

**DIVERSITAS GENETIK CABAI RAWIT LOKAL MALANG,
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN, DAN PROFIL *SIMPLE SEQUENCE REPEAT* (SSR)**

SKRIPSI

oleh

FAJRULI BUDIARTO

155090101111006



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

MALANG

2019

**DIVERSITAS GENETIK CABAI RAWIT LOKAL MALANG,
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN, DAN PROFIL *SIMPLE SEQUENCE REPEAT* (SSR)**

SKRIPSI

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

oleh

**FAJRULI BUDIARTO
155090101111006**



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

**MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**DIVERSITAS GENETIK CABAI RAWIT LOKAL MALANG
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, KANDUNGAN
CAPSAICIN, DAN PROFIL *SIMPLE SEQUENCE REPEAT* (SSR)**

FAJRULI BUDIARTO
155090101111006

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 10 Juli 2019
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 S1 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 : Fajruli Budiarto

NIM : 155090101111006

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi Berjudul : Diversitas Genetik Cabai Rawit Lokal Malang Berdasarkan Karakter Morfologi, Kandungan Capsaicin dan Profil *Simple Sequence Repeat* (SSR)

Dengan ini menyatakan bahwa:

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

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 17 Juli 2019

Yang menyatakan,

Fajruli Budiarto

155090101111006

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.

Diversitas Genetik Cabai Rawit Lokal Malang Berdasarkan Karakter Morfologi, Kandungan Capsaicin, dan Profil *Simple Sequence Repeat* (SSR)

Fajruli Budiarto, Estri Laras Arumingtyas

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Brawijaya
2019

ABSTRAK

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura dari famili Solanaceae yang digemari masyarakat Indonesia. Cabai rawit terdiri dari beberapa varietas yang dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia, tidak terkecuali di kota Malang. Tujuan dari penelitian ini adalah mendeskripsikan dan menganalisis diversitas genetik tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil *Simple Sequence Repeat* (SSR). Deskripsi karakter morfologi mengacu pada deskriptor *Capsicum* spp. *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI). Kandungan capsaicin diukur menggunakan metode spektrofotometri, dan profil SSR didapatkan melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Uji statistik dilakukan menggunakan SPSS 16.0 untuk mengetahui signifikansi dari masing-masing karakter kuantitatif. Diversitas genetik direpresentasikan dalam bentuk dendrogram UPGMA menggunakan *software* NTSYS 2.02i. Lima genotipe yang diamati menunjukkan adanya variasi morfologi berdasarkan karakter kuantitatif dan kualitatif, kecuali warna mahkota. Kelima genotipe memiliki profil SSR yang berbeda-beda antara satu dengan lainnya. CH memiliki kekerabatan paling dekat dengan G1M4. Selain itu, CH juga berkerabat dekat dengan G4 dari profil SSR yang dimiliki. G4 berkerabat dekat dengan G18 dari sifat fenotipe yang dimiliki. Sementara itu, G17 berkerabat jauh dengan genotipe lainnya. Namun, profil SSR yang dimiliki oleh G17 menunjukkan kemiripan yang cukup tinggi dengan profil SSR yang dimiliki oleh G18.

Kata kunci: Cabai rawit, capsaicin, diversitas genetik, SSR

Genetic Diversity of Malang Local Chili Pepper Based on Morphological Characteristics, Capsaicin Content, and Simple Sequence Repeat (SSR) Profile

Fajruli Budiarto, Estri Laras Arumingtyas

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
University of Brawijaya
2019

ABSTRACT

Chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) is one of horticultural plants of the Solanaceae family that is favored by Indonesian people. Chili pepper consists of several varieties that can be found in various regions in Indonesia, including Malang. This study was conducted to describe and analyze genetic diversity of chili pepper G1M4, G4, G17, G18, and CH based on morphological characteristics, capsaicin content, and *Simple Sequence Repeat* (SSR) profile. The morphological analysis was referred to the descriptors for *Capsicum* spp. of the International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). The capsaicin content was measured with spectrophotometric methods, and the SSR profile was developed using Polymerase Chain Reaction (PCR). Statistical tests were performed using SPSS 16.0 to determine the significance of each quantitative character. Genetic diversity represented in the form of a dendrogram using NTSYS 2.02i based on UPGMA method. The five genotypes observed showed morphological variations based on quantitative characters and qualitative characters, except the color of the corolla. SSR profiles of each genotype differed from one another. CH has the closest relationship with G1M4. In addition, CH is also closely related to G4 from the SSR profile owned. G4 is closely related to G18 based on phenotypic traits. Meanwhile, G17 is distantly related to other genotypes. However, the SSR profile that is owned by G17 shows a fairly high similarity with the SSR profile owned by G18.

Keywords: Capsaicin, chili pepper, genetic diversity, SSR

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala, yang telah memberikan Rahmat dan Karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi, sebagai salah satu syarat kelulusan dari Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof.Dr.Ir. Estri Laras Arumingtyas, M.Sc.St. selaku Dosen Pembimbing, yang telah mendampingi dan memberikan pengarahan, serta ilmu dan masukan yang bermanfaat bagi penulis.
2. Dr. Serafinah Indriyani, M.Si dan Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang berguna untuk perbaikan penyusunan skripsi.
3. Orang tua beserta keluarga penulis yang selalu memberikan doa dan motivasi.
4. Nur Rahmattullah, S.Si selaku mentor selama penelitian berlangsung yang telah membagikan ilmunya.
5. Novia Cahyani, Nurlissa Apriliani, Rifa Salsabila Khasan beserta seluruh anggota tim *Capsicum* dan rekan-rekan Angkatan 2015.
6. Seluruh civitas akademik Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini merupakan upaya terbaik penulis, dalam membantu dan mengembangkan ilmu pengetahuan. Kritik dan saran sangat diperlukan untuk meningkatkan karya tulis ini semakin baik.

Malang, 17 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
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 Klasifikasi dan Distribusi	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Habitat dan syarat tumbuh	6
2.2 Capsaicin	6
2.2.1 Struktur kimia dan manfaat capsaicin	6
2.2.2 Biosintesis capsaicin dan peran capsaicin pada tanaman	7
2.2.3 Penghitungan kandungan capsaicin	9
2.3 <i>Simple Sequence Repeats</i> (SSRs)	9
2.4 Analisis Diversitas Genetik pada Tanaman	10
BAB III METODE PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2 Bahan Tanaman dan Rancangan Penelitian	12
3.3 Pengamatan Morfologi Tanaman Cabai Rawit	13
3.4 Pengukuran Kandungan Capsaicin Buah Cabai Rawit	15
3.5 Isolasi DNA Tanaman Cabai Rawit	15
3.6 Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Tanaman Cabai Rawit	16

3.7	Amplifikasi dan Separasi DNA Tanaman Cabai Rawit	17
3.8	Analisis Data	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		19
4.1	Karakter Morfologi, Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH	19
4.1.1	Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G1M4	19
4.1.2	Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G4	19
4.1.3	Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G17	20
4.1.4	Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G18	21
4.1.5	Deskripsi karakter morfologi cabai rawit CH	21
4.2	Variasi Morfologi Antara Genotipe Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH	22
4.3	Kandungan Capsaicin Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH	26
4.4	Profil SSR Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH	27
4.5	Diversitas Genetik Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH	30
4.5.1	Diversitas cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaicin	30
4.5.2	Diversitas cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data profil SSR	32
4.5.3	Diversitas cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		36
5.1	Kesimpulan	36
5.2	Saran	36
DAFTAR PUSTAKA		37
LAMPIRAN		43

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Deskripsi karakter kuantitatif	13
2	Deskripsi karakter kualitatif	14
3	Karakter-karakter kualitatif dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti	23
4	Karakter-karakter kuantitatif dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti	23
5	Kandungan capsaicin dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti	27
6	Profil SSR dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti	29
7	Jumlah pita, jumlah pita polimorfik, persentase polimorfisme, dan heterozigositas dari masing-masing primer	30
8	Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaicin	31
9	Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data profil SSR	32
10	Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR	34
11	Uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i> pada taraf 5% (karakter morfologi)	43
12	Uji <i>Levene's</i> pada taraf 5% (karakter morfologi)	43
13	Uji MANOVA pada taraf 5% (karakter morfologi)	44
14	Uji <i>Tukey HSD</i> pada taraf 5% (karakter morfologi)	44
15	Uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i> pada taraf 5% (kandungan capsaicin)	45
16	Uji <i>Levene's</i> pada taraf 5% (kandungan capsaicin)	46
17	Uji <i>one-way</i> ANOVA pada taraf 5% (kandungan capsaicin)	46
18	Uji <i>Tukey HSD</i> pada taraf 5% (kandungan capsaicin)	46
19	Hasil <i>scoring</i> data morfologi ke dalam data biner	47
20	Hasil <i>scoring</i> data kandungan capsaicin ke dalam data biner	47
21	Hasil <i>scoring</i> data profil SSR ke dalam data biner	48
22	Lima primer SSR yang digunakan	50

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Morfologi tanaman cabai rawit	5
2	Struktur kimia capsaicin	7
3	Biosintesis capsaicin	8
4	Alur kerja pembuatan marker SSR	10
5	Morfologi cabai rawit G1M4	19
6	Morfologi cabai rawit G4	20
7	Morfologi cabai rawit G17	20
8	Morfologi cabai rawit G18	21
9	Morfologi cabai rawit CH	22
10	Hasil elektroforesis produk PCR dari cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH menggunakan primer CA19, CA52, CA96, CA56, dan CA26	28
11	Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaicin	31
12	Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data profil SSR	33
13	Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR	35
14	Kurva standar capsaicin	48
15	Hasil elektroforesis DNA <i>whole genome</i> gel agarose 1%	49
16	Marker DNAMark™ 100 bp	49
17	Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA19	51
18	Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA52	51
19	Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA96	52
20	Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA56	52
21	Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA26	53

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Analisis statistik data karakter morfologi	43
2	Analisis statistik data kandungan capsaicin	45
3	<i>Scoring</i> data morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR	47
4	Kurva standar capsaicin	48
5	Hasil elektroforesis DNA <i>whole genome</i> gel agarose 1%	49
6	Marker DNAMark™ 100 bp	49
7	Deskripsi primer SSR yang digunakan	50
8	Visualisasi hasil PCR-SSR	51

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan

A₂₃₀
A₂₆₀
A₂₈₀
AFLP
ANOVA
CH
CI
CS
CTAB
DNA
EMS
EtBr
FP
G1
G17
G18
GIM4
G4
GC/LC-MS
H
HPLC
HSD
LDL
MANOVA
NGS
NMR
NTSYS
PCI
PCR
pH

Keterangan

absorbansi 230 nm
absorbansi 260 nm
absorbansi 280 nm
*amplified fragment length
polymorphism*
analysis of variance
cakra hijau
chloroform isoamyl alcohol
capsaicin synthase
*cetyl trimethylammonium
bromide*
deoxyribonucleic acid
ethyl methane sulfonate
ethidium bromide
faktor pengenceran
genotipe 1
genotipe 17
genotipe 18
genotipe 1 mutan nomor 4
genotipe 4
*gas chromatography/liquid
chromatography-mass
spectrometry*
heterozigositas
*high-performance liquid
chromatography*
honestly significant difference
low density lipoprotein
multivariate analysis of variance
next generation sequencing
nuclear magnetic resonance
*numerical taxonomy and
multiware analysis system*
*phenol chloroform
isoamylalcohol*
polymerase chain reaction
puissance d'hydrogene

PIC
RAK
RAPD

SHU
SNP
SSR

TBE

TE

UPGMA

Uv-Vis

Simbol/Singkatan

%

°C

μL

bp

cm

g/mol

m

M

mdpl

mm

mM

nm

ppm

rpm

V

v/v

polymorphic information content
rancangan acak kelompok

random amplified polymorphic

DNA

scoville heat units

single nucleotide polymorphisms

simple sequence repeat

Tris Borate EDTA

Tris EDTA

*unweighted pair group method of
arithmetic means*

ultraviolet-visible

Nama unit

persen

derajat celcius

mikroliter

base pair

centi meter

gram/mol

meter

molar

meter di atas permukaan laut

mili meter

mili molar

nano meter

part per million

rotasi per menit

volt

volume per volume

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura dari famili Solanaceae yang digemari masyarakat Indonesia. Produksi cabai rawit di Indonesia cukup besar (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2017). Catatan sejarah menyebutkan sejak tahun 1899 masyarakat Indonesia khususnya suku Jawa sudah terbiasa memanfaatkan buah cabai rawit sebagai bumbu, sedangkan daunnya dimanfaatkan sebagai obat luar (Alif, 2017). Cabai rawit merupakan jenis tanaman perdu yang memiliki kayu, bercabang, dan tumbuh dengan tegak. Secara umum, cabai rawit memiliki syarat tumbuh yang sama dengan tanaman cabai dari jenis lainnya. Cabai rawit dapat tumbuh dengan baik di dataran tinggi maupun dataran rendah dengan ketinggian 1-150 mdpl. Cabai rawit juga dapat tumbuh di daerah kering, akan tetapi lebih optimal apabila ditanam pada lahan yang subur banyak mengandung unsur hara, gembur, cukup air serta mengandung banyak humus. Cabai rawit dapat tumbuh dengan baik di daerah yang memiliki curah hujan rendah maupun tinggi, dengan suhu udara berkisar 25-32 °C (Alif, 2017).

Buah cabai rawit mengandung zat gizi antara lain lemak, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B1, B2, C, dan senyawa alkaloid seperti capsaicin, oleoresin, flavonoid, dan minyak esensial (Ikpeme dkk., 2014). Kandungan nutrisi dan tingkat kepedasan dari cabai rawit bervariasi antar varietas (Lingga, 2014). Senyawa metabolit sekunder yang bertanggung jawab dalam memberikan rasa pedas adalah capsaicin (*trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide*) yang merupakan alkaloid yang hanya dapat diperoleh dari genus *Capsicum*. Capsaicin merupakan senyawa yang memiliki banyak manfaat, baik dari segi nutrisi, farmasi, hingga pertanian yaitu sebagai biopestisida. Capsaicin juga digunakan sebagai salah satu karakter dalam penelitian diversitas genetik tanaman pada cabai (Mongkolporn, 2018).

Simple Sequence Repeat (SSR) merupakan sekuens pendek DNA (1-6 bp) dengan motif berulang. Marker SSR telah digunakan secara luas dalam penelitian terkait variasi genetik dan evolusi molekuler.

Adapun keuntungan menggunakan SSR, yaitu spesifik terhadap suatu lokus, *multi-allelic*, dapat menunjukkan adanya kodominansi, dan mudah dideteksi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Cheng dkk., 2016). Penelitian Sharmin dkk. (2018) mengenai diversitas genetik 20 genotipe tanaman cabai menggunakan SSR di Bangladesh telah membuktikan bahwa SSR sangat baik digunakan untuk mengetahui diversitas genetik secara akurat. Informasi mengenai diversitas genetik merupakan salah satu faktor penentu dalam keberhasilan strategi pemuliaan maupun konservasi tanaman (Cheng dkk., 2016).

Cabai rawit di Indonesia memiliki banyak varietas yang dapat dengan mudah dibedakan dari morfologi buahnya. Meskipun terdapat variasi bentuk buahnya, masyarakat umum tetap menyebutnya sebagai “cabai rawit” (Arumingtyas dkk., 2017). Beberapa jenis cabai rawit yang ditemukan di pasar Malang telah dikoleksi dan diteliti oleh Arumingtyas dkk. (2017). Cabai rawit tersebut antara lain adalah G1, G2, G3, G4, G5, dan G6. Dalam penelitian Arumingtyas dkk. (2017) dideskripsikan karakter morfologi dan molekuler menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pada keenam genotipe cabai rawit tersebut, dan induksi mutasi dengan *ethyl methane sulfonate* (EMS) (Arumingtyas dkk., 2018; Dwinianti dkk., 2018; Juliandari dkk., 2018; Arumingtyas & Fauzi, 2019). Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk melengkapi informasi tentang cabai rawit lokal Indonesia dengan mendeskripsikan karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR serta menganalisis diversitas genetik dari cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH. Adapun deskripsi singkat genotipe cabai rawit yang digunakan antara lain: G1M4 yang merupakan cabai rawit G1 mutan nomer 4 hasil mutasi EMS 0,01% (Arumingtyas, tidak dipublikasikan). Cabai rawit G1 atau dalam nama kultivarnya atau varietasnya disebut sebagai cabai rawit Cakra Hijau (Rahmatullah, 2018). G4 merupakan tanaman cabai koleksi yang telah ditumbuhkan beberapa generasi (Arumingtyas dkk., 2017). G17 dan G18 merupakan genotipe baru yang diberi nama berdasarkan perbedaan morfologi buahnya, diperoleh dari pasar Malang (Arumingtyas, tidak dipublikasikan). Cakra Hijau (CH) merupakan varietas hibrida yang telah banyak diperdagangkan secara luas dalam beberapa merek dagang terkenal seperti BISI dan Tanindo (Rukmana, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH?
2. Bagaimana diversitas genetik tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendeskripsikan karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH.
2. Menganalisis diversitas genetik tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai bahan studi lanjut untuk mengetahui varietas cabai rawit lokal Malang yang memiliki karakter-karakter unggul yang kemudian dapat saling disilangkan untuk menghasilkan varietas hibrida dengan karakter yang terbaik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

2.1.1 Klasifikasi dan distribusi

Klasifikasi cabai rawit menurut CABI (2018) adalah sebagai berikut:

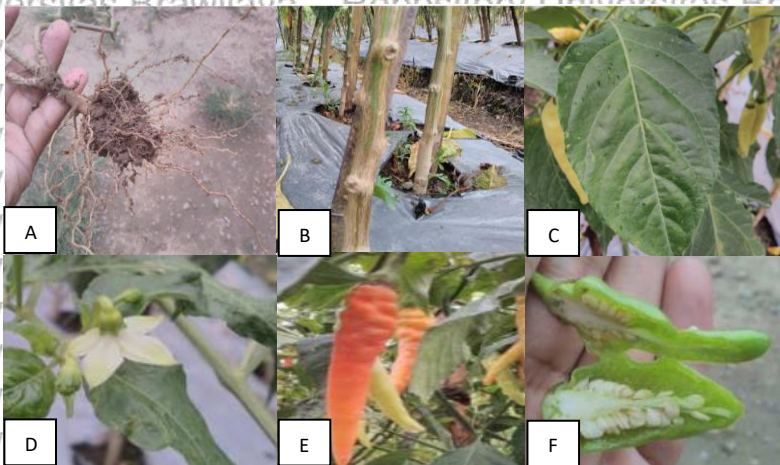
Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Capsicum</i>
Spesies	: <i>Capsicum frutescens</i> L.

Capsicum frutescens L. berasal dari Amerika Selatan. Penemu Benua Amerika, Christophorus Columbus pada tahun 1492 membawa biji-biji cabai rawit dari Amerika ke Spanyol. Selanjutnya, pengembara Portugis dan Spanyol dalam perjalanan dagangnya berjasa menyebarkan biji-biji cabai rawit ke kawasan Asia. Abad ke-16, penyebaran cabai rawit sudah meluas ke Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Sentrum produsen cabai rawit mulanya terkonsentrasi di beberapa daerah tinggi di Pulau Jawa. Saat ini, cabai rawit ditanam di berbagai daerah di Indonesia, baik dataran tinggi maupun dataran rendah. Produsen cabai terbesar di Indonesia saat ini adalah Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Sumatera Utara, dan Sulawesi Selatan (Rukmana, 2002).

2.1.2 Morfologi

Tanaman cabai rawit biasanya tumbuh setahun, tetapi dapat juga tumbuh 2-3 tahun. Tanaman ini berbentuk perdu atau setengah perdu. Struktur tubuh tanaman terdiri atas akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji (Rukmana, 2002). Perakaran tanaman cabai rawit terdiri atas akar tunggang yang tumbuh lurus ke pusat bumi dan akar serabut yang tumbuh menyebar ke samping. Perakaran tanaman tidak dalam sehingga tanaman hanya dapat tumbuh dan berkembang

dengan baik pada tanah yang subur. Batang tanaman cabai rawit memiliki struktur keras dan berkayu, berwarna hijau gelap, berbentuk bulat, halus, dan bercabang banyak. Batang utama tumbuh tegak dan kuat. Percabangan terbentuk setelah batang tanaman mencapai ketinggian berkisar antara 30-45 cm. Cabang tanaman beruas-ruas, setiap ruas ditumbuhi daun dan tunas. Daun cabai rawit berbentuk bulat telur dengan ujung runcing dan tepi daun rata. Ukuran daun lebih kecil dibandingkan dengan daun tanaman cabai besar. Daun merupakan daun tunggal dengan kedudukan agak mendatar, memiliki tulang daun menyirip, dan tangkai tunggal yang melekat pada batang atau cabang. Bunga tanaman cabai rawit merupakan bunga tunggal yang berbentuk bintang. Bunga tumbuh menunduk pada ketiak daun, dengan mahkota bunga berwarna putih. Penyerbukan bunga termasuk penyerbukan sendiri, namun dapat terjadi secara silang dengan keberhasilan sekitar 56%. Buah cabai rawit berbentuk bulat pendek dengan ujung runcing atau berbentuk kerucut. Ukuran buah bervariasi menurut varietasnya. Warna buah cabai rawit bervariasi buah muda berwarna hijau atau putih, sedangkan buah yang telah masak berwarna merah menyala atau merah jingga. Biji cabai rawit berwarna putih kekuning-kuningan, berbentuk bulat pipih, tersusun berkelompok, dan saling melekat pada empulur (Gambar 1) (Alif, 2017).



(Alif, 2017)

Gambar 1. Morfologi tanaman cabai rawit. (A) akar; (B) batang; (C) daun; (D) bunga; (E) buah; (F) biji

2.1.3 Habitat dan syarat tumbuh

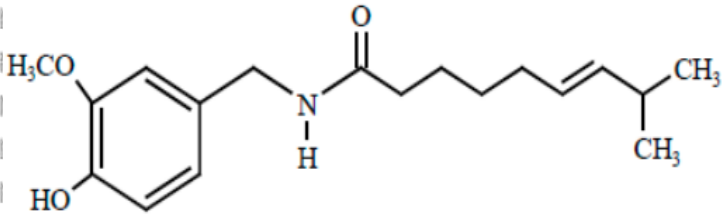
Kondisi lingkungan sebagai tempat tumbuh tanaman sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman dan produksi, baik dalam hal kuantitas maupun kualitas. Kondisi lingkungan yang sesuai bagi pertumbuhan tanaman merupakan syarat utama keberhasilan usaha tani, di samping faktor sifat-sifat tanaman itu sendiri dan teknik budi daya yang diterapkan. Kondisi lingkungan setiap wilayah atau daerah berbeda-beda, sehingga produktivitas tanaman di setiap daerah juga berbeda. Keadaan iklim dan tanah merupakan dua hal pokok yang harus diperhatikan dalam menentukan lokasi usaha tani cabai rawit. Keadaan iklim sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman cabai rawit adalah suhu udara, kelembapan udara, curah hujan, dan cahaya matahari. Tanaman cabai rawit agar dapat tumbuh dengan baik memerlukan suhu udara antara 18-30 °C. Tanaman cabai rawit memerlukan kelembapan udara tertentu agar tumbuh dengan baik. Udara yang sangat kering dapat menyebabkan tanaman menderita klorosis dan antosianensis. Sebaliknya, udara yang sangat lembap akan menyebabkan pembusukan akar, sehingga akan menyebabkan kelayuan tanaman. Kelembapan udara yang cocok untuk tanaman cabai rawit adalah 60-80%. Tanaman cabai rawit agar dapat tumbuh dengan baik memerlukan kondisi iklim dengan 0-5 bulan basah dan 4-6 bulan kering dalam satu tahun dan curah hujan berkisar antara 600-1250 mm per tahun. Tanaman cabai rawit membutuhkan cahaya matahari yang cukup sepanjang hari. Awal pertumbuhan tanaman dibutuhkan naungan, tetapi saat menjelang dewasa, tanaman cabai rawit memerlukan sinar matahari penuh. Jenis tanah yang cocok untuk budi daya cabai rawit adalah jenis tanah mediteran dan alluvial (Cahyono, 2003).

2.2 Capsaicin

2.2.1 Struktur kimia dan manfaat capsaicin

Capsaicinoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder khusus yang dihasilkan oleh tanaman cabai, bertanggung jawab memberikan rasa pedas pada lidah. Capsaicinoid terdiri dari capsaicin, dihydrocapsaicin, nordihydrocapsaicin, homocapsaicin, dan homodihydrocapsaicin. Capsaicin merupakan senyawa utama yang menyusun 90% dari total capsaicinoid suatu tanaman cabai (Zhang dkk., 2016). Capsaicin (*trans-8-methyl-N-vanillyl-6-*

nonenamide) memiliki struktur fenolik dan bersifat nonpolar. Capsaicin memiliki berat molekul sebesar 305.4118 g/mol (Arora dkk., 2011). Capsaicin berbentuk kristal, tidak berwarna, dan tidak berbau dengan rumus molekul $C_{18}H_{27}NO_3$ (Mongkolporn, 2018). Capsaicin memiliki cincin aromatik, ikatan amida, dan rantai samping yang bersifat hidrofobik (Gambar 2) (Reyes-Escogido dkk., 2011).



(Oliver & Mejia, 2016)

Gambar 2. Struktur kimia capsaicin

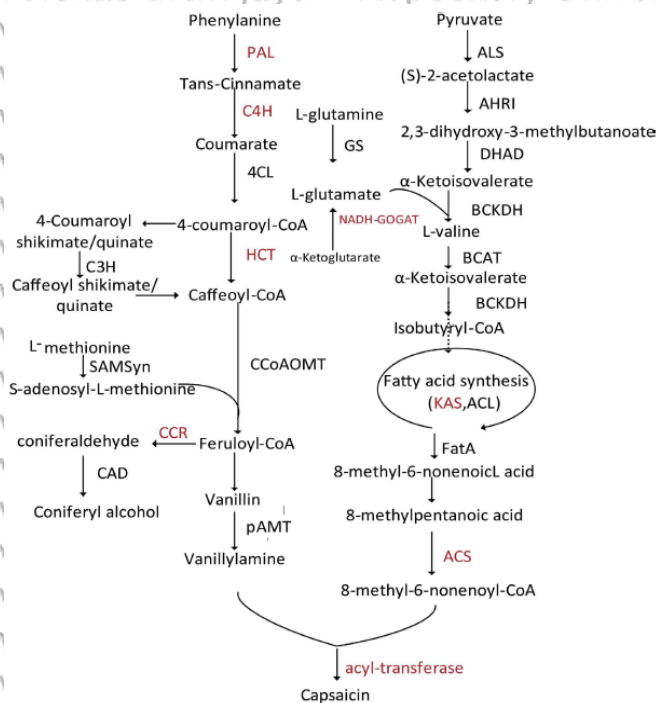
Capsaicin memiliki banyak manfaat dalam dunia medis. Capsaicin dapat mengurangi gejala inflamasi pada penyakit *rheumatoid arthritis* dan *fibromyalgia* (Fraenkel dkk., 2004). Secara *in vitro* capsaicin dapat mencegah migrasi sel-sel kanker payudara (Thoennissen dkk., 2010). Capsaicin dapat mengurangi akumulasi lemak tubuh sehingga berpotensi digunakan sebagai obat penurunan berat badan (Reinbach dkk., 2009). Capsaicin dapat memelihara kesehatan sistem kardiovaskular dan mengobati penyakit seperti jantung koroner dan hipertensi (Peng & Li, 2010). Penelitian Ahuja & Ball (2006) telah membuktikan dengan mengonsumsi cabai selama 4 minggu secara rutin dapat memperlambat oksidasi dari *low density lipoprotein* (LDL) sehingga dapat mencegah terjadinya arterosklerosis.

2.2.2 Biosintesis capsaicin dan peran capsaicin pada tanaman

Capsaicin pada tanaman cabai dapat disintesis melalui dua jalur, yaitu jalur fenilpropanoid dan jalur *branched-fatty-acid*. Jalur fenilpropanoid diawali dengan fenilalanin yang mengalami deaminasi, hidroksilasi, dan metilasi untuk menghasilkan *feruloyl-CoA*. Hilangnya dua unit karbon dan *aminotransfer* dari *feruloyl-CoA* menghasilkan *vanillylamine*, yang merupakan prekursor

langsung dari capsaicin. Jalur *branched-fatty-acid* menggunakan asam amino yang disintesis dari plastida sebagai prekursor capsaicin. Gen bernama *FatA*, yang termasuk dalam golongan *fatty-acid synthase* mengubah asam amino menjadi *8-methyl-6-nonenol-CoA* yang kemudian diubah menjadi *8-methylpentanoic acid*. Enzim ACS mengubah *8-methylpentanoic acid* menjadi *8-methyl-6-nonenol-CoA*. *Acyl-transferase* (AT) mengubah *8-methyl-6-nonenol-CoA* menjadi capsaicin (Gambar 3) (Zhang dkk., 2016).

Capsaicin pada tanaman memiliki peran dalam menghambat pertumbuhan tanaman lain, mengingat capsaicin adalah metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh tanaman cabai dari jaringan tubuhnya. Selain itu, dekomposisi tanaman cabai menjadi tanah juga dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman di sekitarnya. Noguchi & Tanaka (2003) telah membuktikan bahwa capsaicin dapat menghambat pertumbuhan tunas dan akar pada tanaman selada dengan konsentrasi 0,1 mM dan 0,3 mM secara berurutan.



(Zhang dkk., 2016)

Gambar 3. Biosintesis capsaicin

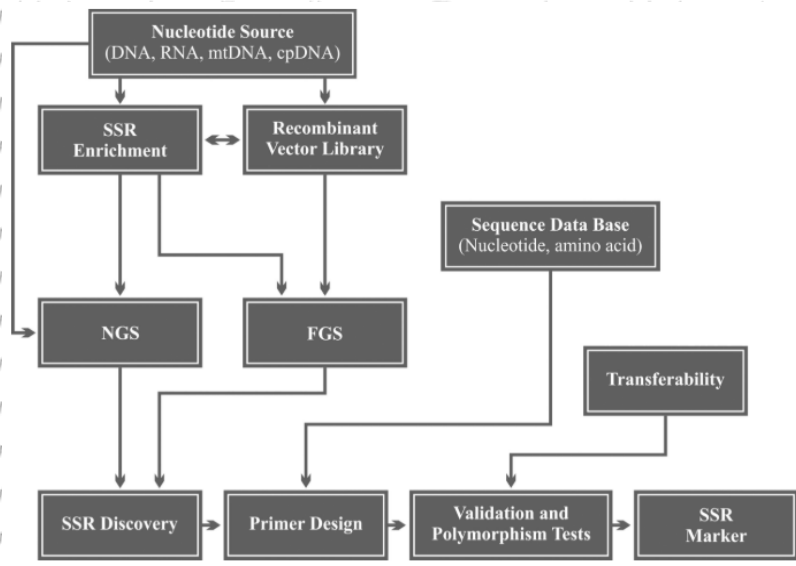
2.2.3 Penghitungan kandungan capsaicin

Penghitungan kandungan capsaicin dapat dilakukan dengan kolorimetri, kromatografi gas, kromatografi cair, GC/LC-MS, dan NMR-*flow probe*. Metode *high performance liquid chromatography* (HPLC) merupakan metode penghitungan kandungan capsaicin yang paling umum digunakan karena lebih akurat, meskipun membutuhkan biaya yang mahal dan sumber daya manusia yang terlatih untuk mengoperasikan alat. Selain itu, metode spektrofotometri Uv-Vis juga cukup populer digunakan karena membutuhkan biaya yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode HPLC dengan hasil yang cukup akurat. Perbedaan antara metode HPLC dengan metode spektrofotometri Uv-Vis adalah HPLC memungkinkan untuk menganalisis kandungan capsaicin yang berasal dari banyak sampel dalam waktu yang bersamaan, sedangkan pada spektrofotometri Uv-Vis hanya dapat menganalisis satu sampel dalam satu waktu. Capsaicin dapat diabsorpsi pada panjang gelombang 200 nm hingga 350 nm. Prinsip penghitungan konsentrasi capsaicin mengikuti hukum Beer-Lambert (Gonzalez-Zamora dkk., 2015).

2.3 Simple Sequence Repeats (SSRs)

Simple Sequence Repeats (SSRs) adalah kelompok dari sekuens DNA repetitif yang merupakan bagian besar dari genom. SSR sebagian besar merupakan sekuens *noncoding* dari DNA, yang artinya bukan merupakan gen yang dapat mengkodekan protein. SSR memiliki panjang basa 1-6 bp. Marker SSR telah digunakan secara luas dalam penelitian terkait variasi genetik dan evolusi molekuler. SSR memiliki sifat, yaitu spesifik terhadap suatu lokus, *multi-allelic*, dapat menunjukkan adanya kodominansi, dan mudah dideteksi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pembuatan marker SSR dapat dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu; (1) pengetahuan mengenai letak SSR pada sekuens DNA. Penemuan letak SSR pada sekuens DNA umumnya dilakukan menggunakan *Next Generation Sequencing* (NGS) karena sifat NGS yang *low cost* dan cepat; (2) mendesain primer yang berkomplemen dengan daerah *flanking* dari SSR. Primer yang didesain khusus untuk spesies tertentu dapat juga ditransfer untuk digunakan pada spesies lain, melalui validasi terlebih dahulu; (3) validasi primer menggunakan PCR dan

elektroforesis; dan (4) deteksi polimorfisme antar individual (Gambar 4) (Vieira dkk., 2016).



(Vieira dkk., 2016)

Gambar 4. Alur kerja pembuatan marker SSR

2.4 Analisis Diversitas Genetik pada Tanaman

Analisis diversitas genetik pada tanaman dapat ditinjau berdasarkan pada karakter morfologi, anatomi, fisiologi, biokimia, dan molekuler. Analisis berdasarkan karakter morfologi dan anatomi merupakan metode yang paling sederhana, namun memiliki kekurangan yaitu rentan terhadap lingkungan sehingga kurang akurat. Analisis karakter morfologi dan anatomi dapat dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Pengamatan secara kuantitatif dilakukan misalnya berdasarkan karakter yang dipilih seperti tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, luas daun, dan jumlah organ atau bagian tanaman. Pengamatan secara kualitatif dilakukan misalnya dengan cara mengamati warna bunga, bentuk daun, dan susunan dari suatu organ atau bagian tanaman. Analisis berdasarkan karakter fisiologi dan biokimia menggunakan kandungan senyawa metabolit sekunder beserta jalur biosintesisnya sebagai pembeda. Kelebihan dari metode ini membutuhkan sampel dalam jumlah sedikit, akan

tetapi memiliki keterbatasan dalam ketersediaan senyawa metabolit sekunder yang akan diambil. Senyawa metabolit sekunder diproduksi oleh tanaman dalam waktu dan kondisi tertentu (Ratih, 2016). Analisis berdasarkan karakter molekuler menggunakan komposisi materi genetik tanaman sebagai pembeda satu sama lain. Metode ini sangat akurat dibandingkan metode analisis lain yang masih sederhana. Teknik analisis secara molekuler memiliki beberapa teknik, antara lain sekuensing DNA, *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Microsatellites*, dan *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP). Diversitas genetik umumnya digambarkan dalam bentuk dendrogram menggunakan koefisien similaritas tertentu (Arif dkk., 2010).

Sebagai contoh misalnya menggunakan *microsatellites* atau yang dikenal dengan *Simple Sequence Repeats* (SSRs). *Microsatellites* adalah lokus-lokus polimorfik pada DNA yang memiliki urutan basa berulang dengan panjang 1 hingga 6 bp (Cheng dkk., 2016). Marker SSR diantara marker berbasis PCR lainnya telah terbukti sangat efektif sebagai alat terutama dalam studi mengenai diversitas genetik. Marker ini telah digunakan secara luas dalam *screening*, karakterisasi, atau evaluasi berbagai macam jenis tanaman budidaya (Saba dkk., 2018). Metode dalam analisis diversitas genetik menggunakan SSR sama dengan menggunakan marker berbasis PCR lainnya, yaitu menggunakan prinsip primer untuk mensintesis sekuens spesifik dari DNA yang kemudian digandakan menggunakan PCR. Produk PCR kemudian diseparasi menggunakan elektroforesis. Proses separasi dapat menggunakan metode sederhana seperti elektroforesis gel agarose atau modern seperti menggunakan *capillary electrophoresis*. Pita yang muncul diubah menjadi data biner yang kemudian dapat dibuat dendrogram untuk mengetahui diversitas genetik antara sampel yang diteliti (Arif dkk., 2010).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018–Juli 2019. Penanaman, perawatan, pengamatan morfologi dan pemanenan buah cabai rawit dilakukan di kebun cabai rawit, Jl. Margobasuki Nomor 31, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Analisis kandungan capsaicin dan profil SSR dilaksanakan 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 Bahan Tanaman dan Rancangan Penelitian

Biji cabai rawit G1M4, G4, dan CH diperoleh dari kebun cabai rawit Dau, Malang. Biji cabai rawit G17 dan G18 diperoleh dari pasar Malang. Adapun deskripsi singkat genotipe cabai rawit yang digunakan antara lain: G1M4 yang merupakan cabai rawit G1 mutan nomer 4 hasil mutasi EMS 0,01% (Arumingtyas, tidak dipublikasikan). Cabai rawit G1 atau dalam nama kultivarnya atau varietasnya disebut sebagai cabai rawit Cakra Hijau (Rahmatullah, 2018). G4 merupakan tanaman cabai koleksi yang telah ditumbuhkan beberapa generasi (Arumingtyas dkk., 2017). G17 dan G18 merupakan genotipe baru yang diberi nama berdasarkan perbedaan morfologi buahnya, diperoleh dari pasar Malang (Arumingtyas, tidak dipublikasikan). Cakra Hijau (CH) merupakan varietas hibrida yang telah banyak diperdagangkan secara luas dalam beberapa merek dagang terkenal seperti BISI dan Tanindo (Rukmana, 2002). Biji tanaman disemai dalam pot tanaman berdiameter 17 cm dan diletakkan di tempat yang memiliki penyinaran cukup. Media semai yang digunakan terdiri dari campuran tanah, sekam, dan kompos (2:1:1). Dilakukan penyiraman setiap hari secara teratur.

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan enam kali perulangan. Cabai rawit yang memiliki jumlah daun 4-5 helai dipindahtanamkan ke pot tanaman berdiameter 25 cm menggunakan dengan komposisi media yang sama saat penyemaian. Cabai rawit ditumbuhkan dalam kondisi cahaya yang

cukup, penyiraman setiap hari secara teratur, dan pengontrolan dari gulma serta organisme pengganggu tanaman.

3.3 Pengamatan Morfologi Tanaman Cabai Rawit

Pengamatan morfologi dilakukan terhadap karakter kuantitatif (Tabel 1) dan kualitatif (Tabel 2) dengan perulangan sebanyak enam kali. Karakter kualitatif diamati habitus tanaman, bentuk daun, warna mahkota, bentuk buah, dan warna buah muda. Karakter kuantitatif diamati tinggi tanaman, panjang buah, diameter buah, dan waktu munculnya percabangan dikotom. Habitus, tinggi tanaman, dan bentuk daun diamati ketika tanaman berumur ± 120 hari setelah penyemaian. Warna bunga diamati ketika bunga telah mekar. Bentuk buah, warna buah muda, panjang buah, dan diameter buah diamati ± 20 hari setelah bunga muncul. Waktu munculnya percabangan dikotom diamati setiap waktu dari penyemaian hingga muncul lalu dicatat.

Tabel 1. Deskripsi karakter kuantitatif

No.	Karakter	Keterangan	Referensi
1.	Tinggi tanaman (cm)	Diukur pada bagian pangkal batang hingga bagian tertinggi dari tanaman	-
2.	Panjang buah (cm)	Diukur dari bagian pangkal hingga pucuk buah	(IPGRI dkk., 1995)
3.	Diameter buah (cm)	Diukur menggunakan jangka sorong pada bagian paling lebar buah	-
4.	Waktu munculnya percabangan dikotom (+hari setelah penyemaian)	Diamati dan dihitung sejak dilakukan penyemaian bibit	-

Tabel 2. Deskripsi karakter kualitatif

No.	Karakter	Keterangan	Referensi
1.	Habitus tanaman	1. <i>Prostrate</i>	(IPGRI dkk., 1995)
		2. <i>Intermediate</i>	
		3. <i>Erect</i>	
2.	Bentuk daun	1. <i>Deltoid</i>	(IPGRI dkk., 1995)
		2. <i>Ovate</i>	
		3. <i>Lanceolate</i>	
		4. <i>Elong-deltoid</i>	
3.	Warna mahkota	1. Putih	(IPGRI dkk., 1995)
		2. Kuning muda	
		3. Kuning	
		4. Kuning kehijauan	
		5. Ungu dengan warna dominan putih	
		6. Putih dengan warna dominan ungu	
		7. Putih dengan tepi ungu	
		8. Ungu	
4.	Bentuk buah	1. <i>Elongate</i>	(IPGRI dkk., 1995)
		2. <i>Almost round</i>	
		3. <i>Triangular</i>	
		4. <i>Campanulate</i>	
5.	Warna buah muda	1. hijau tua	(IPGRI dkk., 1995)
		2. hijau	
		3. hijau pucat	
		4. hijau kekuningan	
		5. kuning	
		6. jingga	
		7. ungu	
		8. ungu tua	

3.4 Pengukuran Kandungan Capsaicin Buah Cabai Rawit

Buah cabai rawit dari masing-masing genotipe diambil sebanyak tiga buah. Buah cabai rawit yang dipilih adalah buah cabai rawit yang berumur ± 20 hari setelah perbungaan. 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*. Buah cabai yang telah halus ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut. Homogenat yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah diletakkan di atas flakon. Filtrat yang diperoleh diencerkan sebanyak 10 kali dengan menggunakan etanol absolut. Sampel selanjutnya diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung kandungan capsaicin sampel berdasarkan persamaan linear antara nilai absorbansi dan konsentrasi larutan standar capsaicin yang telah diketahui sebelumnya (Gonzalez-Zamora dkk., 2015). Setelah itu, konsentrasi capsaicin (ppm) yang diketahui diubah ke satuan *Scoville Heat Units* (SHU) (Wall & Bossland, 1998) melalui persamaan 1:

$$\text{Capsaicin (SHU)} = \text{Konsentrasi capsaicin (ppm)} \times 16 \dots \dots (1)$$

3.5 Isolasi DNA Tanaman Cabai Rawit

Sampel DNA diisolasi dari daun muda dari masing-masing tanaman cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH. Daun cabai rawit ditimbang sebesar 0,1 gram, selanjutnya dihaluskan dalam nitrogen cair menggunakan mortar dan *pestle* steril. Homogenat dipindahkan dalam mikrotube steril, kemudian ditambahkan 700 μL buffer ekstraksi (*pre-heated* CTAB). Mikrotube selanjutnya divortex, lalu diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 60 °C selama ± 30 menit. Sampel kemudian disentrifugasi (1300 rpm, 15 menit, 4 °C). Supernatan yang diperoleh dipindahkan dalam mikrotube baru dan ditambahkan PCI sebanyak 1x (v/v) supernatan, lalu sampel divorteks. Sampel kemudian disentrifugasi disentrifugasi (1300 rpm, 15 menit, 4 °C). Supernatan yang diperoleh dipindahkan dalam mikrotube baru dan ditambahkan CI sebanyak 1x (v/v) supernatan, lalu dihomogenkan dengan *inverting*. Sampel kemudian disentrifugasi (1300 rpm, 15 menit, 4 °C). Supernatan yang diperoleh dipindahkan dalam mikrotube baru dan ditambahkan ammonium

asetat sebanyak 0,1x (v/v), lalu dihomogenkan dengan *inverting*. Sampel kemudian disimpan dalam suhu -20 °C selama *overnight* (± 17 jam). Sampel kemudian di-*thawing*, lalu disentrifugasi (1300 rpm, 15 menit, 4 °C). Supernatan yang diperoleh dibuang, sedangkan peletnya ditambahkan dengan larutan etanol 70% sebanyak 500 µL. Sampel disentrifugasi kembali (1300 rpm, 15 menit, 4 °C). Supernatan yang diperoleh dibuang, sedangkan pelet dikeringanginkan di dalam suhu ruang sampai bersih dari etanol. Pelet yang mengandung DNA tersebut kemudian dilarutkan dalam 50 µL buffer TE pH 7,6 dan selanjutnya isolat DNA disimpan dalam *freezer* pada suhu -20 °C. DNA hasil isolasi kemudian diuji secara kuantitatif dan kualitatif (Fauzi, 2018).

3.6 Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Tanaman Cabai Rawit

Uji secara kuantitatif dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 230, 260, dan 280 nm dengan faktor pengenceran (FP) 200 (5 µL sampel DNA dilarutkan dalam 1000 µL ddH₂O steril. Kemurnian DNA dari RNA dan protein ditentukan dengan rasio A₂₆₀/A₂₈₀ sedangkan kemurnian DNA dari polisakarida ditentukan dengan rasio A₂₆₀/A₂₃₀. Isolat DNA dinyatakan murni dari protein apabila nilai rasio A₂₆₀/A₂₈₀ antara 1,8-2,0. Isolat DNA juga dinyatakan murni dari polisakarida apabila nilai rasio A₂₆₀/A₂₃₀ antara 2,0-2,2. Konsentrasi DNA sampel ditentukan dengan persamaan 2 sebagai berikut:

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

Uji secara kualitatif dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarose 1%. Sebanyak 0,4 gram gel agarose dilarutkan dalam 40 mL TBE 1X lalu dipanaskan hingga mendidih. Cairan gel yang sudah turun suhunya (±80 °C) ditambahkan dengan 2 µL EtBr, lalu cairan gel tersebut langsung dituangkan pada cetakan yang telah dipasang sisir dan didiamkan sampai gel padat. Gel agarose yang telah memadat, dipindahkan pada *chamber*, lalu ditambahkan larutan TBE 1X sampai semua bagian gel terendam. Isolat DNA yang telah dicampur dengan *loading dye* (2:1) dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran gel agarose. Elektroda dihubungkan ke *power supply*, kemudian listrik dinyalakan. Proses *running* DNA pada gel agarose dilakukan dengan tegangan 60 V selama 45 menit. Marker

yang digunakan adalah GeneOn 1 kb. Hasil *running* DNA divisualisasikan dengan UV-Transiluminator *GelDoc* (Fauzi, 2018).

3.7 Amplifikasi dan Separasi DNA Tanaman Cabai Rawit

Terdapat lima pasang primer SSR yang digunakan dalam penelitian ini antara lain primer CA19, CA26, CA52, CA56, dan CA96. Penelitian Carvalho dkk. (2015) menunjukkan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) dari kelima primer memiliki nilai $>0,5$, yang artinya lokus dari sekuens target memiliki diversitas yang tinggi sehingga layak digunakan untuk studi diversitas genetik pada genus *Capsicum*. Amplifikasi dilakukan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dengan volume akhir dari larutan campuran PCR 10 μL yang terdiri dari: 5 μL 2X TaqMaster Mix, 1,5 μL primer, 1 μL sampel DNA dan 2,5 μL air deionisasi. Primer SSR diamplifikasi dalam kondisi berikut: Pre-denaturasi 95 °C selama 2 menit; denaturasi 95 °C selama 1 menit, *annealing* selama 50-56 °C (sesuai dengan T_m dari primer) selama 1 menit, ekstensi 72 °C selama 1 menit, ekstensi akhir 72 °C selama 7 menit. Berlangsung selama 31 siklus. Hasil amplifikasi disimpan pada suhu 4 °C. Amplikon dari setiap sampel dilakukan *running* pada gel agarose 2,5% yang mengandung 2 μL ethidium bromide dalam 1X buffer TBE dengan tegangan 60 V selama 50 menit. Dimasukkan ke dalam sumuran. DNAMark™ 100 bp digunakan sebagai marker pada sisi kanan gel. Hasil *running* DNA divisualisasikan dengan UV-Transiluminator *GelDoc* (Sharmin dkk., 2018)

3.8 Analisis Data

Data karakter morfologi (kuantitatif) dianalisis menggunakan *multivariate analysis of variance* (MANOVA) pada taraf 5%. Data karakter fisiologi dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) *one-way* pada taraf 5%. Apabila hasil uji menunjukkan varian sama, maka uji lanjut yang digunakan adalah uji *Tukey HSD* pada taraf 5%. Apabila hasil uji menunjukkan varian tidak sama, maka uji lanjut yang digunakan adalah uji *Games-Howell* pada taraf 5%. Analisis statistik di atas menggunakan *software* SPSS 16.0. Data karakter kuantitatif dan kualitatif digunakan untuk analisis selanjutnya, yaitu pembuatan matriks similaritas. Data profil SSR dihitung jumlah pita, jumlah pita polimorfik, persentase polimorfisme, serta dihitung heterozigositas (H) menggunakan

aplikasi yang dapat diakses pada <https://www.gene-calc.pl/pic>. Nilai heterozigositas berkisar antara 0 (nol) hingga satu (1).

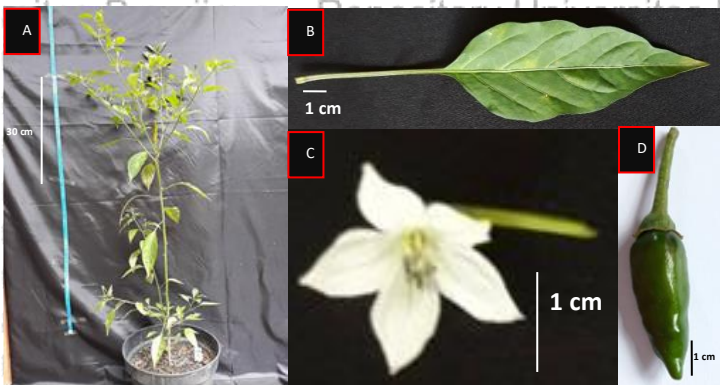
Matriks similaritas disusun berdasarkan data; morfologi dan kandungan capsaisin, profil SSR, dan data gabungan (morfologi, kandungan capsaisin, dan profil SSR). Data morfologi, kandungan capsaisin, dan profil SSR dilakukan *scoring* dengan mengubah ke data biner. Pembuatan matriks dilakukan menggunakan *software Numerical Taxonomy and Multiware Analysis System (NTSYS) Version 2.02i* menggunakan koefisien Dice. Pembuatan dendrogram dilakukan menggunakan model *Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Means (UPGMA)*. *Microsoft Excel 2007* digunakan untuk menentukan garis *cut-off* pada dendrogram agar diketahui jumlah grup yang diperoleh pada tingkat similaritas tertentu. Nilai similaritas untuk menentukan garis *cut-off* dihitung berdasarkan rata-rata nilai similaritas dari tiap-tiap matriks (Kamalakkannan dkk., 2006).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakter Morfologi Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH

4.1.1 Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G1M4

G1M4 memiliki habitus tanaman berupa *erect*. Tinggi tanaman sebesar $79 \pm 1,28$ cm. Waktu munculnya percabangan dikotom pada hari ke-70 setelah penyemaian. Bentuk daun *lanceolate*. Warna mahkota bunga berwarna putih. Bentuk buah berupa *elongate*. Warna buah muda berwarna hijau tua. Panjang buah sebesar $5,52 \pm 0,09$ cm. Diameter buah sebesar $0,79 \pm 0,04$ cm (Gambar 5).



Gambar 5. Morfologi cabai rawit G1M4: A). habitus tanaman; B). daun; C). bunga; D). buah muda

4.1.2 Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G4

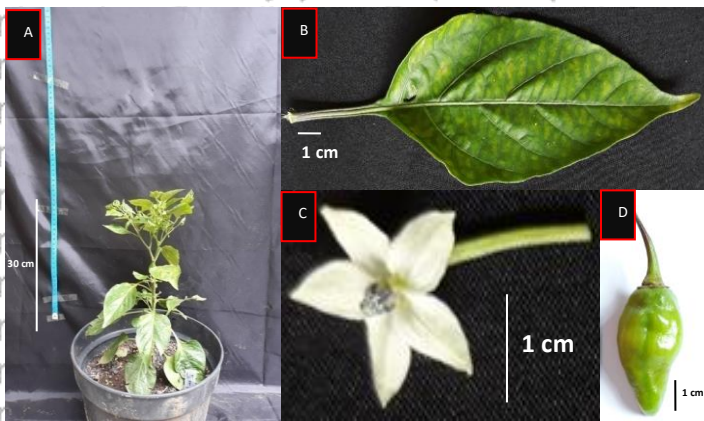
G4 memiliki habitus tanaman berupa *erect*. Tinggi tanaman sebesar $68 \pm 6,86$ cm. Waktu munculnya percabangan dikotom pada hari ke-90 setelah penyemaian. Bentuk daun *ovate*. Warna mahkota bunga berwarna putih. Bentuk buah berupa *elongate*. Warna buah muda berwarna hijau pucat. Panjang buah sebesar $5,76 \pm 0,05$ cm. Diameter buah sebesar $0,55 \pm 0,02$ cm (Gambar 6).



Gambar 6. Morfologi cabai rawit G4: A). habitus tanaman; B). daun; C). bunga; D). buah muda

4.1.3 Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G17

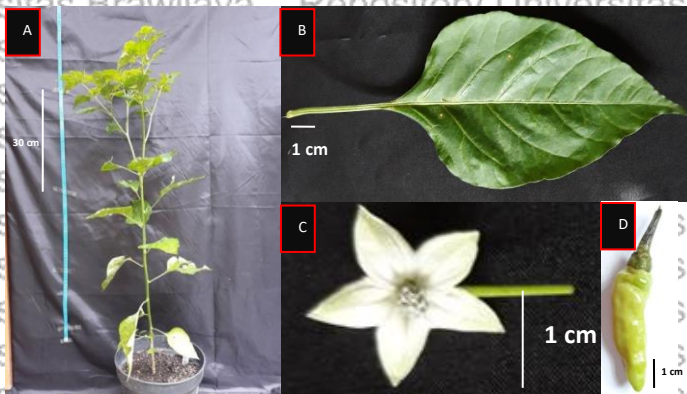
G17 memiliki habitus tanaman berupa *intermediate*. Tinggi tanaman sebesar $44 \pm 1,84$ cm. Waktu munculnya percabangan dikotom pada hari ke-76 setelah penyemaian. Bentuk daun *ovate*. Warna mahkota bunga berwarna putih. Bentuk buah berupa *triangular*. Warna buah muda berwarna hijau. Panjang buah sebesar $5 \pm 0,06$ cm. Diameter buah sebesar $1,52 \pm 0,02$ cm (Gambar 7).



Gambar 7. Morfologi cabai rawit G17: A). habitus tanaman; B). daun; C). bunga; D). buah muda

4.1.4 Deskripsi karakter morfologi cabai rawit G18

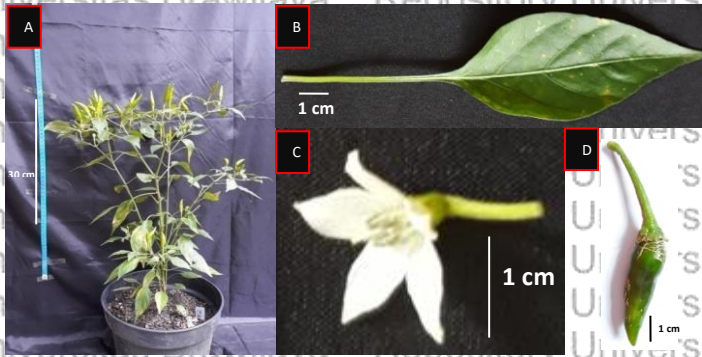
G18 memiliki habitus tanaman berupa *erect*. Tinggi tanaman sebesar $101 \pm 3,78$ cm. Waktu munculnya percabangan dikotom pada hari ke-84 setelah penyemaian. Bentuk daun *ovate*. Warna mahkota bunga berwarna putih. Bentuk buah berupa *elongate*. Warna buah muda berwarna hijau kekuningan. Panjang buah sebesar $5,57 \pm 0,06$ cm. Diameter buah sebesar $0,82 \pm 0,04$ cm (Gambar 8).



Gambar 8. Morfologi cabai rawit G18: A), habitus tanaman; B), daun; C), bunga; D), buah muda

4.1.5 Deskripsi karakter morfologi cabai rawit CH

CH memiliki habitus tanaman berupa *intermediate*. Tinggi tanaman sebesar $51 \pm 1,67$ cm. Waktu munculnya percabangan dikotom pada hari ke-69 setelah penyemaian. Bentuk daun *lanceolate*. Warna mahkota bunga berwarna putih. Bentuk buah berupa *elongate*. Warna buah muda berwarna hijau tua. Panjang buah sebesar $5,47 \pm 0,03$ cm. Diameter buah sebesar $0,65 \pm 0,04$ cm (Gambar 9).



Gambar 9. Morfologi cabai rawit CH: A) habitus tanaman; B), daun; C), bunga; D), buah muda

4.2 Variasi Morfologi Antara Genotipe Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH

Lima genotipe yang diamati menunjukkan adanya variasi morfologi berdasarkan karakter kualitatif, kecuali warna mahkota, serta adanya variasi berdasarkan semua karakter kuantitatif. Terdapat dua variasi pada habitus tanaman, yaitu tipe *erect* (G1M4, G4, G18) dan tipe *intermediate* (G17, CH). Dua variasi pada bentuk daun, yaitu tipe *ovate* (G4, G17, G18) dan tipe *lanceolate* (G1M4, CH). Dua variasi pada bentuk buah, yaitu tipe *elongate* (G1M4, G4, G18, CH) dan tipe *triangular* (G17). Empat variasi pada warna buah muda, yaitu hijau tua (G1M4, CH), hijau (G17), hijau pucat (G4), dan hijau kekuningan (G18) (Tabel 3). Tinggi tanaman dari paling tinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah G18>G1M4>G4>CH>G17. Percabangan dikotom muncul paling lama hingga paling cepat secara berturut-turut pada G4>G18>G17>G1M4>CH. Panjang buah dari paling panjang hingga paling pendek secara berturut-turut adalah G4>G18>G1M4>CH>G17. Diameter buah dari paling besar hingga paling kecil secara berturut-turut adalah G17>G18>G1M4>CH>G4 (Tabel 4). CH memiliki perbedaan dengan G1M4 berdasarkan karakter habitus tanaman, tinggi tanaman, dan diameter buah. Perbedaan ini terjadi, karena Sikora dkk. (2011) menjelaskan bahwa EMS merupakan mutagen yang dapat menyebabkan mutasi secara acak sehingga dapat mempengaruhi ekspresi gen dari karakter-

karakter tertentu, dalam hal ini induksi G1 (nama kultivar = Cakra Hijau) oleh EMS menghasilkan perbedaan karakter habitus tanaman, tinggi tanaman, dan diameter buah dengan G1M4. G4 berdasarkan karakter waktu munculnya percabangan dikotom berbeda dengan genotipe lainnya. G17 memiliki bentuk buah yang berbeda, yaitu *triangular* dibandingkan dengan genotipe lainnya yang *elongate*. G17 berdasarkan karakter panjang buah dan diameter buah juga berbeda dengan genotipe lainnya. G18 berdasarkan karakter tinggi tanaman dan waktu munculnya percabangan dikotom berbeda dengan genotipe lainnya. Sementara itu, CH memiliki habitus yang sama dengan G17, yaitu *intermediate*. CH secara signifikan lebih mirip dengan G17 berdasarkan karakter tinggi tanaman. Namun, keduanya dapat dibedakan dengan jelas berdasarkan bentuk daun, bentuk buah, dan warna buah mudanya. (Tabel 3 & Tabel 4).

Tabel 3. Karakter-karakter kualitatif dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti

No.	Genotipe cabai rawit	Habitus tanaman	Bentuk daun	Warna mahkota bunga	Bentuk buah	Warna buah
1.	G1M4	<i>Erect</i>	<i>Lanceolate</i>	Putih	<i>Elongate</i>	Hijau tua
2.	G4	<i>Erect</i>	<i>Ovate</i>	Putih	<i>Elongate</i>	Hijau pucat
3.	G17	<i>Intermediate</i>	<i>Ovate</i>	Putih	<i>Triangular</i>	Hijau
4.	G18	<i>Erect</i>	<i>Ovate</i>	Putih	<i>Elongate</i>	Hijau kekuningan
5.	CH	<i>Intermediate</i>	<i>Lanceolate</i>	Putih	<i>Elongate</i>	Hijau tua

Tabel 4. Karakter-karakter kuantitatif dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti

No.	Genotipe cabai rawit	Tinggi tanaman (cm)	Waktu munculnya percabangan dikotom (+hari setelah penyemaian)	Panjang buah (cm)	Diameter buah (cm)
1.	G1M4	79,07 ± 1,28 ^b	70 ^a	5,52 ± 0,09 ^{bc}	0,79 ± 0,04 ^b
2.	G4	68,42 ± 6,86 ^b	90 ^a	5,76 ± 0,05 ^c	0,55 ± 0,02 ^a
3.	G17	43,82 ± 1,84 ^a	76 ^b	5 ± 0,06 ^a	1,52 ± 0,02 ^c
4.	G18	100,78 ± 3,78 ^c	84 ^c	5,57 ± 0,06 ^{bc}	0,82 ± 0,04 ^b
5.	CH	50,93 ± 1,67 ^a	69 ^a	5,47 ± 0,03 ^b	0,65 ± 0,04 ^a

Keterangan: Notasi huruf berbeda pada karakter yang sama menunjukkan beda signifikan ($p < 0,05$)

Habitus tanaman mencakup perkembangan tanaman, panjang batang, pola percabangan, kerapatan, dan tekstur dedaunan. Habitus tanaman dipengaruhi oleh gen *Dt* dan *Ct*, dimana *Dt* menyebabkan pertumbuhan *indeterminate* dan *Ct* mempengaruhi jumlah tunas aksilar yang muncul akan sedikit. Sedangkan gen resesifnya, *dt* menyebabkan pertumbuhan *determinate* dan *ct* mempengaruhi jumlah tunas aksilar yang tumbuh menjadi banyak serta dapat mengurangi tinggi tanaman sebesar 50%. Gen dominan *Dt* dan *Ct* memiliki sifat saling epistasis antara satu sama lainnya (Daskalov & Poulos, 1994). Sehingga tanaman yang memiliki dominasi apikal akan tumbuh lebih tinggi dan akan mengurangi pertumbuhan lateralnya. Habitus tanaman tipe *erect* (G1M4,G4,G18) memiliki tinggi tanaman lebih tinggi dibandingkan tanaman yang memiliki habitus *intermediate* (G17,CH) yang memiliki percabangan lebih banyak. Tinggi tanaman cabai diatur oleh sembilan gen antara lain *dw-1 dw-2 dw-3 dw-4 dw-5 dw-6 dw-7 dw-8*, dan *tal* (Daskalov, 1974; Restaino, 1991; Yazawa dkk., 1991; Kumar dkk., 2001). Penelitian Todorov (1992) menyatakan bahwa tinggi tanaman diatur oleh dua hingga tiga gen, namun lingkungan memiliki pengaruh yang lebih kuat dibandingkan faktor genetik. Hal ini membuktikan bahwa mungkin terdapat gen lain yang dapat mempengaruhi regulasi ekspresi gen-gen terkait tinggi tanaman. Selain itu, pertumbuhan tinggi tanaman, habitus, dan percabangan juga dipengaruhi oleh regulasi antara hormon auksin dengan sitokinin (Nau & Arumingtyas, 2017). Konsentrasi hormon auksin dan sitokinin selain dipengaruhi oleh gen, juga dipengaruhi oleh lingkungan (Bielach dkk., 2017).

Percabangan dikotom dipengaruhi oleh gen *bl*, dalam bentuk resesifnya menyebabkan tanaman tidak memiliki percabangan dikotom pada cabai aksesori PI 169113 (Bergh & Lippert, 1964). Waktu percabangan dikotom pada penelitian ini tidak berkorelasi dengan tinggi tanaman, sebagai contoh tanaman G18 yang merupakan tanaman tertinggi tidak memiliki waktu percabangan dikotom yang paling lama, begitu juga sebaliknya tanaman G17 yang merupakan tanaman terendah tidak memiliki waktu percabangan dikotom yang paling cepat. Hal ini menandakan bahwa mungkin terdapat gen-gen *modifier* yang mempengaruhi waktu munculnya

percabangan dikotom. Adapun gen-gen *modifier* merupakan gen-gen yang memiliki pengaruh terhadap tingkat ekspresi gen lainnya (Miko, 2008).

Bentuk daun dipengaruhi oleh beberapa gen. Kumar dkk. (2001) menemukan delapan gen yang mempengaruhi bentuk daun pada tanaman cabai, antara lain *narrow leaf (nl)*, *broadleaf (bl)*, *small leaf (sl2)*, *curved leaf (cl)*, *folded leaf (fl)*, *round leaf tip (rl-3)*, *leaf dimorphism (ld)*, dan *elongated petiole (ep)*. Diketahui bahwa bentuk daun memiliki sifat poligenik sehingga dapat menghasilkan variasi yang bermacam-macam. Penelitian Arumingtyas dkk. (2017) menyebutkan bahwa G1 memiliki bentuk daun *lanceolate* dan G4 memiliki bentuk daun *ovate*. G1 (nama kultivar = Cakra Hijau) yang diinduksi EMS tidak mengalami perubahan pada karakter bentuk daun G1M4, yaitu tetap *lanceolate*. Sementara itu G17 dan G18 memiliki bentuk daun *ovate*. Sebagian besar kultivar dari *C. frutescens* memiliki bentuk daun lebih lebar dibandingkan *C. annum*, yaitu berbentuk *deltoid* atau *ovate* (Yamamoto & Nawata, 2004).

Warna mahkota diatur oleh ekspresi dari antosianin yang dikodekan oleh gen *A* (Lippert dkk., 1965). Selain itu juga diatur oleh gen-gen lain, yaitu *MoA*, *R-1*, dan *R-2* (Daskalov & Poulos, 1994). Warna mahkota berdasarkan deskriptor *Capsicum* spp. dari IPGRI dkk. (1995) memiliki delapan varian, diantaranya adalah putih. Warna putih pada mahkota merupakan ciri yang dimiliki oleh *C. frutescens* dan *C. Chinense*. Namun, kedua spesies ini dapat dibedakan dengan bentuk buahnya, yaitu umumnya *elongate* untuk *C. frutescens* dan *triangular* atau *campanulate* untuk *C. Chinense* (Moscone dkk., 2007).

Bentuk buah cabai diatur oleh beberapa gen, diantaranya menurut Daskalov & Poulos (1994) gen dominan *P* untuk ujung buah runcing, gen resesif *fb* untuk dasar buah menonjol, dan gen *ce* untuk calyx yang menutup pada dasar buah. Bentuk bulat pada cabai disebabkan adanya gen dominan *A* dan *O* (Ben Chaim dkk., 2001; Rao & Paran, 2003). Perbedaan ekspresi dari gen-gen tersebut sangat dimungkinkan mempengaruhi adanya variasi pada panjang buah dan diameter buah. Bentuk buah dari genus *Capsicum* sangat bervariasi (Carvalho dkk., 2006). Bentuk buah G1M4 tidak berbeda dengan bentuk buah G1 (nama kultivar = Cakra Hijau) pada penelitian Rahmatullah (2018), yaitu *elongate*. Bentuk buah cabai rawit G17 memiliki kemiripan dengan G5, yaitu berbentuk *triangular* pada penelitian Arumingtyas dkk. (2017). Namun, berbeda dalam karakter

habitus dimana G17 memiliki habitus *intermediate*, sedangkan G5 memiliki habitus *erect* (Arumingtyas dkk., 2017). Warna buah muda pada cabai rawit umumnya berwarna hijau atau kuning. Warna buah diatur oleh beberapa alel, yaitu *sw1*, *sw2*, dan *sw3*. Dimana alel *sw3* mengkodekan warna hijau cedar, dominan terhadap *sw1* yang mengkodekan warna kuning pucat. Sedangkan alel *sw2* mengkodekan warna hijau kekuningan, dominan terhadap *sw1* dan resesif terhadap *sw3* (Odland & Porter, 1938). Warna buah muda berwarna hijau pada G17 dan warna hijau pucat pada G4 menandakan bahwa mungkin terdapat gen-gen *modifier* yang mengatur tingkat ekspresi dari masing-masing alel sehingga dapat menghasilkan gradasi warna antara hijau dengan kuning.

4.3 Kandungan Capsaicin Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH

Berdasarkan hasil pengukuran kandungan capsaicin, cabai rawit G4 memiliki kandungan capsaicin tertinggi dengan nilai $1429,21 \pm 90,86$ SHU diikuti dengan G17 dengan nilai $1472,24 \pm 12,30$ SHU, G1M4 dengan nilai $1429,21 \pm 90,86$ SHU, CH dengan nilai $1409,21 \pm 87,16$ SHU, dan G18 dengan nilai $1211,03 \pm 84,20$ SHU. G4 secara signifikan berbeda dengan genotipe lainnya (Tabel 5). Kandungan capsaicin berkorelasi dengan tingkat kepedasan (Mongkolporn, 2018). Tingkat kepedasan diukur dalam skala *Scoville Heat Units* (SHU). Lima kategori tingkat kepedasan menurut Weiss (2002) berdasarkan *Scoville Heat Units* (SHU): tidak pedas (0-700 SHU), sedikit pedas (700-3000), cukup pedas (3000-25000 SHU), pedas (25000-70000 SHU), sangat pedas (>80000 SHU). Kelima genotipe yang diteliti (G1M4, G4, G17, G18, CH) berada dalam kategori sedikit pedas (700-3000 SHU). Kepedasan pada tanaman genus *Capsicum* disebabkan oleh akumulasi golongan senyawa alkaloid yang disebut dengan capsaicinoid. Capsaicin merupakan salah satu dari alkaloid yang termasuk dalam capsaicinoid. Senyawa tersebut diproduksi dalam kelenjar pada bagian plasenta dari buah (Caterina dkk., 1997). Biosintesis capsaicinoid salah satunya diatur oleh satu gen dominan yang disebut *Pun1* yang diduga mengatur ekspresi dari enzim *acyl-transferase*, yang berfungsi untuk melengkapi tahap akhir dalam biosintesis capsaicinoid (Stewart dkk., 2005). Ekspresi dari enzim *acyl-transferase* juga diduga dipengaruhi oleh gen *Catf-1* dan *Csyl*.

Adapun interaksi antara gen-gen tersebut masih belum diketahui (Russo, 2012). Gen-gen tersebut termasuk kedalam golongan gen yang mengkodekan enzim dengan nama yang sama dan disebut gen *Capsaicin Synthase* (CS). Gen-gen lain yang mengatur biosintesis capsaicin selain yang diketahui dalam mengkodekan enzim *acyl-transferase* antara lain *BCAT* dan *Kas*. Selama perkembangan plasenta, diketahui CS diekspresikan lebih banyak pada cabai yang pedas. Hal ini membuktikan bahwa regulasi ekspresi dari gen-gen terkait kepedasan, khususnya CS menyebabkan perbedaan pada tingkat kepedasan antara varietas tanaman cabai. Selain itu perbedaan pada tingkat kepedasan juga dipengaruhi oleh lingkungan, dimana yang secara tidak langsung juga akan mempengaruhi biosintesis capsaicinoid. Adanya faktor yang bervariasi dalam produksi capsaicin, membuktikan bahwa capsaicin dapat dijadikan sebagai salah satu karakter dalam studi diversitas genetik (Kim dkk., 2014).

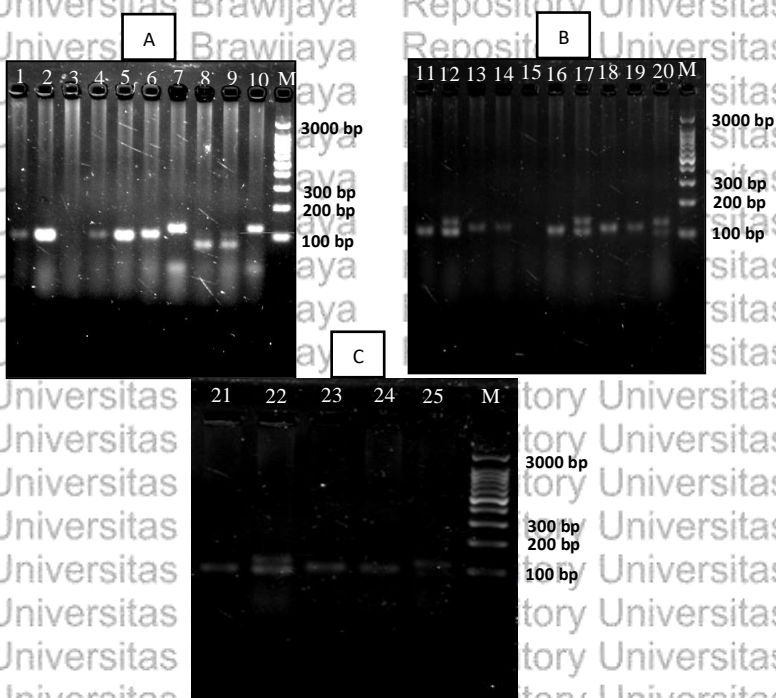
Tabel 5. Kandungan capsaicin dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti

No.	Genotipe cabai rawit	Kandungan capsaicin (SHU)
1.	G1M4	1429,21 ± 90,86 ^a
2.	G4	1766,79 ± 24,17 ^b
3.	G17	1472,24 ± 12,30 ^{ab}
4.	G18	1211,03 ± 84,20 ^a
5.	CH	1409,21 ± 87,16 ^a

Keterangan: Notasi huruf berbeda menunjukkan beda signifikan ($p < 0,05$)

4.4 Profil SSR Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH

Produk PCR hasil amplifikasi dari kelima genotipe dielektroforesis pada gel agarose 2,5%. Digunakan Marker DNA MarkTM 100 bp untuk menentukan panjang basanya (Gambar 10).



Gambar 10. Hasil elektroforesis produk PCR dari cabai rawit G1M4 (lajur 1,6,11,16,21), G4 (lajur 2,7,12,17,22), G17 (lajur 3,8,13,18,23), G18 (lajur 4,9,14,19,24), dan CH (lajur 5,10,15,20,25) menggunakan primer: A). CA19 (lajur 1-5), CA52 (lajur 6-10); B). CA96 (lajur 11-15), CA56, (lajur 16-20); C). CA26 (lajur 21-25)

Profil SSR dapat diperoleh dari visualisasi hasil elektroforesis (Tabel 6). G1M4 memiliki pola yang berbeda dengan genotipe lainnya. G17 memiliki pola yang mirip dengan G18, sedangkan G4 memiliki pola yang mirip dengan CH. Namun, kelimanya menunjukkan pola pita DNA yang tidak sama persis. Hal ini menandakan bahwa antara genotipe cabai rawit tidak ada yang identik. SSR merupakan sekuens DNA repetitif yang merupakan bagian besar dari genom. SSR memiliki motif ulangan basa dengan panjang basa yang beragam sehingga dapat membedakan antar individu dalam tingkat genom (Cheng dkk., 2016). Pola pita DNA yang muncul membuktikan panjang basa yang beragam dari masing-

masing individu. Namun, untuk menentukan motif ulangan basanya perlu dilakukan sekuensing.

Tabel 6. Profil SSR dari kelima genotipe cabai rawit yang diteliti

No.	Primer	Pita SSR (bp)	G1M4	G4	G17	G18	CH
1.	CA19	100	1	1	0	1	1
2.	CA52	125	0	1	0	0	1
		100	1	0	0	0	0
		75	0	0	1	1	0
3.	CA96	150	0	1	0	0	0
		125	0	0	1	1	0
		100	1	1	0	0	0
4.	CA56	150	0	1	0	0	1
		125	0	0	1	1	0
		100	1	1	0	0	1
5.	CA26	125	0	1	0	0	1
		100	1	1	1	1	0

Keterangan: 0 = tidak adanya pita
1 = adanya pita

Berdasarkan hasil elektroforesis, diketahui primer CA26, CA52, CA56, dan CA96 menghasilkan 2-3 pita polimorfik yang memiliki persentase polimorfisme 100%. Nilai persentase polimorfisme yang tinggi diakibatkan sifat SSR yang merupakan *multi-allelic* sehingga variasi alel dalam suatu lokus tertentu dapat diketahui (Hao dkk., 2015). Namun, berbeda dengan primer CA19 yang hanya menghasilkan pita yang monomorfik, yang artinya pita yang dihasilkan merupakan pita yang memiliki panjang basa yang sama pada setiap genotipe. Nilai heterozigositas (H) tertinggi dimiliki oleh primer CA56 dengan nilai 0,653, diikuti dengan primer CA52 dan CA96 dengan nilai 0,640, primer CA26 dengan nilai 0,444, dan primer CA19 memiliki nilai heterozigositas terendah dengan nilai 0

(Tabel 7). Nilai heterozigositas menunjukkan diversitas dalam tingkatan marker molekuler, dalam hal ini marker SSR. Apabila nilai heterozigositas 1 (satu) maka variasi SSR yang dimiliki oleh antar genotipe berbeda seluruhnya dalam hal panjang basa. Sebaliknya, apabila memiliki nilai 0 (nol) maka variasi SSR yang dimiliki antar genotipe tidak berbeda dalam hal panjang basa. Nilai 0 pada nilai heterozigositas bisa disebabkan akibat *null allele*, yaitu mutasi pada tempat *annealing* sehingga sekuens target tidak dapat teramplifikasi. Adanya *null allele* dapat dipastikan dengan menambah perulangan elektroforesis pada genotipe yang sama (Igor & Jaroslaw, 2009).

Tabel 7. Jumlah pita, jumlah pita polimorfik, persentase polimorfisme, dan heterozigositas dari masing-masing primer

No.	Primer	Jumlah pita	Jumlah pita polimorfik	Persentase Polimorfisme (%)	Heterozigositas (H)
1.	CA19	1	0	0	0
2.	CA26	2	2	100	0,444
3.	CA52	3	3	100	0,640
4.	CA56	3	3	100	0,653
5.	CA96	3	3	100	0,640

4.5 Diversitas Genetik Cabai Rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH

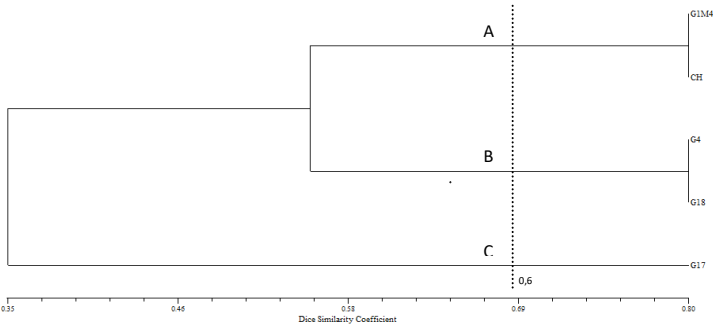
4.5.1 Diversitas genetik cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaicin

Matriks similaritas dibuat berdasarkan data biner yang diperoleh menggunakan program NTSYS 2.02i dengan koefisien Dice. Similaritas genetik berkisar antara 0-1. Kemiripan yang paling tinggi hingga paling rendah dimiliki oleh pasangan antara: G4-G18, G1M4-CH sebesar 80%; G1M4-G18 sebesar 70%; G1M4-G4, G4-CH, G17-CH, G18-CH sebesar 50%; G4-G17 sebesar 40%; G1M4-G17 sebesar 30%; dan G17-G18 sebesar 20% (Tabel 8).

Tabel 8. Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaisin

	G1M4	G4	G17	G18	CH
G1M4	1,000				
G4	0,500	1,000			
G17	0,300	0,400	1,000		
G18	0,700	0,800	0,200	1,000	
CH	0,800	0,500	0,500	0,500	1,000

Dendrogram dari lima genotipe cabai rawit dikelompokkan menjadi 3 grup yang telah dibuat berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaisin pada nilai koefisien similaritas 0,60. Grup A terdiri dari G1M4 dan CH. Grup B terdiri dari G4 dan G18. G1M4 berkerabat dekat dengan CH, begitu juga G4 berkerabat dekat dengan G18 dengan nilai similaritas masing-masing 80%. G1M4 memiliki habitus tanaman dan tinggi tanaman yang mudah dibedakan dengan CH, dimana habitus tanaman *erect* dan tinggi tanaman lebih tinggi dibandingkan dengan CH. Adapun G4 mudah dibedakan dengan G18, dimana tinggi tanaman G4 lebih rendah dengan G18. Selain itu, G4 juga memiliki kandungan capsaisin yang lebih tinggi dibandingkan dengan G18. Grup C terdiri dari satu genotipe saja, yaitu G17. G17 berkerabat jauh dengan genotipe lainnya karena memiliki beberapa karakter yang unik yang tidak dimiliki oleh genotipe lainnya, diantaranya bentuk buah *triangular*, panjang buah yang lebih rendah dengan genotipe lainnya, dan diameter buah yang lebih lebar dibandingkan genotipe lainnya (Gambar 11).



Gambar 11. Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data morfologi dan kandungan capsaisin

4.5.2 Diversitas genetik cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data profil SSR

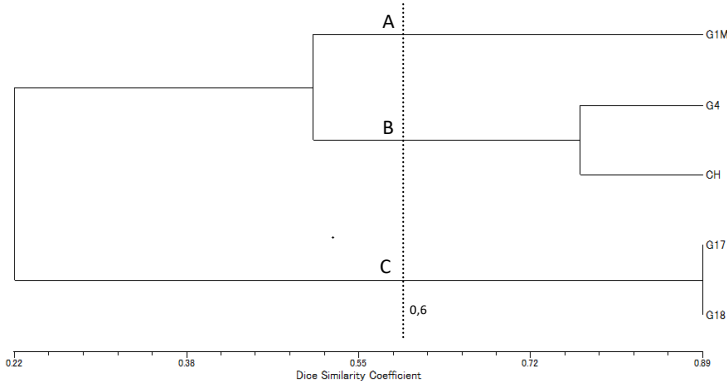
Matriks similaritas dibuat berdasarkan data biner yang diperoleh menggunakan program NTSYS 2.02i dengan koefisien Dice. Similaritas genetik berkisar antara 0-1. Kemiripan yang paling tinggi hingga paling rendah dimiliki oleh pasangan antara: G17-G18 sebesar 88,8%; G4-CH sebesar 76,9%; G1M4-G4 sebesar 61,5%; G1M4-G18, G1M4-CH sebesar 40%; G4-G18 sebesar 30,7%; G1M4-G17 sebesar 22,2%; G18-CH sebesar 20%; G4-G17 sebesar 16,6%; dan G17-CH sebesar 0% (Tabel 9).

Tabel 9. Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data profil SSR

	G1M4	G4	G17	G18	CH
G1M4	1,000				
G4	0,615	1,000			
G17	0,222	0,166	1,000		
G18	0,400	0,307	0,888	1,000	
CH	0,400	0,769	0,000	0,200	1,000

Dendrogram dari lima genotipe cabai rawit dikelompokkan menjadi 3 grup yang telah dibuat berdasarkan data morfologi-fisiologi pada nilai koefisien similaritas 0,60. Grup A hanya terdiri dari G1M4 dikarenakan memiliki profil SSR yang paling berbeda dengan genotipe lainnya. Grup B terdiri dari G4 dan CH dikarenakan keduanya memiliki kemiripan yang tinggi pada profil SSR yang dimiliki antara satu dengan yang lainnya. Grup C terdiri dari G17 dan G18 dikarenakan keduanya memiliki kemiripan yang tinggi pada profil SSR yang dimiliki antara satu dengan yang lainnya (Gambar 12). Dendrogram dari data profil SSR memiliki pola yang berbeda dengan dendrogram dari data morfologi dan kandungan capsaisin. Apabila ditinjau dari data morfologi dan kandungan capsaisin maka akan didapat dendrogram dengan G1M4 berkerabat dekat dengan CH, G4 dengan G18, sedangkan G17 berkerabat jauh dengan genotipe lainnya. Berbedanya dendrogram yang dihasilkan berdasarkan sifat fenotipe (karakter morfologi dan kandungan capsaisin) dengan profil SSR terjadi karena sekuens target marker SSR dimungkinkan tidak berdekatan ataupun tidak berada di lokus yang sama dengan gen-gen penyandi untuk karakter-karakter

morfologi dan kandungan capsaicin yang digunakan dalam penelitian ini. Hal ini sesuai dengan sifat SSR, yaitu SSR umumnya berada pada daerah *non-coding* dalam genom (Osawaru dkk., 2015). Sehingga kedua dendrogram yang diperoleh sangat mungkin untuk menghasilkan pola yang berbeda.



Gambar 12. Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data profil SSR

4.5.3 Diversitas genetik cabai rawit G1M4, G4, G17, G18, dan CH berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR

Data biner dari tiap karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR digabung menjadi satu sehingga dapat diperoleh matriks similaritas genetik menggunakan program NTSYS 2.02i dengan koefisien Dice. Similaritas genetik berkisar antara 0-1. Kemiripan yang paling tinggi hingga paling rendah dimiliki oleh pasangan antara: G1M4-CH sebesar 66,6%; G4-G18, G4-CH sebesar 60,6%; G1M4-G18 sebesar 60%; G1M4-G4 sebesar 54,5%; G17-G18 sebesar 41,3%; G18-CH sebesar 40%; G17-CH sebesar 34,4%; G4-G17 sebesar 31,2%; dan G1M4-G17 sebesar 27,5% (Tabel 10).

Dendrogram dari lima genotipe cabai rawit dikelompokkan menjadi 4 grup yang telah dibuat berdasarkan data morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR pada nilai koefisien similaritas 0,60, yang artinya apabila memiliki kemiripan sebesar minimal 60% maka akan dikelompokkan pada grup yang sama. Grup A terdiri dari G1M4 dan CH. Grup B terdiri dari G4. Grup C terdiri dari G17.

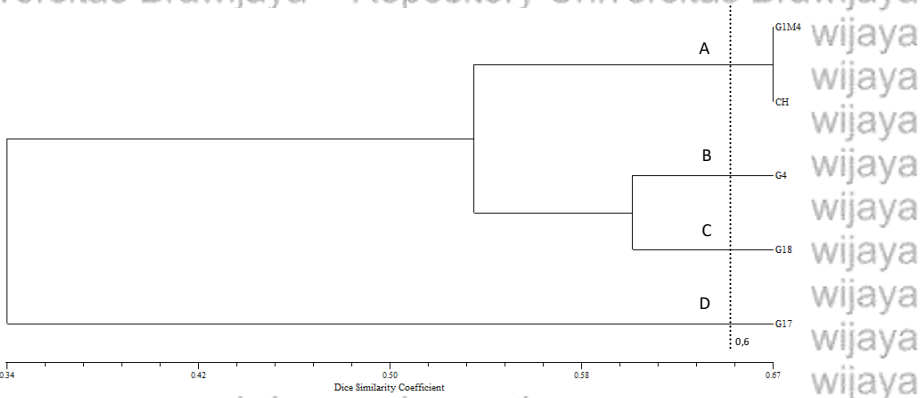
Grup D terdiri dari G18 (Gambar 13). Variasi dalam karakter morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR mengindikasikan perbedaan sekuens DNA yang dimiliki oleh kelima genotipe.

Tabel 10. Matriks similaritas genetik menggunakan koefisien Dice berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR

	G1M4	G4	G17	G18	CH
G1M4	1,000				
G4	0,545	1,000			
G17	0,275	0,312	1,000		
G18	0,600	0,606	0,413	1,000	
CH	0,666	0,606	0,344	0,400	1,000

CH memiliki kekerabatan paling dekat dengan G1M4 yang merupakan hasil mutasi dari G1 (nama kultivar = Cakra Hijau) dengan EMS. Mutasi dari EMS hanya menghasilkan perbedaan pada habitus tanaman dan tinggi tanaman. Selain itu, CH juga berkerabat dekat dengan G4. Namun, kekerabatan kedua genotipe tersebut lebih didasarkan pada kemiripan pada profil SSR (Tabel 9) dibandingkan dengan kemiripan pada sifat fenotipenya (morfologi dan kandungan capsaicin) (Tabel 8). G4 berkerabat dekat dengan G18. Namun, kekerabatan kedua genotipe tersebut lebih didasarkan pada kemiripan pada sifat fenotipenya (morfologi dan kandungan capsaicin) (Tabel 8) dibandingkan dengan kemiripan pada profil SSR (Tabel 9). Sementara itu, G17 berkerabat jauh dengan genotipe lainnya. Namun, profil SSR yang dimiliki menunjukkan kemiripan yang cukup tinggi dengan pada profil SSR G18 (Tabel 9). Sedangkan dari sisi kemiripan sifat fenotipenya sangat berbeda jauh dengan G18 (Tabel 8). Kemiripan tinggi dalam sifat fenotipe belum tentu memiliki kemiripan yang tinggi juga pada profil SSR yang dimiliki. Dendrogram dari data gabungan dapat menghasilkan 4 grup, berbeda dengan hanya menggunakan data morfologi dan kandungan capsaicin atau profil SSR saja yang menghasilkan 3 grup. Analisis diversitas genetik berdasarkan data gabungan secara teori juga dapat menghasilkan hasil yang lebih akurat karena dapat mengcover genom lebih luas, baik daerah *coding* (morfologi-kandungan capsaicin) maupun *non-coding* (profil SSR). Hasil dari data

gabungan lebih representatif untuk mewakili keseluruhan genom yang dimiliki tiap-tiap genotipe cabai rawit yang diteliti.



Gambar 13. Dendrogram lima genotipe cabai rawit yang diteliti menggunakan metode UPGMA berdasarkan data gabungan morfologi, kandungan capsaicin, dan profil SSR

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

CH memiliki banyak kemiripan dengan G1M4, namun dapat dibedakan berdasarkan karakter habitus tanaman, tinggi tanaman, dan diameter buahnya. G4 memiliki kandungan capsaicin yang tertinggi dibandingkan genotipe lainnya. G17 memiliki bentuk buah yang berbeda, yaitu berbentuk *triangular* dibandingkan dengan genotipe lainnya yang berbentuk *elongate*. G17 memiliki habitus tanaman yang sama dengan CH, yaitu *intermediate*. Namun, keduanya dapat dibedakan berdasarkan bentuk daun, bentuk buah, dan warna buah mudanya. Kelima genotipe memiliki profil SSR yang berbeda-beda antara satu dengan lainnya. CH memiliki kekerabatan paling dekat dengan G1M4. Selain itu, CH juga berkerabat dekat dengan G4 dari profil SSR yang dimiliki. G4 berkerabat dekat dengan G18 dari sifat fenotipe yang dimiliki. Sementara itu, G17 berkerabat jauh dengan genotipe lainnya. Namun, profil SSR yang dimiliki oleh G17 menunjukkan kemiripan yang cukup tinggi dengan profil SSR yang dimiliki oleh G18.

5.2 Saran

Perlu dilakukan sekuensing untuk memastikan perbedaan sekuens yang dimiliki antara genotipe cabai rawit yang diteliti. Penelitian lebih lanjut mengenai keterkaitan antara gen-gen yang mengkodekan sifat unggul juga sangat penting dilakukan untuk mempermudah pemilihan cabai rawit dengan kualitas terbaik yang kemudian dapat dibudidayakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, K.D. & M.J. Ball. 2006. Effects of daily ingestion of chilli on serum lipoprotein oxidation in adult men and women. *British Journal of Nutrition* 96:239–242.
- Alif, S.M. 2017. **Kiat Sukses Budaya Cabai Rawit**. Bio Genesis. Yogyakarta.
- Arif, I.A., M.A. Bakir, H.A. Khan, A.H. Al Farhan, A.A. Al Homaidan, A.H. Bahkali, M. Al Sadoon & M. Shobrak. 2010. A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. *International Journal of Molecular Sciences* 11(5):2079–2096.
- Arora, R., N. Gill, G. Chauhan & A. Rana. 2011. An overview about versatile molecule capsaicin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 3(4):280–286.
- Arruvitasari, P.N. 2016. **Pengaruh induksi mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS) terhadap karakter morfologi dan kandungan capsaicin tiga genotip cabai rawit lokal (*Capsicum frutescens* L.)**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Arumingtyas, E.L., J. Kusnadi, D.R.T. Sari & N. Ratih. 2017. Genetic variability of Indonesian local chili pepper: The facts. *AIP Conference Proceedings*.
- Arumingtyas, E.L., J. Kusnadi, R. Mastuti & N.S. Paradise. 2018. The effect of ethyl methane sulfonate on the antioxidant content of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *AIP Conference Proceedings*.
- Arumingtyas, E.L. & D.R. Fauzi. 2019. Is ethyl methane sulfonate induced mutation influence the *KasI* gene sequence and its expression? *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Ben Chaim, A., I. Paran, R.C. Grube, M.K. Jahn, R. van Wijk & J. Peleman. 2001. QTL mapping of fruit-related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor. Appl. Genet.* 102:1016–1028.
- Bergh, B.O. & L.F. Lippert. 1964. Six new mutant genes in the pepper *Capsicum annuum* L. *J. Hered.* 55:296–300.
- Bielach, A., M. Hrtyan & V.B. Tognetti. 2017. Plants under stress: Involvement of auxin and cytokinin. *Int. J. Mol. Sci.* 18:1427.

- CABI. 2018. *Capsicum frutescens*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/15787>. Diakses pada tanggal 7 September 2018.
- Cahyono, B. 2003. **Cabai Rawit, Teknik Budaya & Analisis Usaha Tani**. Kanisius. Yogyakarta.
- Carvalho, S.I.C., L.B. Bianchetti, C.S.C. Ribeiro & C.A. Lopes. 2006. Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil. *Doc. Embrapa Hort.* 94:1-49.
- Carvalho, S.I.C., C.F. Ragassi, I.B. Oliveira, Z.P.S. Amaral, F.J.B. Reifschneider, F.G. Faleiro & G.S.C. Buso. 2015. Transferability of microsatellite markers of *Capsicum annuum* L. to *C. frutescens* L. and *C. chinense* Jacq. *Genet. Mol. Res.* 14(3):7937-7946.
- Caterina, M.J., M.A. Schumacher, M. Tominaga, T.A. Rosen, J.D. Levine & D. Julius. 1997. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389:816-824.
- Cheng, J., Z. Zhao, B. Li, C. Qin, Z. Wu, D.L. Trejo-Saavedra, X. Luo, J. Cui, R.F. Rivera-Bustamante, S. Li & K. Hu. 2016. A comprehensive characterization of simple sequence repeats in pepper genomes provides valuable resources for marker development in *Capsicum*. *Scientific Reports* 6.
- Daskalov, S. & J.M. Poulos. 1994. *Capsicum* gene list. *Capsicum Eggplant Nswl* 13:16-26.
- Daskalov, S. 1974. Investigation on induced mutants in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Proc. 1st Meeting of the Capsicum Breeding and Genetics* 81-90:1-4.
- Direktorat Jenderal Hortikultura. 2017. **Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2017**. Kementerian Pertanian: Direktorat Jenderal Hortikultura. Jakarta.
- Dwinianti, E.F., R.R. Juliandari., R. Mastuti, E.L. Arumingtyas. 2018. The profile of partial sequence of putative *aminotransferase* (pAMT) gene and total capsaicinoid content of *ethyl methane sulfonate* (EMS)-induced chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) mutants. *IKP volume* 19:7-8.
- Fauzi, D.R. 2018. **Karakter morfologi, kandungan capsaicin dan profil gen *KasI* cabai rawit dan G1 kontrol dan mutan G1M1** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.

- Fraenkel L., Jr., S.T. Bogardus, J. Concato & D.R. Wittink. 2004. Treatment options in knee osteoarthritis: the patient's perspective. *Archives of Internal Medicine American Medical Association* 164:1299-1304.
- Gonzalez-Zamora, A., E. Sierra-Campos, R. Perez-Morales, C. Vazquez-Vazquez, M.A. Gallegos-Robels, J.D. Lopez-Martinez & J.L. Garcia-Hernandez. 2015. Measurement of capsaicinoids in chiltepin hot pepper: A comparison study between spectrophotometric method and high performance liquid chromatography analysis. *Journal of Chemistry*.
- Hao W., S. Wang, H. Liu, B. Zhou, X. Wang & T. Jiang. 2015. Development of SSR markers and genetic diversity in white birch (*Betula platyphylla*). *PLoS ONE* 10(4): e0125235.
- Igor, J.C. & J. Burczyk. 2009. Simultaneous Estimation of Null Alleles and Inbreeding Coefficients. *Journal of Heredity* 100(1):106-113.
- Ikpeme C.E., P. Henry & O.A. Okiri. 2014. Comparative evaluation of the nutritional, phytochemical and microbiological quality of three pepper varieties. *Journal of Food and Nutrition Sciences* 2(3):74-80.
- 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.
- Juliandari, R.R., E.F. Dwinianti., R. Mastuti. & E.L. Arumingtyas. 2018. Variation of partial sequence of *Pun1* gene (Exon-1) and capsaicinoid content in chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) mutant induced by *ethyl methane sulfonate* (EMS). *JKP volume* 19:7-8.
- Kamalakannan, R., S. Barthwal, P. Chezhan, T. Balasaravanan, R. Yasodha, K. Gurumurthi & M. Ghosh. 2006. Morphological and molecular diversity among *casuarinas* and *allocasuarina* species. *Biotechnology* 5(3):301-307.
- 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.B. 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, H.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.V. Deynze, H. Ashrafi, T. Hill, W.T. Kim, H.S. Pai, H.K. Ahn, I. Yeam, 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* 46:270.
- Kumar, A.O., V. Anitha, K. Roseline Subhashini & K.G. Raja Rao. 2001. Induced morphological mutations in *Capsicum annuum* L. *Capsicum Eggplant Nswl* 20:72–75.
- Lingga, L. 2014. **Health Secret of Pepper**. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Lippert, L.F., B.O. Bergh & P.G. Smith. 1965. Gene list for the pepper. *J. Hered.* 56:30–34.
- McCammon, K.R. & S. Honma. 1984. Genetics of the “umbrella” branching habit in *Capsicum annuum* L. *Theor. Appl. Genet.* 68:541–545.
- Miko, I. 2008. Epistasis: Gene interaction and phenotype effects. *Nature Education* 1(1):197
- Mongkolporn, O. 2018. **Capsicum: Breeding Strategies for Anthracnose Resistance**. CRC Press, Australia.
- Moscone, E.A., M.A. Scaldaferrro, M. Gabriele, N.M. Cecchini, Y.S. García, J.R. Daviña, D.A. Ducasse, G.E. Barboza & F. Ehrendorfer. 2007. The evolution in chili peppers (*Capsicum-Solanaceae*) a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae* 745:137–170.
- Nau, G.W & E.L. Arumingtyas. 2017. Effect of length main stem pruning variation on physiology character three genotype chilli pepper (*Capsicum frutescens* L.) commercial. *International Journal of ChemTech Research* 10(2):216-223.
- Nei, M. 1987. **Molecular Evolutionary Genetics**. Columbia University Press. New York.
- Noguchi, H. & Y. Tanaka. 2004. Effects of capsaicin on plant growth. *Biologia Plantarum* 47:157-159.
- Odland, M.L. & A.M. Porter. 1938. Inheritance of the immature fruit color of peppers. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 36:647–651.

- Oliver, A.M. & L. Mejía T. 2016. Capsaicin: From plants to a cancer-suppressing agent. *Molecules* 21(8):1–14.
- Osawaru, M.E., M.C. Ogwu & R.O. Aiwansoba. 2015. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in plants: a systematic overview. *University of Mauritius Research Journal Volume 21*.
- Peng, J. & Y.J. Li 2010. The vanilloid receptor TRPV1: role in cardiovascular. *European Journal of Pharmacology* 627(1-3):1-7.
- Rahmatullah, N. 2018. **Karakterisasi morfologi, kandungan karotenoid, dan sekuen gen CCS pada cabai rawit G1 original type dan mutan G1/M13.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Rao, G.U. & I. Paran. 2003. Polygalacturonase: A candidate gene for the soft flesh and deciduous fruit mutation in *Capsicum*. *Plant Mol. Biol.* 51:135–141.
- Ratih, N. 2016. **Analisis variasi genetik cabai rawit (*Capsicum frutescens*) komersial di kota Malang berdasarkan karakter morfologi.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi.
- Reinbach, H.C., A. Smeets, T. Martinussen, P. Moller, Westerterp & M.S. Plantenga. 2009. Effects of capsaicin, green tea and CH-19 sweetpepper on appetite and energy intake in humans in negative and positive energy balance. *Clinical Nutrition* 28:260–265.
- Restaino, F. 1989. New dwarf pepper (*Capsicum annum* L.) cv. developed through mutation induction. *Proc. 7th Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant* 55–59.
- Reyes-Escogido, M.D., E.G. Gonzalez-Mondragon & E. Vazquez-Tzompantzi. 2011. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules* 16(2):1253–1270.
- Rukmana, R.H. 2002. **Usaha Tani Cabai Rawit.** Kanisius. Yogyakarta.
- Russo, V.M. 2012. **Peppers Botany, Production and Uses.** CAB International. UK.
- Saba, J.A., M. Y. Rafii, M. A. Latif, Z.S. Siti, W.A. Ibrahim & M. Gous. 2018. Genetic Diversity of Aromatic Rice Germplasm Revealed by SSR Markers. *BioMed Research International* Article ID 7658032.

- Sharmin, A., M.E. Hoque, M.M. Haque & F. Khatun. 2018. Molecular diversity analysis of some chilli (*Capsicum* spp.) genotypes using SSR markers. *American Journal of Plant Sciences* 9:368-379.
- Sikora P., C. Aakash, L. Mikael, O. Johanna & O. Olof. 2011. Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics, and breeding. *International Journal of Plant Genomics Vol. 2011*,
- Stewart, C., B.C. Kang, K. Liu, M. Mazourek, S.L. Moore, E.Y. Yoo, B.D. Kim & I. Paran. 2005. The Pun1 gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J.* 42:675–688.
- Thoennissen, N.H., J. O'Kelly, D. Lu, G.B. Iwanski, D.T. La, S. Abbassi, A. Leiter, B. Karlan, R. Mehta & H.P. Koeffler. Capsaicin causes cellcyclearrest and apoptosis in ER-positive and -negative breastcancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway. *Oncogene* 29:285–296.
- Todorov, J. 1992. Inheritance of the height of red pepper plants for grinding. *Proc. 8th Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant* 96–99.
- Vieira, M.L.C., L. Santini, A.L. Diniz, Munhoz & C.D.F. Munhoz. 2016. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology* 39(3): 312-328.
- Wall, M.M. & P.W. Bosland. 1998. Analytical methods for color and pungency of chiles (capsicums). *Developments in Food Science* 39:347-373.
- Weiss, E.A. 2002. **Spice Crops**. CABI Publishing International. New York.
- Yamamoto, S. & E. Nawata. 2004. Morphological characters and numerical taxonomic study of *Capsicum frutescens* *Capsicum frutescens* in Southeast and East Asia. *Tropics* 14:1.
- Yazawa, S., T. Sato & T. Namiki. 1991. Interspecific hybrid dwarfism and geographical distribution of the dwarfness gene in *Capsicum*. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 58:609–618.
- Zhang, Z., S. Zhao, G. Liu, Z. Huang & Z. Cao. 2016. Discovery of putative capsaicin biosynthetic genes by RNA-Seq and digital gene expression analysis of pepper. *Scientific Reports* 6:34121.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis statistik data karakter morfologi

LT11. Uji *Kolmogorov-Smirnov* pada taraf 5% (karakter morfologi)

		TT	WM PD	PB	DB
N		30	30	30	30
Normal Parameters	Mean	68.60	77.56	5.461	0.866
	Std. Deviation	33	67	7	0.866
		22.36	8.361	0.289	0.356
Most Extreme Differences	Absolute	0.164	0.184	0.149	0.229
	Positive	0.164	0.184	0.088	0.229
	Negative	0.093	0.142	0.149	0.152
Kolmogorov-Smirnov Z		0.9	1.007	0.816	1.253
	p	0.393	0.262	0.519	0.087

Keterangan: $p > 0,05$ = data berdistribusi normal

TT = tinggi tanaman

WMPD = waktu muncul percabangan dikotom

PB = panjang buah

DB = diameter buah

LT12. Uji *Levene's* pada taraf 5% (karakter morfologi)

	F	df1	df2	p
TT	2.742	4	25	0.051
MPD	0.149	4	25	0.962
PB	2.133	4	25	0.106
DB	1.939	4	25	0.135

Keterangan: $p > 0,05$ = data bersifat homogen

TT = tinggi tanaman

WMPD = waktu muncul percabangan dikotom

PB = panjang buah

DB = diameter buah

LT13. Uji MANOVA pada taraf 5% (karakter morfologi)

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Genotype	TT	12430.058	4	3107.515	37.418	0
	MPD	1997.533	4	499.383	418.478	0
	PB	1.891	4	0.473	22.009	0
	DB	3.517	4	0.879	129.531	0

Keterangan: p<0,05 = ada perbedaan signifikan pada taraf 5%

TT = tinggi tanaman

WMPD = waktu muncul percabangan dikotom

PB = panjang buah

DB = diameter buah

LT14. Uji *Tukey HSD* pada taraf 5% (karakter morfologi)

Tinggi tanaman (TT)

Genotype	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
G17	6	43.8167		
CH	6	50.9333		
G4	6		68.4167	
G1M4	6		79.0667	
G18	6			100.78
p		0.662	0.284	1

Panjang buah (PB)

Genotype	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
G17	6	5		
CH	6		5.4667	
G1M4	6		5.5167	5.5167
G18	6		5.5667	5.5667
G4	6			5.7583
p		1	0.761	0.06

Diameter buah (DB)				
Genotipe	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
G4	6	0.5467		
CH	6	0.65		
G1M4	6		0.7917	
G18	6		0.82	
G17	6			1.5217
p		0.223	0.974	1

Waktu munculnya percabangan dikotom (WMPD)					
Genotipe	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
CH	6	68.8333			
G1M4	6	69.6667			
G17	6		75.5		
G18	6			84.1667	
G4	6				89.6667
p		0.681	1	1	1

Lampiran 2. Analisis statistik data kandungan capsaicin

LT15: Uji *Kolmogorov-Smirnov* pada taraf 5% (kandungan capsaicin)

N		KC
Normal Parameters	Mean	1457.7
	Std. Deviation	210.668
Most Extreme Differences	Absolute	0.163
	Positive	0.163
	Negative	-0.148
Kolmogorov-Smirnov Z		0.631
P		0.821

Keterangan: p>0,05 = data berdistribusi normal
KC = kandungan capsaicin

LT16. Uji *Levene's* pada taraf 5% (kandungan capsaicin)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.129	4	10	0.065

Keterangan: $p > 0,05$ = data bersifat homogen
 KC = kandungan capsaicin

LT17. Uji *one-way* ANOVA pada taraf 5% (kandungan capsaicin)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Between Groups	479266.115	4	119816.529	8.434	0.003
Within Groups	142067.218	10	14206.722		
Total	621333.333	14			

Keterangan: $p < 0,05$ = ada perbedaan signifikan pada taraf 5%
 KC = kandungan capsaicin

LT18. Uji *Tukey HSD* pada taraf 5% (kandungan capsaicin)

Kandungan capsaicin (KC)

Genotype	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
G18	3	1211	
CH	3	1409.2	
G1M4	3	1429.2	
G17	3	1472.2	1472.2
G4	3		1766.8
p		0.127	0.075

Lampiran 3. Scoring data morfologi, kandungan capsaisin, dan profil SSR

LT19. Hasil *scoring* data morfologi ke dalam data biner

No.	Karakter	Keterangan	G1M4	G4	G17	G18	CH
1.	Habitus tanaman	<i>Erect</i>	1	1	0	1	0
		<i>Intermediate</i>	0	0	1	0	1
2.	Bentuk daun	<i>Lanceolate</i>	1	0	0	0	1
		<i>Ovate</i>	0	1	1	1	0
3.	Warna mahkota bunga	Putih	1	1	1	1	1
4.	Bentuk buah	<i>Elongate</i>	1	1	0	1	1
		<i>Triangular</i>	0	0	1	0	0
5.	Warna buah muda	Hijau tua, hijau	1	0	1	0	1
		Hijau pucat, hijau	0	1	0	1	0
6.	Tinggi tanaman	<68,60 cm	0	1	1	0	1
		>68,60 cm	1	0	0	1	0
7.	Waktu munculnya percabangan	<78 hari	1	0	1	0	1
		>78 hari	0	1	0	1	0
8.	Panjang buah	<5,46 cm	0	0	1	0	0
		>5,46 cm	1	1	0	1	1
9.	Diameter buah	<0,87 cm	1	1	0	1	1
		>0,87 cm	0	0	1	0	0

Keterangan: 0 = tidak ada
1 = ada

LT20. Hasil *scoring* data kandungan capsaisin ke dalam data biner

No.	Karakter	Keterangan	G1M4	G4	G17	G18	CH
1.	Kandungan capsaisin	<1457,70 SHU	1	0	0	1	1
		>1457,70 SHU	0	1	1	0	0

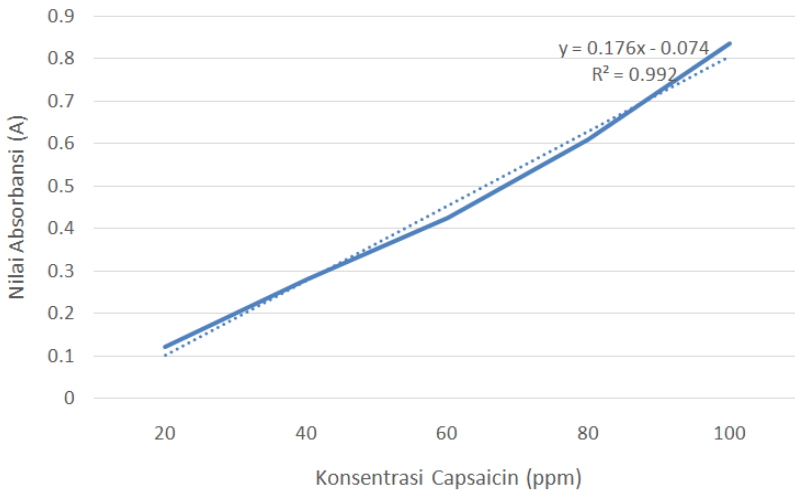
Keterangan: 0 = tidak ada
1 = ada

LT21. Hasil *scoring* data profil SSR ke dalam data biner

No.	Primer	Pita SSR (bp)	GIM4	G4	G17	G18	CH
1.	CA19	100	1	1	0	1	1
2.	CA52	125	0	1	0	0	1
		100	1	0	0	0	0
		75	0	0	1	1	0
3.	CA96	150	0	1	0	0	0
		125	0	0	1	1	0
		100	1	1	0	0	0
4.	CA56	150	0	1	0	0	1
		125	0	0	1	1	0
		100	1	1	0	0	1
5.	CA26	125	0	1	0	0	1
		100	1	1	1	1	0

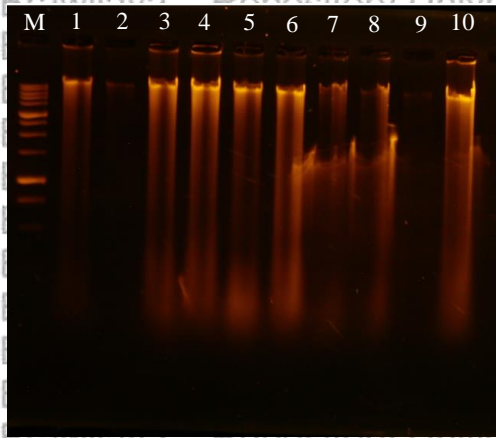
Keterangan: 0 = tidak ada pita
1 = ada pita

Lampiran 4. Kurva standar capsaicin



LG14. Kurva standar capsaicin

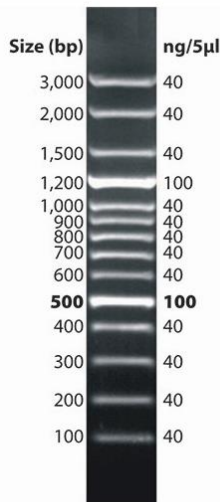
Lampiran 5. Hasil elektroforesis DNA *whole genome* gel agarose 1%



LG15. Hasil elektroforesis DNA *whole genome* gel agarose 1%.

Keterangan: M = marker GeneOn 1 kb; 1-2 = G1M4; 3-4 = G4; 5-6 = G17; 7-8 = G18; 9-10 = CH.

Lampiran 6. Marker DNAMark™ 100 bp



LG16. Marker DNAMark™ 100 bp

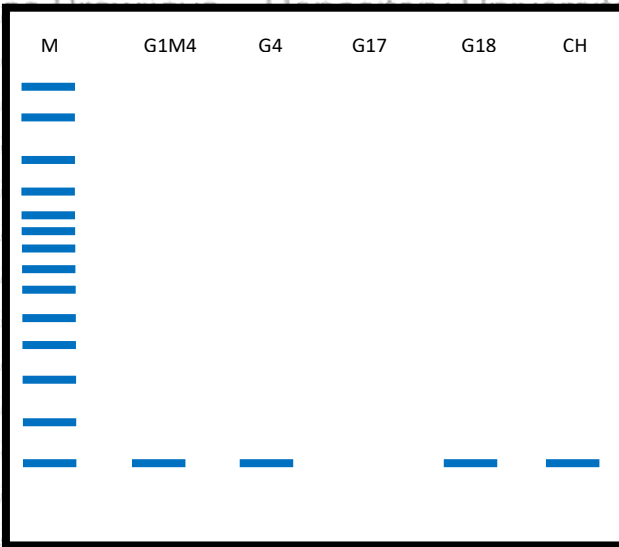
Lampiran 7. Deskripsi primer SSR yang digunakan

LT22. Lima primer SSR yang digunakan

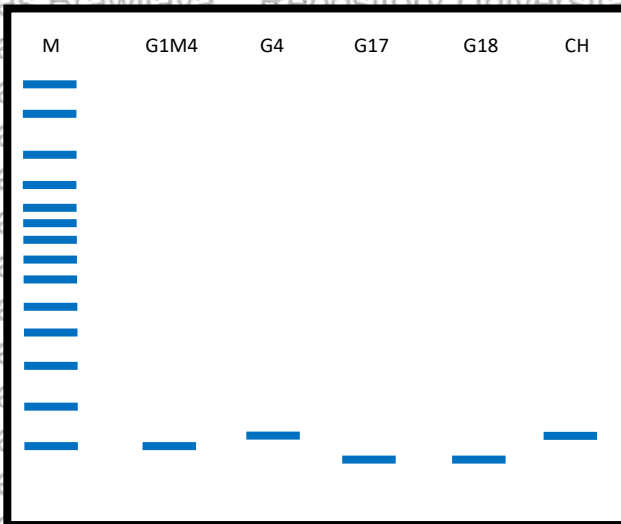
No.	Nama Primer	Sekuens primer (5'-3')	Tm (°C)
1.	CA19	Forward : CCG CAA TGG CAG TAT GAT CT Reverse: CGG CTC TAT CTA CAA CGG TG	55,1
2.	CA26	Forward : CGC ATA TAG GCA GAT CAA AT Reverse: TGA CTC AAA TGC TCT CTG AA	50,7
3.	CA52	Forward: TAG CAG AGG ACC AGT TAG CA Reverse: ATG TTC TGA GTC CAC GAT GC	55,1
4.	CA56	Forward: CTT CGC ATA TAG GCA GAT CA Reverse: TCT CTG TGG CTG ACT CAA AT	52,7
5.	CA96	Forward: CGC ATA TAG GCA GAT CAA AT Reverse: AAT CTC TGT GGC TGA CTC AA	51,9

(Carvalho dkk., 2015)

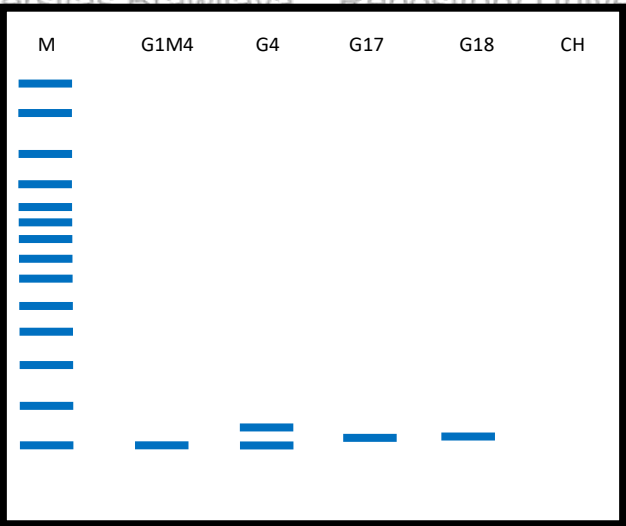
Lampiran 8. Visualisasi hasil PCR-SSR



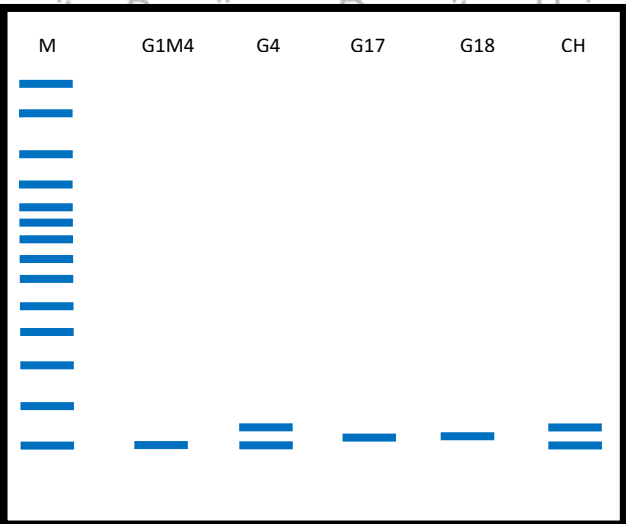
LG17. Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA19



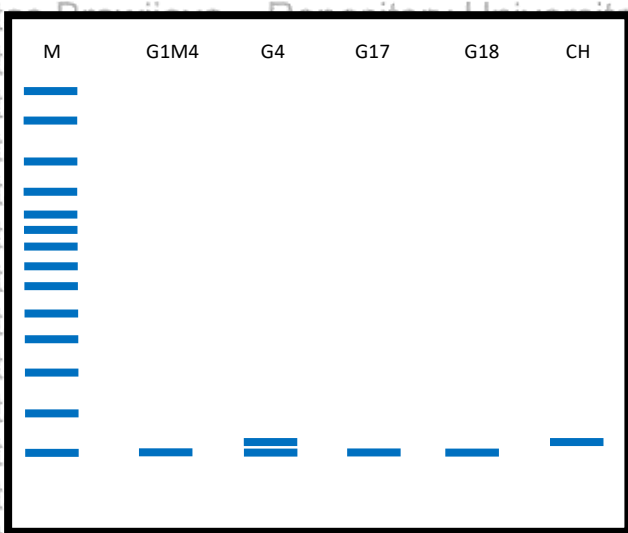
LG18. Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA52



LG19. Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA96



LG20. Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA56



LG21. Visualisasi hasil PCR-SSR primer CA26