

**VARIASI GENETIK CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
GENOTIPE 1 MUTAN EMS NOMOR 8 (G1M8)
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN DAN PROFIL PARSIAL GEN *pAMT***

SKRIPSI

oleh

WAHYUNINGYAN ARINI

145090101111014



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

**VARIASI GENETIK CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
GENOTIPE 1 MUTAN EMS NOMOR 8 (G1M8)
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN DAN PROFIL PARASITAL GEN *pAMT***

SKRIPSI

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

oleh

**WAHYUNINGYAN ARINI
145090101111014**



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

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI
VARIASI GENETIK CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
GENOTIPE 1 MUTAN EMS NOMOR 8 (G1M8)
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN DAN PROFIL PARSIAL GEN *pAMT*

WAHYUNINGYAN ARINI
145090101111014

Telah dipertahankan di depan Majelis Pengaji
pada tanggal 6 Juni 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

NIM

Jurusan

: Wahyuningyan Arini

: 145090101111014

: Biologi

Penulis Skripsi Berjudul : Variasi Genetik Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Genotipe 1 Mutan EMS

Nomor 8 (G1M8) berdasarkan Karakter

Morfologi, Kandungan Capsaicin dan

Profil Parsial Gen *pAMT*

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, 2 Juli 2018

Yang menyatakan

Wahyuningyan Arini

145090101111014

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.

Variasi Genetik Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Genotipe 1 Mutan EMS Nomor 8 (G1M8) berdasarkan Karakter Morfologi, Kandungan Capsaicin dan Profil Parsial Gen *pAMT*

Wahyuningyan Arini, Estri Laras Arumingtyas

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya

2018

ABSTRAK

Tanaman G1M8 merupakan generasi kedua tanaman cabai rawit Genotype 1 (G1) yang telah diinduksi *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) 0,01%. Tanaman tersebut perlu dinalisis berdasarkan morfologi, fisiologi dan molekuler. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui variasi morfologi, kandungan capsaicin, serta polimorfisme gen *pAMT* antara tanaman mutan G1M8 dan G1 kontrol (tidak diinduksi EMS). Analisis morfologi yang meliputi tinggi tanaman, jumlah cabang, waktu pembungaan, panjang, diameter, dan berat buah, jumlah biji, serta warna antera, mahkota bunga, dan buah smuda dilakukan saat tanaman berumur 92 HST. Kandungan capsaicin diukur dari filtrat sampel buah cabai G1M8 dan G1 kontrol berumur 30-40 HSP menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 280 nm. Analisis data morfologi dan kandungan capsaicin dilakukan dengan uji T tidak berpasangan dan Mann-Whitney. Analisis molekuler dilakukan dengan sekuening gen *pAMT*, kemudian dianalisis menggunakan metode *ClustalW Multiple Alignment*. Hasil *alignment* dibandingkan dengan sekuen gen *pAMT* *Capsicum annuum* cv. Himo (kode genebank: LC032105.1).

Sebagian besar tanaman G1M8 memiliki karakter morfologi dan kandungan capsaicin yang lebih unggul dibandingkan G1 kontrol. Variasi genetik pada gen *pAMT* tanaman G1M8 dan G1 kontrol ditunjukkan oleh adanya perubahan basa nukleotida pada ekson dan intron. Mutasi pada ekson 3 gen *pAMT* tanaman G1M8/3 membentuk stop kodon, sehingga kandungan capsaicinnya lebih rendah daripada G1 kontrol. Variasi genetik tanaman dapat ditunjukkan oleh variasi morfologi, fisiologi dan sekuen gen tanaman.

Kata kunci: cabai rawit, capsaicin, morfologi, *pAMT*, polimorfisme

Genetic Variation of Cayenne Pepper (*Capsicum frutescens* L.) Genotype 1 EMS Mutant Number 8 (G1M8) based on Morphological Characters, Capsaicin Content and Partial Profile of *pAMT* Gene

Wahyuningyan Arini, Estri Laras Arumingtyas

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

2018

ABSTRACT

The G1M8 plants is a second generation of Genotype 1 (G1) cayenne pepper plant induced with 0,01% *Ethyl Methanesulfonate* (EMS). The plants need to be analyzed based on its morphological, physiological and molecular characters. The purpose of this research is to analyze the difference of morphological characters, capsaicin content, and polymorphism of *pAMT* gene between G1M8 and G1 control (not induced with EMS). The morphological characters including plant height, number of branches, day of flowering, length, diameter, and weight of fruit, number of seeds, anther color, flower crown color, and immature fruit color was analyzed at 92 DAP. The capsaicin content was measured from filtrate samples of 30-40 DPA fruit of G1M8 and G1 control using spectrophotometry method at 280 nm wavelength. Morphological characters and capsaicin content data were analyzed with T-independet and Mann-Whitney test. Molecular analysis was performed by sequencing of *pAMT* gene, then analyzed using ClustalW Multiple Alignment methods and compared with the sequence of *pAMT* gene of *Capsicum annuum* cv. Himo (genebank code: LC032105.1). Most of G1M8 plants have higher value of morphological characters and capsaicin content than G1 control. Genetic polymorphism occurred by nucleotide base alterations in exons and introns of *pAMT* gene of G1M8 dan G1 control. Mutation in *pAMT* gene exon 3 of G1M8/3 formed stop codon, so its capsaicin content was lower than G1 control's. Genetic variation of plants are showed by their variations of morphology, physiology and plant gene sequences.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillaahirabbil'alamin, puji syukur atas berkat dan rahmat Allah Yang Maha Kuasa, 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.

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini:

1. Prof. Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas, M.Sc. St. selaku pembimbing yang telah mendampingi, memberi pengarahan, tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
2. Ir. Retno Mastuti, M.Agr.Sc., D.Agr.Sc dan Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku penguji yang telah memberikan saran yang bermanfaat demi penyusunan skripsi.
3. Ir. Yani Wuryoto dan Neti Karniti selaku orang tua penulis atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang tidak terkira.
4. Dr. Ir. Joni Kusnadi, M.Si kakak-kakak dan rekan-rekan (Edia, Ria, Ayu Zahrotul, Diki, Rahmat), anggota *Working Group Capsicum* dan ELFIL, rekan-rekan Biologi Angkatan 2014 "AMINO", serta 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, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	Halaman vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR LAMBANG DAN BILANGAN	1
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Cabai Rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	4
2.1.1 Taksonomi Cabai Rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	4
2.1.3 Karakter Morfologi Cabai Rawit Genotipe 1 (G1)	5
2.2 <i>Ethyl Methanesulfonate</i> (EMS)	7
2.3 Biosintesis Capsaicin dan Gen <i>pAMT</i>	10
2.4 Capsaicin ($C_{18}H_{27}NO_3$)	11
BAB III METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Penanaman Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	14
3.3 Pengamatan Morfologi Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	14
3.4 Pengukuran Kandungan Capsaicin	16
3.5 Analisis Profil Parsial Gen <i>pAMT</i> Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	17
3.5.1 Isolasi DNA Genom	17
3.5.2 Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA Genom	17
3.5.3 Amplifikasi dan Sekuensi Gen <i>pAMT</i>	18
3.6 Analisis Data	18

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Variasi Morfologi Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	20
4.2 Kandungan Capsaicin Buah Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	28
4.3 Similaritas Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol Berdasarkan Morfologi dan Kandungan Capsaicin	30
4.4 Profil Gen <i>pAMT</i> Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	47

DAFTAR GAMBAR

Nomor

Halaman

1.	Morfologi cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.) G1.....	6
2.	Morfologi tanaman cabai rawit G1 Kontrol dan perlakuan EMS.....	7
3.	Rumus kimia <i>Ethyl Methanesulfonate</i> (EMS).....	8
4.	Morfologi tanaman mutan hasil induksi EMS pada <i>Capsicum annuum</i> L.....	9
5.	Jalur biosintesis capsaicin cabai (<i>Capsicum</i> sp.)	
6.	Struktur kimia capsaicin.....	11
7.	Morfologi tanaman cabai rawit yang diamati.....	13
8.	Tinggi tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	15
9.	Jumlah cabang tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	20
10.	Waktu pembangunan tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	22
11.	Panjang dan diameter buah cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	23
12.	Morfologi generatif tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	24
13.	Morfologi kualitatif bunga dan buah tanaman cabai rawit G1.....	25
14.	Kandungan capsaicin buah cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	27
15.	Dendrogram similaritas tanaman G1M8 dan G1 kontrol.....	29
16.	Profil gen <i>pAMT</i> intron dan ekson tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol dan <i>C.annuum</i> cv. Himo.....	30
17.	Profil gen <i>pAMT</i> ekson 2 dan 3 tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol, <i>C. annuum</i> cv. Himo, <i>C. frutescens</i> cv. Bird Eye dan <i>C. frutescens</i> cv. S3212.....	33
18.	Profil asam amino gen <i>pAMT</i> ekson 2 dan 3	35

pository Universitas Brawijaya
pository Universitas Brawijaya
pository Universitas Brawijaya
pository Universitas Brawijaya
tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol, C.
annuum cv. Himo, *C. frutescens* cv. Bird Eye
dan *C. frutescens* cv. S3212..... 36

DAFTAR TABEL

Nomor

Kandungan capsaicinoid dan tingkat kepedasan buah cabai

Halaman

12

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Scoring karakter morfologi dan kandungan capsaicin tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	47
2. Kurva standar capsaicin.....	49
3. Morfologi tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	50
4. Uji statistik karakter morfologi dan kandungan capsaicin tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	51
5. DNA <i>whole genome</i> dan PCR gen <i>pAMT</i> tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol.....	55
6. Hasil analisis sekuen gen <i>pAMT</i> tanaman cabai G1M8 dan G1 kontrol dengan <i>Capsicum annuum</i> cv. Himo dengan <i>Basic Local Alignments Search Tool</i> (BLAST).....	57
7. Alignment gen <i>pAMT</i> ekson 2 dan 3 tanaman cabai G1M8, G1 kontrol dan <i>Capsicum annuum</i> cv. Himo.....	58
8. Perubahan basa nukleotida gen <i>pAMT</i> tanaman G1M8 dan G1 kontrol.....	59
9. Kandungan capsaicin buah cabai G1M8 dan G1 kontrol.....	62

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol/ Singkatan

A₂₃₀

A₂₆₀

A₂₈₀

CI

CTAB

ddH₂O

DNA

DPA

EMS

G1

G1M8

HSP

HSS

HST

pAMT

PCI

PCR

Ph

RNA

sp.

TBE

TE

Simbol/Singkatan

μl

bp

kJ

IU

M

rpm

v/v

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Keterangan

absorbansi 230 nm

absorbansi 260 nm

absorbansi 280 nm

chloroform isoamylalcohol

cetyl trimethylammonium

bromide

akuabides

deoxyribonucleic acid

day post anthesis

ethyl methanesulfonate

genotipe 1

genotype 1, tanaman hasil

induksi EMS 0,01 % nomor 8

hari setelah pembuangan

hari setelah semai

hari setelah tanam

putative aminotransferase

phenol chloroform

isoamylalcohol

polymerase chain reaction

puissance d'hydrogène (tingkat

keasaman)

ribonucleic acid

Spesies

tris borate EDTA

tris EDTA

Nama unit

mikroliter

base pair

kilo joule

International Unit

Molar

rotasi per menit

volume per volume

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman cabai banyak dikembangbiakkan di Indonesia karena memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan masyarakat. Salah satu bagian tanaman cabai rawit yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat adalah buahnya. Buah cabai rawit memiliki rasa dan aroma yang khas, sehingga banyak digunakan sebagai bahan makanan. Selain itu, buah cabai banyak digunakan sebagai antibakteri, antikanker, antijamur dan keperluan medis lainnya. Oleh karena itu, peningkatan kualitas dan produktivitas tanaman cabai perlu dilakukan (Habibi dkk., 2013).

Variasi tanaman cabai berguna untuk pemilihan bibit unggul dan peningkatan kualitas hasil panen. Variasi genetik dapat ditingkatkan dengan cara pemberian perlakuan mutasi (Aslam dkk., 2017). Mutasi dapat dilakukan dengan induksi mutagen kimia, seperti *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) (Gandhi dkk., 2014). *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) dapat menyebabkan mutasi titik atau mutasi pada level gen. Mutasi yang ditimbulkan EMS bersifat acak atau tidak spesifik pada gen tertentu (Arisha dkk., 2015). Oleh karena itu, observasi molekuler perlu dilakukan terhadap tanaman hasil induksi EMS untuk mengetahui terjadinya mutasi pada gen tertentu dan pengaruhnya terhadap fisiologi maupun morfologinya.

Induksi mutasi dengan *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) dengan konsentrasi 0,01% terhadap tanaman cabai rawit G1 menghasilkan tanaman mutan dengan jumlah cabang, daun, serta kandungan capsaicin yang lebih tinggi dibandingkan tanaman hasil induksi mutasi lainnya dan kontrol. Salah satu tanaman mutan yang dihasilkan pada induksi EMS tersebut adalah mutan nomor 8 (M8) yang memiliki kecenderungan tanaman tinggi dan cabang yang banyak (Arruvitasari, 2016). Jika mutasi menghasilkan tanaman yang heterozigot, maka segregasi akan terjadi pada keturunannya. Adanya segregasi alel induk dapat mempengaruhi variasi karakter keturunannya (Rohini dkk., 2017). Oleh karena itu, variasi genetik pada tanaman mutan G1M8 generasi kedua perlu dianalisis secara morfologi, fisiologi dan molekuler.

Cabai rawit G1 hasil induksi mutasi 0,01% memiliki karakter pedas (Arruvitasari, 2016). Senyawa penyebab kepedasan di dalam

buah cabai adalah capsaicinoid. Senyawa capsaicinoid dalam buah cabai meliputi capsaicin, dihydrocapsaicin, nordihydrocapsaicin, homodihydrocapsaicin dan homocapsaicin. Senyawa capsaicinoid yang paling dominan di dalam buah cabai adalah capsaicin (Reyes-Escogido dkk., 2011). Capsaicin menyusun kurang lebih 71% total capsaicinoid dalam buah cabai pedas. Kandungan capsaicin dalam setiap tanaman cabai berbeda-beda, bergantung lingkungannya. Jenis atau varietas tanaman cabai juga dapat mempengaruhi kadar capsaicin yang dikandungnya (Wahyuni, 2014).

Setiap spesies tanaman cabai memiliki kandungan capsaicinoid yang berbeda (Cheema & Pant, 2011). Perbedaan kandungan capsaicinoid mempengaruhi perbedaan tingkat kepedasan (Gudeva dkk., 2013). Ekspresi gen pada biosintesis capsaicin dapat mempengaruhi kandungan capsaicin dalam cabai rawit (Stewart Jr. dkk., 2005). Salah satu gen yang berperan dalam biosintesis capsaicinoid yaitu gen *putative aminotransferase (pAMT)*. *Silencing* gen *pAMT* menyebabkan buah cabai memiliki tingkat kepedasan yang rendah atau bahkan tidak pedas (Abraham-Juárez dkk., 2008). Mutasi dengan pembentukan stop kodon pada basa ke-1291 bp pada gen *pAMT* cabai CH-19 sweet menghalangi translasinya, sehingga mengubah vanillin menjadi *vanillyl alcohol*. Hal tersebut mengubah jalur biosintesis capsaicinoid menjadi capsinoid, sehingga menghasilkan buah cabai yang tidak pedas (Lang dkk., 2009).

Metode sekuensing dapat digunakan untuk mendeteksi adanya mutasi pada suatu gen, baik berupa substitusi, insersi, maupun delesi. Metode tersebut dapat pula digunakan untuk mengetahui variasi pada tingkat genetik berdasarkan perbedaan basa nukleotida penyusun asam amino tertentu (Anderson & Schrijver, 2010). Berdasarkan hal-hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan analisis variasi genetik cabai rawit generasi kedua G1M8 hasil mutasi EMS 0,01% secara morfologi, kandungan capsaicin, serta profil parsial gen *pAMT*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana variasi morfologi cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) G1M8 dan G1 kontrol?
2. Bagaimana variasi kandungan capsaicin cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) G1M8 dan G1 kontrol?

3. Bagaimana profil parsial gen *pAMT* cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) G1M8 dan G1 kontrol, serta keterkaitannya dengan kandungan capsaicin?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengevaluasi variasi morfologi cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) G1M8 dan G1 kontrol,
2. Membandingkan variasi kandungan capsaicin cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) G1M8 dan G1 kontrol,
3. Menganalisis profil parsial gen *pAMT* cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) G1M8 dan G1 kontrol, serta keterkaitannya dengan kandungan capsaicin.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menyeleksi bibit cabai yang memiliki kualitas unggul. Selain itu, hasil penelitian ini juga dapat digunakan untuk aplikasi cabai rawit mutan, seperti antibakteri, antikanker, antioksidan, pengembangan varietas dan plasma nutfah cabai, dan lain-lain. Aplikasi peningkatan variasi genetik melalui persilangan dapat pula dilakukan pada cabai mutan berdasarkan hasil penelitian ini.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

2.1.1 Taksonomi cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tanaman dari divisi Magnoliophyta yang memiliki bunga dengan lima hingga enam helai mahkota bunga. Cabai rawit tergolong dalam kelas Magnoliopsida atau tanaman dikotil (berkeping dua). Cabai rawit termasuk dalam famili Solanaceae atau suku terung-terungan yang memiliki ciri khas buah berplasenta yang melindungi bijinya. Biji tanaman yang termasuk dalam famili Solanaceae berbentuk bulat dan berdiameter kurang lebih 3 mm. Cabai rawit tergolong dalam genus *Capsicum*. Genus *Capsicum* merupakan genus yang unik karena mengandung capsaicin yang menimbulkan rasa pedas. *Capsicum* berasal dari bahasa Latin “*Capsa*” yang berarti dada atau kotak. Hal tersebut disebabkan genus ini memiliki bentuk buah yang melindungi bijinya seperti di dalam kotak (Vazhacharickal & Joseph., 2016). Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) memiliki umur dua hingga tiga tahun. Cabai rawit juga memiliki ciri khas mahkota bunga berwarna putih kehijauan atau kuning kehijauan, antera berwarna biru, dan buah muda berwarna hijau, putih, dan putih kehijauan. Buah cabai rawit memiliki dimensi 5 x 1 cm dan memiliki rasa yang sangat pedas (Poulos, 1753; Undang dkk., 2015). Klasifikasi cabai rawit menurut Poulos (1753) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Sub Kingdom	: Trachobionta (tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: Magnoliophyta (menghasilkan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua atau dikotil)
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae (suku terung-terungan)
Genus	: <i>Capsicum</i>
Spesies	: <i>Capsicum frutescens</i> L.

Capsicum frutescens L. berasal dari Amerika Selatan dan telah tersebar ke seluruh dunia. Cabai rawit termasuk salah satu anggota genus *Capsicum* yang telah diidentifikasi dan didomestikasi di banyak negara, termasuk negara-negara di benua Asia. *Capsicum frutescens* L. dibawa masuk ke Asia oleh Portugis dan Spanyol pada

abad ke-16 melalui jalur perdagangan dari Amerika Selatan, *Capsicum frutescens* L. telah tersebar dengan berbagai nama, yaitu *chili* (Inggris), *phrik khinu* (Thailand), *silleng labuyo* (Filipina) dan cabai rawit (Indonesia) (Wahyudi, 2011). Cabai rawit merupakan jenis cabai yang banyak dibudidaya di Indonesia. Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dikenal dengan nama daerah *cabe rawit* (Sunda), *lombok rawit* (Jawa), *cabhi letek* (Madura), *leudeu jarum* (Sumatera), dan *lada marica* (Makassar). Salah satu kultivar cabai rawit di Indonesia yaitu Cakra Hijau. Cabai rawit Cakra Hijau memiliki rasa yang pedas. Distribusi cabai rawit tersebut tersebar luas karena kepedasan buah cabai dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan (Habibi dkk., 2013).

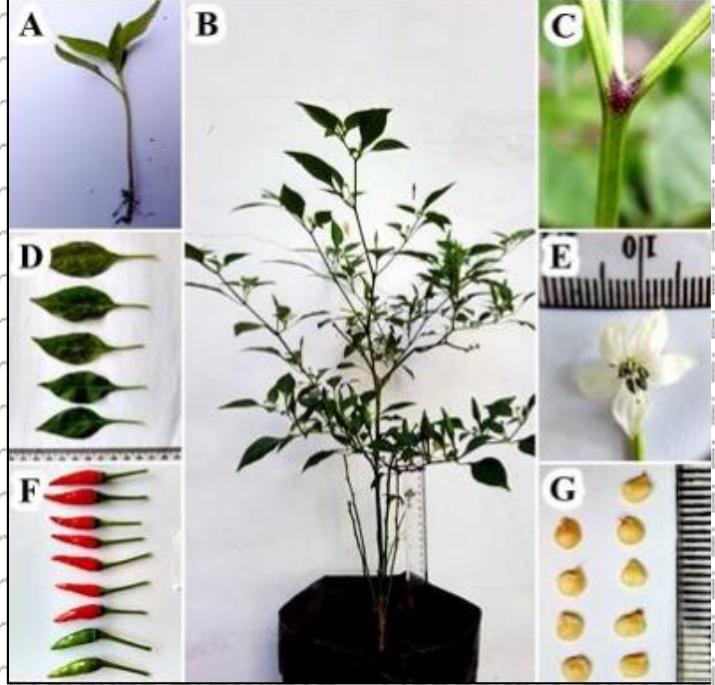
Cabai rawit tergolong tanaman yang banyak dimanfaatkan masyarakat. Hal itu disebabkan cabai rawit memiliki banyak kandungan gizi. Setiap 100 g buah cabai pedas mengandung 1,9 g protein, 1,9 g lemak, 9,2 g karbohidrat, 1,2 mg zat besi, 14,4 mg kalsium, 700-21.600 IU vitamin A, 242 mg vitamin C, dan 257 kJ energi total (Poulos, 1753). Cabai rawit memiliki akivitas antibiotik (Chapa-Oliver & Mejía-Teniente, 2016). Cabai rawit juga banyak dimanfaatkan sebagai obat di berbagai negara, seperti Cina dan Indonesia karena memiliki kandungan capsaicinoid (0,01-1,0% dari total berat kering buah cabai rawit). Capsaicinoid buah cabai banyak dimanfaatkan sebagai antijamur, antibakteri, antikanker, dan lain-lain (Wahyuni, 2014).

Cabai rawit mudah tumbuh di lingkungan yang sesuai dengan syarat tumbuhnya, yaitu iklim tropis atau subtropis dan suhu 24-28°C. Biji cabai mulai berkecambah pada 6-21 HSS. Cabai rawit biasanya berbunga pada 60-90 HST. Bunga terbuka pada 2-3 hari setelah munculnya kuncup bunga. Buah cabai rawit mulai matang pada 28-35 HSP. Periode puncak pemanenan buah cabai biasanya berkisar antara 120-280 HSS, tetapi tanaman masih dapat tetap bertahan hidup hingga tahun berikutnya jika masih dalam kondisi baik dan bebas penyakit (Poulos, 1753).

2.1.2 Karakter morfologi cabai rawit Genotipe 1 (G1)

Cabai rawit G1 memiliki karakteristik habitus tegak dengan tinggi tanaman $55,9 \pm 16,06$ cm (Gambar 1). Cabai rawit G1 memiliki lebar kanopi mencapai $51,4 \pm 5,54$ cm. Batang tanaman bersudut atau *angled* dengan panjang mencapai $27,2 \pm 10,81$ cm dan diameter 6,54

pository Universitas Brawijaya
pository Universitas Brawijaya
pository Universitas Brawijaya
pository \pm 1,70 mm. Batang cabai rawit G1 memiliki bulu rapat. Nodus batang tanaman ini memiliki warna ungu. Cabai rawit G1 memiliki daun lebat berwarna hijau tua untuk tanaman sehat. Daun tanaman ini berbentuk lanset (*lanceolate*) dengan tepi daun berbulu atau *ciliate*. Panjang daun tanaman mencapai $6,18 \pm 0,85$ cm (n=50) dan lebar $2,62 \pm 0,37$ cm. Bunga cabai rawit G1 memiliki posisi tegak dan terdapat satu bunga pada setiap aksil. Korola bunga melingkar atau *rotate* berwarna putih dengan panjang $0,90 \pm 0,16$ mm (n=50). Antera bunga cabai rawit G1 memiliki panjang 2 mm dan berwarna biru. Filamen bunga memiliki panjang 2 mm dan berwarna putih. Stigma bunga memiliki ukuran ygng lebih panjang daripada antera (Arumingtyas dkk., 2017).

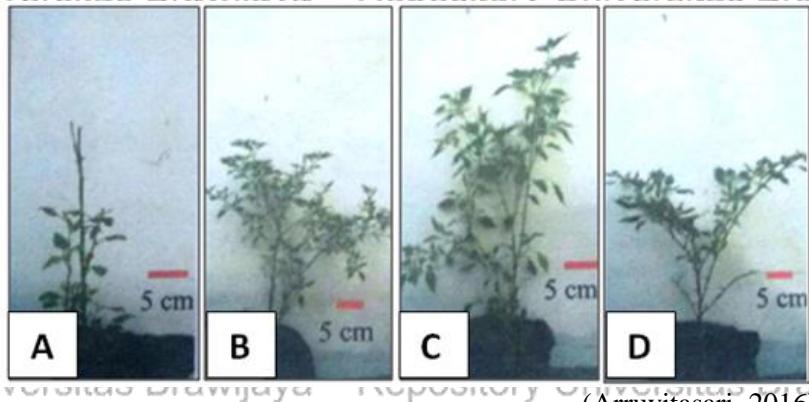


(Ratih, 2016)

Gambar 1. Morfologi cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) G1.
Keterangan: A. Bibit, B. Habitus, C. Nodus, D. Daun, E.
Bunga, F. Buah, G. Biji

Buah cabai rawit G1 memiliki bentuk memanjang atau *elongate* dengan panjang $3,06 \pm 0,30$ cm, lebar $0,92 \pm 0,07$ cm dan berat kurang lebih $1,21 \pm 0,20$ g (untuk buah matang). Tebal kulit buah sekitar $0,90 \pm 0,16$ mm. Buah mentah berwarna hijau, sedangkan buah matang berwarna merah. Permukaan buah agak berlekuk (*slightly corrugated*) dan halus. Buah cabai rawit G1 memiliki dua lokus dan panjang plasenta lebih dari setengah panjang buah. Setiap buah cabai rawit G1 memiliki biji berjumlah kurang lebih 45 biji dengan diameter $3,23 \pm 0,25$ mm dan permukaan halus (Ratih, 2016).

Cabai rawit G1 diinduksi mutasi dengan *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) konsentrasi 0,01%, 0,02% dan 0,04%. Morfologi tanaman cabai rawit mengalami perubahan setelah diinduksi mutasi. Tanaman mutan yang dihasilkan memiliki morfologi yang bervariasi (Gambar 2). Cabai rawit G1 hasil induksi dengan EMS 0,01% memiliki jumlah cabang dan daun yang lebih banyak daripada G1 kontrol. Kandungan capsaicin pada daun dan batang cabai rawit G1 mutan juga cenderung lebih tinggi daripada G1 kontrol (Arruvitasari, 2016).



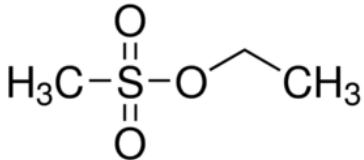
(Arruvitasari, 2016)

Gambar 2. Morfologi tanaman cabai rawit G1 kontrol dan perlakuan EMS. Keterangan: (A) G1 kontrol, (B) konsentrasi 0,01%, (C) konsentrasi 0,02%, (D) konsentrasi 0,04%

2.2 *Ethyl Methanesulfonate* (EMS)

Ethyl Methanesulfonate (EMS) merupakan salah satu mutagen kimia (Gambar 3) yang biasa ditambahkan untuk menghasilkan variasi genetik pada tanaman. Induksi EMS dapat menyebabkan

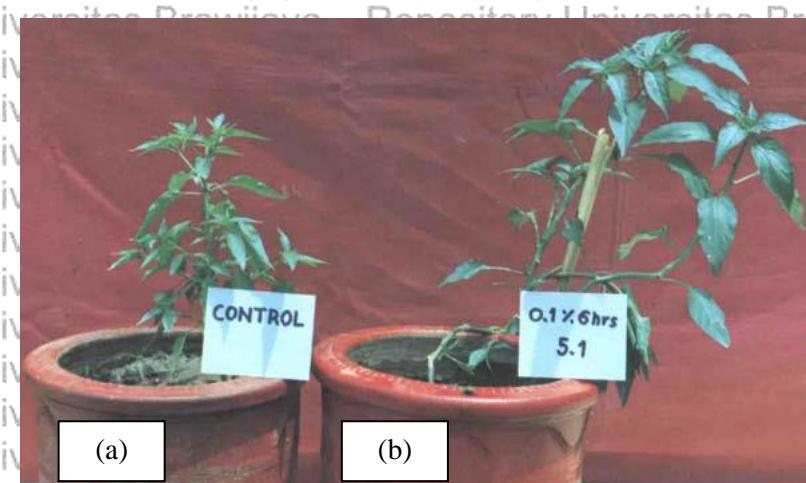
perubahan pada tingkat gen dan mempengaruhi kondisi fisiologi dan morfologi tanaman. Mutagen tersebut dapat menimbulkan delesi atau penghilangan, insersi atau penambahan dan substitusi atau penggantian basa nukleotida pada segment kromosom. Mutasi tersebut dapat mengubah suatu sekuen gen tanaman mutan, sehingga menyebabkan adanya polimorfisme dari tanaman kontrol. Efek mutasi oleh EMS tersebut merupakan mutasi titik yang bersifat acak (Jabeen & Mirza, 2004). Tanaman yang telah diinduksi dengan EMS dapat mengalami mutasi, sehingga mengakspresikan karakter yang berbeda dari induknya (Jabeen & Mirza, 2004).



(Sigma-Aldrich, 2017)

Gambar 3. Rumus kimia *Ethyl Methanesulfonate* (EMS)

Arruvitasari (2016) menyebutkan bahwa induksi mutasi dengan EMS berpengaruh terhadap jumlah cabang dan daun tanaman. Induksi EMS terhadap tanaman cabai G1 dengan konsentrasi 0,01% menghasilkan tanaman mutan dengan jumlah cabang dan daun yang lebih banyak dibandingkan dengan G1 kontrol, masing-masing memiliki rata-rata 8,6 cabang dan 297 helai. Selain itu, EMS dapat mempengaruhi kandungan capsaicin tanaman cabai. Induksi EMS dengan konsentrasi 0,01% pada tanaman cabai G1 dapat meningkatkan kandungan capsaicin pada daun. Jabeen & Mirza (2004) menyatakan bahwa induksi EMS dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas karakter morfologi tanaman. Induksi EMS dengan dosis 0,1% dengan lama perendaman biji 6 jam efektif dalam meningkatkan tinggi tanaman, jumlah cabang, serta lebar daun cabai (Gambar 4). Induksi EMS dapat meningkatkan produktivitas cabai, tetapi bersifat toksik jika konsentrasi terlalu tinggi ataupun waktu perendamannya terlalu lama. Induksi EMS dengan dosis 0,5% dengan waktu perendaman enam jam dapat menyebabkan kegagalan germinasi dan dosis 0,5% selama tiga jam menyebabkan tanaman steril dengan tidak menghasilkan bunga atau menghasilkan bunga



(Jabeen & Mirza, 2004)

Gambar 4. Morfologi tanaman mutan hasil induksi EMS pada *Capsicum annuum* L.: (a) Tanaman kontrol, (b) Tanaman hasil induksi EMS konsentrasi 0,1%

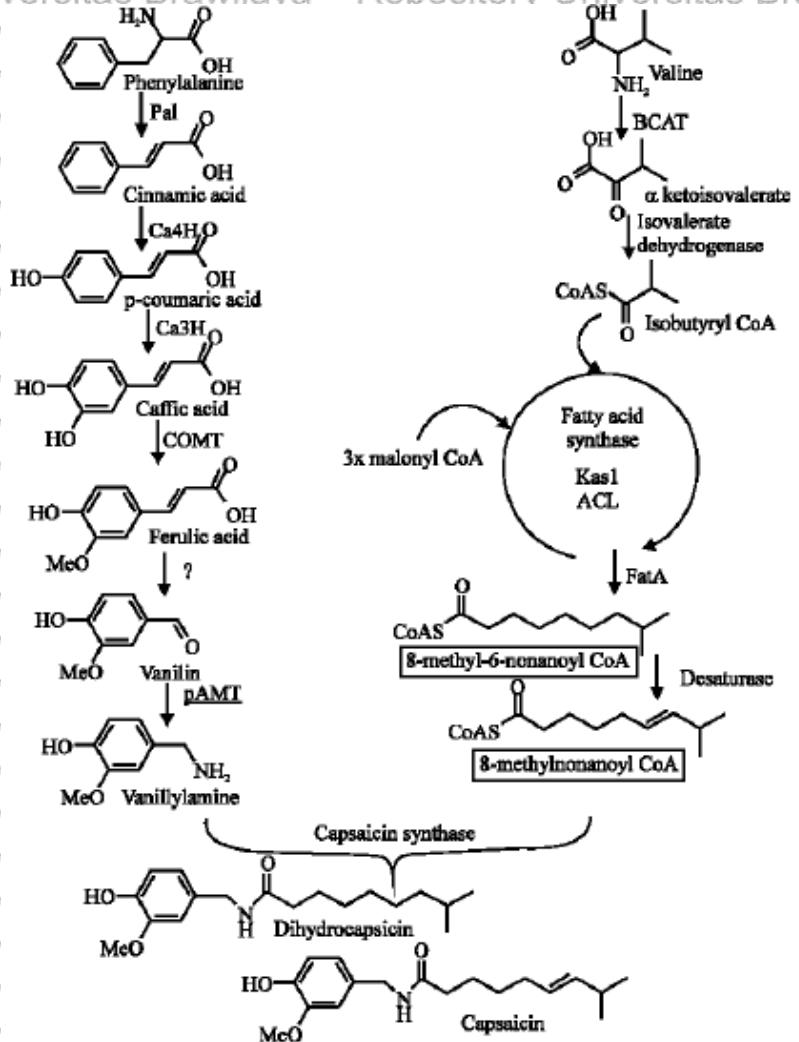
Induksi EMS dapat mempengaruhi struktur genetik tanaman. Mutagenesis dapat terjadi pada basa nukleotida dalam genom tanaman. Efek mutasi EMS dapat berbeda-beda pada setiap kromosom individu tanaman. Mutasi yang terjadi pada setiap genom dapat menimbulkan perubahan yang unik, sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi perubahan fenotipe yang terjadi. Analisis *Single-Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) melalui sekuensing dapat dilakukan, sehingga perubahan basa nukleotida dalam genom tanaman mutan dapat diketahui (Mohd-Yusoff dkk., 2015). Selain itu, teknik sekuensing juga dapat digunakan untuk mengetahui perubahan genetik tanaman mutan dengan mengidentifikasi terjadinya polimorfisme, baik berupa insersi maupun delesi basa nukleotida pada sekuen DNA (Munshi, 2012).

2.3 Biosintesis Capsaicin dan Gen *pAMT*

Capsaicin dibentuk di dalam buah cabai melalui dua jalur biosintesis, yaitu fenilpropanoid dan ikatan berantai asam lemak (Gambar 5) (Kumar dkk., 2011). Kedua jalur berasosiasi untuk menyintesis capsaicin (Ogawa dkk., 2015). Capsaicinoid dihasilkan melalui kondensasi vanillylamine dan 8-methyl-nonenoyl CoA. Vanillylamine dihasilkan dari biosintesis fenilpropamoid, sedangkan 8-methyl-nonenoyl CoA dihasilkan dari biosintesis ikatan berantai asam lemak (Gonzalez dkk., 2011). Biosintesis fenilpropanoid terjadi dengan adanya reaksi konversi fenilalanin, *cinnamic acid*, *p-coumaric acid*, *caffeic acid* dan *ferulic acid*, kemudian membentuk formasi vanillin dan vanillylamine. Biosintesis tersebut memiliki prekursor fenilalanin, sedangkan biosintesis ikatan berantai asam lemak memiliki prekursor valin atau leusin. Biosintesis capsaicinoid juga dipengaruhi oleh beberapa gen (Tanaka dkk., 2015).

Masing-masing jalur biosintesis capsaicinoid diatur oleh gen-gen yang berbeda. Gen *Pal*, *C4h*, *Comt*, dan *pAMT* merupakan gen-gen yang berperan pada jalur fenilpropanoid, sedangkan *Acl*, *Fat*, dan *Kas1* berperan pada jalur ikatan berantai asam lemak. Gen-gen tersebut penting dalam biosintesis capsaicinoid. Gen-gen tersebut terakumulasi pada sebagian besar buah muda, tetapi konsentrasi mereka menurun pada saat buah mulai matang. Level transkripsi ketiga gen tersebut memiliki hubungan dengan level kepedasan buah cabai. Hal tersebut disebabkan karena level transkripsi ketiga gen tersebut lebih tinggi pada buah cabai pedas (Curry dkk., 1999).

Gen *3-keto-acyl-ACP synthase* (*Kas*) dan *putative aminotransferase* (*pAMT*) berperan penting dalam biosintesis capsaicinoid. Gen *Kas* berperan dalam biosintesis ikatan berantai asam lemak. Sementara itu, gen *putative aminotransferase* (*pAMT*) memiliki peran dalam konversi vanillin ke vanillylamine dalam jalur fenilpropanoid (Sutoh dkk., 2006). Silencing gen-gen tersebut menyebabkan penurunan tingkat kepedasan buah cabai. Silencing gen *pAMT* dapat menyebabkan vanillin tidak dikonversi menjadi vanillylamine, akan tetapi vanillyl alkohol yang menyebabkan buah cabai rawit memproduksi capsinoid, senyawa yang memiliki struktur dan fungsi yang hampir sama dengan capsaicinoid, tetapi tidak pedas (Lang dkk., 2009). Penelitian Tanaka dkk. (2016) memberikan hasil bahwa gen *Kas* dan *pAMT* disintesis paling tinggi di dalam plasenta dan terdapat pula pada bagian *pericarp* buah cabai.



Gambar 5. Jalur biosintesis capsaicin cabai (*Capsicum* sp.)

2.4 Capsaicin ($C_{18}H_{27}NO_3$)

Cabai (*Capsicum* sp.) memiliki ciri khusus, salah satunya mengandung senyawa capsaicinoid yang menyebabkan rasa pedas. Kepedasan (*pungency*) cabai dipengaruhi oleh biosintesis senyawawijaya

(Kumar dkk., 2011)

capsaicin dan analognya. Al-Othman dkk. (2011) menyatakan bahwa buah cabai memiliki tingkat kepedasan yang berbeda-beda. Cabai merah secara umum memiliki kandungan capsaicinoid yang paling tinggi di antara jenis cabai lainnya dengan kategori sangat pedas. Sementara itu, cabai rawit memiliki tingkat kepedasan tertinggi kedua dengan kategori sangat pedas pula. Cabai hijau memiliki tingkat kepedasan menengah. Paprika merupakan jenis buah *Capsicum* yang tidak pedas karena hanya memproduksi sedikit capsaicinoid, bahkan tidak terdeteksi.

Kandungan capsaicinoid mempengaruhi level kepedasan buah cabai. Level kepedasan buah cabai dikategorikan menjadi lima, yaitu *non-pungent, mildly pungent, moderately pungent, highly pungent, dan very highly pungent*. Setiap level kepedasan memiliki kisaran kandungan capsaicinoid yang berbeda-beda (Tabel 1). Level kepedasan buah cabai juga menandai perbedaan setiap jenis atau varietas cabai. Hal itu disebabkan karena akumulasi capsaicinoid dalam buah cabai dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan (Weiss, 2002 dalam Usman dkk., 2014).

Tabel 1. Kandungan capsaicinoid dan tingkat kepedasan buah cabai

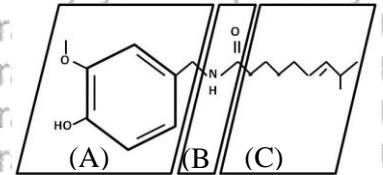
Level Kepedasan	Capsaicinoid (SHU)
<i>Non-pungent</i>	0–700
<i>Mildly pungent</i>	700–3,000
<i>Moderately pungent</i>	3,000–25,000
<i>Highly pungent</i>	25,000–70,000
<i>Very highly pungent</i>	>80,000

(Weiss, 2002 dalam Usman dkk., 2014)

Capsaicin disintesis di dalam plasenta buah cabai yang mengalami maturasi. Capsaicin termasuk dalam salah satu jenis capsaicinoid yang dibentuk dan diakumulasi pada sel-sel epidermis yang mengalami elongasi. Capsaicinoid memiliki diameter 1-2 μm dan berbentuk granula yang hanya ditemukan pada sel-sel epidermis plasenta buah cabai. Oleh karena itu, plasenta buah cabai diketahui merupakan tempat akumulasi capsaicinoid. Selain itu, capsaicinoid juga diakumulasi di dalam *pericarp* dan biji buah cabai, tetapi dalam jumlah yang sedikit (Fujiwake dkk., 1980).

Capsaicin termasuk alkaloid yang memiliki struktur molekul unik (Gambar 6) dan dihasilkan oleh tanaman genus *Capsicum*. Capsaicin

banyak ditemukan di dalam buah cabai, salah satunya cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) (Reyes-Escogido, 2011). Capsaicin memiliki banyak manfaat, diantaranya sebagai bahan makanan dan penyedap masakan, serta digunakan dalam bidang kesehatan, seperti antioksidan, antikanker, dan mencegah kegemukan dengan cara menghambat penimbunan lemak. Masyarakat di berbagai daerah di dunia menyukai cabai karena dapat pula digunakan untuk menghangatkan tubuh (Kim dkk., 2014).



(Reyes-Escogido dkk., 2011)

Gambar 6. Struktur kimia capsaicin. Keterangan: (A) cincin aromatik, (B) ikatan amida dan (C) ikatan sisi hidrofobik

Capsaicin merupakan komponen capsaicinoid utama yang terkandung dalam cabai. Capsaicin (*trans*-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) memiliki bentuk kristal, tidak memiliki rasa dan warna. Rumus molekul capsaicin yaitu $C_{18}H_{27}NO_3$ dengan berat molekul 305,40 g/mol. Capsaicin larut dalam lemak, alkohol dan minyak. Capsaicin selalu ditemukan dalam bentuk isomer *trans* karena jika dalam bentuk isomer *cis*, maka $-CH(CH_3)_2$ dan rantai yang lebih panjang pada sisi lain ikatan rangkap dapat saling berdekatan dan menyebabkan terjadinya sedikit penolakan. Hal tersebut tidak terjadi pada isomer *trans*, sehingga susunannya lebih stabil. Bagian struktur kimia capsaicin (Gambar 6) terdiri atas cincin aromatik, ikatan amida dan ikatan sisi hidrofobik (Reyes-Escogido dkk., 2011).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan bulan Oktober 2017-Mei 2018. Budidaya tanaman cabai dan pengamatan morfologi dilaksanakan di kebun cabai Jl. Margo Basuki no. 31, Dau, Malang dan analisis fisiologi dan molekuler di Laboratorium Fisiologi, Kultur Jaringan dan Mikroteknik Tumbuhan dan Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

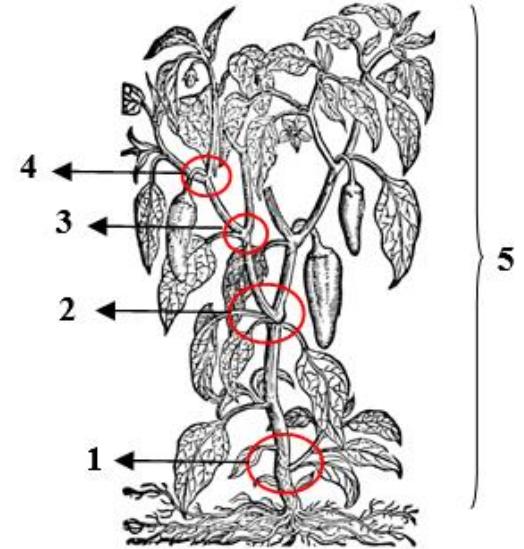
3.2 Penanaman Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

Sampel yang digunakan adalah generasi kedua (F2) tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) Genotipe 1 nomor 8 (G1M8) hasil induksi EMS 0,01% sebanyak 10 tanaman dan G1 kontrol (tanaman yang tidak diinduksi EMS) sebanyak tiga tanaman. Biji cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol masing-masing disemai pada media tanam campuran tanah dan kompos (3:1, v/v) dalam pot kecil dan diletakkan pada tempat dengan penyinaran yang cukup. Bibit yang berumur 14 HST dan tampak sehat dipindahkan pada media tanam (campuran tanah dan kompos (3:1, v/v)) dalam pot berdiameter 28 cm. Tanaman diletakkan pada tempat dengan penyinaran yang cukup. Penyiraman dilakukan setiap pagi atau sore hari secukupnya. Pupuk daun diberikan setiap satu minggu sekali pada pagi hari, disemprotkan pada bagian bawah daun. Perlindungan dari Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) dilakukan dengan penyirian gulma dan pemberian fungisida.

3.3 Pengamatan Morfologi Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

Karakter morfologi tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol diamati pada saat tanaman berumur 92 HST. Pengamatan dilakukan terhadap 10 tanaman cabai rawit G1M8 dan tiga tanaman G1 kontrol. Karakter yang dimati meliputi tinggi tanaman, jumlah cabang, waktu pembungaan, panjang, diameter dan berat buah, jumlah biji, serta beberapa karakter kualitatif yaitu warna antera, warna mahkota bunga, dan warna buah muda. Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari

pangkal batang hingga bagian tanaman tertinggi. Jumlah cabang yang dihitung meliputi jumlah tunas air (cabang yang muncul dari bagian pangkal batang tanaman), cabang primer, sekunder dan tersier (Gambar 7). Waktu pembungaan dihitung pada awal munculnya bunga dan ditandai untuk menghitung umur buah. Pengukuran ukuran buah dan jumlah biji dilakukan sebanyak tiga ulangan pada setiap tanaman. Buah dan biji diamati saat buah telah berumur 30-40 HSP karena merupakan periode ideal pemanenan cabai rawit dengan kandungan capsaicin yang tinggi dalam satu periode buah, sebelum konsentrasiannya mengalami penurunan (Arce-Rodríguez & Ochoa-Alejo, 2015). Pengukuran panjang buah dilakukan dari pangkal (bagian buah terdekat dengan tangkai buah) hingga ujung buah, sedangkan pengukuran diameter buah dilakukan pada bagian pangkal buah secara melintang. Pengamatan morfologi kualitatif tanaman cabai rawit G1 dilakukan pada mahkota bunga, antera dan buah dengan tiga ulangan pada setiap individu.



Gambar 7. Morfologi tanaman cabai rawit yang diamati. Keterangan:
1=tunas air, 2=cabang primer, 3=cabang sekunder,
4=cabang tersier, 5=tinggi tanaman yang diukur

3.4 Pengukuran Kandungan Capsaicin

Larutan standar capsaicin dibuat dengan serbuk standar capsaicin dilarutkan dalam etanol absolut 1:1 (v/v) dan digunakan sebagai stok.

Larutan standar capsaicin dibuat dengan konsentrasi 0; 20; 40; 60; 80 dan 100 ppm. Larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya menggunakan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang 280 nm. Nilai absorbansi larutan dibuat kurva standar, sehingga didapat persamaan linear berikut:

$$y = ax + b \quad (1)$$

Keterangan:

y = absorbansi larutan (nm)

x = konsentrasi capsaicin sampel (ppm)

Ekstraksi capsaicin dilakukan pada buah cabai mutan G1M8 dan G1 kontrol yang telah berumur 30-40 HSP. Plasenta dan *pericarp* buah cabai dipisahkan dari bijinya dan ditimbang sebanyak 0,5 g. Buah cabai kemudian ditambah dengan 5 ml etanol absolut dan digerus dengan mortar dan *pestle*. Homogenat disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat diencerkan dalam pelarut etanol absolut dengan faktor pengenceran 10x, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 280 nm. Nilai absorbansi sampel disubtitusi pada persamaan kurva standar capsaicin untuk mengetahui konsentrasi capsaicin sampel.

Konsentrasi capsaicin (ppm) hasil substitusi absorbansi sampel pada rumus (1) dikonversi menjadi konsentrasi capsaicin (mg/g) dengan rumus berikut:

$$\text{Capsaicin (mg/g)} = \frac{(C \times F_p \times V) \times 10^{-3}}{W} \quad (2)$$

Keterangan:

C = Konsentrasi capsaicin sampel (ppm)

F_p = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (mg)

V = Volume pelarut (L)

3.5 Analisis Profil Parsial Gen *pAMT* Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

3.5.1 Isolasi DNA genom

Daun cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol dipetik pada pagi hari dan disimpan dalam keadaan lembab. Daun cabai ditimbang sebanyak 0,1 g dan ditambah nitrogen cair, kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan *pestle*. Homogenat dimasukkan dalam *microtube* dan ditambahkan 700 μ L CTAB, lalu diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 65°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan diambil dan ditambah 1x volume PCI lalu disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Supernatan diambil, dipindah ke dalam *microtube* baru dan ditambah 1x volume CI. Sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 13.000 rpm dalam suhu 4°C selama 10 menit, kemudian diambil supernatannya. Supernatan ditambah ammonium asetat dengan volume 0,1x volume supernatan dan ditambah etanol absolut dengan volume 2,5x volume larutan (campuran supernatan dan ammonium asetat), lalu di-*mix gentle*. Sampel diinkubasi pada -20°C selama semalam. Sampel di-*thawing*, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet ditambah etanol 70% dan di-*tapping*. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Supernatan dibuang dan pelet dilarutkan dengan 50 μ L buffer TE pH 7,6. Sampel disimpan dalam suhu -20°C.

3.5.2 Uji kualitatif dan kuantitatif DNA genom

Uji kualitatif DNA genom dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Gel agarosa dibuat dengan 20 mL TBE yang ditambah 0,2 g serbuk agarosa. Campuran kemudian dipanaskan pada penangas air hingga mendidih. Bahan dibiarkan pada suhu ruang hingga hangat. Setelah itu ditambahkan 1,5 μ L EtBr dan dihomogenkan. Larutan dituang dalam cetakan gel yang telah dipasang sisir. Bahan dibiarkan memadat. Sisir diambil untuk membentuk sumuran pada gel. Gel agarosa 1% dimasukkan dalam *chamber* elektroforesis dan digenangi dengan buffer TBE. Sebanyak

3 μ L sampel DNA genom yang telah ditambah 1 μ L *loading dye* dimasukkan dalam sumuran, kemudian elektroforesis di-running dengan voltase 60 Volt selama 45 menit. Visualisasi dilakukan menggunakan transiluminator UV-Vis.

Uji kuantitatif dilakukan dengan metode spektrofotometri. Kuvet dibersihkan dengan akuades dan dikalibrasi dengan buffer TE. Sampel DNA dimasukkan dalam kuvet, lalu diukur absorbansinya dalam spektrofotometer UV. Panjang gelombang yang digunakan dalam metode ini yaitu 230 nm, 260 nm dan 280 nm. Kenurnian DNA dari kontaminan RNA dan protein ditentukan dengan A_{260}/A_{280} , sedangkan kemurnian DNA dari polisakarida ditentukan dengan A_{260}/A_{230} . Kemurnian DNA dari kontaminan berkisar antara 1,8-2,0 (Fatchiyah dkk., 2011).

3.5.3 Amplifikasi dan sekruensi gen *pAMT*

DNA genom tanaman cabai rawit GIM8 mutan dan CL Kontrol diamplifikasi dengan metode PCR. Larutan yang akan diamplifikasi sebanyak 20 μ L terdiri atas 7 μ L ddH₂O, 10 μ L PCR-mix (*Taq polymerase*, dNTP, ion Mg²⁺, buffer PCR), 1 μ L masing-masing primer gen *pAMT forward*: 5'-GAAATCTTGAAGGAATGGCC-3' dan *reverse*: 5'-GAGGTCTATAAGAACGACATC-3', serta 1 μ L sampel DNA dicampurkan dalam *microtube* dan *di-spin down* selama ± 3 detik. Larutan kemudian dimasukkan dalam PCR yang diprogram 30x siklus, pre-denaturasi dengan suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi dengan suhu 94°C selama 1 menit, annealing dengan suhu 53°C selama 2 menit, ekstensi dengan suhu 72°C selama 1:50 menit dan pos-ekstensi dengan suhu 72°C selama 7 menit. Hasil PCR (amplikon) diuji kualitatif dengan gel agarosa dengan konsentrasi 1% dan voltase 60 Volt selama 45 menit. Hasil uji kualitatif divisualisasi dengan transiluminator UV-Vis. Hasil amplifikasi PCR dianalisis menggunakan metode sekruensi untuk mengetahui profil parsial gen *pAMT*.

3.6 Analisis Data

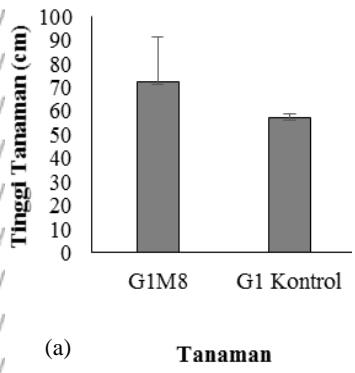
Analisis data morfologi dan kandungan capsaicin dilakukan dengan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov. Data normal diuji menggunakan uji T tidak berpasangan (*T-Independent Test*), sedangkan data tidak normal diuji dengan uji statistik non-parametrik

Mann-Whitney dengan taraf signifikansi 0,05. Dendrogram yang menunjukkan similaritas tanaman G1M8 dan G1 kontrol dibuat berdasarkan similaritas Bray-Curtis. Data morfologi dan kandungan capsaicin dibuat skor (*scoring*) berdasarkan kisaran menurut IPGRI, AVRDC, & CATIE (1995), Arisha dkk. (2015) dan Weiss (2002) dalam Usman dkk. (2014) untuk mengetahui mutan yang unggul. Data hasil sekruensing dianalisis dengan metode penyejajaran *ClustalW Multiple Alignment*. Hasil penyejajaran profil parsial gen *pAMT* G1M8 dan G1 kontrol dibandingkan dengan *Capsicum annuum pAMT gene for putative Aminotransferase cultivar: Himo* (kode genebank: LC032105.1) dari NCBI.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

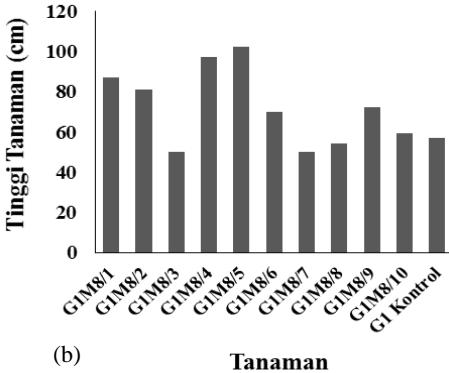
4.1 Variasi Morfologi Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

Tinggi tanaman G1 mutan dan G1 kontrol bervariasi. Sebanyak 70% tanaman G1M8 cenderung lebih tinggi dan 30% lebih rendah daripada G1 kontrol. Tinggi tanaman G1M8 dan G1 kontrol dikelompokkan menjadi beberapa kategori (LT2). Sebanyak 30% tanaman G1M8 termasuk kategori tanaman sangat tinggi (>85 cm), 30% tinggi (66-85 cm), dan 40% sedang atau normal (45-65 cm), dan G1 kontrol memiliki tinggi tanaman sedang atau normal. Tanaman G1M8/5 merupakan tanaman mutan cabai rawit G1 yang paling tinggi (102,5 cm), kemudian G1M8/4 pada urutan kedua (97,2 cm) dan G1M8/1 pada urutan ketiga (87,2 cm).



(a)

Tanaman



(b)

Tanaman

Gambar 8. Tinggi tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: (a) Perbedaan rata-rata G1M8 dan G1 kontrol, (b) Perbedaan antar G1M8 dan G1 kontrol, tidak adanya notasi (*) menunjukkan tanaman mutan G1M8 tidak berbeda nyata terhadap G1 kontrol ($\alpha=0,05$)

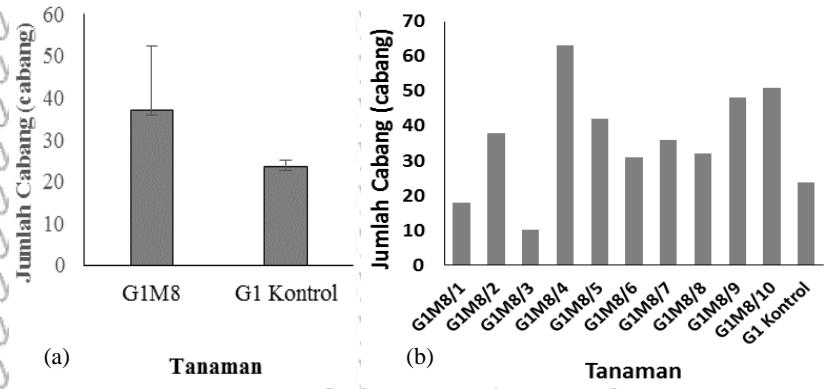
Tinggi tanaman G1M8 tidak berbeda nyata dengan G1 kontrol (Gambar 8a, LT6). Akan tetapi, sebagian besar tanaman G1M8 lebih tinggi daripada G1 kontrol (Gambar 8b). Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman mutan lebih tinggi daripada G1 kontrol. Tinggi tanaman dapat dipengaruhi oleh segregasi tanaman induk, terutama

tanaman yang bersifat heterozigot (Rohini dkk., 2017). Hal tersebut mengindikasikan bahwa respon karakter tinggi tanaman pada setiap individu berbeda kemungkinan disebabkan oleh adanya segregasi tanaman induk.

Jumlah cabang tanaman G1M8 tidak berbeda nyata dengan G1 kontrol (Gambar 9a dan LT5). Akan tetapi, sebanyak 80% tanaman G1M8 memiliki jumlah cabang yang cenderung lebih banyak daripada kontrol (Gambar 9b). Jumlah cabang dikelompokkan menjadi beberapa kategori (LT2). Sebanyak 20% tanaman G1M8 memiliki jumlah cabang sangat sedikit (<20 cabang), 50% sedang (31-40 cabang), 20% banyak (41-50 cabang), dan 10% sangat banyak (>50 cabang), sementara G1 kontrol memiliki jumlah cabang sedikit (21-30 cabang). Arruvitasari (2016) menyebutkan bahwa induksi mutasi dengan EMS 0,01% terhadap tanaman cabai G1 generasi pertama dapat meningkatkan jumlah cabang. Aslam dkk. (2017) menyatakan bahwa mutasi titik oleh mutagen kimia dapat menyebabkan perubahan genetik dan menimbulkan variasi antar individu. Karakter yang mengalami perubahan akibat EMS dapat diturunkan kepada generasi berikutnya. Hal itu menunjukkan bahwa induksi mutasi dengan EMS konsentrasi 0,01% dapat meningkatkan karakter jumlah cabang tanaman mutan G1 pada generasi pertama, kemudian karakter unggul tersebut diturunkan pada tanaman generasi berikutnya.

Tinggi tanaman dan jumlah cabang merupakan karakter yang penting untuk mengetahui variasi genetik tanaman. Hal itu disebabkan karakter tersebut dapat berbeda antar spesies dan memiliki heritabilitas kurang lebih 85% (Choudhary & Samadha, 2004). Bidgoli dkk. (2006) menyatakan bahwa tinggi tanaman mempengaruhi biomassa tanaman, seperti berat basah, berat kering dan jumlah bahan organik yang diproduksi tanaman, sedangkan jumlah cabang mempengaruhi produktivitas bunga dan buah tanaman. Variasi tinggi dan jumlah cabang tanaman dapat dipengaruhi oleh mutasi atau kandungan hormon yang berbeda-beda pada setiap tanaman. Mutasi dapat mengubah susunan genetik, sehingga hal tersebut juga mempengaruhi kondisi fisiologis tanaman (Cline, 1994). Sesuai dengan teori dominansi apikal, tinggi tanaman berhubungan dengan jumlah cabang. Dominansi apikal merupakan kontrol pertumbuhan yang dikendalikan oleh tunas batang utama. Dominansi apikal dapat menghambat pertumbuhan tunas lateral. Pertumbuhan tunas apikal dikendalikan oleh hormon auksin dan

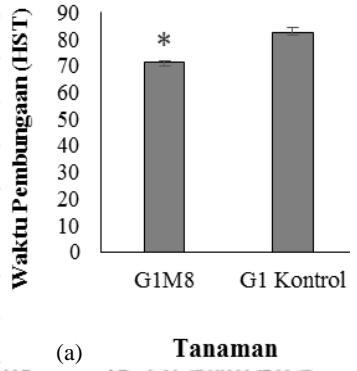
dihambat oleh hormon sitokinin (Cline, 1997). Respon percabangan berhubungan dengan transportasi nutrisi. Hormon sitokinin menyebabkan nutrisi ditransportasikan dari akar ke cabang dan menghasilkan pertumbuhan cabang yang pesat (Arumingtyas dkk., 2010). Akan tetapi, hasil penelitian ini tidak sesuai dengan teori tersebut. Pertumbuhan tanaman yang tinggi juga diiringi dengan pertumbuhan cabang yang pesat, seperti pada tanaman G1M8/4, G1M8/5 dan G1M8/9 (Gambar 8 dan 9). Induksi EMS 0,01% diduga dapat menyebabkan mutasi pada gen-gen yang mengendalikan sintesis hormon pertumbuhan tanaman, seperti auksin dan sitokinin. Mutasi tersebut kemungkinan menyebabkan respon tanaman mutan yang lebih baik terhadap lingkungan dibandingkan kontrol. Hal tersebut ditunjukkan oleh karakter tinggi dan jumlah cabang tanaman mutan yang lebih unggul daripada kontrol. Akan tetapi, pengaruh EMS terhadap sintesis hormon-hormon tersebut pada tanaman mutan G1M8 perlu diteliti lebih lanjut.



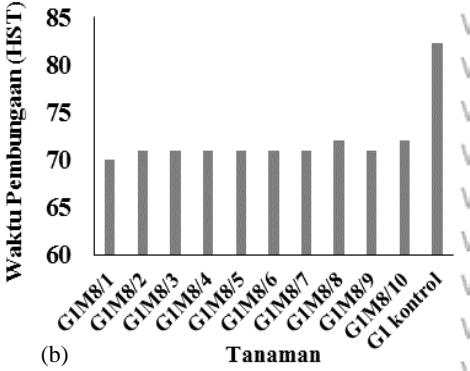
Gambar 9. Jumlah cabang tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: (a) Perbedaan rata-rata G1M8 dan G1 kontrol, (b) Perbedaan antar G1M8 dan G1 kontrol, tidak adanya notasi (*) menunjukkan tanaman mutan G1M8 tidak berbeda nyata terhadap G1 kontrol ($\alpha=0,05$)

Waktu pembungaan tanaman cabai rawit G1M8 berbeda nyata dengan G1 kontrol (Gambar 10a dan LT6). Tanaman G1M8 memiliki waktu pembungaan rata-rata 71 HST sedangkan G1 kontrol 82,3 HST (Gambar 10b). Seluruh tanaman G1M8 berbunga lebih

cepat daripada G1 kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses perkembangan tanaman hasil induksi EMS lebih cepat. Hasil pengamatan terhadap waktu pembungaan ini sesuai dengan penelitian Dhakshanamoorthy dkk. (2013) yang menunjukkan bahwa induksi EMS terhadap tanaman dapat mempercepat waktu pembungaan tanaman mutan. Jabeen & Mirza (2004) menyatakan bahwa induksi mutasi dengan EMS dapat mempengaruhi gen-gen yang bekerja dalam mekanisme pembungaan dan pematangan buah.



(a)

Tanaman

(b)

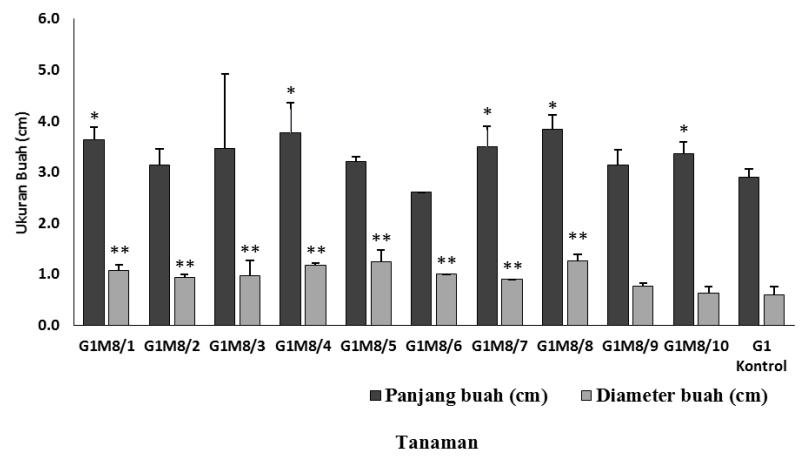
Tanaman

Gambar 10. Waktu pembungaan tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: (a) Perbedaan rata-rata G1M8 dan G1 kontrol, (b) Perbedaan antar G1M8 dan G1 kontrol, notasi (*) menunjukkan tanaman mutan G1M8 berbeda nyata dengan G1 kontrol ($\alpha=0,05$)

Jung & Müller (2009) menyatakan bahwa proses pembungaan tanaman dipengaruhi oleh faktor genetik, fisiologi, dan lingkungan. Tanaman G1M8 dan G1 kontrol dalam penelitian ini ditumbuhkan pada lingkungan yang sama, tetapi waktu pembungaan tanaman G1M8 lebih cepat. Waktu pembungaan yang lebih cepat kemungkinan disebabkan pengaruh mutasi oleh EMS 0,01%. *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) diduga dapat menyebabkan perubahan susunan gen yang berpengaruh dalam proses pembungaan tanaman, seperti gen-gen yang terkait dengan proses biosintesis hormon giberelin yang menginduksi pembungaan, vernalisasi, dan fotoperiode (Michaels, 2009). Munculnya bunga menandai bahwa suatu tanaman telah memasuki fase generatif dan siap memproduksi buah. Tanaman yang lebih cepat berbunga menandakan bahwa

tanaman tersebut memiliki kemampuan produktivitas buah yang lebih cepat (Arisha dkk. 2015). Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman G1M8 dalam penelitian ini memiliki kemampuan produktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan G1 kontrol.

Seluruh tanaman memiliki panjang buah normal dengan kisaran 1-5 cm (LT2). Panjang buah tanaman G1M8 bervariasi (Gambar 11 dan LT5). Sebanyak 90% tanaman G1M8 memiliki buah lebih panjang daripada G1 kontrol. Tanaman cabai rawit yang memiliki buah paling panjang adalah G1M8/8, G1M8/4 dan G1M8/1 dengan panjang buah berturut-turut $3,63 \pm 0,25$ cm, $3,77 \pm 0,59$ cm, dan $3,83 \pm 0,29$ cm. Sementara itu, panjang buah cabai rawit G1 kontrol yaitu $2,73 \pm 0,36$ cm. Induksi mutasi EMS 0,01% diduga memberikan pengaruh terhadap variasi panjang buah tanaman G1M8.



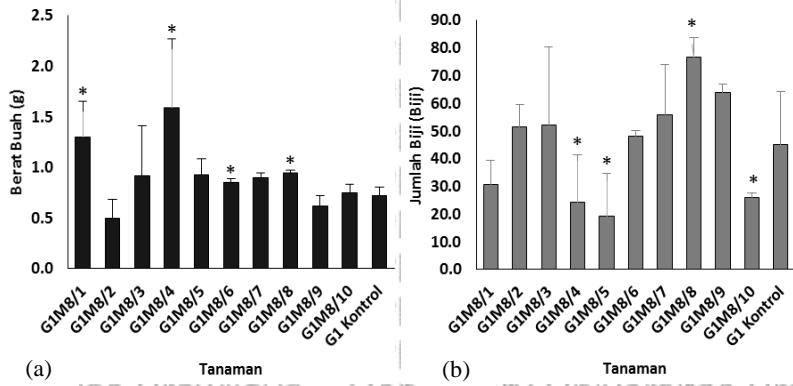
Gambar 11. Panjang dan diameter buah cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: notasi (*) dan (**) menunjukkan tanaman mutan G1M8 berbeda nyata terhadap G1 kontrol pada masing-masing karakter ($\alpha=0,05$)

Diameter buah tanaman G1M8 terbagi menjadi tiga kelompok berdasarkan *scoring* (LT2), yaitu tanaman dengan diameter buah sangat lebar (>2 cm) sebanyak 30%, lebar (1-2 cm) sebanyak 20% dan normal (0,5-1 cm) sebanyak 50%, sementara G1 kontrol memiliki diameter buah normal. Diameter buah paling lebar dimiliki oleh tanaman G1M8/8 ($1,27 \pm 0,12$ cm), kemudian G1M8/5 ($1,23 \pm 0,23$ cm) pada urutan kedua dan G1M8/4 ($1,17 \pm 0,06$ cm) pada

urutan ketiga. Seluruh tanaman G1M8 memiliki diameter buah yang lebih lebar daripada G1 kontrol (Gambar 11 dan LT5). Hal tersebut menunjukkan bahwa diameter buah cabai G1 dapat meningkat karena pengaruh induksi EMS 0,01% pada generasi pertama dan diturunkan kepada generasi kedua, ataupun adanya segregasi antar tanaman induk.

Berat buah cabai G1M8 dan G1 kontrol bervariasi. Sebanyak 80% tanaman G1M8 memiliki buah yang lebih berat daripada G1 kontrol dan 20% lebih ringan (Gambar 12a). Tanaman G1M8/4 memiliki buah yang paling berat ($1,59 \pm 0,69$ g), G1M8/1 pada urutan kedua ($1,29 \pm 0,36$ g) dan G1M8/8 pada urutan ketiga ($0,94 \pm 0,03$ g), sedangkan G1 kontrol memiliki berat buah $0,55 \pm 0,30$ g. Jumlah biji pada buah cabai G1M8 dan G1 kontrol bervariasi. Sebanyak 60% tanaman G1M8 memiliki jumlah biji yang lebih banyak daripada G1 kontrol, tetapi 40% lebih sedikit (Gambar 12b). Tanaman G1 kontrol memiliki jumlah biji $43,73 \pm 8,45$ biji, sedangkan G1M8 memiliki jumlah biji antara 19-76 biji. Jumlah biji paling banyak dimiliki oleh tanaman G1M8/8 ($76,67 \pm 7,02$ biji), G1M8/9 pada urutan kedua ($64 \pm 3,00$ biji) dan G1M8/7 pada urutan ketiga ($56 \pm 18,03$ biji).

Tanaman G1M8 yang memiliki jumlah biji dengan kategori sedang (51-199 biji) sebanyak 50% dan sedikit (<50 biji) sebanyak 50%, sedangkan jumlah biji tanaman G1 kontrol termasuk dalam kategori sedikit (LT2).



Gambar 12. Morfologi generatif tanaman cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: (a) Berat buah, (b) Jumlah biji, notasi (*) menunjukkan tanaman mutan G1M8 berbeda nyata terhadap G1 kontrol ($\alpha=0,05$)

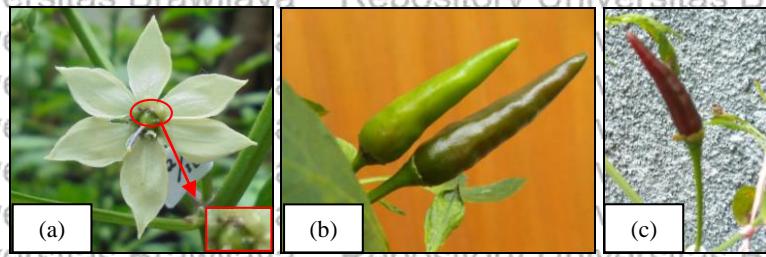
Berat buah cabai rawit G1M8 berbeda nyata dengan G1 kontrol (LT6). Akan tetapi, jumlah biji dalam buah cabai G1M8 tidak berbeda nyata dengan G1 kontrol (LT5). Hal tersebut menunjukkan bahwa induksi EMS 0,01% berpengaruh terhadap berat buah, tetapi tidak berpengaruh pada jumlah biji dalam buah cabai G1. Buah cabai yang tergolong berat tetapi tidak diiringi dengan banyaknya biji kemungkinan disebabkan oleh *pericarp* atau plasenta yang tebal. Induksi EMS 0,01% diduga memberikan pengaruh terhadap pembentukan plasenta dan *pericarp* buah cabai.

Karakter buah yang meliputi panjang, diameter, berat buah dan jumlah biji) saling berkaitan (Carvalho dkk., 2014). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tanaman G1M8 memiliki ukuran (panjang dan diameter) dan berat buah yang berbeda nyata dengan G1 kontrol, tetapi jumlah bijinya tidak (LT5 dan LT6). Tanaman G1M8/4 dan G1M8/10 memiliki buah yang lebih berat dengan ukuran yang lebih panjang dan lebar daripada G1 kontrol, tetapi memiliki jumlah biji yang lebih sedikit. Hasil tersebut tidak sejalan dengan pendapat Tiwari dkk. (2011) bahwa semakin panjang dan lebar ukuran buah dan semakin banyaknya biji dalam buah suatu tanaman, maka buah tersebut semakin berat. Akan tetapi, Dias dkk. (2013) menyatakan bahwa berat buah berkaitan dengan ukuran buah dan jumlah biji, tetapi jumlah biji tidak berkaitan dengan ukuran buah.

Cabai rawit G1M8 maupun G1 kontrol memiliki mahkota bunga berwarna putih, antera berwarna ungu, serta buah muda berwarna hijau dan ungu (Gambar 13). Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) menurut Undang dkk. (2015) memiliki mahkota bunga berwarna putih kehijauan atau kuning kehijauan, antera berwarna biru, dan buah muda berwarna hijau, putih, dan putih kehijauan. Sementara itu, *Capsicum annuum* L. memiliki mahkota bunga berwarna putih atau ungu, antera berwarna ungu, dan buah muda berwarna hijau ungu, putih kehijauan (Undang dkk., 2015). Hal tersebut menunjukkan bahwa beberapa karakter morfologi tanaman cabai G1 yang diamati memiliki perbedaan dengan cabai rawit umumnya (*Capsicum frutescens* L.) dan memiliki kemiripan dengan *Capsicum annuum* L.

Induksi EMS 0,01% dapat meningkatkan variasi morfologi tanaman mutan G1M8. Arisha dkk. (2015) menyatakan bahwa perubahan karakter morfologi dapat disebabkan karena adanya kontrol gen. Induksi EMS menyebabkan mutasi titik terhadap genom tanaman. Mutasi titik tersebut dapat menyebabkan perubahan

susunan basa nukleotida yang dapat menyebabkan perubahan asam amino. Perubahan asam amino tersebut dapat menyebabkan perubahan morfologi. Akan tetapi, mutasi EMS besifat acak, sehingga tanaman mutan memiliki karakter morfologi yang bervariasi. Mutasi karena induksi EMS ditunjukkan oleh adanya respon pertumbuhan dan perkembangan yang berbeda antara tanaman mutan dan kontrol yang dikembangbiakkan dengan kondisi lingkungan yang sama.



Gambar 13. Morfologi kualitatif bunga dan buah tanaman cabai rawit G1. Keterangan: (a) Mahkota bunga putih dan antera ungu, (b) Buah muda hijau dan hijau keunguan, (c) Buah muda ungu

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa karakter tanaman G1M8 yang berbeda secara signifikan dengan G1 kontrol adalah karakter generatif (waktu pembentukan, panjang, diameter dan berat buah). Perbedaan tersebut diduga muncul akibat pengaruh induksi mutasi dengan EMS pada generasi pertama yang diturunkan pada generasi kedua. Waktu pembentukan menunjukkan kecepatan perkembangan tanaman dan waktu pembentukan buah. Buah merupakan karakter morfologi yang dapat menjadi ciri khas suatu spesies atau jenis tanaman. Karakter morfologi buah merupakan karakter yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan dapat diturunkan kepada generasi selanjutnya (Zhigila dkk., 2014). Hasil pengamatan tersebut juga sesuai dengan pendapat Bhat dkk. (2017) bahwa induksi EMS dapat memberikan efek mutagenik terhadap ukuran buah. Hasil penelitian ini juga mengonfirmasi pendapat Villota-Cerón dkk. (2012) bahwa variabilitas genus *Capsicum* lebih banyak terdapat pada karakter buah dan bunga daripada arsitektur tanaman.

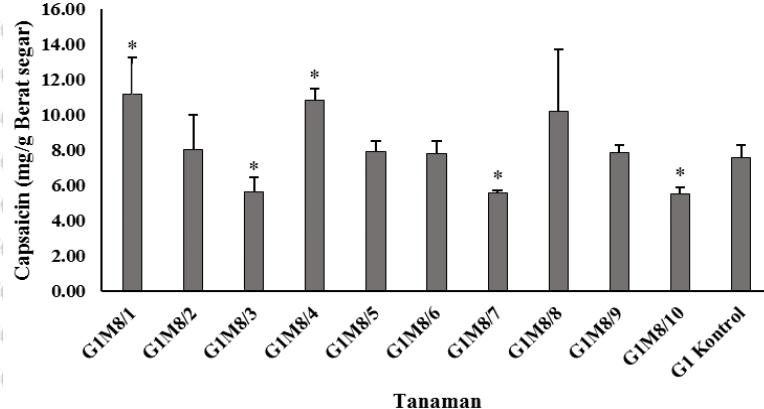
Uji statistik yang dilakukan pada karakter vegetatif menunjukkan tidak berbeda nyata (LT5 dan LT6). Akan tetapi, sebagian besar

tanaman G1M8 memiliki karakter yang cenderung lebih unggul dibandingkan dengan G1 kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman G1M8 mampu memberikan respon yang lebih baik terhadap faktor-faktor lingkungan. Kemampuan tersebut diduga merupakan efek mutasi oleh EMS pada generasi pertama tanaman cabai G1, kemudian diturunkan kepada generasi selanjutnya. Rohini dkk. (2017) menyatakan bahwa sifat-sifat tanaman generasi kedua merupakan hasil dari segregasi alel tanaman induk, sehingga tanaman tersebut kemungkinan memiliki karakter dari kedua induknya. Oleh karena itu, hasil segregasi dapat memunculkan variasi di antara tanaman generasi kedua.

4.2 Kandungan Capsaicin Buah Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

Kandungan capsaicin cabai G1M8 dan G1 kontrol memiliki kisaran antara 5-11,5 mg/g berat segar atau setara dengan 88.000-179.000 SHU (LT10). Capsaicin yang terkadung dalam buah cabai merupakan penyebab kepedasan. Tingkat kepedasan buah menjadi karakter khusus suatu jenis cabai (Fujiwake dkk., 1980). Al-Othman dkk. (2011) menyatakan bahwa cabai yang memiliki kandungan capsaicin lebih dari 4,2 mg/g berat segar termasuk cabai pedas (*hot chili*). Weiss (2002) dalam Usman dkk. (2014) menyatakan pula bahwa cabai dengan kategori sangat pedas (*very highly pungent pepper*) memiliki kandungan capsaicinoid lebih dari 80.000 SHU. Buah cabai G1 dalam penelitian ini termasuk dalam kategori cabai sangat pedas dengan kandungan capsaicin yang tinggi (LT10).

Capsaicin buah cabai G1M8 dan G1 kontrol bervariasi (Gambar 14). Cabai G1M8/3, G1M8/7, dan G1M8/10 memiliki kandungan capsaicin yang lebih rendah secara signifikan daripada G1 kontrol. Cabai G1M8/1 dan G1M8/4 memiliki kandungan capsaicin yang lebih tinggi secara signifikan daripada G1 kontrol, sedangkan cabai G1M8/2, G1M8/5, G1M8/6, G1M8/8, dan G1M8/9 memiliki kandungan capsaicin yang lebih tinggi daripada G1 kontrol tetapi tidak signifikan. Kandungan capsaicin buah cabai mutan tertinggi terdapat pada G1M8/1, sebesar $11,19 \pm 2,04$ mg/g berat segar, G1M8/4 pada urutan kedua sebesar $10,81 \pm 0,66$ mg/g berat segar, dan G1M8/8 pada urutan ketiga sebesar $10,17 \pm 3,56$ mg/g berat segar.

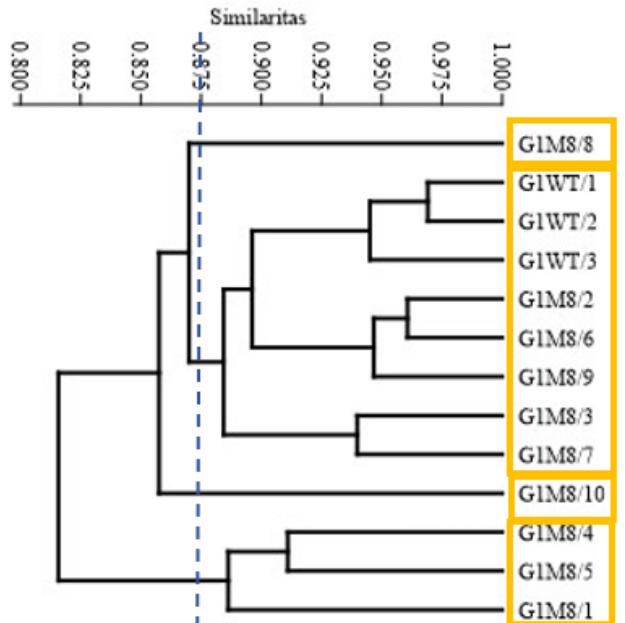


Gambar 14. Kandungan capsaicin buah cabai rawit G1M8 dan G1 kontrol. Keterangan: notasi (*) menunjukkan tanaman mutan G1M8 berbeda nyata terhadap G1 kontrol ($\alpha=0,05$)

Variasi kandungan capsaicin dalam buah cabai G1M8 dan G1 kontrol dapat disebabkan oleh adanya faktor-faktor modifikasi gen dan ukuran plasenta, *pericarp*, serta jumlah biji dalam buah (Aruldoss & Mullainathan, 2015). Ukuran buah dapat dipengaruhi oleh modifikasi gen akibat mutasi (Arisha dkk., 2015). Salah satu faktor modifikasi gen adalah adanya mutasi yang disebabkan oleh EMS. *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) dapat mengubah urutan basa nukleotida sehingga menyebabkan perubahan fisiologis tanaman, termasuk variasi kandungan capsaicin buah cabai. Akan tetapi, kandungan capsaicin dalam beberapa cabai G1M8 tidak berbeda nyata dengan G1 kontrol (Gambar 14). Hal tersebut menunjukkan bahwa induksi EMS 0,01% diduga tidak berpengaruh nyata pula terhadap biosintesis capsaicin beberapa cabai G1M8 generasi kedua tersebut. Salam & Thoppil (2010) menyebutkan bahwa EMS menyebabkan mutasi titik, bukan penyimpangan kromosomal (*chromosomal aberration*), sehingga pengaruhnya tidak terlalu besar terhadap mutan. Mutasi titik menyebabkan perubahan terhadap satu atau beberapa basa nukleotida yang dapat menyebabkan perubahan karakter atau hanya menyebabkan mutasi diam (*silent mutation*). Sementara itu, penyimpangan kromosom menyebabkan perubahan DNA dalam jumlah yang lebih besar, sehingga didapatkan perubahan genetik yang lebih besar pula (Obe dkk., 2002).

4.3 Similaritas Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol Berdasarkan Morfologi dan Kandungan Capsaicin

Karakter morfologi dan kandungan capsaicin tanaman G1M8 dapat digunakan untuk menganalisis similaritas antar tanaman mutan maupun kontrol. Analisis similaritas Bray-Curtis menunjukkan bahwa tanaman G1M8 membentuk beberapa kelompok yang berbeda dari G1 kontrol (Gambar 15). Tanaman G1M8 dan G1 kontrol terbagi menjadi 4 kelompok pada similaritas 0,875, yaitu kelompok I (G1M8/8), kelompok II (G1WT/1, G1WT/2, G1WT/3, G1M8/2, G1M8/6, G1M8/9, G1M8/3 dan G1M8/7), kelompok III (G1M8/10) dan kelompok IV (G1M8/4, G1M8/5 dan G1M8/1). Dendrogram dapat menunjukkan similaritas dan variabilitas antar spesies maupun individu berdasarkan karakter tertentu. Semakin dekat kelompok suatu spesies dengan lainnya, maka semakin tinggi tingkat kesamaan karakternya. Jika suatu tanaman mengalami mutasi dan terpisah dari kontrol, maka tanaman tersebut kemungkinan memiliki karakter yang berbeda dari kontrol (Carvalho dkk., 2014).



Gambar 15. Dendrogram similaritas tanaman G1M8 dan G1 kontrol

Seluruh tanaman G1M8 memiliki karakter yang lebih unggul daripada G1 kontrol. Hal tersebut ditunjukkan oleh nilai *ranking* tanaman pada hasil *scoring* (LT1 dan LT2). Tanaman G1M8/4 memiliki karakter morfologi dan fisiologi (kandungan capsaicin) yang paling unggul, G1M8/5 pada urutan kedua dan G1M8/8 pada urutan ketiga. Ketiga tanaman mutan tersebut termasuk dalam kelompok yang berbeda dan memiliki tingkat similaritas rendah dengan G1 kontrol (Gambar 15). Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman G1M8/4, G1M8/5, dan G1M8/8 telah mengalami mutasi yang menyebabkan tanaman-tanaman tersebut berada dalam kelompok yang terpisah dari G1 kontrol.

Keunggulan karakter morfologi tidak selalu berbanding lurus dengan kandungan capsaicinnya. Contohnya kandungan capsaicin buah tanaman G1M8/1 paling tinggi, tetapi tidak memiliki keseluruhan karakter morfologi yang paling menonjol di antara tanaman lainnya, serta tanaman G1M8/8 yang memiliki ukuran buah paling besar, tetapi tidak memiliki kandungan capsaicin paling tinggi. Hal tersebut menunjukkan adanya variasi genetik di antara tanaman G1M8 dan G1 kontrol. Karakter tanaman cabai, baik morfologi maupun fisiologi (kandungan capsaicin) dipengaruhi oleh faktor lingkungan, mutagen, dan respon masing-masing individu terhadap faktor-faktor tersebut. Hal tersebut juga memperkuat kemungkinan bahwa mutasi yang disebabkan oleh EMS bersifat acak dan hanya mempengaruhi bagian tertentu tanaman. *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) dapat memberikan mutasi titik atau mutasi pada level gen yang bersifat tidak spesifik pada gen tertentu (Arishawika dkk., 2015). Oleh karena itu, tanaman mutan yang memiliki kemungkinan terpengaruh EMS pada bagian morfologi belum tentu terpengaruh pada gen dalam biosintesis capsaicinoid ataupun sebaliknya. Tanaman G1M8/4, G1M8/5, dan G1M8/8 memiliki karakter yang paling unggul di antara tanaman mutan lainnya maupun kontrol, baik morfologi maupun kandungan capsaicinnya (LT2). Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman-tanaman tersebut memiliki respon genetik yang paling baik terhadap mutagen maupun lingkungannya di antara tanaman G1M8 lainnya maupun G1 kontrol.

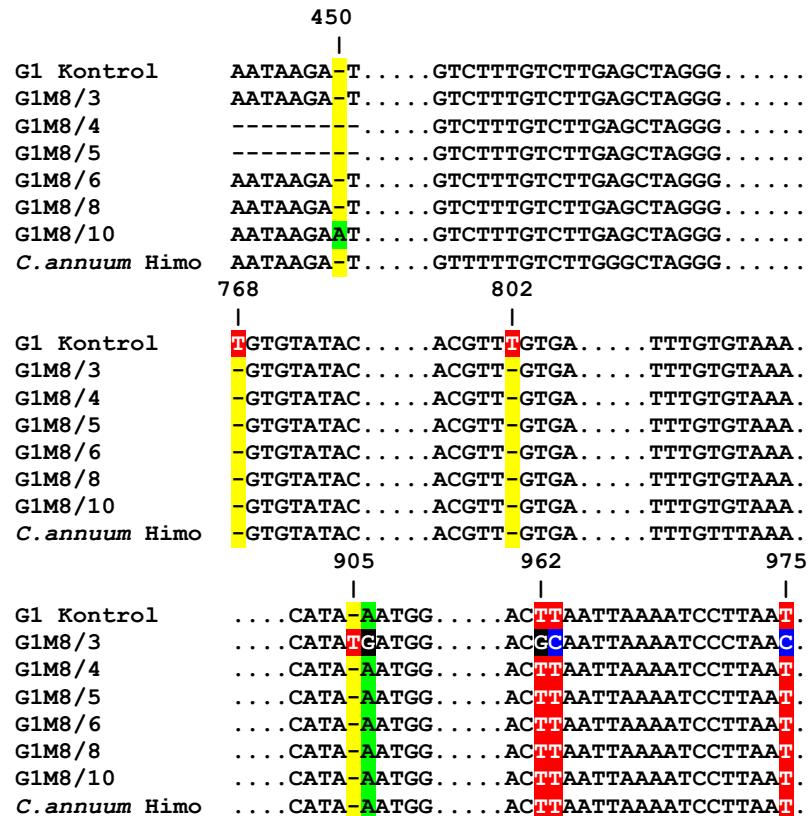
4.4 Profil Gen *pAMT* Cabai Rawit G1M8 dan G1 Kontrol

Analisis molekuler dilakukan terhadap tanaman mutan yang memiliki karakter morfologi dan kandungan capsaicin paling unggul, sedang dan paling rendah berdasarkan nilai *scoring* (LT2). Sampel yang dianalisis secara molekuler yaitu G1M8/3, G1M8/4, G1M8/5, G1M8/6, G1M8/8, dan G1M8/10 dibandingkan dengan G1 kontrol. Tanaman G1M8/3 memiliki kandungan capsaicin yang lebih rendah daripada G1 kontrol, serta menduduki *ranking* paling bawah di antara tanaman mutan pada hasil *scoring* (LT2). Tanaman G1M8/4 menduduki *ranking* tertinggi. Tanaman G1M8/5 memiliki buah paling berat, tetapi jumlah bijinya paling sedikit di antara tanaman mutan lain dan G1 kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa berat buah G1M8/5 disebabkan karena plasenta dan *pericarp* yang tebal. Ketebalan plasenta dan *pericarp* buah cabai memungkinkan produksi capsaicin yang lebih tinggi karena capsaicin banyak diakumulasi pada bagian tersebut (Aruldoss & Mullainathan, 2015). Kandungan capsaicin tanaman G1M8/5 lebih tinggi daripada G1 kontrol. Tanaman G1M8/6 dan G1M8/8 memiliki karakter morfologi dan kandungan capsaicin sedang, sementara tanaman G1M8/10 memiliki kandungan capsaicin paling rendah di antara tanaman G1M8 lainnya dan G1 kontrol. Oleh karena itu, mutan-mutan tersebut perlu dianalisis secara molekuler untuk mengetahui adanya kemungkinan mutasi dan variasi profil gen *pAMT*.

Gen *pAMT* diamplifikasi meghasilkan produk dengan ukuran 997 bp (LG5), serta diskuensing dan di-*trimming* pada ekson 2 dan 3 menghasilkan produk dengan ukuran 154 bp (LG6). Hasil analisis *Basic Local Alignments Search Tool* (BLAST) antara sekuen gen *pAMT* G1M8 dan G1 kontrol dengan *Capsicum annuum* cv. Himo (kode genebank: LC032105.1) menunjukkan kemiripan yang tinggi (LT8). Kemiripan yang tinggi menunjukkan bahwa gen *pAMT* juga terdapat pada tanaman *Capsicum annuum* cv. Himo.

Hasil penyejajaran sekuen gen *pAMT* tanaman G1M8, G1 kontrol dan *Capsicum annuum* cv. Himo mendeteksi beberapa perubahan basa nukleotida yang menunjukkan variasi genetik secara molekuler (Gambar 16). Perubahan basa nukleotida yang terjadi yaitu insersi, substitusi dan delesi dengan jumlah yang berbeda-beda pada setiap tanaman (LT9). Mutasi yang terjadi pada tanaman mutan banyak terdapat pada intron. Mutasi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan genetik pada tanaman mutan jika dibandingkan dengan

kontrol serta terjadinya variasi genetik antar tanaman mutan. Mutasi yang terjadi pada sekuen gen *pAMT* tanaman G1M8 umumnya merupakan mutasi titik. Mutasi titik terjadi jika terdapat perubahan satu basa nukleotida. Perubahan tersebut dapat menyebabkan perubahan asam amino. Mutasi titik dapat disebabkan oleh pemberian mutagen kimia, seperti EMS (Arisha dkk., 2015).



Gambar 16. Profil gen *pAMT* intron dan ekson tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol dan *C.annuum* cv. Himo. Keterangan: warna berbeda menunjukkan basa nukleotida yang berbeda, - = kosong (tidak terbaca pada sekuensing), . . . = sekuen dipotong atau di-trimming (sekuen sama pada semua sampel)

Tanaman mutan memiliki beberapa perbedaan basa nukleotida dengan kontrol, tetapi sama dengan *Capsicum annuum* cv. Himo. Perbedaan tersebut seperti pada basa ke-768 bp dan 802 bp yang menunjukkan adanya basa timin (T) pada G1 kontrol, tetapi tidak terdapat pada tanaman mutan dan *Capsicum annuum* cv. Himo. Tanaman G1M8 mengalami delesi basa timin (T) pada basa ke-768 bp dan 802 bp yang menjadikannya memiliki sekuen yang berbeda dari G1 kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa profil gen *pAMT* tanaman mutan mengalami mutasi yang menyebabkan sekuenya mirip dengan *Capsicum annuum* cv. Himo.

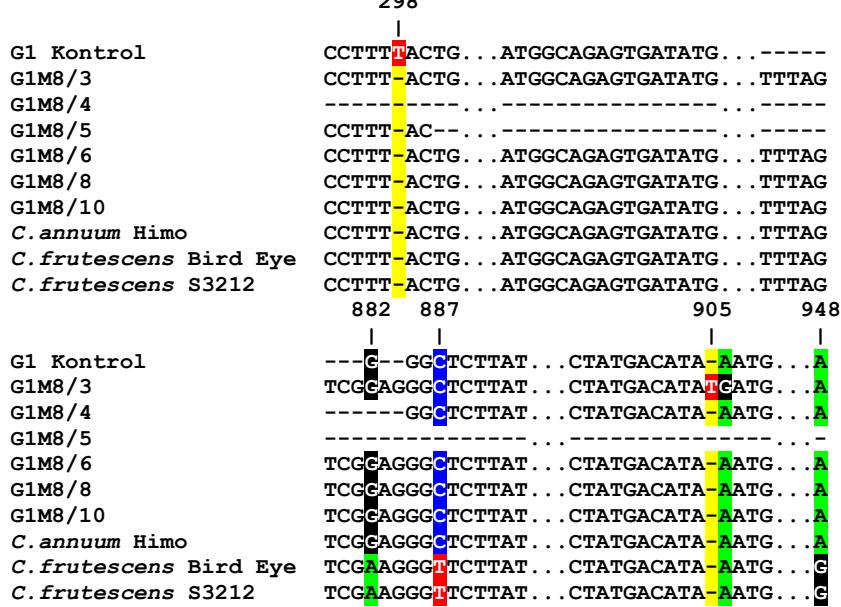
Sekuen gen *pAMT* ekson 2 dan 3 tanaman G1M8 dan G1 kontrol disejajarkan dengan *Capsicum annuum* cv. Himo, *Capsicum frutescens* cv. Bird Eye, dan *Capsicum frutescens* cv. S3212.

Capsicum frutescens cv. Bird Eye merupakan kultivar tanaman cabai rawit yang memiliki rasa sangat pedas (Gururaj dkk., 2012), sedangkan *Capsicum frutescens* cv. S3212 merupakan tanaman cabai rawit yang tidak pedas (Park dkk., 2015). Hasil penyejajaran profil tersebut menunjukkan beberapa perbedaan basa nukleotida antara tanaman G1 (mutan G1M8 dan kontrol), *Capsicum annuum* cv. Himo, *Capsicum frutescens* cv. Bird Eye dan S3212 (Gambar 17). Basa ke-882, 887, dan 948 bp tanaman G1 dan *Capsicum annuum* cv. Himo berturut-turut merupakan basa guanin (G), sitosin (C), dan adenin (A) sedangkan pada *Capsicum frutescens* cv. Bird Eye dan S3212 berturut-turut adenin (A), timin (T), dan guanin (G). Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman G1 memiliki profil gen *pAMT* ekson 2 dan 3 yang lebih mirip dengan *Capsicum annuum* cv. Himo.

Hal tersebut mengonfirmasi secara molekuler pernyataan Arumingtyas dkk. (2017) bahwa tanaman G1 diduga merupakan *Capsicum annuum* berdasarkan karakter morfologinya. Akan tetapi, penelitian lebih lanjut terhadap gen-gen pengkode karakter lain diperlukan untuk memperkuat dugaan tersebut.

Tanaman G1 kontrol memiliki basa-basa nukleotida pada ekson gen *pAMT* yang berbeda dengan tanaman G1M8 dan *Capsicum annuum* cv. Himo. Perbedaan tersebut seperti pada gen *pAMT* ekson 2 basa ke-298 bp, G1 kontrol memiliki basa timin (T), sementara tanaman G1M8 dan *Capsicum annuum* cv. Himo tidak memiliki basa tersebut. Tanaman G1M8 mengalami mutasi berupa delesi basa timin (T) pada 298 bp yang mengakibatkan tanaman tersebut memiliki perbedaan sekuen dan asam amino dengan tanaman G1 kontrol, tetapi sama dengan *Capsicum annuum* cv. Himo (Gambar 17). Basa

timin (T) ke-298 bp menyebabkan sekuen gen *pAMT* G1 kontrol membentuk sekuen TAC yang mengkode asam amino tyrosine. Sementara itu, tanaman G1M8 dan *Capsicum annuum* cv. Himo memiliki sekuen ACT yang mengkode asam amino threonine (Gambar 18).



Gambar 17. Profil gen *pAMT* ekson 2 dan 3 tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol, *C. annuum* cv. Himo, *C. frutescens* cv. Bird Eye dan *C. frutescens* cv. S3212. Keterangan: warna berbeda menunjukkan basa nukleotida yang berbeda, -- = kosong (tidak terbaca pada sekuening), ... = sekuen dipotong atau di-trimming (sekuen sama pada semua sampel)

Gen *pAMT* ekson 3 tanaman G1M8/3 mengalami mutasi, yaitu pada basa ke-905 dan 906 bp masing-masing insersi basa timin (T) dan substitusi basa adenin (A) menjadi guanin (G). Insersi dan substitusi tersebut menghasilkan triplet TGA (Gambar 18). Mutasi tersebut menimbulkan stop kodon pada sekuen ekson 3 gen *pAMT* tanaman G1M8/3. Mutasi tersebut menyebabkan *frame shift*. Mutasi

frame shift dapat mengubah susunan triplet kodon pengode asam amino. Perubahan asam amino dapat mempengaruhi proses pembentukan protein tertentu, termasuk enzim (Arumingtyas dkk., 2010). Oleh karena itu, mutasi dapat menyebabkan perubahan fisiologis tanaman. Pembentukan stop kodon pada gen *pAMT* ekson 3 tanaman G1M8/3 menyebabkan kandungan capsaicinnya lebih rendah daripada tanaman mutan lainnya maupun kontrol. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Lang dkk. (2009) yang menyebutkan bahwa insersi basa T pada posisi ke-1291 bp gen *pAMT* cabai CH-19 *Sweet* membentuk stop kodon (TGA) yang menghalangi translasi gen *pAMT*. Hal tersebut menyebabkan pembentukan vanillin dikonversi menjadi *vanillyl alcohol*, sehingga terjadi peningkatan produksi capsinoid dan penurunan capsaicinoid. Analisis kandungan capsaicin, penyusun terbesar capsinoid, dilakukan pada tanaman G1M8 dan G1 kontrol dalam penelitian ini. Akan tetapi, kandungan capsinoid tidak dianalisis. Perbandingan kandungan capsinoid dan capsaicinoid tanaman G1M8 dan G1 kontrol perlu dianalisis lebih lanjut untuk memastikan pengaruh mutasi gen *pAMT*.

Tanaman G1M8/3 memiliki kandungan capsaicin yang lebih rendah daripada G1 kontrol. Akan tetapi, kandungan capsaicin tanaman G1M8/3 ($5,61 \pm 0,84$ mg/g berat segar) lebih tinggi daripada kultivar cabai yang memiliki tingkat kepedasan rendah, yaitu *Capsicum annuum* cv. Himo (1,24 mg/g berat kering). Walaupun tanaman G1M8/3 mengalami mutasi pada ekson 3 gen *pAMT*, tetapi kemungkinan mutasi tidak terjadi pada ekson lain pada gen tersebut maupun gen lainnya. Gen *pAMT* memiliki 17 ekson, serta terdapat dua gen *pAMT* dalam satu kromosom, yaitu kromosom 3 dan satu gen pada kromosom 7 (Mazourek dkk., 2009; Tanaka dkk., 2016). Hal tersebut menyebabkan produksi capsaicinoid dalam jumlah besar masih dapat terjadi.

Tanaman G1M8/4, G1M8/5, G1M8/6, dan G1M8/8 memiliki sekuen gen *pAMT* ekson 2 dan 3 yang berbeda dari G1 kontrol, tetapi sama dengan *Capsicum annuum* cv. Himo. *Capsicum annuum* cv. Himo menurut Tanaka dkk. (2010) memiliki kandungan capsaicinoid yang rendah (1,24 mg/g berat kering). Akan tetapi, kandungan capsaicin G1M8/4, G1M8/5, G1M8/6, dan G1M8/8 dalam penelitian ini tergolong tinggi (antara 7-11 mg/g berat segar) dibandingkan dengan *Capsicum annuum* cv. Himo. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena tanaman mutan memiliki sekuen gen lain yang

berbeda dari *Capsicum annuum* cv. Himo, terutama gen-gen yang berperan dalam biosintesis capsaicinoid, sehingga produksinya tinggi pada tanaman G1M8/4, G1M8/5, G1M8/6, dan G1M8/8. Sementara itu, tanaman G1M8/10 memiliki sekuen gen *pAMT* ekson 2 dan 3 yang sama dengan tanaman mutan lain, tetapi kandungan capsaicinnya paling rendah di antara tanaman mutan maupun kontrol. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena tanaman G1M8/10 mengalami mutasi pada gen lain yang berperan dalam biosintesis capsaicinoid.

	298		
G1 Kontrol	Phe-Tyr	Met-Ala-Glu-End-Tyr.....Leu-Val
G1M8/3	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
G1M8/4	-----	-----	-----
G1M8/5	Phe-----	-----	-----
G1M8/6	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
G1M8/8	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
G1M8/10	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
<i>C. annuum</i> Himo	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
<i>C. frut</i> Bird Eye	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
<i>C. frut</i> S3212	Phe-Thr	Trp-Gln-Ser-Asp-Met.....Leu-Val
	882	887	905
G1 Kontrol	Ser-Glu-Gly	...Leu-Cys...His-Asn	Gly-Lys-Lys
G1M8/3	Ser-Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-End	Trp-Glu-Glu
G1M8/4	-----Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Trp-Glu-Glu
G1M8/5	-----	-----	-----
G1M8/6	Ser-Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys
G1M8/8	Ser-Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys
G1M8/10	Ser-Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys
<i>C. annuum</i> Himo	Ser-Glu-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys
<i>C. frut</i> Bird Eye	Ser-Lys-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys
<i>C. frut</i> S3212	Ser-Lys-Gly	...Tyr-Val...Ile-Asn	Gly-Lys-Lys

Gambar 18. Profil asam amino gen *pAMT* ekson 2 dan 3 tanaman cabai rawit G1M8, G1 kontrol, *C. annuum* cv. Himo, *C. frutescens* cv. Bird Eye dan *C. frutescens* cv. S3212. Keterangan: -- = kosong (asam amino tidak terbaca), ... = sekuen dipotong atau di-*trimming* (asam amino samawijaya pada semua sampel)

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mutasi yang terjadi pada gen *pAMT* mempengaruhi kandungan capsaicin pada buah cabai G1M8/3. Tanaka dkk. (2010) menyatakan bahwa mutasi gen *pAMT*

menyebabkan perubahan rasio capsaicinoid dengan capsinoid. Mutasi titik (subtitusi basa sitosin (C) menjadi basa timin (T) pada posisi 755 bp) pada *Capsicum annuum* cv. Himo menyebabkan perubahan asam amino dari *cysteine* menjadi *arginine*. Subtitusi tersebut terjadi pada *pyridoxal 5'-phosphate* (PLP) binding domain (kofaktor enzim), sehingga menyebabkan terjadinya konversi vanillin menjadi *vanillyl alcohol*. Hal tersebut meningkatkan aktivitas biosintesis capsinoid dan menurunkan capsaicinoid. Capsinoid memiliki struktur kimia mirip dengan capsaicinoid, tetapi tidak memiliki rasa yang pedas. Mutasi pada tanaman G1M8/3 kemungkinan menyebabkan tanaman tersebut mengalami peningkatan produksi capsinoid. Kandungan capsinoid dan pengaruh mutasi gen *pAMT* pada tanaman mutan hasil induksi EMS perlu diteliti lebih lanjut.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tanaman G1M8 memiliki karakter morfologi yang cenderung lebih unggul dari G1 kontrol. Karakter morfologi tanaman G1M8 yang secara signifikan berbeda dengan G1 kontrol adalah karakter generatif, yaitu waktu pembungaan, panjang, diameter, dan berat buah. Kandungan capsaicin tanaman G1M8 bervariasi antara 5-11,5 mg/g berat segar dan sebagian besar lebih tinggi daripada G1 kontrol. Polimorfisme gen *pAMT* tanaman G1M8 dan G1 kontrol ditunjukkan oleh adanya mutasi pada ekson dan intron. Mutasi pada ekson 3 gen *pAMT* tanaman G1M8/3 membentuk stop kodon yang menyebabkan kandungan capsaicinnya lebih rendah daripada G1 kontrol. Mutasi pada tanaman G1M8/4, G1M8/5, G1M8/6, G1M8/8, dan G1M8/10 terjadi pada daerah intron, sehingga tidak mempengaruhi kandungan capsaicinnya.

5.2 Saran

Analisis profil gen dengan sekvensing pada penelitian ini dilakukan pada gen *pAMT*. Mutasi pada gen tersebut dapat menyebabkan peningkatan kandungan capsinoid dan penurunan capsaicinoid. Oleh karena itu, diperlukan uji perbandingan capsinoid dan capsaicinoid pada tanaman mutan hasil induksi EMS. Selain itu, analisis gen-gen lain yang berpengaruh dalam biosintesis capsaicinoid, morfologi dan fisiologi perlu dilakukan terhadap tanaman G1 yang diduga merupakan *Capsicum annuum* L.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham-Juárez, M.del R.A., M.del C.R. Granados, M.G. López, R.F.R. Bustamante & N. Ochoa-Alejo. 2008. Virus-induced silencing of *Comt*, *pAMT* and *Kas* genes results in a reduction of capsaicinoid accumulation in chili pepper fruits. *Planta*. 227: 681-695.
- Al-Othman, Z.A., Y.B.H. Ahmed, M.A. Habil & A.A. Ghafar. 2011. determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruit samples using high performance liquid chromatography. *Molecules*. 16: 8919-8929.
- Anderson, M.W. & I. Schrijver. 2010. Next generation DNA sequencing and the future of genomic medicine. *Genes*. 1:38-69.
- Arce-Rodríguez, M.L. & N. Ochoa-Alejo. 2015. Silencing *AT3* gene reduces the expression of *pAmT*, *BCAT*, *Kas*, and *Acl* genes involved in capsaicinoid biosynthesis in chili pepper fruits. *Biologia Plantarum*. 59 (3): 477-484.
- Arisha., M.H., S.N.M. Shah, Z.H. Gong, H. Jing, C. Li & H.X. Zhang. 2015. Ethyl methane sulfonate induced mutations in M₂ generation and physiological variations in M₁ generation of peppers (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 8(399): 1-11.
- Arruvitasari, P. N. 2016. Pengaruh induksi mutagen ethyl methane sulfonate (EMS) terhadap karakter morfologi dan kandungan capsaicin tiga genotip cabai tawit lokal (*Capsicum frutescens* L.). Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Aruldoss, T. & L. Mullainathan. 2015. Effect of gamma rays and EMS on phytochemical constituents in chilli (*Capsicum annuum* (L.) var- K₁) on M₂ generation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 4(3): 92-101.
- Arumingtyas, E.L., R. Mastuti & S. Indriyani. 2010. The role of *AUX1* gene and auxin content to the branching phenotype of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 16(1): 93-98.
- Arumingtyas, E.L., J. Kusnadi, D.R.T. Sari & N. Ratih. 2017. Genetic variability of Indonesian local chili pepper: the facts. *AIP Conference Proceeding*. 1908(050002); 1-10.

- Aslam, R., T. M. Bhat, S. Choudhary, M.Y.K. Ansari & D. Shahwar. 2017. Estimation of genetic variability, mutagenic effectiveness and efficiency in M2 flower mutant lines of *Capsicum annuum* L. treated with caffeine and their analysis through RAPD markers. *Journal of King Saud University Science*. 29: 274-283.
- Bhat, S., S. Sharma & V. K. Sharma. 2017. Effect of EMS induced morphological mutation in strawberry. *Journal of Hill Agriculture*, 8(1): 50-55.
- Bidgoli, A.M., G.A. Akbari, M.J. Mirhadi, E. Zand, & S. Soufizadeh. 2006. Path analysis of the relationships between seed yield and some morphological and phenological traits in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Euphytica*. 148(3): 261-268.
- Carvalho, S.I.C., C.F. Ragassi, L.B. Bianchetti, F.J.B. Reifschneider, G.S.C. Buso & F.G. Faleiro. 2014. Morphological and genetic relationships between wild and domesticated forms of peppers (*Capsicum frutescens* L. and *C. chinense* Jacquin). *Genetics and Molecular Research*. 13 (3): 7447-7464.
- Chapa-Oliver, A.M. & L. Mejía-Teniente. 2016. Capsaicin: from plants to a cancer-suppressing agent. *Molecules*. 21(931); 1-14.
- Cheema, S.K. & M.R. Pant. 2011. Estimation of capsaicin in seven cultivated varieties of *Capsicum annuum* L. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2(2): 701-706.
- Choudhary, B.S. & D.K. Samadia. 2004. Variability and character association in chilli land races and genotypes under acid environment. *Indian Journal of Horticulture*. 61: 132-36.
- Cline, M.G. 1994. The role of hormones in apical dominance. new approaches to an old problem in plant development. *Physiologia Plantarum*. 90: 230-237.
- Cline, M.G. 1997. Concepts and terminology of apical dominance. *American Journal of Botany*. 84(9): 1064-1069.
- Curry, J., M. Aluru, M. Mendoza, J. Nevarez, M. Melendrez & M.A. O'Connell. 1999. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum* spp. *Plant Science*. 148: 47-57.
- Dhakshanamoorthy, D., R. Selvaraj & A. Chidambaram. 2013. Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. Using ethyl

- methanesulphonate (EMS) and assessment of DNA polymorphism through RAPD markers. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 16(3): 201-207.
- Dias, G.B., V.M. Gomes, T.M. Moraes, U.P. Zottich, G.R. Rabelo, A.O. Carvalho, M. Moulin, L.S. Gonçalves, R. Rodrigues, & M. Da Cunha. 2013. Characterization of *Capsicum* species using anatomical and molecular data. *Genetics and Molecular Respository*. 12: 6488-6501.
- Fatchiyah., E.L. Arumingtyas, S. Widyarti & S. Rahayu. 2011. **Biologi molekuler: prinsip dasar analisis**. Erlangga. Jakarta.
- Fujiwake, H., T. Suzuki & K. Iwai. 1980. Intracellular localization of capsaicin and its analogues in *Capsicum* fruit. *Plant and Cell Physiology*. 21(6): 1023-1030.
- Gandhi, E.S., A.S. Devi, & L. Mullainathan . 2014. The effect of ethyl methane sulphonate and diethyl sulphate on chilli (*Capsicum annuum* L.) in M1 generation. *International Letters of Natural Sciences*. 5: 18-23.
- Gonzalez, C.A., H.G.N. Palenius & N. Ochoa-Alejo. 2011. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Reproduction*. 30: 695-706.
- Gururaj, H.B., M.N. Padma, P. Giridhar, & G.A. Ravishankar. 2012. Functional validation of *Capsicum frutescens* aminotransferase gene involved in vanillylamine biosynthesis using *Agrobacterium* mediated genetic transformation studies in *Nicotiana tabacum* and *Capsicum frutescens* calli cultures. *Plant Science*. 195: 96-105.
- Gudeva, L.K., R. Gulaboski, E. Janević-Ivanovska, F. Trajkova & V. Maksimova. 2013. Capsaicin-inhibitory factor for somatic embryogenesis in pepper antera culture. *Electronic Journal of Biology*. 9(2): 29-36.
- Habibi, M., A.M. Manggaran, E.S. Sulasmri & D. Listyorini. 2013. AT3 (Acyltransferase) gene isolated from *Capsicum frutescens* cv. Cakra Hijau. *The Journal of Tropical Life Science*. 3(2): 83-86.
- 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.

- Jabeen, N. & B. Mirza. 2004. Ethyl *Capsicum annuum*. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6(2): 340-345.
- Jung, C., & A.E. Müller. 2009. Flowering time control and applications in plant breeding. *Trends in Plant Science*, 14(10): 563-573.
- Kim, S., M. Park, S. I. Yeom, Y.M. Kim, J.M. Lee, H.A. Lee, E. Seo, J. Choi, K. Cheong, K.T. Kim, K. Jung, G.W. Lee, S.K. Oh, C. Bae, S.B. Kim, H.Y. Lee, S.Y. Kim, M.S. Kim, B.C. Kang, Y.D. Jo, H. Yang, H.J. Jeong, W.H. Kang, J.K. Kwon, C. Shin, J.Y. Lim, J.H. Park, J.H. Huh, J.S. Kim, B. D. Kim, O. Cohen, I. Paran, M. C. Suh, S.B. Lee, Y.K. Kim, Y. Shin, S.J. Noh, J. Park, Y.S. Seo, S.Y. Kwon, K.A. Kim, J.M. Park, H.J. Kim, S.B. Choi, P.W. Bosland, G. Reeves, S.H. Jo, B.W. Lee, H.T. Cho, H.S. Choi, M.S. Lee, Y. Yu, Y.D. Choi, B.S. Park, A. van Deynze, A. Ashrafi, T. Hill, W.T. Kim, H.S. Pai, H.K. Ahn, I. Yearn, J.J. Giovannoni, J.K C. Rose, I. Sørensen, S.J. Lee, R.W. Kim, I.Y. Choi, B.S. Choi, J.S. Lim, Y.H. Lee & D. Choi. 2014. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nature Genetics*. 46(3): 270-279.
- Kumar, R., N. Dwivedi, R.K. Singh, S. Kumar, V.P. Rai & M. Singh. 2011. A review on molecular characterization of pepper for capsaicin and oleoresin. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*. 5(2): 99-110.
- Lang, Y.Q., H. Kisaka, R. Sugiyama, K. Nomura, A. Morita, T. Watanabe, Y. Tanaka, S. Yazawa & T. Miwa. 2009. Functional loss of *pAMT* results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogs, in *Capsicum annuum* cv. CH-19 sweet. *Plant Journal*, 59:953–961.
- Mazourek, M., A. Pujar, Y. Borovsky, I. Paran, L. Mueller, & M.M. Jahn. 2009. A dynamic interface for capsaicinoid systems biology. *Plant physiology*, 150(4): 1806-1821.
- Michaels, S.D. 2009. Flowering time regulation produces much fruit. *Current Opinion in Plant Biology*. 12: 75-80.
- Mohd-Yusoff, N.F., P. Ruperao, N.E. Tomoyoshi, D. Edwards, P.M. Gresshoff, B. Biswas & J. Batley. 2015. Scanning the effects of ethyl methanesulfonate on the whole genome of *Lotus*

- japonicus using second-generation sequencing analysis. *G3-Genes, Genomes, Genetics.* 5:559-567.
- Munshi, A. 2012. **DNA sequencing-methods and applications.** Janeza Trdine. Rijeka.
- Obe, G., P. Pfeiffer, J.R.K. Savage, C. Johannes, W. Goedecke, P. Jeppesen, A.T. Natarajan, W. Martinez-López, G.A. Folle, & M.E. Dre. 2002. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research.* 504: 17-36.
- Ogawa, K., K. Murota, H. Shimura, M. Furuya, Y. Togawa, T. Matsumura & C. Masuta. 2015. Evidence of capsaicin synthase activity of the *Pun1*-encoded protein and its role as a determinant of capsaicinoid accumulation in pepper. *BMC Plant Biology.* 15(93):1-10.
- Park, Y.J., T. Nishikawa, M. Minami, K. Nemoto, T. Iwasaki & K. Matsushima. 2015. A low-pungency S3212 genotype of *Capsicum frutescens* caused by a mutation in the *Putative Aminotransferase (p-AMT)* gene. *Molecular Genetics and Genomics.* 290(6): 2217-2224.
- Poulos, J.M. 1753. *Capsicum* (PROSEA). [https://uses.plantnet-project.org/en/Capsicum_\(PROSEA\)](https://uses.plantnet-project.org/en/Capsicum_(PROSEA)). Diakses tanggal 9 Mei 2018.
- Ratih, N. 2016. **Variasi genetik cabai rawit komersial Malang berdasarkan karakterisasi morfologi.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Reyes-Escogido, M. de Lourdes., E.G. Gonzalez-Mondragon & E. Vazquez-Tzompantzi. 2011. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules.* 16: 1253-1270.
- Rohini, N., V. Lakshmanan, D. Saraladevi, J. John, & P. Govindarasu. 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.
- Salam, C.M.A. & J.E. Thoppil. 2010. Isolation of induced morphological mutants in *Capsicum annuum* L. *Journal of Phytology.* 2(2): 57-63.
- Sigma-Aldrich. 2017. Ethyl Methanesulfonate. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m0880?1ang=en®ion=ID>. Diakses tanggal 12 September 2017.

- Stewart Jr, C., B.C. Kang, K. Liu, M. Mazourek, S.L. Moore, E.Y. Yoo, B.D. Kim, H. Paran & M.M. Jahn. 2005. The *Pun1* gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *The Plant Journal.* 42: 675–688.
- Sutoh, K., K. Kobata, S. Yazawa & T. Watanabe. 2006. Capsinoid is biosynthesized from phenylalanine and valine in a non-pungent pepper, *Capsicum annuum* L. cv. CH-19 sweet. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* 70(6): 1513–1516.
- Tanaka, Y., M. Hosokawa, T. Miwa, T. Watanabe & S. Yazawa. 2010. Newly mutated putative-aminotransferase in nonpungent pepper (*Capsicum annuum*) results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogues. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 58(3): 1761–1767.
- Tanaka, Y., T. Sonoyama, Y. Muraga, S. Koeda, T. Goto, Y. Yoshida & K. Yasuba. 2015. Multiple loss-of-function putative aminotransferase alleles contribute to low pungency and capsinoid biosynthesis in *Capsicum chinense*. *Molecular Breeding.* 35(142): 1–13.
- Tanaka, Y., F. Nakashima, E. Kirii, T. Goto, Y. Yoshida & K. Yasuba. 2016. Difference in capsaicinoid biosynthesis gene expression in the pericarp reveals elevation of capsaicinoid contents in chili peppers (*Capsicum chinense*). *Plant Cell Reproduction.* 36(2):267–279.
- Tiwari, A., A. Vivian-Smith, R.E. Voorrips, M.E. Habets, L.B. Xue, R. Offringa, & E. Heuvelink. 2011. Parthenocarpic potential in *Capsicum annuum* L. is enhanced by carpelloid structures and controlled by a single recessive gene. *BMC Plant Biology.* 11(1): 143.
- Undang, M. Syukur & Sobir. 2015. Identifikasi spesies cabai rawit (*Capsicum* spp.) berdasarkan daya silang dan karakter morfologi. *Jurnal Agronomi Indonesia.* 43(2): 118-125.
- Usman, M. G., M.Y. Rafii, M.R. Ismail, Md.A. Malek & M.A. Latif. 2014. Capsaicin and dihydrocapsaicin determination in chili pepper genotypes using ultra-fast liquid chromatography. *Molecules.* 19: 6474–6488.
- Vazhacharickal, P.J. & J. Joseph. 2016. Morphological diversity of chilli pepper (*Capsicum annuum* L) varieties in Kerala and

its antilarvicidal properties among targeted and non target organisms. Cuvillier Verlag, Gottingen.

Villota-Cerón, D., M.L. Bonilla-Betancourt, H. Carmen-Carrillo, J. Jaramillo-Vásquez & M.A. García-Dávila. 2012. Morphological characterization of *Capsicum* spp. accessions from the germplasm collection of Corpoica C.I. Palmira, Colombia. *Acta Agronómica*. 61(1): 16-26.

Wahyudi. 2011. **Panen cabai sepanjang tahun.** PT. Agro Media Pustaka Jakarta.

Wahyuni. 2014. Breeding for pepper fruit quality: a genetical metabolomics approach. Wageningen University. Wageningen. Tesis.

Zhigila, D.A., A.A.A. Rahaman, O.S. Kolawole & F.A. Oladele. 2014. Fruit morphology as taxonomic features in five varieties of *Capsicum annuum* L. Solanaceae. *Journal of Botany*. 1-6.