



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN PENYANDI RASA PEDAS (AT3)
PADA CABAI RAWIT HIYUNG (*Capsicum frutescens* L.) LOKAL
KALIMANTAN SELATAN**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi persyaratan dalam
menyelesaikan program Sarjana Strata-1
Biologi**

**Oleh:
Mas'arisaldy Khairul Barkatullah
NIM. 1711013110009**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
BANJARBARU
SEPTEMBER 2022**

Lembar Pengesahan

SKRIPSI

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN PENYANDI RASA PEDAS (AT3)
PADA CABAI RAWIT HIYUNG (*Capsicum frutescens* L.) LOKAL
KALIMANTAN SELATAN**

Oleh:
Mas'arisaldy Khairul Barkatullah
NIM. 1711013110009

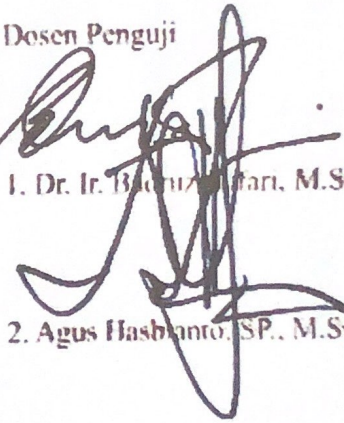
Telah dipertahankan di depan dosen penguji pada tanggal 20 Desember 2022
Susunan dosen penguji:

Pembimbing I



Dr. Dindin H. Mursyidin, S.Si., M.Sc.
NIP. 19790729 200501 1 003

Dosen Penguji



1. Dr. Ir. B. Fauzan Fari, M.Sc.

2. Agus Hasbianto, SP., M.St., Ph.D.

Banjarbaru, 15 Maret 2023

Program Studi Biologi FMIPA ULM

Koordinator



Dr. Evi Mintowati Kuntorini, M.Si.
NIP 196901012002122001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Pustaka



Banjarbaru, 24 November 2022
Mas'arisaldy Khairul Barkatullah
NIM. 1711013110009

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Pustaka

Banjarbaru, 24 November 2022
Mas'arisaldy Khairul Barkatullah
NIM. 1711013110009

ABSTRAK

Isolasi dan Karakterisasi Gen Penyandi Rasa Pedas (*AT3*) pada Cabai Rawit Hiyung (*Capsicum frutescens* L.) Lokal Kalimantan Selatan (Oleh: Mas'arisaldy Khairul Barkatullah; Pembimbing: Dindin Hidayatul Mursyidin; 2020; 40 Halaman)

Indonesia memiliki beragam kultivar cabai rawit (*C. frutescens*) dengan tingkat kepedasan yang berbeda. Hiyung adalah salah satu cabai rawit lokal unggul Kalimantan Selatan yang memiliki tingkat kepedasan tinggi, namun belum dikarakterisasi secara mendalam. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi gen penyandi rasa pedas, yaitu Acyltransferase-3 atau AT3, pada cabai rawit Hiyung lokal Kalimantan Selatan. Sampel DNA diisolasi dari daun Hiyung menggunakan protokol isolasi DNA komersial (GP100, Geneaid, USA), kemudian diamplifikasi menggunakan metode PCR dan primer spesifik AT3, yaitu: 5'-ATG GCT TTT GCA TTA CCA TCA-3' (forward) dan 5' -CCT TCA CAA TTA TTC GCC CA-3' (reverse). Produk PCR kemudian dikirim ke 1st Base, Malaysia, untuk disekuensing menggunakan metode Sanger. Hasil sekuensing menunjukkan bahwa gen AT3 Hiyung memiliki panjang sekuen sebesar 432 bp, dengan kandungan GC 50,69%, 41 region polimorfik, 11 situs parsimony informatif, 30 situs tunggal, dan 1 indel (insersi-delesi). Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa cabai Hiyung berada pada klade III bersama dengan cabai Tiung, *C. chinense* cultivar NMCA30036, *C. rhomboideum*, *C. frutescens* cultivar PI594141, dan *C. annum* cultivar RNAky. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi acuan penting dalam upaya pemuliaan cabai Hiyung pada masa mendatang.

Kata kunci: *Cabai, filogenetik, rasa pedas, pemuliaan*

ABSTRACT

Isolation and Characterization of the Pungent Taste Gene (*AT3*) in Local Hiyung Chili Peppers (*Capsicum frutescens* L.) from South Kalimantan (By: Mas'arisaldy Khairul Barkatullah; Supervisor: Dindin Hidayatul Mursyidin; 2020; 40 Pages)

Indonesia has a large variety of chili pepper cultivars (*C. frutescens*) with different levels of spiciness (pungency). Hiyung is one of the superior local cultivars of peppers in South Kalimantan, with a high level of spiciness but uncharacterized in depth. This study aimed to isolate and characterize the spicy flavor-encoding gene, i.e., Acyltransferase-3 or AT3, in local Hiyung in South Kalimantan. DNA was isolated from Hiyung leaves using a commercial DNA isolation kit protocol (GP100, Geneaid, USA), then amplified using PCR methods and AT3-specific primers, namely: 5'-ATG GCT TTT GCA TTA CCA TCA-3' (forward) and 5' –CCT TCA CAA TTA TTC GCC CA-3' (reverse). PCR products were sent to 1st Base, Malaysia, for sequencing using the Sanger method. The sequencing results showed that Hiyung's AT3 gene had a sequence length of 432 bp, with a GC content of 50.69%, 41 polymorphic regions, 11 informative parsimony sites, 30 single sites, and one indel (insertion-deletion). The phylogenetic analysis showed that Hiyung peppers were in clade III with Tiung chili peppers, *C. chinense* cultivar NMCA30036, *C. rhomboideum*, *C. frutescens* cultivar PI594141, and *C. annuum* cultivar RNAky. The results of this study are essential as a reference for the breeding task of Hiyung pepper in the future.

Keywords: *Chili pepper, phylogenetics, pungency, breeding.*

PRAKATA

Puji syukur penulis haturkan pada Allah *subhanahu wa ta'ala*, karena hanya atas izin dan karunia-Nya penelitian ini dapat dilaksanakan. Serta atas izin dan karunia-Nya pula penulisan skripsi berjudul “ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN PENYANDI RASA PEDAS (*AT3*) PADA CABAI RAWIT HIYUNG (*Capsicum frutescens* L.) LOKAL KALIMANTAN SELATAN” ini dapat diselesaikan untuk memenuhi persyaratan penyelesaian program S1 Biologi.

Adapun terima kasih penulis sampaikan sebesar-besarnya kepada bapak Dr. Dindin Hidayatul Mursyidin, S.Si., M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah memberi arahan dan bimbingan yang sangat berharga selama penelitian dan penulisan skripsi ini. Begitu pula terimakasih kepada bapak Dr. Ir. Badruzsaufari, M.Sc. dan bapak Agus Hasbianto, SP, M.Si., Ph.D. selaku dosen penguji atas koreksi, arahan, dan saran yang diberikan selama proses penelitian dan penulisan skripsi. Terima kasih yang sedalam-dalamnya untuk Bapak, Ibu, Andin, dan Mbah yang selama studi ini senantiasa memberikan dukungan dan semangat. Terima kasih dan salam sayang kepada Lilik yang senantiasa ada dan mendukung penulis. Terima kasih pula kepada teman-teman Iklim: Emah, Zizah, Era, Dea, Adam, Ahyar, Noli, Ayu, dan Nisa yang sudah menemani selama berjuang di Biologi. Tak lupa terima kasih untuk keluarga besar mahasiswa Biologi, teman-teman angkatan 2017, teman-teman yang sama-sama meneliti di lab. Biomol, dan para pengurus HIMABIO “APIDAE” yang telah memberikan pengalaman serta persahabatannya selama ini, serta seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung turut membantu pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini. Demikian skripsi ini penulis buat, semoga dapat memberikan pengetahuan lebih kepada mahasiswa Program Studi Biologi pada khususnya, dan masyarakat luas pada umumnya. Kritik serta saran yang positif dan membangun selalu menjadi masukan berharga bagi penulis.

Banjarbaru, 20 Desember 2022

Mas'arisaldy Khairul Barkatullah
NIM. 1711013110009

DAFTAR ISI

| | Hal. |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| PERNYATAAN..... | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT..... | v |
| PRAKATA..... | vi |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR | viii |
| DAFTAR TABEL..... | ix |
| BAB I: PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3. Tujuan Penelitian..... | 2 |
| 1.4. Manfaat Penelitian..... | 2 |
| BAB II: TINJAUAN PUSTAKA..... | 3 |
| 2.1. Tinjauan Umum Tanaman Cabai | 3 |
| 2.1.1. Klasifikasi Cabai Rawit | 6 |
| 2.2. Cabai Rawit Varietas Hiyung..... | 6 |
| 2.3. Capsaicin dan Biosintesisnya | 7 |
| 2.3.1. Biosintesis Capsaicin | 8 |
| 2.4. Gen <i>AT3</i> | 9 |
| BAB III: METODE PENELITIAN | 11 |
| 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian | 11 |
| 3.2. Bahan Penelitian..... | 11 |
| 3.3. Cara Kerja..... | 11 |
| 3.4. Analisis Data | 12 |
| BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN | 13 |
| 4.1. Hasil Ekstraksi DNA..... | 13 |
| 4.2. Hasil Amplifikasi dan Elektroforesis DNA..... | 14 |
| 4.3. Hasil Sequencing DNA | 15 |
| 4.4. Identitas Genetik..... | 16 |
| 4.5. Hasil Alignment | 17 |
| 4.6. Keragaman Genetik..... | 19 |
| 4.7. Hasil Analisis Filogenetik | 21 |
| BAB V: PENUTUP | 23 |
| 5.1. Kesimpulan..... | 23 |
| 5.2. Saran..... | 23 |
| DAFTAR PUSTAKA | 24 |

DAFTAR GAMBAR

| | Hal. |
|--|------|
| Gambar 1. Alur biosintesis capsaicin | 9 |
| Gambar 2. Grafik protein AT3/PUN1 (Tsurumaki & Sasanuma, 2019)..... | 10 |
| Gambar 3. Hasil ekstraksi menunjukkan larutan DNA cabai Hiyung berwarna bening (tanda panah)..... | 12 |
| Gambar 4. Hasil amplifikasi dan elektroforesis DNA menunjukkan ukuran gen target AT3, sekitar 450 bp. Keterangan: L = DNA ladder; 1- 4 = sampel cabai; 1 & 2 = Cabai Hiyung; 3 & 4 = Cabai Tiung. | 13 |
| Gambar 5. Kromatogram sekuen <i>AT3-F</i> (A) dan <i>AT3-R</i> (B) cabai Hiyung..... | 14 |
| Gambar 6. Konsensus sekuen nukleotida gen AT3 pada cabai Hiyung..... | 15 |
| Gambar 7. Asam amino hasil terjemah gen AT3 pada cabai Hiyung | 15 |
| Gambar 8. Hasil Multiple Alignment sekuen gen AT3 cabai Hiyung | 16 |
| Gambar 9. Hasil translasi dan penyejajaran asam amino gen AT3 cabai Hiyung | 17 |
| Gambar 10. Kekerabatan filogenetik cabai, termasuk Hiyung dan Tiung (kotak merah) berdasarkan sekuen gen AT3 dan metode neighbor joining (NJ)..... | 20 |
| Gambar 11. Koefisien divergensi (disimilaritas) antar sampel tanaman cabai | 20 |

DAFTAR TABEL

| | Hal. |
|--|------|
| Tabel 1. Data hortikultura luas panen tanaman sayuran cabai Kalimantan Selatan.. | 5 |
| Tabel 2. Hasil dari Tajima's Neutrality Test | 18 |
| Tabel 3. Tabel parsimony informative sites | 19 |