan dengan gen *Ccs* complete CDS dengan kode aksesinya KM037706.1. Hasil *alignment* menunjukkan adanya empat perbedaan basa baik dari *Ccs* genebank NCBI, kontrol (K)/*original type*, dan G1/M13 dari nomor 355—898 bp. Terdapat perbedaan basa pada sampel kontrol dan G1/M13 dimana basa nomor 377 memiliki basa guanin (G) sedangkan *Ccs* dari genebank memiliki basa adenin (A). Selain itu, terdapat perbedaan basa pada nomor 809 dimana kontrol dan G1/M13 memiliki basa timin (T) sedangkan *Ccs* genebank NCBI memiliki basa sitosin (C). Namun, terdapat pula perbedaan komposisi basa antara kontrol (K)/*original type* terhadap mutan G1/M13 dimana sampel kontrol memiliki basa timin (T) pada nomor 462 dan sitosin (C) pada nomor 631 sedangkan pada sampel mutan G1/M13 dan *Ccs* genebank NCBI secara berurutan memiliki basa sitosin (C) dan timin (T) (Gambar 20).



Gambar 20. Penyejajaran atau *alignment* sekuen gen *Ccs* pada cabai KM037706.1 dari genebank NCBI (*Capsicum annuum* cv. Landrace Jarales, complete CDS), cabai rawit G1 kontrol (*original type*), dan cabai rawit mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7). A: adenin; G: guanin; C: sitosin; T: timin

Perbedaan komponen basa pada sekuen parsial gen *Ccs* secara menyebabkan sebagian perbedaan pada komponen asam amino. Perbedaan basa pada *antisense* GAT pada *Ccs* KM037706.1 dan GGT pada G1 *original type* dan mutan G1/M13 menyebabkan perbedaan basa masing-masing leusin dan prolin pada urutan asam amino ke-124. Hal ini juga terjadi pada urutan asam amino ke-269 dimana sistein terdapat pada CCS KM037706.1 sedangkan G1 *original type* dan mutan G1/M13 adalah tirosin. Walaupun demikian, perbedaan basa antara DNA *antisense* GAC pada sampel *original type* dan GAT pada mutan G1/M13 tidak menyebabkan perubahan asam amino (Gambar 21).

Komponen basa yang berbeda pada tanaman cabai rawit G1 *original type* dibandingkan KM037706.1 dan mutan G1/M13 menunjukkan adanya proses mutasi balik (*reverse* atau *back mutation*). Mutasi balik merupakan kondisi dimana sekuen gen dari kondisi menyimpang atau

	117	120	124	150	155
KM037706.1	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Leu	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
Kontrol	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U1	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U3	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U4	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U5	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U6	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His
U7	Arg-Phe-Iso-Asp-Thr-Thr-Lys-	Pro	...	Thr-Ser-Val-	Leu-Iso-His

	208	211	213	268	270	274
KM037706.1	Leu-Leu-Phe-	Thr	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
Kontrol	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Tyr	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U1	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U3	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U4	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U5	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U6	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu
U7	Leu-Leu-Phe-	Ala	-Iso-Glu...	Thr-Arg-	Cys	-Arg-Leu-Pro-Leu-Leu

Gambar 20. Estimasi komponen asam amino pada enzim CCS pada cabai KM037706.1 dari genebank NCBI (*Capsicum annuum* cv. Landrace Jarales, complete CDS), cabai rawit G1 kontrol (*original type*), dan cabai rawit mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7). Arg: arginin; Asp: aspartat; Cys: sistein; Glu: glutamat; His: histidin; Iso: isoleusin; Lys: lisin; Pro: prolin; Ser: serin; Thr: threonin; Val: valin

aberrant ke kondisi normal atau *original type* sehingga menghasilkan sejumlah perubahan secara molekuler pada tingkat protein. Dasar dari adanya mutasi balik tersebut berdasarkan Walsh & Sara (2001) dimana *Capsicum annum* merupakan spesies *ancestor* terhadap *Capsicum frutescens* dan *Capsicum chinense*. Kondisi mutasi balik seperti ini secara evolusi akan memberikan dampak positif terhadap keberlangsungan populasi suatu spesies (Charlesworth & Adam, 2007). Namun, perbedaan basa sebagian tidak menunjukkan adanya perubahan asam amino seperti pada urutan asam amino ke-154 atau sekuen gen *Ccs* ke-462. Perubahan atau perbedaan basa pada sekuen tertentu namun tidak berpengaruh terhadap perubahan asam amino disebut sebagai mutasi secara sinonimus atau mutasi diam (*silent mutation*). Namun, perubahan basa yang diikuti oleh perubahan asam amino disebut sebagai mutasi non-sinonim (Foxe dkk., 2008).

Tanaman kontrol atau *original type* yang memiliki basa timin (T) sedangkan mutan G1/M13 (U1, U3, U4, U5, U6, dan U7) memiliki basa sitosin (C) pada sekuen nomor 462 dan 809 menunjukkan adanya efek senyawa EMS terhadap mutasi substitusi. Senyawa EMS menurut Nohmi & Shoji (2016) bereaksi dengan basa guanin membentuk O⁶-ethylguanin atau N⁷-methylguanin sedangkan pada basa adenin membentuk N³-methyladenin. Senyawa O⁶-ethylguanin memiliki sifat seperti adenin sedangkan N⁷-methylguanin dan N³-methyladenin merupakan senyawa yang tidak stabil dan mengalami depurinasi. Proses perbaikan DNA yang terlambat ketika proses pembentukan garpu replikasi menyebabkan terjadinya dua kemungkinan. Kemungkinan pertama adalah aktivitas enzim polimerase III terhenti akibat terbentuknya gap DNA yang disebabkan proses depurinasi pada basa yang terpapar EMS (Settles dkk., 2010). Kemungkinan kedua adalah efek depurinasi menyebabkan perubahan sifat basa sehingga terjadi *mismatching* dengan basa komplementer. Adenin yang seharusnya bersifat komplementer dengan timin menjadi komplemen dengan guanin semenjak adenin menjadi N³-methyladenin. Hasil ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya yaitu Greenspan dkk. (1988) pada gen *xanthine-guanine phosphoribosyltransferase* (*gpt*) dimana pasangan basa A-T mengalami substitusi dan transisi menjadi G-C.

Perubahan asam amino menyebabkan perubahan sifat pada protein maupun enzim diantaranya meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzimatis dan/atau mengubah spesifisitas terhadap substrat (Wilson & David, 1991). Perbedaan komponen asam amino antara G1 *original type* dan mutan G1/M13 bersifat menguntungkan dimana kandungan

karotenoid total pada mutan G1/M13 secara keseluruhan lebih tinggi dibandingkan kontrol pada umur 45 dan 60 HSP.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Terdapat variasi morfologi antara cabai rawit G1 *original type* dan mutan G1/M13. Tanaman mutan G1/M13 dari U1 hingga U10 memiliki ukuran yang tinggi, berdaun lebih lebar, buah yang besar dan berat, serta biji yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan *wild type*. Kandungan karotenoid akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya umur buah dan kandungan karotenoid total paling tinggi secara keseluruhan pada umur 60 HSP. Kandungan karotenoid paling tinggi berada pada U3 dengan nilai 3,323 mg/g F.W. Tidak terdapat korelasi yang signifikan antara sebagian besar karakteristik morfologi secara kuantitatif terhadap kandungan karotenoid total pada masing-masing umur buah. Namun, secara signifikan, terdapat korelasi positif yang kuat antara warna buah terhadap kandungan karotenoid pada umur buah 45 HSP. Terdapat dua perbedaan basa pada sekuen parsial gen *Ccs* sepanjang 543 bp. Perbedaan tersebut yaitu pada basa 462 dan 809 masing-masing memiliki basa sitosin (C) pada *original type* sedangkan pada semua mutan G1/M13 memiliki basa timin (T).

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai hubungan perbedaan sekuen gen selain *Ccs* yang berperan dalam biosintesis karotenoid terhadap dinamika atau perubahan kandungan karotenoid. Hal ini mengingat rujukan mengenai gen secara dominan bertanggungjawab terhadap kandungan karotenoid total masih minim. Penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi dan kuantifikasi senyawa karotenoid secara spesifik pada cabai rawit sangat diperlukan untuk memperoleh informasi mengenai variasi antar cabai rawit secara mendalam dan spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agriculture of Western Australia. 2016. **Growing Capsicum and chillies: Fruit set**. <http://www.agric.wa.gov>. Diakses pada 31 Mei 2016.
- Arimboor, R., Ramesh B.N., K. Ramakrishna M., Leksmi P.C., & Vidya M. 2015. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoid as a source of natural food colors: analysis and stability: A review. *Journal of Food Science Technology*, 52(3): 1258-1271.
- Arisha, M.H., Syed N.M.S., Zhen H.G., Hua J., Chao L., & Hua X.Z. 2015. Ethyl methane sulfonate induced mutations in M₂ generation and physiological variation in M₁ generation of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 6: 399.
- Arruvitasari, P. N. 2016. **Pengaruh induksi mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS) terhadap karakter morfologi dan kandungan capsaicin tiga genotip cabai rawit lokal (*Capsicum frutescens* L.)**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Ashrafuzzaman, M., M. Abdul H., Mohd. Razi I., S.M. Shahidullah., & M. Alamgir H. 2011. Effect of plastic mulch on growth and yield of chili (*Capsicum annuum* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54(2): 321—330.
- Ayoub, K. 1986. Effect of available soil moisture on the yield of chili (*Capsicum annuum*). *Technology Sayur Sayuran*, 2: 57—59.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2017. **Analisis iklim: analisis curah hujan dan sifat hujan bulan November 2017**. <https://www.bmkg.go.id/iklim/informasi-hujan-bulanan.bmkg?p=analisis-curah-hujan-dan-sifat-hujan-bulan-november-2017&lang=ID>. Diakses pada 28 Maret 2018.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2018a. **Analisis iklim: analisis curah hujan dan sifat hujan bulan Desember 2017**. <https://www.bmkg.go.id/iklim/informasi-hujan-bulanan.bmkg?p=analisis-curah-hujan-dan-sifat-hujan-bulan-desember-2017&lang=ID>. Diakses pada 28 Maret 2018.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2018b. **Analisis iklim: analisis curah hujan dan sifat hujan bulan Januari 2018**. <https://www.bmkg.go.id/iklim/informasi-hujan->

[bulanana.bmkg?p=analisis-curah-hujan-dan-sifat-hujan-bulan-januari-2018&lang=ID](https://doi.org/10.24127/bulanana.bmkg?p=analisis-curah-hujan-dan-sifat-hujan-bulan-januari-2018&lang=ID). Diakses pada 28 Maret 2018.

- Bramley, P. 2002. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J. Exp. Bot*, 53:2107—2113.
- Cahyono, B. 2003. **Cabai rawit: teknik budi daya dan analisis usaha tani**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Carvalho, S.I.C., C.F. Ragassi., I.B. Bianchetti., F.J.B. Reifschneider, G.S.C. Buso., F.G. Faleiro. 2014. Morphological and genetic relationship between wild and domesticated forms of pepper (*Capsicum frutescens* L. and *C. chinense* Jacquin). *Genetics and Molecular Research*, 13(3): 7447—7464.
- Centre of Agriculture and Bioscience International. 2018. **Datasheet: *Capsicum frutescens* (Chilli)**. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/15787>. Diakses pada tanggal 13 Mei 2018.
- Charlesworth, J. & Eyre W.A. 2007. The other side of the nearly neutral theory, evidence of slightly advantageous back-mutations. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 104(16):992—997.
- Direktorat Jenderal Hortikultura. 2015. **Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014**. Kementerian Pertanian: Direktorat Jenderal Hortikultura. Jakarta.
- Fatchiyah, Estri L.A., Sri W., & Sri R. 2011. **Biologi molekuler: Prinsip dasar analisis**. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Feiz, L., J.M. Martin., & M.J. Giroux. 2009. Creation and functional analysis of new *Puroindole* alleles in *Triticum aestivum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(2): 247—257.
- Foxe, J.P., Vaqaar un N.D., Garcia, M.R. & Neftali O.A. 2013. Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum* spp.): Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 19025-19053.
- Gayathri, N.M., Gopalakrishnan, & Sekar, T. 2016. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capsicum chinense* Jacq. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*, 5(1):12-20.
- Greenspan, J.A., Faming X., & Richard L.D. 1988. Molecular analysis of ethyl methanesulfonate-induced reversion of a chromosomally integrated mutant shuttle vector gene in mammalian cells. *Molecular and Cellular Biology*, 8(10): 4185—4189.
- Ha, S.H., Jung B.K., Jong S.P., Shin W.L., & Kang J.C. 2007. A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: deletion of the capsanthin-

capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(12): 3135—3144.

- Havaux, M. 2013. Carotenoid oxidation products as stress signal in plants. *The Plant Journal*. 79: 597—606.
- Huguene, P., Badillo A., Chen H.C., Klein A., Hirschberg J., Camara B., & Kuntz M. 1995. Metabolism of cyclic carotenoids: A model for the alteration of this biosynthetic pathway in *Capsicum annuum* chromoplast. *The Plant Journal*. 8: 417—424.
- Ikpeme, C.E., Peters H., & Orim A.O. 2014. Comparative evaluation of the nutritional, phytochemical, and microbiological quality of three pepper varieties. *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2(3): 74—80.
- Imanishi, S. & Iwao H. 1975. Relationship between fruit weight and seed content in the tomato. *Japan. Soc. Hort. Sci*, 44(1): 33—40.
- IPGRI, AVRDC, & CATIE. 1995. **Descriptor for *Capsicum* (*Capsicum* spp.)**. International Plant Genetic Resources Institute. Roma, The Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenanza, Turrialba.
- Just, D., Garcia V., Fernandez L., Bres C., Mauxion J.P., & Petit J. 2013. Micro-tom mutants for functional analysis of target genes and discovery of new alleles in tomato. *Plant. Biotechnol*. 30: 225—231.
- Kasim, M.U. & Rezzan K. 2017. The effects of ultraviolet (UV-B) irradiation on color quality and decay rate of Capia pepper during postharvest storage. *Food Science and Technology*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.05817>.
- Kaur, N., Ashutosh P., Shivani, Prateek K., Pankaj P., Atul K.K., Shrikant S.M., Praveen A., & Siddharth T. 2017. Regulation of banana phytoene synthase (MaPSY) expression, characterization, and their modulation under various abiotic stress conditions. *Front. Plant. Sci*, 8: 462.
- Kevresan, Z.S, Anamarija P.M., Ksenija N.K., & Marijana B.S. 2009. Carotenoid content in fresh and dry pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits for paprika production. *Food Processing, Quality, and Safety*, 1—2(2009): 21—27.
- Klunklin, W. & Geoffrey S. 2017. Effect on quality characteristics of tomatoes grown under well-watered and drought stress condition. *Foods*. 6(56): 1—10.

- Lang, Y.Q., Satoshi Y., Tsuneo S., & Tetsuno S. 2004. Orange fruit color in *capsicum* due to deletion of Capsanthin capsorubin synthesis gene. *Breeding Science*, 54: 33—39.
- Li, Z.L., Shu W., Xiao L.G., Xiao B.C., & Zhen H.G. 2013. A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin capsorubin synthase gene in peper (*Capsicum* sp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter in region. *Journal PLOS ONE*. 8(4): 1-9.
- Lisiewska, Z., Waldemar K., & Anna K. 2005. Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls, and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2—3): 134—140.
- Lu, S. & Li L. 2008. Carotenoid metabolism: biosynthesis, regulation, and beyond. *J. Integr. Plant Biol*, 50(7): 778—785.
- Maftuchah, M., Aris W., & Agus Z. 2014. **Teknis dasar analisis biologi molekuler**. Deepublish Publisher. Yogyakarta.
- Mendez, D.H., Ricardo G.L.G., & M. Isabel M.M. 2000. Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *J. Agric. Food Chem*, 48: 3857—3864.
- Nohmi, T. & Shoji F. 2016. **Thresholds of genotoxic carcinogens: from mechanisms to regulation**. Academic Press. London.
- Nuryati, L., Noviati, Diah I., & Suwandi. 2015. **Outlook cabai: Komoditas pertanian subsektor hortikultura**. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Pathriana, R. 2012. Plant mutation breeding in agriculture. in *Plant Sciences Reviews*. *CAB Rev*. 107.
- Ratih, N. 2016. Analisis variasi genetik cabai rawit (*Capsicum frutescens*) komersial di Kota Malang berdasarkan karakter morfologi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Skripsi.
- Rego, E.R., Mailson M.R., & Fernando L.F. 2016. **Production and breeding of chilli peppers (*Capsicum* spp.)** Springer Business and Science. New York.
- Rohini, N., Lakshmanan, V., Saraladevi D., John J., & Govindarasu P. 2017. Performance evaluation and variability studied in F₂ progenies of hot pepper (*Capsicum annuum* L. *annuum*). *International Jurnal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(3): 1314—1324.
- Rukmana R. 2002. **Usaha tani cabai rawit**. Kanisius. Yogyakarta.

- Saraswati, I.G., Made P., & I Ketut J. 2012. Karakter morfologi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang dipengaruhi oleh sodium azida pada fase generatif generasi M1. *Jurnal Biologi*, 17(1): 23—26.
- Sasakuma, T., Ya Q.L., Satoshi Y., & Tsuneo S. 2004. Orange fruit color in *Capsicum* due to deletion of capsanthin-capsorubin synthesis gene. *Breeding Science*, 54: 33—39.
- Settles, S., Ruo-Wen W., Gilberto F., & Barry G. 2010. Effect of N3-methyladenine and an isosteric stable analogue on DNA polymerization. *Journal of Nucleic Acids*, 2010, ID. 462505. doi:10.4061/2010/426505.
- Soares, J.D.R., Moacir P., Filipe A.R., Willian S.L., Sergio L.R.D., Sebastio de O., & Crysttian A.P. 2012. Correlation between morphological characters and estimated bunch weight of the Tropical banana cultivar. *African Journal of Biotechnology*, 11(47): 10682—10687.
- Sola, M.A. & Manuel R.C. 2012. Carotenoid biosynthesis in *Arabidopsis*: A review. *American Society of Plant Biologist*. doi: 10.1199/tab.0158.
- Thomas, B., Brian G.M., & Deis J.M. 2017. **Encyclopedia of applied plant sciences**. Second edition. Academic Press. Massachusetts.
- Thorup, T.A., Tanyolac B., Livingstone K.D., Popovsky S., Paran I., & Molly Jahn. 2000. Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the Solanaceae. *Journal of PNAS*. 97(21): 11192—11197.
- Tian, S.L., Li.L., Wei G.C., Syed N.M., & Zhen G.L. 2014. Effects of silencing key genes in the capsanthin capsorubin biosynthetic pathway on fruit color of detached pepper fruit. *BMC Plant Biology*, 14: 314.
- Tiwari, A., Roeland E.V., Adam V.S., & Lin B.X. 2011. Parthenocarpic potential in *Capsicum annuum* L. is enhanced by carpelloid structures and controlled by single recessive gene. *BMC Plant Biology*, 11: 143.
- Uribe, L.R., Ivette G., Wathsala R., Richard D.R., & Mary A.O. 2012. Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annuum* fruit, regulated at multiple levels. *Journal of Experimental Botany*, 63(1): 517-526.
- Wall, M.M., Cynthia A.W., & Paul W.B. 2001. Variation in β -carotene and total carotenoid content in fruits of *Capsicum*. *HortScience*, 36(4): 746—749.

- Walsh, B.M. & Sara B.H. 2001. Phylogenetic relationship of *Capsicum* (Solanaceae) using DNA sequences from two noncoding regions: the chloroplast *atp-rbcL* spacer region and nuclear *way* introns. *Int. J. Plant Sci.*, 162(6): 1409—1418.
- Wilson, C. & David A.A. 1991. Engineering substrate specificity. *Current Opinion in Structural Biology*, 1: 617—623.
- Woitsch, S. & S. Romer. 2003. Expression of xanthophyll biosynthetic genes during light-dependent chloroplast differentiation. *Plant Physiol*, 132: 1508—1517.
- Wright, I.J., David D.A., Frans B., Kyle E.H., Guillermo I.M., Miguel M.R., Susan J.M., Helene C.M., Horacio P., Nigel A.P., Lourens P., Miles R.S., Corine F.V., Cam O.W., Mark W., & Joseph W. 2007. Relationship among ecologically important dimensions of plant trait variation in seven neotropical forest. *Annals of Botany*, 99: 1003—1015.
- Yarsi, G., Aysel S., H. Yildiz D., Ozlem A., Riza B., & Yelderem A. 2017. Effects of salinity stress on chlorophyll and carotenoid contents and stomata size of grafted and ungrafted Galia C8 melon cultivar. *Pak. J. Bot.* 49(2): 421—426.
- Zainudin, Z. 2015. **Sejarah Cabai dan Perjalanan Cabai di Indonesia.** <https://www.agrotani.com/sejarah-cabai-dan-perjalanan-cabai-di-indonesia/>. Diakses pada tanggal 13 Mei 2018.