

**ANALISIS VARIASI GENETIK *Capsicum annum* AKSESI
CIBINONG DAN LARIS DENGAN TEKNIK *TOUCHDOWN*
RAPD PCR**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**OLEH:
SRI OCTA HANDAYANI
17032120/2017**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2021**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

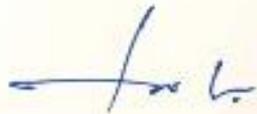
ANALISIS VARIASI GENETIK *Capsicum annuum* AKSESI
CIBINONG DAN LARIS DENGAN TEKNIK *TOUCHDOWN*
RAPD PCR

Nama : Sri Octa Handayani
NIM : 17032120
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 2 Juni 2021

Mengetahui :

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Disetujui oleh :

Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Sri Octa Handayani
Nim : 17032120
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

ANALISIS VARIASI GENETIK *Capsicum annum* AKSESI CIBINONG DAN LARIS DENGAN TEKNIK TOUCHDOWN RAPD PCR

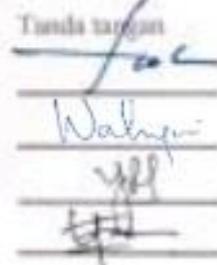
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 2 Juni 2021

Tim Penguji

| | Nama |
|---------|--|
| Ketua | : Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed |
| Anggota | : Dr. Wahyuni, S.Si., M.Biomed |
| Anggota | : Dr. Yuni Abda, S.Si., M.Si |
| Anggota | : Affitah Achyar, S.Si., M.Si |

Tanda tangan



The image shows four handwritten signatures, each on a horizontal line, corresponding to the members of the exam committee listed to the left.

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sri Oeta Handayani

NIM/TM : 17032120/2017

Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

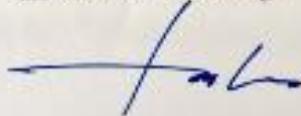
Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "Analisis Variasi Genetik *Capsicum annuum* Aksesori Cibinong dan Laris dengan Teknik *Touchdown* RAPD PCR" adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 2 Juni 2021

Diketahui oleh :

a.n Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan



Sri Oeta Handayani
NIM. 17032120

ABSTRAK

Sri Octa Handayani, 2021. “Analisis Variasi Genetik *Capsicum annum* Aksesori Cibinong dan Laris Dengan Teknik *Touchdown* RAPD PCR”

Capsicum annum adalah salah satu komoditas hortikultura yang banyak diminati dan memiliki banyak khasiat. Untuk itu dibutuhkan pengembangan varietas tanaman ini dengan program pemuliaan tanaman. Variasi genetik merupakan salah satu faktor keberhasilan program pemuliaan tanaman. Penanda molekuler DNA (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu marka molekuler yang efektif digunakan dalam menganalisis variasi genetik.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari – April 2021 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, FMIPA, UNP. Sampel cabai yang digunakan sebanyak 4 aksesori yang terdiri dari Cibinong01, Cibinong02, Cibinong03 dan Laris. Primer yang digunakan yaitu primer dari marka molekuler RAPD OPA02, OPA04, OPB12, OPE12, OPE14, OPE15, OPJ20, OPC15, OPM09 dan OPN15. Teknik amplifikasi yang digunakan adalah *touchdown* RAPD PCR. Produk PCR dianalisis menggunakan metode elektroforesis pada gel agarosa 1% dengan 50 volt selama 2 jam. Analisis skoring pita polimorfisme menggunakan sistem biner yaitu 0 untuk tidak ada (*absence*) dan 1 untuk ada (*presence*). Hasil skoring digunakan untuk menganalisis keragaman genetik dengan program aplikasi pengolahan data molekuler PAST 4.05.

Hasil penelitian menunjukkan aksesori Cibinong dan Laris memiliki tingkat polimorfisme keempat aksesori dari lima primer (OPA 02, OPB 12, OPC 15, OPM 09 dan OPN 15) secara berurutan adalah 46,66%, 46,66%, 78,94%, 60%, dan 100%. Keempat aksesori *Capsicum annum* yang dianalisis dikelompokkan menjadi 2 klaster. Klaster 1 terdapat aksesori Cibinong03 dan Laris dan Klaster 2 terdapat aksesori Cibinong01 dan Cibinong02. Cibinong01 dan Cibinong02 memiliki koefisien kesamaan genetik 0,464 dan Cibinong01 dan Cibinong03 memiliki koefisien kesamaan genetik 0,225 yang menandakan jarak genetik yang cukup besar.

Kata kunci: variasi genetik, cabai, marka molekuler, RAPD.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Analisis Variasi Genetik *Capsicum annum* Varietas Cibinong dan Laris Dengan Teknik *Touchdown* RAPD PCR”. Shalawat beriring salam untuk arwah Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed. dan ibu Dr. Wahyuni, M.Biomed sebagai pembimbing, yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si dan ibu Afifatul Achyar S.Si, M.Si sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Violita S.Si, M.Si sebagai pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat, waktu, serta dorongan selama proses perkuliahan.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta, Ibunda Elly Novrianti, S.Pd dan Ayahanda Amrilyadi, S.Pd untuk doa serta dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
6. Keluarga yang selalu memberikan doa serta dukungan terutama Uni Engla, Uni Uti dan Adek tersayang Ayib.
7. Kepada Rahmi Zahri Zani dan Yulia Fadarti Ningsih sebagai sahabat yang selalu mendukung dan membantu penulis.
8. Kepada Nurul Fajri, Putri Yolanda, Selmia Noferma dan Nola Nurdianata yang selalu menyemangati penulis.
9. Semua teman-teman di grup penelitian terutama Nina Fitriana terima kasih atas kerja keras nya, Indah Mardhotillah dan Masnaini untuk semua bantuan dan dukungannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian semua, yang telah mengajarkan banyak hal pada penulis.
10. Keluarga besar Biologi 2017 yang selalu memberikan dukungan serta doanya. Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 30 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------------|
| HALAMAN PERSETUJUAN | |
| HALAMAN PENGESAHAN | |
| SURAT PERNYATAAN | |
| ABSTRAK..... | i |
| KATA PENGANTAR..... | ii |
| DAFTAR ISI..... | iv |
| DAFTAR TABEL..... | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | vii |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A.Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah..... | 4 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 4 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| A . Cabai (<i>Capsicum annum</i> L.)..... | 5 |
| B . Variasi Genetik..... | 7 |
| C . <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> (RAPD)..... | 8 |
| D . <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 10 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| A. Jenis Penelitian..... | 14 |
| B. Waktu dan Tempat Penelitian..... | 14 |
| C. Alat dan Bahan..... | 14 |
| D. Prosedur Penelitian..... | 15 |
| 1. Persiapan Penelitian..... | 15 |
| 2. Pelaksanaan Penelitian..... | 17 |
| E. Analisis Data..... | 21 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A.Hasil Penelitian..... | 22 |
| B. Pembahasan..... | 28 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | |
| A.Kesimpulan..... | 32 |
| B. Saran..... | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA | |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | | Halaman |
|---------------|--|----------------|
| 1. | Hasil elektroforesis isolasi DNA..... | 23 |
| 2. | Hasil amplifikasi 4 aksesi dengan lima primer RAPD..... | 25 |
| 3. | Dendogram hubungan kekerabatan sampel cabai berdasarkan RAPD..... | 27 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|--------------|---|----------------|
| 1. | Perbandingan Karakteristik Penting Dari Penanda Molekuler DNA..... | 10 |
| 2. | Jenis aksesori cabai yang dianalisis..... | 15 |
| 3. | Primer RAPD yang Digunakan untuk Amplifikasi DNA..... | 15 |
| 4. | Komposisi Campuran Reaksi PCR..... | 19 |
| 5. | Pengukuran Konsentrasi dan Kemurniaan DNA hasil ekstraksi..... | 22 |
| 6. | Perbandingan tingkat Polimorfisme Keempat aksesori yang dianalisis..... | 26 |
| 7. | Nilai jaccard's similarity atau distance indeces..... | 28 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Tabel Skoring Hasil Amplifikasi DNA dengan Primer RAPD..... | 38 |
| 2. Dokumentasi Penelitian..... | 40 |

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah negara agraris dengan kekayaan sumber daya alam dan keanekaragaman hayati tinggi. Sektor pertanian memiliki peranan penting terhadap pembangunan ekonomi secara keseluruhan (Liu & Madiono, 2013). Luas daratan Indonesia ±192 juta ha, dimana 123 juta ha (64,6%) merupakan kawasan budidaya dan 67 juta ha (35,4%) merupakan kawasan lindung. Lahan yang berpotensi menjadi areal pertanian adalah 101 juta ha (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015).

Salah satu komoditas hortikultura yang mampu tumbuh dengan baik di daerah tropis dan subtropis adalah cabai merah (*Capsicum annum* L.) (Ilbi, 2003). Di Indonesia, tanaman cabai banyak ditemukan dari Sabang hingga Merauke. Data Badan Pusat Statistik (2008), menyatakan bahwa sentra penanaman cabai terbesar berada di Jawa Tengah (17.079 ha), Jawa Barat (12.823 ha), Sumatera Utara (12.047 ha), dan Jawa Timur (9.497 ha).

Cabai merah (*Capsicum annum*) memiliki berbagai jenis. Tanaman musiman seperti cabai memiliki tinggi yang dapat mencapai satu meter, daun berwarna hijau tua, berbentuk bujur telur dan bunga soliter dengan daun bunga putih (Situmeang, 2011). Cabai memiliki berbagai aksesori di daerah-daerah Indonesia. Salah satunya aksesori Laris yang memiliki karakter buah yang panjang (16-18 cm), produksi relatif tinggi dikelasnya yaitu 0,3-0,8 kg/pertanaman, memiliki warna buah merah menyala, daya simpan lama, dan tahan transportasi (Afriani, 2018). Aksesori *Capsicum annum* yaitu aksesori Cibinong yang memiliki

karakter buah bulat dan merah menyala. Aksesori Cibinong merupakan salah satu aksesori yang dikoleksi di Puspil Bioteknologi LIPI. Pada awal dikoleksi aksesori Cibinong berbentuk bulat kecil yang kemudian bijinya ditumbuhkan menjadi 3 variasi buah yaitu cabai panjang, cabai kecil dan cabai agak besar (Cibinong01, Cibinong02, Cibinong03) (Wahyuni, Pers.Comm 2020).

Salah satu cara untuk meningkatkan produksi cabai adalah dengan perakitan varietas unggul dan salah satunya pemuliaan tanaman (Purmaningtyas, 2019). Keberhasilan program pemuliaan tanaman salah satunya bergantung pada analisis keragaman genetik dan kekerabatan, baik antarspesies maupun antargenotipe (Mahatma *et al.*, 2009). Keanekaragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini dapat mempengaruhi fenotipe secara langsung atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu (Suryanto, 2003).

Keragaman genetik dapat dianalisis menggunakan marka morfologi dan marka molekuler (Naipospos *et al.*, 2014). Pada penelitian ini menggunakan marka molekuler. Marka molekuler DNA lebih menguntungkan daripada menggunakan seleksi secara fenotip. Marka molekuler DNA dapat menggambarkan keragaman karakter antar individu lebih tinggi (Langga *et al.*, 2012). Marka molekuler mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi, jumlah yang tidak terbatas, tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Yono *et al.*, 2017).

Berbagai jenis marka DNA telah banyak digunakan untuk analisis diversitas genetik, diantaranya *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLPs), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length*

Polymorphism (AFLP), dan *Simple Sequence Repeat* (SSR) (Lee *et al.*, 2004). Metode RAPD menyediakan metode yang efektif dalam menyajikan informasi genetik dalam bentuk pola pita karakteristik. Metode ini sangat efektif dan efisien untuk proses evaluasi variabilitas dengan ketepatan yang baik. Sebagian besar pita DNA informatif pada RAPD biasanya berjarak 300-3000 bp. Metode RAPD sangat penting dalam bidang pemuliaan tanaman. Metode ini mampu menganalisis keragaman genetik dari tumbuhan dengan baik dan mampu menyajikan pola hubungan kekerabatan yang penting dalam proses analisis genetik (Cheema dan Pant, 2013).

Teknik RAPD melibatkan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Teknik yang digunakan pada penelitian ini adalah *Touchdown* RAPD PCR. RAPD PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan genotip berdasarkan perbedaan pada pita DNA yang dapat teramplifikasi dengan random primer. *Touchdown* PCR secara sederhana dan cepat untuk mengoptimalkan PCR, meningkatkan spesififikasi, sensitivitas, dan hasil tanpa perlu pengoptimalan yang lama atau desain ulang primer. *Touchdown* PCR menggunakan suhu *annealing* awal di atas suhu leleh yang diproyeksikan (T_m) dari primer yang digunakan, kemudian secara bertahap bertransisi ke yang lebih rendah selama siklus yang berurutan (Darren & John, 2008). Primer yang digunakan merupakan primer marka molekuler RAPD OPA 02, OPA 04, OPB 12, OPC 15, OPE 12, OPE 14, OPE 15, OPJ 20, OPM 09, OPN 15.

Dari uraian di atas maka akan dilakukan penelitian yang berjudul analisis variasi genetik *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris menggunakan teknik *touchdown* RAPD PCR.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana perbandingan tingkat polimorfisme *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris dengan marka molekular RAPD?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan dan jarak genetik *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris?

C. Tujuan Penelitian

1. Membandingkan tingkat polimorfisme *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris dengan marka molekular RAPD.
2. Mengetahui hubungan kekerabatan dan jarak genetik *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris.

D. Manfaat Penelitian

1. Sebagai informasi bagi pemulia tanaman dalam mengidentifikasi dan mengelompokkan genotip *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris.
2. Memberikan informasi dalam kajian pemuliaan tanaman untuk mendapatkan tanaman cabai unggul.
3. Sebagai informasi dan bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Cabai (*Capsicum annum* L.)

Tanaman cabai berasal dari dunia tropika dan subtropika Benua Amerika, khususnya Colombia, Amerika Selatan, dan terus menyebar ke Amerika Latin. Bukti budi daya cabai pertama kali ditemukan dalam tapak galian sejarah peru dan sisaan biji yang telah berumur lebih dari 5000 tahun di dalam gua di Tehuacan, Meksiko. Penyebaran cabai ke seluruh dunia termasuk negara-negara di Asia, seperti Indonesia dilakukan oleh pedagang Spanyol dan Portugis (Harpenas dan Dermawan, 2009).

Menurut Agromedia (2010), dalam sistem klasifikasi tanaman cabai dapat digolongkan sebagai berikut: kerajaan: *Plantae*, divisi: *Spermatophyta*, subdivisi: *Angiospermae*, kelas: *Dicotyledone*, subkelas: *Sympetalae*, ordo: *Tubiflorae*, famili: *Solanaceae*, genus: *Capsicum*, spesies: *Capsicum annum* L. Menurut Wijoyo (2009), terdapat beberapa kerabat cabai lain, diantaranya kentang (*Solanum tuberosum* L.), terung (*Solanum melongena* L.), leunca (*Solanum nigrum* L.), Takokak (*Solanum torvum* Swartz.), dan tomat (*Solanum lycopersicum*).

Cabai memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap, yaitu: protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin, dan senyawa bioaktif, seperti capsaicin, flavonoid, serta minyak esensial (Pawar *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam cabai banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku industri makanan, serta bidang farmasi dan kesehatan, diantaranya untuk menyembuhkan kejang, sakit tenggorokan, sakit kepala, alergi, anti kanker,

rematik, membantu sirkulasi darah dalam jantung dan lain-lain (Saleh *et al.*, 2018).

Menurut Suriana (2012), secara morfologi tanaman cabai adalah sebagai berikut:

a. Akar

Akar merupakan bagian penting dari tanaman cabai yang berfungsi sebagai penyerap air dan unsur hara, tanaman cabai dikenal memiliki sistem perakaran yang rumit, tanaman cabai memiliki akar serabut yang halus dan banyak. Beberapa akar utama tumbuh lebih besar ke arah bawah dan biasanya berfungsi sebagai akar tunggang semu.

b. Batang

Batang cabai tumbuh tegak berwarna hijau tua dan berkayu, pada ketinggian batang tertentu akan membentuk percabangan seperti huruf Y. Batangnya berbentuk silindris, banyak cabangnya, serta ukuran yang mencapai tinggi 120 cm dan lebar tajuk tanaman hingga 90 cm.

c. Daun

Daun cabai berbentuk bulat telur, lonjong, ataupun oval dengan ujung yang meruncing, tergantung spesies dan varietasnya. Daun cabai berukuran panjang 8 – 12 cm, lebar 3 – 5 cm. Panjang tangkai daunnya berkisar 2 – 4 cm yang melekat pada percabangan, sedangkan daun cabai yang ditopang oleh tangkai daun mempunyai tulang menyirip.

Tanaman cabai tidak terlalu memiliki syarat tanah tertentu dalam pertumbuhannya. Hampir seluruh jenis tanah cocok untuk pertumbuhan tanaman cabai. Pada dasarnya tanaman cabai ini memerlukan tanah yang gembur dan kaya akan bahan organik, bertekstur ringan sampai sedang. Derajat keasaman tanah

(pH tanah) adalah antara 5,5-7,0 tetapi pH tanah optimal yaitu 6,5 dengan ketinggian tempat antara 0-1400 m dpl. Tanaman cabai akan menurun kualitas dan kuantitasnya pada tanah yang becek dan tergenang. Hal ini disebabkan tanaman mudah diserang penyakit layu dan juga seringkali menyebabkan gugur daun (Suryana, 2013).

Umumnya jenis cabai yang paling banyak ditanam di Indonesia, yaitu cabai besar, cabai keriting, cabai rawit, dan paprika. Hal ini disebabkan kondisi lingkungan, seperti cuaca, iklim, intensitas cahaya matahari, dan ketersediaan air sesuai dengan persyaratan tumbuh tanam cabai (Harpenas dan Dermawan, 2009).

B. Variasi Genetik

Variasi genetik adalah variasi yang terjadi pada genom suatu organisme baik pada basa nukleotida, gen maupun kromosom. Variasi genetik pada tingkatan dasar ditunjukkan oleh perbedaan pada urutan basa nukleotida (adenin, timin, guanin serta sitosin) yang membentuk DNA di dalam sel (Harrison *et al.*, 2004). Studi variasi genetik diperlukan untuk mengetahui besarnya keragaman genetik yang ada pada suatu populasi, sebagai landasan dalam kegiatan pemuliaan pohon dan upaya konservasi suatu jenis tanaman (Putri *et al.*, 2010).

Pendekatan marka genetik untuk mempelajari variasi genetik suatu spesies sangat diperlukan karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan bersifat stabil serta dapat dilakukan diawal pertumbuhan tanpa merusak species karena hanya memerlukan sedikit sampel (Septiningsih *et al.*, 2004).

Bioteknologi sangat dibutuhkan untuk mengoptimalkan keberhasilan perakitan suatu varietas tanama (Sutrisno, 2006). Produk bioteknologi yang telah dihasilkan sampai sekarang adalah tanaman transgenik dan varietas unggul yang

diperoleh melalui pemuliaan berdasarkan marka molekular. Pemuliaan tanaman menggunakan marka molekular memiliki beberapa kelebihan dibandingkan produk transgenik, diantaranya: (1) tidak memerlukan pengujian keamanan hayati sebelum produk tersebut dipasarkan. (2) teknologi marka molekular memberikan harapan yang besar bagi perkembangan program pemuliaan tanaman karena dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan variasi alel di dalam gen yang mengkode suatu sifat (Collard *et al.*, 2008).

Teknik penanda molekular dikelompokkan ke dalam tiga kategori berdasarkan waktu kemunculannya, yaitu generasi pertama, generasi kedua, dan generasi ketiga. Generasi pertama meliputi *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Generasi kedua meliputi *Simple Sequence Repeats* (SSR) atau mikro satelit dan *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). Sedangkan generasi ketiga meliputi *Expressed Sequence Tags* (EST) dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) (Gupta *et al.*, 2001).

C. *Random Amplified Polymorphis DNA* (RAPD)

Penanda genetik atau dalam berbagai kepustakaan disebut sebagai marka, markah, penanda atau marker merupakan penciri individu yang terdeteksi dengan alat tertentu yang menunjukkan genotipe suatu individu. Penanda molekuler juga didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. DNA merupakan sumber informasi genetik yang potensial dan akurat (Zulfahmi, 2013).

Penanda RAPD adalah penanda yang menggunakan sekuen primer pendek untuk mengamplifikasi sekuen-sekuen DNA genom secara acak (William *et al.*,

1990). Pada pengerjaan analisis genetik oleh penanda RAPD ini memerlukan bantuan PCR. Teknik PCR ini memanfaatkan dua sifat utama DNA, yaitu komplementasi basa-basanya (A=T; G=C) dan anti paralelisme dari kedua rantai DNA nya.

Penanda RAPD dilakukan dengan cara mengamplifikasikan DNA menggunakan random primer. Hasil amplifikasi kemudian dilihat untuk mengetahui ada tidaknya pita polimorfic DNA dibawah cahaya ultraviolet setelah sebelumnya gel elektroforesis diberi larutan Ethidium Bromide agar menimbulkan warna (Afifah, 2012). Secara teori, polimorfisme RAPD merupakan hasil dari beberapa peristiwa, yaitu (1) insersi fragmen DNA yang besar diantara tempat penempelan primer yang melebihi kemampuan PCR sehingga tidak ada fragmen yang terdeteksi, (2) insersi atau delesi kecil utas DNA yang menyebabkan perubahan ukuran fragmen amplifikasi, (3) delesi salah satu tempat penempelan primer sehingga mengakibatkan hilangnya fragmen atau meningkatnya ukuran fragmen, (4) substitusi satu nukleotida pada satu atau dua tempat sasaran primer yang mempengaruhi proses annealing, yang berakibat pada ada atau tidaknya polimorfisme atau merubah ukuran fragmen (Weising *et al.*, 2005).

Pada penelitian dasar, penggunaan marka DNA lebih diarahkan sebagai alat bantu dalam analisis hubungan kekerabatan antara individu (analisis filogenetik) dan pencarian gen-gen potensial pada suatu species dalam rangka perbaikan sifat atau karakter suatu individu tanaman. Pada penelitian yang bersifat aplikatif, marka DNA antara lain digunakan sebagai alat bantu dalam kegiatan seleksi tanaman (marker assisted selection/MAS), penelusuran hubungan darah

antara orang tua dan anak, serta sebagai alat bantu bagi pihak yang berwenang dalam kegiatan inspeksi dan sertifikasi suatu produk makanan ataupun identitas varietas (Reflinur dan lestari, 2015).

Menurut (Nadeem *et al.*, 2018), berikut adalah perbandingan karakteristik penting dari penanda molekuler DNA yang paling umum digunakan.

Tabel 1. Perbandingan Karakteristik Penting Dari Penanda Molekuler DNA

| Karakteristik | RFLP | RAPD | AFLP | ISSR | SSR | SNP |
|--------------------------------------|------------|---------------|---------------|---------------|-------------|---------------|
| Ko-dominan /dominan | Ko-dominan | Dominan | Dominan | Dominan | ko-dominan | Ko-dominan |
| Reproduksibilitas | Tinggi | Tinggi | Menengah | Medium-Tinggi | Tinggi | Tinggi |
| Tingkat Polimorfisme | Medium | Sangat tinggi | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Tinggi |
| Kualitas DNA yang dibutuhkan | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Rendah | Rendah | Tinggi |
| Kuantitas DNA yang dibutuhkan | Tinggi | Medium | Rendah | Rendah | Rendah | Rendah |
| Indeks Penanda | Rendah | Tinggi | Medium | Medium | Medium | Tinggi |
| Kelimpahan Genom | Tinggi | Sangat tinggi | Sangat tinggi | Medium | Medium | Sangat tinggi |
| Biaya | Tinggi | Kurang | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Variabel |
| Sequencing | Iya | Tidak | Tidak | Tidak | Iya | Iya |
| PCR | Tidak | Iya | Iya | Iya | Iya | Iya |
| Visualisasi | Radioaktif | Gel agarose | Gel agarose | Gel agarose | Gel agarose | SNP-VISTA |
| DNA yang dibutuhkan (ng) | 10000 | 20 | 500-1000 | 50 | 50 | 50 |

Metode RAPD dipilih karena efektif menyajikan informasi genetik dalam bentuk pola pita karakteristik. Keunggulan RAPD dari marka DNA lainnya adalah lebih mudah digunakan, jumlah DNA yang dibutuhkan lebih sedikit dan memiliki tingkat polimorfik yang sangat tinggi.

D. Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR pertama kali ditemukan oleh Kary B. Mullis pada tahun 1985 (Yuwono, 2006). PCR merupakan suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA secara *in vitro* (Yusuf, 2010). Target PCR yaitu asam nukleat (DNA) untai ganda

yang diekstraksi dari sel dan terdenaturasi menjadi asam nukleat beruntai tunggal. Komponen reaksi PCR terdiri atas pasangan primer berupa oligonukleotida spesifik untuk target gen yang dipilih, enzim (umumnya *Taq polymerase*, enzim *thermostable* dan *thermoactive* yang berasal dari *Thermus aquaticus*) dan *triphosphat deoxynucleoside* (dNTP) digunakan untuk amplifikasi target gen secara eksponensial dengan hasil replikasi ganda dari target awal. Reaksi ini dilakukan dalam suatu mesin pemanas yang diprogram secara otomatis disebut *thermocycler*. Mesin tersebut menyediakan kondisi termal yang diperlukan untuk proses amplifikasi (Nollet dan Toldra, 2011).

Proses PCR melibatkan 4 komponen utama, yaitu (1) DNA template, yaitu fragmen DNA yang akan digandakan, (2) primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (15-25 basa nukleotida) yang mengawali sintesis rantai DNA, (3) deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dan (4) enzim DNA polimerase, yang merupakan katalis reaksi sintesis rantai DNA.

Proses PCR terdiri dari tiga tahap, yakni denaturasi, penempelan (*annealing*), dan amplifikasi. Pada tahap denaturasi, suatu fragmen DNA (*double strand*) dipanaskan pada suhu 95°C selama 1-2 menit sehingga akan terpisah menjadi rantai tunggal (*singlestrand*). Kemudian dilakukan penempelan (*annealing*) pada suhu 55°C selama 1-2 menit, yakni primer menempel pada DNA cetakan yang komplementer dengan sekuen primer. Setelah dilakukan penempelan, suhu dinaikkan menjadi 72°C selama 1,5 menit. Pada suhu ini, enzim DNA polimerase akan melakukan proses polimerasi, yakni rantai DNA yang baru

akan membentuk jembatan hidrogen dengan DNA cetakan. Proses ini disebut amplifikasi (Yuwono, 2006).

Touchdown (TD) PCR merupakan pendekatan yang secara fundamental berbeda untuk pengoptimalan PCR. Daripada mencoba berbagai kondisi buffer dan siklus, pengoptimalan dicapai dengan berfokus pada satu variabel, suhu anil. Selain itu, kisaran suhu anil diambil sampelnya secara berurutan selama program siklus tunggal (Don *et al.*, 1991). Newton dan Graham (1994), mendemonstrasikan kekuatan TD PCR dengan memperkuat amplicon tunggal dari DNA genom menggunakan beberapa kombinasi primer / template yang secara signifikan tidak cocok. Pendekatan ini memiliki penerapan yang luas.

Berdasarkan pasangan primer yang digunakan dalam teknik PCR, maka ada dua macam teknik PCR yaitu (1) metode yang menggunakan sepasang primer (primer yang ditempatkan di awal dan di akhir unit transkripsi) dimana primer-primer tersebut sangat spesifik urutannya untuk menyambungkan dirinya dengan segmen DNA; dan (2) metode yang menggunakan primer tunggal (primer yang ditempatkan di awal unit transkripsi atau di akhir unit transkripsi (Yuwono, 2006).

Metode PCR dengan primer tunggal, meliputi: AP-PCR (*Arbitrary Primed PCR*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), serta DAF (*DNA Amplification Fingerprinting*) yang meliputi proses amplifikasi dari DNA/VNTRs dan Retroposon. Persamaan dari ketiga teknik ini adalah adanya urutan acak dari primer, baik yang bekerja ke arah kanan maupun ke arah kiri dari sejumlah lokus. Perbedaan dari ketiga teknik tersebut terdapat pada panjang-pendeknya primer, dimana untuk AP-PCR sekitar 20 basa nukleotida, RAPD sekitar 10 basa

nukleotida dan DAF sekitar 6-8 nukleotida. Hasil visualisasi dari AP-PCR dan RAPD relatif sama, sehingga orang lebih menyukai RAPD karena dengan ukuran primer yang lebih sedikit (~10 basa nukleotida) memberikan hasil yang tidak berbeda dengan AP-PCR yang memiliki ukuran primer lebih besar (~20 basa nukleotida).

Dalam proses mengidentifikasi hasil PCR perlu dilakukan elektroforesis gel agarosa. Kegiatan elektroforesis ini dilakukan untuk mengetahui ukuran basa DNA yang dihasilkan. DNA memiliki muatan negatif, hal ini akan menyebabkan untai DNA selalu bergerak ke arah muatan positif apabila dialiri aliran listrik. Semakin kecil hasil DNA akan semakin cepat arah pergerakannya menuju ke arah positif. Konsentrasi gel agarosa juga menjadi salah satu pendukung kemampuan untai DNA untuk bergerak ke arah positif. Semakin kecil konsentrasi gel agarosa akan membuat pori-pori agar menjadi semakin kecil, hal ini akan menyebabkan pergerakan untai DNA menjadi semakin lambat. Hasilnya hanya untai DNA kecil yang mampu pindah dengan cepat dan untai yang besar akan terhambat diantara gel agarosa (Mahardika, 2005).

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Tingkat polimorfisme keempat aksesori dari lima primer (OPA 02, OPB 12, OPC 15, OPM 09 dan OPN 15) secara berurutan adalah 46,66%, 46,66%, 78,94%, 60%, dan 100%.
2. Berdasarkan koefisien kesamaan genetik 4 aksesori *Capsicum annum* yang dianalisis mengelompok menjadi 2 kluster. Kluster 1 terdapat aksesori Cibinong03 dan Laris dan Kluster 2 terdapat aksesori Cibinong01 dan Cibinong02. Cibinong01 dan Cibinong02 memiliki jarak genetik cukup besar dengan koefisien kesamaan genetik 0,464 dan pada Cibinong01 dan Cibinong03 memiliki jarak genetik cukup besar juga dengan koefisien kesamaan genetik 0,225.

B. Saran

Diperlukan penelitian lainnya mengenai variasi genetik *Capsicum annum* aksesori Cibinong dan Laris menggunakan marka molekular yang lainnya agar didapatkan hasil yang lebih baik lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E. N. (2012). Penggunaan Penanda Molekuler untuk Mempercepat dan Mempermudah Perbaikan Kualitas Tanaman Teh (*Camellia sinensis* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Afriani, R. (2018). Pengaruh Mutagen Kolkisin Terhadap Karakter Fenotipe Tanaman Cabai Merah Keriting (*Capsicum annum*). *Thesis*. Riau: Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim.
- Agromedia, Redaksi. (2010). *Panduan Lengkap Budidaya dan Bisnis Cabai*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Cheema, S. K and M. R. Pant. (2013). RAPD Analysis of The Seven Cultivated Varieties of (*Capsicum annum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1) :152-158.
- Collard, B. C., Mackill, D. J. (2008). Marker-Assisted Selection: An Approach For Precision Plant Breeding In The Twenty-First Century. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London B: Biological Sciences*, 363(1491) :557-572.
- Darren, J.K and John, S.M. (2008). Touchdown PCR for Increased Specificity and Sensitivity in PCR Amplification. *Nature Protocol*, 3(9) : 1452-1456.
- Direktorat Jenderal Hortikultura. (2015). Statistik Produksi Hortikultura 2014. Jakarta: Kementerian Pertanian
- Don, R. H., P. T. Cox., B. J. Wainwright., K. Baker., dan J.S. Mattick. (1991). 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res*, 19 :4008.
- Donata, S., P. (2009). Keragaman Genetik Kelapa Dalam Bali (DBI) dan Dalam Sawarna (DSA) Berdasarkan Penanda Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD). *Buletin Palma*, 1(37) : 152-165.
- Faatih, M. (2009). Isolasi dan Digesti DNA Kromosom. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1): 61-67.
- Ford-Lloyd B, Jackson. (1986). Plant genetic Resources and Introduction to their Conservation and Use. Edward Arnold Pty. Ltd. Australia. hlm. 152.
- Gupta, P. K., Roy, J. K., dan Prasad, M. (2001). Single Nucleotide Polymorphisms: A New Paradigm For Molecular Marker Technology and DNA Polymorphism Detection With Emphasis On Their Use In Plants, *CurrentSci*, 80:524-35.
- Harpenas. A., R. Dermawan. (2009). *Budidaya Cabai Unggul*. Bogor : PT.Niaga Swadaya.

- Harrison, I., M. Laverty., dan E. Sterling. (2004). Genetic Diversity. *Connexions module*: 12158.
- Ibbi, H. (2003). RAPD Markers Assisted Varietal Identification and Genetic Purity Test In Pepper (*Capsicum annum*). *Journal Scientia Horticulturae*,97(3-4) :211-218.
- IRRI. (1997). Makalah diskusi IRRI seri no. 22. POBox 933, Manila 1099, Filipina. 3 pp Kang HW, Yong GC, Ung han Y, Moo YE (1998). Metode Ekstraksi DNA Cepat untuk RFLP dan Analisis PCR dari Benih Kering Tunggal. *Tanaman Mol. Biol. Reputasi*. 16: 1-9.
- Irmawati. (2003). Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok Hatchery. *Thesis tidak diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Isabel N, Tremblay L, Michaud M, Tremblay FM, Bousquet J. (1993). RAPDs as an aid to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis-derived populations of *Picea mariana* (Mill.) *B.S.P. TAG*. Vol. 86 : 81-87.
- Jamsari.2007.Construction of high-density genetic and physical maps around the sex gene M of *Asparagus officinalis* L. *Schriftenreihe des Institut der Pflanzenbau und Zilchtung Christian Albrechts Universitat zu Kiel*. 33: 1-170.
- Langga IF, Restu M, Kuswinanti. (2012). Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi dna tanaman bitti (*Vitex cofassus Reinw*) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J Saintekmol*. 12(3): 265276.
- Lee, J.M., Nahm, S.H., Kim, Y.M. & Kim, B.D. (2004). Characterization and Molecular Genetic Mapping of Microsatellite Loci In Pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 108 :619-627.
- Liu S.M.N dan Madiono E. (2013). Pengelolaan dan Pengembangan Usaha Hortikultura. *Jurnal Program Manajemen Bisnis*. Surabaya : Universitas Kristen Petra.
- Mahardika, I.G.N. (2005). Polymerase Chain Reaction. *Journal veteriner*,4(1).
- Mahatma, K., Khandelwal. V., Jha, S.K., Kumar, V. & Shah, R.R. (2009). Genetic Diversity Analysis Of Elite Parental Lines Of Cotton Using RAPD, ISSR, and Isozyme Markers. *Indian Journal of Plant Physiology*, 14 (2) : 105–110.
- Meisetyani, Reny. (2006). Studi Keanekaragaman Morfologi dan Genetik Jamur Tiram (*Pleurotus* sp.) dengan teknik PCR-RFLP. *Skripsi*. Bogor : IPB.

- Naipospos Y, Miftahudin, Sobir. (2014). Identifikasi morfologi dan marka molekular terpaut sifat tidak berbunga jattan pada mutan pisang kepok. *J. Hort.* 24(1): 23-31.
- Nienhuis J, Tivang J, and Skroch P. (1994). Analysis of genetic relationship among genotypes based on molecular marker data. In Analysis of molecular Data. Joint Plant Breeding Simposia Series. Oregon, 5-6 August 1994.
- Newton, C.R dan A. Graham. (1994). PCR: *Basic Principles and Methods*. England : Eng BiosScientific Publisher.
- Nollet, L. M. L., Toldrá, F. (2011). *Safety Analysis of Foods of Animal Origin*. New York: CRC Press.
- Pawar, S. S., Bharude, N. V., Sonone, S. S., Deshmukh, R. S., Raut, A. K., & Umalkar, A. R. (2011). Chillies as Food, Spice and Medicine: A Perspective. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 1(3) :311–318.
- Purmaningtyas., O. D. Respatijarti. (2019). Heratibilitas dan Kemajuan Genetik Harapan Berdasarkan Karakter Agronomi pada Aksesori Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Habitus Menyebar. *Jurnal Produksi Tanaman*, 7(1) :98-104.
- Purnomo, E & Ferniah, R., S. (2018). Polimorfisme Cabai Rawit dan Cabai Gendot dengan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Menggunakan Primer OPA-8. *Jurnal Berkala Bioteknologi* 1(1): 1-5.
- Putri, L. A., Rivallan, R., Zulhermana., Puspitaningrum, Y., Sudarsono., Perrier, X., Asmono, D., dan Norbert Billotte. (2010). Allelic Diversity of 22 Sampoerna Agro's Oil Palm Pisifera Based on Microsatellite Markers. *Prosiding Seminar International Oil Palm Conference (IOPC)*. Yogyakarta, 1–3 Juni 2010.
- Reflinur & Puji N. (2015). Penentuan Lokus Gen Dalam Kromosom Tanaman dengan Bantuan Marka DNA. *Jurnal Litbang Pert.* 34(4): 177-186.
- Saleh, B. K., Omer, A., dan Teweldemedhin, B. (2018). Medicinal Uses and Health Benefits of Chili Pepper (*Capsicum* spp.): A Review. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(4), 325–328.
- Sari, I. P. (2006). “Analisis Keragaman Genetik Bakteri Endofitik dan Filosfer Padi dengan Teknik ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.

- Septiningsih, E. M., Santoso, T. J., Utami, D. W., Hidayatun, N. (2004). *Analisis Sidik Jari DNA Varietas Tanaman Pangan*. Paper Presented At The Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian Bb-Biogen Tahun.
- Situmeang., H. (2011). *Analisis Risiko Produksi Cabai Merah Keriting Pada Kelompok Tani Pondok Menteng Desa Citapen Kecamatan Ciawi Bogor*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sukartini. (2008). Analisis Jarak Genetik dan Kekerabatan Aksesori-aksesori Pisang Berdasarkan *Primer Random Amplified Polymorphic DNA*. *Jurnal Hortikultura*. 18 (3) : 261–266.
- Suriana, N. (2012). *Cabai Kiat dan Berkhasiat*. Yogyakarta: C.V. Andi Offset.
- Suryana, D. (2013). *Cara Menanam Cabe dan Budidaya Cabe*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Suryanto. (2003). *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. Digitized by usu digital library.05 Mei 2014.
- Sutrisno. (2006). Peran Bioteknologi Dalam Pembangunan Pertanian Di Indonesia. *Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi*.
- Upadhyay A, Jayadev K, Manimekalai R, Parthasarathy VA. (2004). Genetic relationship and diversity in Indian coconut accession based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 99:353-362.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., dan Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods and Applications*. Boca Raton: CRC Press.
- Wijoyo, P. (2009). *Taktik Jitu Menanam Cabai di Musim Hujan*. Jakarta: Media Indonesia.
- William. JG. (1990). DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful as Genetik Markers. *Nucleic Acids Res*, 18(22):6531-5.
- Yono D, Wahyu Y, Sobir, Mathius NT. (2017). Identifikasi Penanda SSR Yang Berasosiasi Dengan Bobot Tandan Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *J Agron Indonesia*. 45(1): 79-85.
- Yusuf, Z. K. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek*. 5(6):1-6.
- Yuwono, T. (2006). *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: Andi.
- Zulfahmi. (2013). Penandaan DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman *Jurnal Agroteknologi*, 3: 41-52.