

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK
KETURUNAN F1 HASIL PERSILANGAN RESIPROK
CABAI RAZZAMATAZZ dan RAWIT DENGAN PENANDA RAPD
(Random Amplification Polymorphic DNA)**

**GENETIC DIVERSITY ANALYSIS OF
F1 RECIPROCAL PROGENY OF
CHILLI PEPPER RAZZAMATAZZ and RAWIT USING RAPD MARKERS**

Oleh:

Tantri Swandari^{1*}, Titin Setyorini¹, Irfan Binawa², Christina Astri Wirasti³,
¹Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, INSTIPER Yogyakarta.

²Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Yogyakarta.

*Alamat korespondensi: tantri14swandari@instiperjogja.ac.id

ABSTRACT

Chili pepper (Capsicum spp.) has important economic values as horticultural commodity in Indonesia. A plant breeding program, such as crosses, is a method to increase chili production. The reciprocal crosses is commonly used in chili plant breeding. This research aims to determine the genetic diversity of chili progeny by using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers. Genetic materials used as parents are the introduction of chili, Razzamataz, and rawit chili pepper. Those parents' plants were reciprocally crossed in the greenhouse of the Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University (UGM) in November 2012. The analysis of their inheritance patterns based on segregation as the results of parent crosses was conducted until August 2014. Operon primers (OPA 9, OPA 10, OPA 12) were used in molecular analysis. The results of visualization indicated the presence or absence of DNA bands from each primer. DNA bands were scored manually, 1 for the presence of homologous DNA bands and 0 for the opposite. Those binary data were analyzed with GenAlex 6.5 software. The results of genetic analysis in populations of chili Razzamataz and Rawit crosses (accessions A, B, C, D, E, F, G, H) showed that the percentages of polymorphic locus were various. Accession C has the highest polymorphic locus (85.71%), while accession F has the lowest polymorphic locus (7.14%). The population of progeny from crosses between chili Rawit and Razzamataz, accession B has the highest polymorphic locus (35.71 %), while accessions D and H have the lowest polymorphic locus (0.00%). The analysis of genetic diversity of chili Razzamatazz and rawit crosses showed that the genetic diversity among population was 70% while the genetic diversity between populations was 30%.

Keywords: chilli pepper, cross breeding, reciprocal, genetic diversity, RAPD.

ABSTRAK

Cabai (*Capsicum* spp.) merupakan komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomi penting di Indonesia. Salah satu cara untuk meningkatkan produksi cabai adalah dengan program pemuliaan tanaman yaitu persilangan. Salah satu persilangan yang umum dipakai adalah persilangan resiprokal. Pada penelitian ini dilakukan analisis molekular menggunakan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) untuk mengetahui keragaman genetik tanaman hasil persilangan. Materi genetik yang digunakan sebagai tetua persilangan adalah cabai introduksi Razzamataz dan cabai rawit. Kedua tanaman tetua tersebut disilangkan secara resiprok di rumah kaca (greenhouse) Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM) bulan November 2012. Analisis pola pewarisan karakter cabai berdasarkan segregasi hasil persilangan tetua dilakukan sampai bulan Agustus 2014. Analisis molekular dengan primer Operon (OPA 9, OPA 10, OPA 12). Hasil visualisasi menunjukkan ada atau tidaknya pita DNA dari masing-masing primer. Pita DNA diberi skor secara manual yaitu bernilai 1 untuk terdapat pita DNA dan bernilai 0 untuk tidak terdapat pita DNA yang homolog. Data berupa data biner tersebut kemudian diolah dengan perangkat lunak *GenAlex 6.5*. Hasil analisis genetik pada populasi hasil persilangan cabai Razzamataz dan Rawit (aksesi A, B, C, D, E, F, G, H) menunjukkan presentase lokus polimorfik yang bervariasi. Aksesori yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori C (85,71%), sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik terendah adalah aksesori F (7,14%). Pada populasi hasil persilangan cabai Rawit dengan Razzamataz, aksesori tanaman yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori B (35,71%) sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik paling rendah adalah aksesori D dan H (0,00%). Hasil analisis keragaman genetik persilangan cabai Razzamataz dan rawit menunjukkan keragaman genetik yang tersimpan didalam populasi adalah sebesar 70% sedangkan keragaman genetik antar populasi adalah 30%.

Kata kunci: cabai, persilangan, resiprok, keragaman genetik, RAPD

1. PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum* spp.) merupakan komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomi penting di Indonesia. Namun rata-rata produksi cabai nasional sebesar 1,63 ton/ha masih jauh di bawah rata-rata produksi dunia sebesar 9,5 ton/ha sehingga tidak mampu memenuhi kebutuhan nasional (Dirjen Produksi Hortikultura dan Aneka Tanaman, 2000). Salah satu cara untuk meningkatkan produksi cabai adalah dengan program pemuliaan tanaman yaitu persilangan. Salah satu persilangan yang umum dipakai adalah persilangan resiprokal yaitu persilangan antara dua induk, dimana kedua induk berperan sebagai pejantan dalam satu persilangan, dan sebagai betina dalam persilangan lain. Seleksi resiprokal memperbaiki kemampuan berkombinasi spesifik maupun umum atau diartikan sebagai daya gabung. Daya gabung merupakan kemampuan tetua untuk memindahkan sifat yang diinginkan kepada keturunannya. Daya gabung dapat dilihat berdasarkan karakter morfologis tanaman misal tinggi, luas daun, ukuran buah, dst. Namun, analisis sifat morfologis memiliki kelemahan karena sangat terpengaruh oleh faktor lingkungan. Dengan

demikian, perlu adanya cara analisis daya gabung atau keragaman sifat populasi tetua persilangan dengan populasi tanaman hasil persilangan yang lebih tepat dan akurat.

Analisis molekular merupakan teknik yang mengkombinasi antara pemuliaan konvensional dan bioteknologi yang berbasis marka molekular. Teknik ini menjadi alat bantu strategis yang dapat mempersingkat waktu pencapaian tujuan pemuliaan tanaman dengan cara mempersingkat waktu seleksi. Marka molekular DNA mempunyai tingkat polimorfisme yang sangat tinggi, jumlahnya tidak terbatas, tidak dipengaruhi oleh lingkungan, dan tingkat heritabilitasnya hampir 100% (Wirnas, 2005).

Marka DNA dapat digunakan untuk menganalisis variasi genetika, evolusi dari suatu tanaman, keterpautan gen tertentu terhadap karakter spesifik, penelusuran tetua, analisis lokus karakter kuantitatif. Salah satu marka DNA yang banyak digunakan adalah RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Metode RAPD mampu mendeteksi sekuen nukleotida dengan hanya menggunakan satu primer. Primer tersebut akan berikatan dengan utas tunggal genom yang satu dan pada utas DNA pasangannya dengan arah berlawanan. Keunggulan marka RAPD yaitu relatif mudah, murah, dan menganalisis dalam tingkat DNA, maka seleksi dini dapat dilakukan terhadap karakter yang bersifat kuantitatif (Pandin, 2010). Penelitian Hutami dkk. (2003), pada persilangan kacang hijau menunjukkan bahwa hasil persilangan resiprokal terlihat pembentukan polong akan mengikuti tetua betina yang digunakan. Apabila digunakan tetua betina kacang hijau, maka polong yang terbentuk penampaknya seperti kacang hijau. Penggunaan marka DNA RAPD untuk mendeteksi sifat ketahanan kedelai telah dilakukan oleh Hardayani dkk., (2006). Oleh sebab itu aplikasi marka molekular sudah menjadi satu keharusan untuk meningkatkan efisiensi dalam menganalisis kekerabatan dan keragaman genetika, bahkan teknik molekular penanda DNA sangat berkembang, lebih sederhana, dan reliable.

2. BAHAN DAN METODE

Materi genetik yang digunakan sebagai tetua persilangan adalah cabai introduksi Razzamataz dan cabai rawit. Kedua tanaman tetua tersebut disilangkan secara resiprok di rumah kaca (greenhouse) Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM) bulan November 2012. Analisis pola pewarisan karakter cabai hias berdasarkan segregasi hasil persilangan tetua dilakukan sampai bulan Agustus 2014.

Ekstraksi dan Purifikasi DNA. Analisis molekular dilakukan di laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian UGM pada bulan Januari sampai Agustus 2014. Analisis molekular menggunakan *Random Amplification Polymorphic DNA* (RAPD) dengan primer Operon (OPA 9, OPA 10, OPA 12). Proses diawali dengan ekstraksi DNA (Doyle & Doyle, 1990) dari daun tanaman cabai 0,1 gram sampel segar. Daun yang digunakan sebagai sampel dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Kemudian disiapkan buffer CTAB yang sudah ditambahkan 1% merchaptoethanol dan PVP. Larutan buffer CTAB dipanaskan pada suhu 65°C selama 30 menit. Daun sampel digerus menggunakan mortar hingga lembut, kemudian tambahkan buffer CTAB yang telah dipanaskan lalu masukkan dalam mikrotube 1,5 ml. Larutan campuran ini kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 60 menit dan setiap 10 menit dibolak-balik. Setelah 60 menit campuran diambil dan didiamkan selama 2 menit kemudian ditambahkan 500µl campuran 24 chloroform : 1 isoamil alcohol (CIAA). Tinggi cairan harus seimbang, apabila tidak maka harus

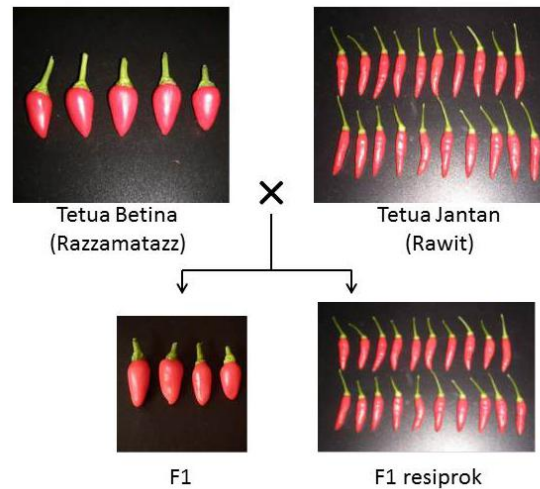
ditambah CIAA. Campur larutan dengan baik dengan cara di vortex selama 5 menit lalu disentrifus 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan yang terbentuk diambil dengan hati-hati dan dipindahkan ke mikrotube yang baru (catat volume), tambahkan sodium asetat 3 M sebanyak 1/10 dari volume supernatan kemudian dicampur dengan baik. Setelah itu, tambahkan isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume total (supernatant + sodium asetat), campur dengan baik lalu didiamkan dalam freezer selama 1-24 jam. Larutan kemudian disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Cairan lapisan atas dibuang dan dicuci dengan etanol 70% sebanyak 500 µl lalu disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Larutan dibuang lalu endapan DNA dikeringanginkan. Setelah kering angina, endapan DNA dilarutkan kembali dengan menambahkan 50-100 µl TE buffer + 1% RNase.

Amplifikasi dan Visualisasi DNA. Proses selanjutnya setelah diperoleh DNA adalah amplifikasi menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan alat *Thermo Cycler Boeco*. Bahan kimia yang digunakan adalah *Master Mix Go Taq Green* Promega dan primer RAPD 10 mer yaitu OPA 9 (GGGTAACGCC), OPA 10 (GTGATCGCAG), OPA 12 (TCGGCGATAG). Siklus amplifikasi diulang sebanyak 45 kali, diprogram 1 menit pada suhu 94°C (denaturasi), 1 menit pada suhu 37°C (penempelan primer) dan 2 menit pada 72°C (pemanjangan rantai) diikuti dengan pemanjangan akhir selama 4 menit pada suhu 72°C. Visualisasi hasil amplifikasi dilakukan dengan cara elektroforesis menggunakan agarosa 1,5% dengan penambahan pewarna DNA *Florosafe DNA Staining*. Alat elektroforesis dijalankan selama 1 jam dengan tegangan 100 Volt. Setelah separasi selesai dilakukan, gel agarosa diangkat dari tangki elektroforesis, kemudian diamati dengan alat *UV translluminator*.

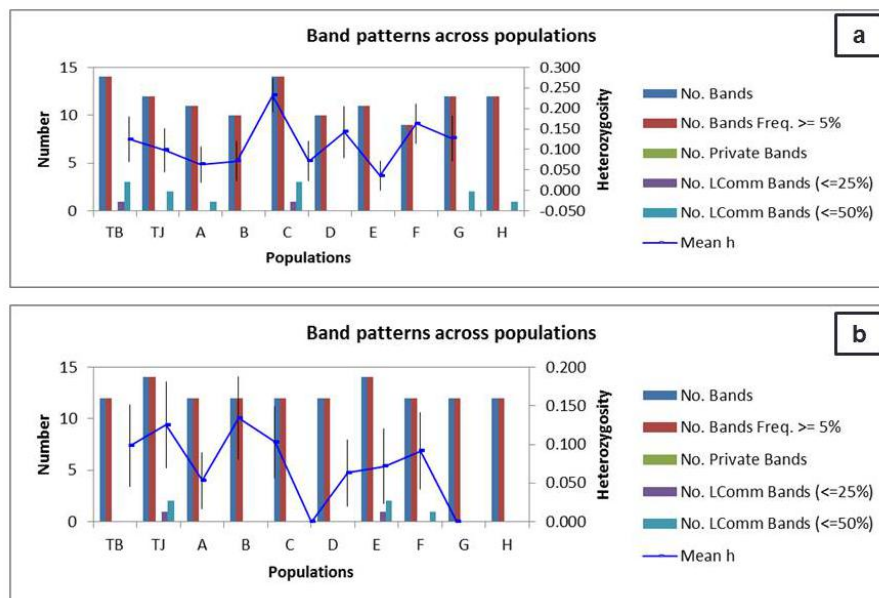
Analisis Statistika. Hasil visualisasi menunjukkan ada atau tidaknya pita DNA dari masing-masing primer. Pita DNA diberi skor secara manual yaitu bernilai 1 untuk terdapat pita DNA dan bernilai 0 untuk tidak terdapat pita DNA yang homolog. Data berupa data biner tersebut kemudian diolah dengan perangkat lunak *GenAlex 6.5*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi keragaman genetik sangat penting dalam menyeleksi materi bahan tanam sehingga akan diperoleh tanaman unggul. Pengamatan bentuk buah pada populasi hasil persilangan antara cabai Razzamatazz dengan rawit menghasilkan tanaman cabai yang memiliki bentuk buah cenderung mirip dengan bentuk buah tanaman tetua betina (Razzamatazz). Hasil persilangan resiprok cabai Razzamatazz dengan cabai rawit juga menghasilkan tanaman cabai dengan bentuk buah yang hampir mirip dengan bentuk buah tanaman tetua betina (cabai rawit). Berdasarkan penelitian ini, tanaman yang menjadi tetua betina lebih mempengaruhi bentuk buah cabai. Hal ini dapat terjadi karena adanya pengaruh gen maternal (gen tetua betina) yang mengendalikan bentuk buah. Zhang et al. 2008, telah membuktikan adanya gen maternal yang mempengaruhi bentuk buah pada famili Cucurbitaceae dengan menggunakan model genetika kuantitatif. Dengan model tersebut dapat diketahui bahwa panjang dan lingkaran buah dipengaruhi oleh sifat tetua betina. Menurut Bosland dan Wang (2006), teridentifikasi adanya enam gen yang mempengaruhi karakter bentuk buah. Gen dominan *O* merupakan gen yang mengatur bentuk buah membulat.



Gambar 1. Karakter bentuk buah hasil persilangan antara cabai Razzamatazz dan rawit.



Gambar 2. Pola pita binari pada populasi tanaman hasil persilangan cabai Razzamatazz dengan rawit. Keterangan: a. populasi tanaman hasil persilangan cabai Razzamatazz dengan rawit, b. populasi tanaman hasil persilangan resiprokal.

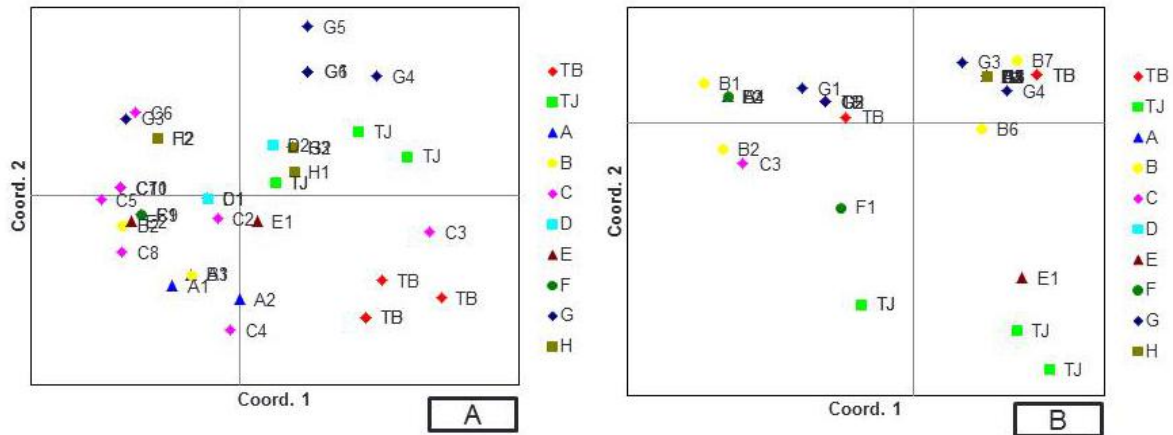
Pola pita DNA pada populasi tanaman hasil persilangan cabai Razzamatazz dengan rawit maupun resiprokalnya menunjukkan bahwa tidak terdapat pita DNA yang berada pada lokus spesifik (*number private bands*). Lokus spesifik merupakan lokus yang hanya dimiliki suatu populasi dan tidak dimiliki populasi lainnya. Tiap aksesori pada masing-masing populasi tanaman menunjukkan nilai heritabilitas (*h*) yang bervariasi. Heritabilitas menggambarkan seberapa jauh fenotipe yang tampak merupakan refleksi dari genotipe. Pada populasi hasil persilangan cabai Razzamatazz dan rawit, aksesori yang memiliki nilai heritabilitas tertinggi adalah aksesori tanaman C (23%). Sedangkan pada populasi hasil persilangan resiprokal, aksesori yang memiliki heritabilitas tertinggi adalah aksesori tanaman B (15%). Nilai heritabilitas dikatakan rendah apabila kurang dari

20%, cukup tinggi pada 20-50%, tinggi lebih dari 50%. Namun nilai ini sangat tergantung dari metode dan populasi yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai heritabilitas yang didapatkan tergolong rendah sehingga jika dilakukan seleksi terhadap populasi tanaman, maka keturunan dari tanaman terpilih akan memberikan hasil yang tidak lebih baik atau dikatakan kemajuan seleksi berjalan lambat (Syukur dkk., 2015).

Tabel 1. Lokus polimorfik populasi hasil persilangan cabai Razzamatazz dan Rawit serta persilangan resiprokal.

Populasi	Karakter Molekular			
	Razzamatazz × Rawit		Rawit × Razzamataz	
	Jumlah lokus polimorfik/ Jumlah total lokus.	Persentase (%) lokus polimorfik	Jumlah lokus polimorfik/ Jumlah total lokus.	Persentase (%) lokus polimorfik
TB	4/14	28.57	4/14	28.57
TJ	3/14	21.43	3/14	21.43
A	2/14	14.29	2/14	14.29
B	2/14	14.29	5/14	35.71
C	12/14	85.71	4/14	28.57
D	2/14	14.29	0/14	0.00
E	4/14	28.57	2/14	14.29
F	1/14	7.14	2/14	14.29
G	7/14	50.00	3/14	21.43
H	4/14	28.57	0/14	0.00

Analisis genetik pada populasi hasil persilangan cabai Razzamataz dan Rawit (aksesi A, B, C, D, E, F, G, H) menunjukkan presentase lokus polimorfik yang bervariasi. Aksesori yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori C (85,71%), sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik terendah adalah aksesori F. Pada populasi hasil persilangan cabai Rawit dengan Razzamataz, aksesori tanaman yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori B (35,71%) sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik terendah adalah aksesori D dan H (0,00%). Berdasarkan hasil tersebut, dapat dikatakan jika tingkat polimorfisme populasi parental lebih rendah dibandingkan dengan populasi F1 (Razzamataz dan Rawit) maupun F1 resiprokal (Rawit dan Razzamataz). Populasi F1 (Razzamataz dan Rawit) memiliki lokus polimorfik lebih tinggi daripada populasi F1 resiprokal (Razzamataz dan Rawit). Tingkat polimorfisme yang tinggi menggambarkan tingginya variasi genetik pada suatu populasi, sehingga dapat digunakan sebagai sumber genetik dalam proses seleksi.



Gambar 3. Principal Coordinates (PCoA) tetua persilangan dan keturunan F1. A. Persilangan cabai Razamataz dan rawit, B. Persilangan cabai rawit dan Razamataz.

Berdasarkan pemetaan genetik (PCoA) tetua persilangan dan keturunan F1, diperoleh bahwa terdapat pola persebaran yang berbeda antara persilangan cabai Razamataz dan rawit maupun resiprokalnya. Persilangan cabai Razamataz dan rawit menunjukkan bahwa keturunan yang diperoleh berada tersebar diantara posisi tetua betina dan tetua jantan. Keunikannya yang dapat diamati adalah bahwa aksesori G, H, dan D berada diposisi yang berdekatan dengan tetua jantan. Hal ini membuktikan bahwa aksesori G,H dan D memiliki genotipe yang cenderung identik dengan tetua jantan karena kemungkinan pengaruh tetua jantan lebih dominan daripada tetua betinanya. Untuk persilangan cabai rawit dan Razamataz diketahui bahwa keturunan yang terbentuk lebih cenderung mendekati posisi tetua betina yaitu cabai rawit. Hampir semua aksesori memiliki kecenderungan sifat tersebut, hal ini kemungkinan karena pengaruh tetua betina (cabai rawit) lebih dominan daripada tetua jantannya.

4. KESIMPULAN

Hasil analisis genetik pada populasi hasil persilangan cabai Razzamataz dan Rawit (aksesori A, B, C, D, E, F, G, H) menunjukkan presentase lokus polimorfik yang bervariasi. Aksesori yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori C (85,71%), sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik terendah adalah aksesori F (7,14%). Pada populasi hasil persilangan cabai Rawit dengan Razzamataz, aksesori tanaman yang memiliki lokus polimorfik tertinggi adalah aksesori B (35,71%) sedangkan aksesori yang memiliki lokus polimorfik paling rendah adalah aksesori D dan H (0,00%). Hasil analisis keragaman genetik persilangan cabai Razzamataz dan rawit menunjukkan keragaman genetik yang tersimpan didalam populasi adalah sebesar 70% sedangkan keragaman genetik antar populasi adalah 30%.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bosland, Paul. W., dan D. Wang. 2006. The Genes of Capsicum. *HortScience* 41(5): 1169-1187.
- [2] Wirnas, Desta. 2005. Analisis Kuantitatif dan Molekular Dalam Rangka Mempercepat Perakitan Varietas Baru Kedelai Toleran Terhadap Intensitas Cahaya Rendah. *Makalah Pribadi Falsafah Sains (PPS 702)*. Sekolah Pasca Sarjana S3 Institut Pertanian Bogor.
- [3] Pandin, D. S. 2010. Penanda DNA Untuk Pemuliaan Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Perspektif Vol 9 No. 1/Juni 2010*. Halaman 21-35.
- [4] Handayani, T., S. Sastrosumarjo, D. Sopandie, Suharsono, dan A. Setiawan. 2006. Analisis Marka Morfologi dan Molekular Sifat Ketahanan Kedelai terhadap Intensitas Cahaya Rendah. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* Vol. 8 No.1 April 2006. Hal. 43-50
- [5] Hutami, S., M. Kosmiatin, I. Mariska, dan A. Husni. 2003. Penyelamatan Embrio Hasil Persilangan Kacang Hijau dengan Kerabat Liarnya. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Halaman 281-293.
- [6] Dirjen Produksi Holtikultura dan Aneka Tanaman. 2000. *Informasi holtikultura dan aneka tanaman Indonesia*. Departemen Pertanian. Jakarta.
- [7] Zhang, S., Jin Hu, dan S. Xu. 2008. Developmental genetic analysis of fruit shape traits under different environmental conditions in sponge gourd (*Luffa cylindrical* (L.) Roem. Violales, Cucurbitaceae). *Genetics and Molecular Biology* Vol 31 No. 3. ISSN online 1678-4685.
- [8] Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yuniarti. 2015. *Teknik Pemuliaan Tanaman*. Swadaya. Jakarta.