

KERAGAMAN GENETIK MUTAN M-2 CABAI MERAH KERITING (*Capsicum annuum L.*) BERDASARKAN PENANDA RAPD

(*Genetic Diversity of Chili Pepper (*Capsicum annuum L.*) Mutants (M-2) Revealed by RAPD Markers*)

ROSMINA^{1*}, DEDI MULYADI¹, RITA ELFIANIS¹, ZULFAHMI¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan,
Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau,
Jl. H. R. Soebrantas No.155 KM.15 Simpang Baru, Panam, Pekanbaru 28293
*Email: rosmaina@uin-suska.ac.id

ABSTRACT

*Chili is an important horticultural plant in Indonesia. This research aims to carry out RAPD analysis on Mutant M2 of chili pepper (*Capsicum annuum L.*). Six M2 genotypes of chili irradiated by gamma ray and control plants were amplified by 16 random primers. The amplification results of M2 chili with 16 primers produced 118 loci, with fragment sizes ranging from 150-2000 bp. The number of polymorphic loci was 96 loci and the percentage of polymorphic loci was 83.23%. The DNA fragment polymorphism produced in this research was relatively high and it showed that the gamma ray mutagen applied produced high chili genetic diversity. The value of genetic similarity between control plants and mutant plants ranged from 0.7474 to 0.4874. UPGMA dendrogram classified seven genotypes tested into three groups, the first group consisted of mutants R2U6 and R2U17, the second group was mutants R1U14 and R1U17, and the third group was mutants R2U8, mutants R2U2 and control plants. The finding of this research can be used as a basic selection of genetic material for chili's breeding in the future.*

Key words : chili pepper, RAPD, gamma irradiation, mutation induction

PENDAHULUAN

Cabai merah keriting (*Capsicum annuum L.*) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang penting di Indonesia karena diperlukan oleh masyarakat dalam kehidupan sehari-hari. Cabai memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap, antara lain; protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin, dan senyawa bioaktif, seperti capsaicin, flavonoid, serta minyak esensial (Pawar *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa bioaktif yang ditemukan dalam cabai ini banyak dimanfaatkan di bidang farmasi dan kesehatan, diantaranya untuk menyembuhkan kejang, sakit tenggorokan, sakit kepala, alergi, anti kanker, rematik serta membantu sirkulasi darah dalam jantung dan lain-lain (Saleh *et al.*, 2018; Fattori *et al.*, 2016).

Induksi mutasi menggunakan mutagen kimia dan mutagen fisik banyak diaplikasikan untuk perluasan keragaman genetik tanaman karena relatif mudah, murah dan konsumsi waktu yang sedikit. Induksi mutasi dengan mutagen akan

menyebabkan perubahan struktur genetik tanaman dalam bentuk mutasi titik, perubahan susunan basa, delesi, duplikasi dan translokasi kromosom, serta terganggu proses mitosis dan meiosis (Oladosu *et al.*, 2016; Shirasawa *et al.*, 2016) sehingga berdampak pada perubahan morfologi dan fisiologi tanaman (Khursheed *et al.*, 2019; Hanafy & Akladious, 2018; Ambavane *et al.*, 2015; Devi & Mullainathan, 2011).

Pemuliaan mutasi memiliki peran penting dalam perbaikan karakter tanaman baik secara langsung maupun sebagai komplementari pemuliaan konvensional. Penggunaan mutasi secara langsung merupakan pendekatan yang efektif dan efisien dalam pemuliaan tanaman terutama ketika satu atau beberapa karakter perlu diperbaiki pada varietas yang sudah beradaptasi baik.

Saat ini sudah banyak varietas cabai yang sudah dilepas, tetapi yang adaptif dan berpotensi hasil tinggi di lahan gambut belum ada. Oleh karena itu, kami telah melakukan induksi mutasi cabai dengan sinar gamma terhadap varietas

Kopai dengan dosis 200 dan 300 Gy, dengan harapan akan diperoleh mutan yang adaptif dan berproduksi tinggi di lahan gambut. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (data tidak dipublikasikan) diperoleh beberapa mutan yang mengalami perubahan karakter baik secara morfologi maupun produktivitas, sehingga sangat penting untuk melihat apakah perbedaan yang muncul merupakan perubahan genetik akibat mutasi atau pengaruh lingkungan.

Saat ini telah berkembang berbagai metode penanda DNA untuk analisis hasil mutasi. Penggunaan analisis molekuler DNA lebih efektif, efisien dan konsisten dibandingkan dengan penanda morfologi dan biokima karena penanda ini tidak dipengaruhi oleh lingkungan, tidak dipengaruhi oleh perkembangan tanaman dan mengakses langsung ke bagian material genetik (DNA) tanaman yang mengendalikan karakter individu tanaman (Zulfahmi, 2013). Dalam penelitian ini, penanda genetik yang digunakan adalah penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Penanda ini dipilih karena memiliki keunggulan dari penanda molekuler DNA yang lainnya baik dari segi ekonomis maupun aplikasinya, yaitu membutuhkan kuantitas DNA yang sedikit untuk reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*), dan memiliki kemampuan yang cepat dalam mendekripsi *polimorfisme* pada sejumlah lokus (Martida & Pharmawati, 2016). Menurut Kumari & Thakur (2014) bahwa RAPD ini memiliki beberapa kelebihan antara lain mudah dilakukan, cepat, hanya memerlukan sedikit DNA sebagai cetakan, dan tidak memerlukan informasi awal genom target.

Analisis hasil mutasi menggunakan penanda RAPD telah banyak dilakukan oleh para peneliti antara lain oleh Aslam *et al.* (2017) pada tanaman cabai, Asadi (2013) pada tanaman kedelai, Dhillon *et al.* (2014) pada tanaman jarak pagar, Yulita *et al.* (2014) pada Kentang Hitam, Maesaroh *et al.* (2014) pada kecipir dan Kamaruddin & Abdullah (2017) pada tanaman Jahe. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis RAPD pada mutan M2 cabai keriting (*Capsicum annuum L.*) dan dibandingkan dengan tanaman kontrol.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sample yang digunakan yaitu enam genotipe cabai mutan generasi kedua (M2) hasil iradiasi sinar gamma (R1U14, R1U17, R2U8, R2U2, R2U17, dan R2U6) dan tanaman kontrol. Pemilihan enam genotipe mutan tersebut berdasarkan pada perubahan karakter morfologi dan produksi yang berbeda dari tanaman kontrol. Benih dikecambahkan di rumah kasa Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Benih yang telah berkecambah (berumur 2 minggu) dipindahkan ke polibag kecil yang berisikan media campuran *top soil* dan pasir dengan perbandingan 3:1. Setelah semai memiliki daun sekitar 4 lembar, satu helai daun muda segar diambil untuk analisis DNA.

Isolasi DNA

Isolasi DNA tanaman dilakukan menggunakan metode Doyle & Doyle (1990) dengan modifikasi. Sampel daun yang telah dipotong-potong dimasukkan ke dalam mortar, kemudian tambahkan 500 μ l buffer ekstraksi (200 mM Tris-HCl, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA) dan gerus sampel sampai hancur. Pindahkan sampel ke dalam *microtube* dan tambahkan 500 μ l buffer ekstraksi yang telah dipanaskan pada suhu 65°C, selanjutnya sampel diinkubasi dalam *waterbath* selama 45 menit pada suhu 65°C dan setiap 15 menit sampel digoyang-goyang secara perlahan. Kemudian sampel didinginkan pada suhu ruang \pm 15 menit, tambahkan 500 μ l larutan Kloroform IAA (kloroform: Isoamil alkohol) dengan perbandingan 24 : 1 dan PVP 0.2 % sebanyak 200 μ l, kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Pindahkan supernatan ke dalam *microtube* baru, kemudian tambahkan kembali 500 μ l larutan Kloroform-IAA dan 200 μ l PVP 0.2 %, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dan supernatan dipindahkan ke dalam *microtube* baru.

Supernatan yang diperoleh ditambahkan 500 μ l isopropanol dingin dan 200 μ l NaCl 5 M, kemudian disimpan di freezer pada suhu -25°C selama 45 menit. Setelah itu sampel disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, kemudian buang fase cair. Pellet DNA yang diperoleh dicuci dengan 300 μ l etanol 96% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, buang fase cairnya. Pellet DNA yang diperoleh dicuci

kembali dengan 300 μl etanol 70% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya pellet yang terbentuk dikeringkan selama 5 menit. Setelah kering DNA tersebut dilarutkan dengan 50 μl TE dan disimpan dalam freezer sampai DNA digunakan.

Kualitas DNA hasil isolasi dapat diukur dengan elektroforesis sampel DNA pada gel agarose dengan konsentrasi 1 % w/v pada tegangan 100 volt selama \pm 30 menit, kemudian gel diletakkan di atas Gel doc (Bio-rad) untuk diamati dan didokumentasikan.

Amplifikasi DNA dan Elektroforesis

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR CFX 9600 (Bio-rad). Volume reaksi PCR adalah 15 μL yang terdiri dari DNA template (2 μL), Primer (2 μL), Hot Star Taq Master Mix Qiagen 2x (7.5 μL), Coral load (1.5 μL), dan air free nuklease (2 μL). Pengaturan mesin PCR CFX 9600 (Bio-rad) meliputi, *Pre-denaturation* pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti 39 siklus yang terdiri dari *denaturation* pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 37°C selama 1 menit, *extention* pada suhu 72°C selama 1 menit, dan *final extention* pada suhu 72°C selama 8 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarose konsentrasi 1.2% (w/v), dan dielektroforesis pada tegangan 100 V selama 30 menit. Gel agarose diamati dibawah Gel doc (Bio-rad) untuk didokumentasikan.

Analisis Data

Fragmen DNA hasil elektroforesis diskoring dengan nilai 1 untuk ada pita DNA dan 0 untuk tidak ada pita DNA. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan software POPGEN versi 1.32 (Yeh *et al.*, 2000) untuk mengetahui tingkat polimorfisme dan kemiripan genetik genotipe M-2, analisis *cluster* dengan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic*) juga dilakukan dengan menggunakan software NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate System*) versi 2.20 (Rohlf, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rekapitulasi ukuran fragmen DNA, jumlah lokus, jumlah lokus polimorfik, dan persentase lokus polimorfik masing-masing primer dapat dilihat pada Tabel 1.

Jumlah lokus yang dihasilkan sangat bervariasi yaitu 1 – 12 lokus tergantung dari jenis primer yang digunakan. Jumlah lokus tertinggi diamati pada primer S13 yaitu 12 lokus, primer Z13 dan K06 dengan 11 lokus sedangkan jumlah lokus terrendah diamati pada primer A16 yaitu 1 lokus. Total jumlah lokus yang dihasilkan oleh 16 primer yang digunakan adalah 118 lokus dengan rata-rata 7.38 lokus per primer. Ukuran pita DNA yang diperoleh berkisar dari 150-2000 bp. Rata-rata persentase lokus polimorfik dari 16 primer adalah 83.28%, dimana persentase lokus polimorfik tertinggi dihasilkan oleh primer A16, X01, D06, D12, dan K02 yaitu 100%, sedangkan persentase lokus polimorfik terendah diamati pada primer OPJ-20 yaitu 55.56 %.

Tingkat polimorfisme yang diperoleh dalam studi ini tergolong tinggi (83.28%). Polimorfisme yang dihasil dalam analisis RAPD merupakan hasil dari beberapa peristiwa, yaitu: i) insersi fragmen DNA yang besar diantara tempat penempelan primer yang melebihi kemampuan PCR sehingga tidak ada fragmen yang terdeteksi, ii) insersi atau delesi kecil utas DNA yang menyebabkan perubahan ukuran fragmen amplifikasi, (iii) delesi salah satu tempat penempelan primer sehingga mengakibatkan hilangnya fragmen atau meningkatnya ukuran fragmen, (iv) substitusi satu nukleotida pada satu atau dua tempat sasaran primer yang mempengaruhi proses *annealing* yang berakibat pada keberadaan polimorfisme atau merubah ukuran fragmen (Weising *et al.*, 2005; Kumar & Gurusubramanian, 2011). Tingkat polimorfisme hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai polimorfisme yang dilaporkan pada tanaman cabai (Aslam *et al.*, 2017; Mullainathan *et al.*, 2014), *Vigna mungo* (L) Hepper (Arulbalachandran *et al.*, 2010), *Phaffia rhodozyma* (Najafi *et al.*, 2011). Besarnya tingkat polimorfisme yang dihasilkan dipengaruhi oleh genotipe yang diuji, jenis dan jumlah primer yang digunakan (Rosmaina and Zulfahmi, 2013) dan mutasi DNA yang disebabkan oleh sinar gamma (Arulbalachandran *et al.*, 2010; Najafi *et al.*, 2011; Verma *et al.*, 2017).

Analisis RAPD tanaman cabai mutan M2 yang diberi perlakuan radiasi sinar gamma menghasilkan perbedaan genetik yang jelas dengan tanaman kontrol (Gambar 1). Perbedaan genetik tersebut diamati dari profil pita yang dihasilkan,

dimana ada pita-pita DNA baru yang muncul, adanya pita-pita DNA yang hilang dan bervariasi intensitas pita DNA. Variasi intensitas pita dan tidak munculnya beberapa pita pada sampel mutan tertentu mungkin berkorelasi dengan tingkat mutasi yang terjadi pada struktur DNA cabai mutan, dimana mutagen sinar gamma mengakibatkan terjadi kerusakan DNA seperti patahnya utas tunggal atau utas ganda DNA, terjadinya modifikasi posisi basa nitrogen sehingga menghambat replikasi, transkripsi dan translasi, terjadinya oksidasi basa (Najafi *et al.*, 2011) dan penyusunan ulang kromosom (Verma *et al.*, 2017).

Iridiasi sinar gamma merupakan salah satu mutagen fisik terbaik karena berasosiasi dengan molekul air dan menghasilkan gugus hidroksil namun menyebabkan kerusakan oksidatif (Jan *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016; Hanafy & Akladious, 2018). Radikal bebas (OH^-) tersebut berinteraksi dengan biomolekul termasuk DNA dan oksidasi elektronnya membuat kerusakan terhadap struktur dan aktivitas DNA. Ketika *taq* polimerase DNA bertemu dengan DNA yang rusak, terjadi disasosiasi antara enzim dan DNA yang akan menyebabkan hilangnya beberapa pita DNA (Taheri *et al.*, 2013; Najafi *et al.*, 2011).

Munculnya pita-pita baru juga terdeteksi dalam profil RAPD pada penelitian ini. Taheri *et al.* (2013) menyatakan bahwa munculnya produk amplifikasi PCR baru mengindikasikan terjadinya perubahan pada beberapa tempat penempelan primer sebagai hasil mutasi (peristiwa *annealing* baru) atau delesi yang besar (membawa tempat *annealing* lebih dekat ke tempat *annealing* yang ada sebelumnya) atau rekombinasi homolog. Taheri *et al.* (2013) menyimpulkan bahwa pita-pita yang hilang pada amplifikasi PCR pada tanaman yang diberi perlakuan mutagen erat kaitan dengan kerusakan DNA sehingga terjadi kegagalan amplifikasi, sedangkan pita-pita baru berkaitan erat dengan adanya perubahan struktur DNA tanaman seperti substitusi, delesi dan insersi.

Nilai kemiripan genetik antar cabai mutan dengan tanaman kontrol (Tabel 2). Nilai kemiripan genetik berkisar dari 0-1, dimana nilai 0 menunjukkan kedua tanaman memiliki kemiripan genetik yang sangat jauh (berbeda jauh secara genetik) dan nilai 1 menunjukkan kedua tanaman memiliki

kemiripan genetik secara identik (Nei, 1978). Nilai kemiripan genetik antar cabai mutan hasil penelitian ini berkisar dari 0.3613-0.8403 atau (36.13% sampai 84.03%). Nilai kesamaan genetik tertinggi (0.8403) diamati pada mutan R1U17 dengan R1U14, sedangkan nilai kemiripan genetik terendah (0.3613) diamati pada mutan R1U17 dan R2U17. Mutan R2U8 memiliki kemiripan genetik tertinggi dengan tanaman kontrol yaitu 0.7479 sedangkan mutan R2U6 memiliki kemiripan genetik terendah dengan tanaman kontrol yaitu 0.4874, artinya bahwa R2U6 berbeda jauh secara genetik dengan tanaman kontrol. Mutan R1U14 dan R1U17 yang mendapat dosis iridiasi sinar gamma yang sama (200 gy), tetapi secara genetik keduanya memiliki kemiripan genetik yang cukup dekat. Berbeda dengan mutan R2U8, R2U2, R2U17 dan R2U6 yang juga mendapat dosis iridiasi sinar gamma yang sama (300 gy), mutan-mutan tersebut memiliki kemiripan genetik yang berbeda signifikan diantara mutan R2U8, R2U2, R2U17 dan R2U6 serta dengan tanaman kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan respon antar individu terhadap mutagen yang diberikan meskipun dosis iridiasinya sama sehingga tingkat kerusakan struktur DNA yang dialami oleh masing-masing individu juga sangat bervariasi, hasil yang sama juga dilaporkan oleh Sianipar *et al.* (2015). Perubahan genetik yang dialami Mutan R2U8 cenderung mendekati kemiripan dengan tanaman kontrol sedangkan perubahan genetik yang dialami R2U6 cenderung berbeda jauh dengan kontrol. Hasil yang signifikan juga terlihat pada mutan R2U8 dan R2U2 yang menerima dosis iridiasi sinar gamma yang lebih tinggi dibandingkan dengan mutan R1U14 dan R1U17, tetapi R2U8 dan R2U2 memiliki kesamaan genetik yang lebih dekat dengan tanaman kontrol dibandingkan dengan R1U14 dan R1U17. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis yang lebih tinggi (300 gy) belum tentu menyebabkan mutasi yang lebih besar dibandingkan dengan dosis mutagen yang lebih rendah (200 gy) atau sebaliknya, tergantung banyaknya mutagen yang diserap oleh masing-masing genotipe (Hanafy & Akladious, 2018) dan tingkat kerusakan DNA yang alaminya (Verma *et al.*, 2017; Mejri *et al.*, 2013). Martanti *et al.* (2014) menyatakan bahwa perubahan DNA dapat berbeda dari satu sel ke sel lainnya ketika terekspos radiasi sinar gamma.

Perbedaan ini dapat disebabkan karena adanya mekanisme perbaikan (sebelum atau selama replikasi DNA) maupun perubahan pada regulasi ekspresi gen (transkripsi atau translasi).

Analisis dendrogram cabai mutan M2 berdasarkan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic*) (Gambar 2). Pada koefisien kemiripan genetik 0.73, ketujuh genotipe yang diuji terbagi kedalam tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri dari mutan R2U6 dan R2U17, kelompok kedua terdiri dari mutan R1U14 dan R1U17,

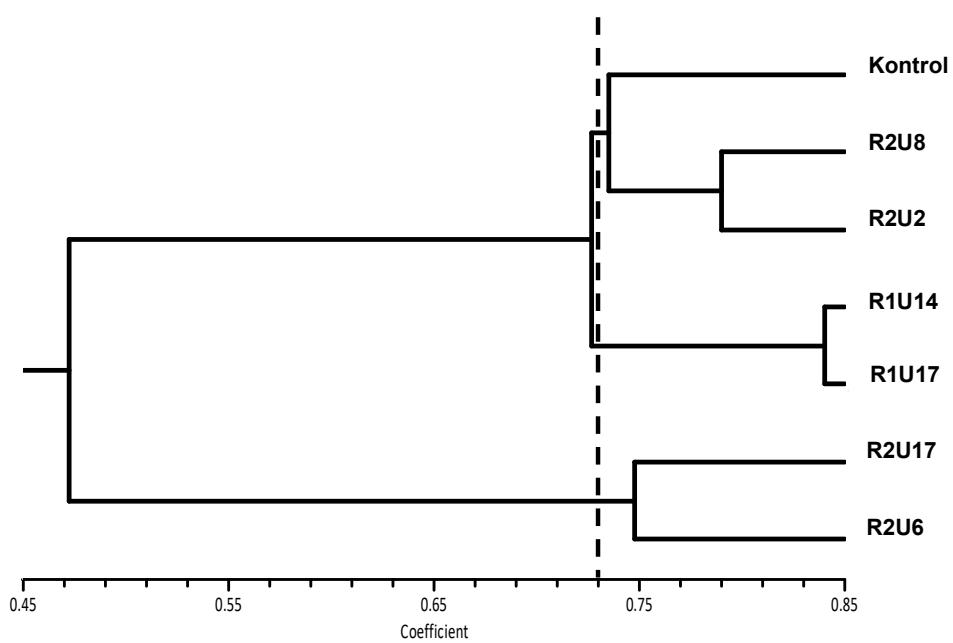
dan kelompok ketiga terdiri dari mutan R2U8, mutan R2U2, dan tanaman kontrol. Mutan R2U8 dan R2U2 berada satu kelompok dengan tanaman kontrol, hal ini berarti bahwa hasil mutasi iradiasi sinar gamma tidak signifikan memberikan perubahan pada genetiknya, sedangkan genotipe R1U14, R1U17, R2U17 dan R2U6 berada dalam kluster berbeda dengan kontrol yang dapat diasumsikan bahwa mutan ini mengalami mutasi yang lebih besar.

Tabel 1. Hasil amplifikasi 16 primer dengan menggunakan penanda RAPD

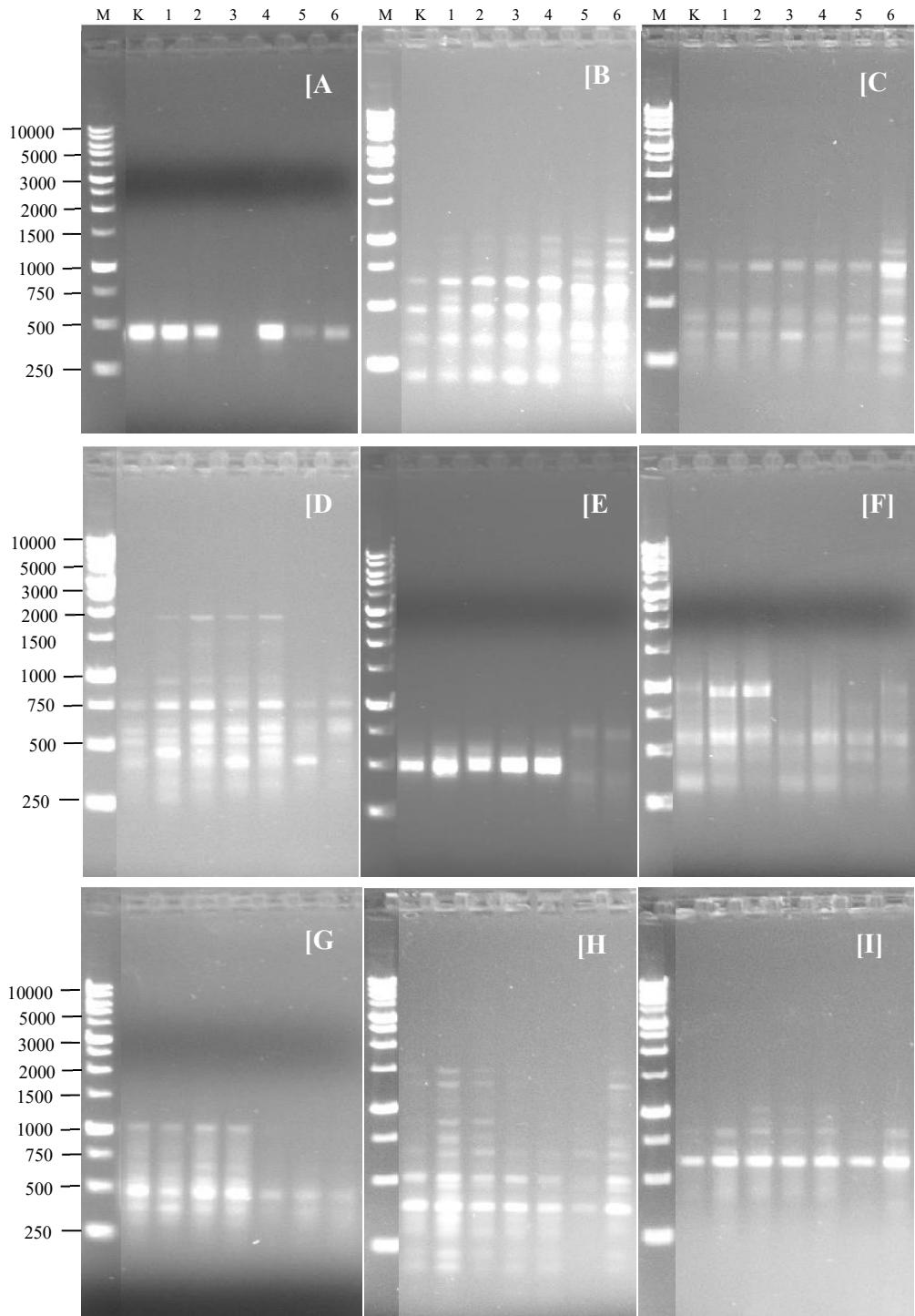
Nama Primer	Urutan Basa	Ukuran Pita (bp)	Jumlah Lokus	Jumlah Lokus Polimorfik	Persentase Lokus Polimorfik (%)
A16	5'-AGCCAGCGAA-'3	400	1	1	100
Z13	5'-GACTAAGCCC-'3	200 - 1000	11	10	90.90
OPJ-20	5'-AAGCGGCCCTC-'3	200 - 900	9	5	55.56
P06	5'-GTGGGCTGAC-'3	250 - 1100	7	6	85.71
X01	5'-CTCACCGTCC-'3	400 - 2000	9	9	100
D06	5'-ACCTGAACGG-'3	350 - 1500	4	4	100
D11	5'-AGCGCCATTG-'3	200 - 900	7	4	57.14
P08	5'-ACATCGCCCA-'3	150 - 1000	8	6	75
D12	5'-CACCGTATCC-'3	350 - 1500	7	7	100
K06	5'-CACCTTCCC-'3	300 - 1400	11	9	81.81
C09	5'-CTCACCGTCC-'3	250 - 2000	10	8	80
K02	5'-GTCTCCGCAA-'3	250 - 750	5	5	100
K08	5'-GAACACTGGG-'3	300 - 900	5	4	80
D08	5'-GTGTGCCCA-'3	250 - 1000	7	5	71.43
S13	5'-GTCGTTCCCTG-'3	200 - 1500	12	9	75
K14	5'-CCCGCTACAC-'3	400 - 1000	5	4	80
Total			118	96	1332.55
Rata-rata			7.38	6	83.28

Tabel 2. Nilai kemiripan genetik tanaman cabai hasil mutasi berdasarkan Nei (1972).

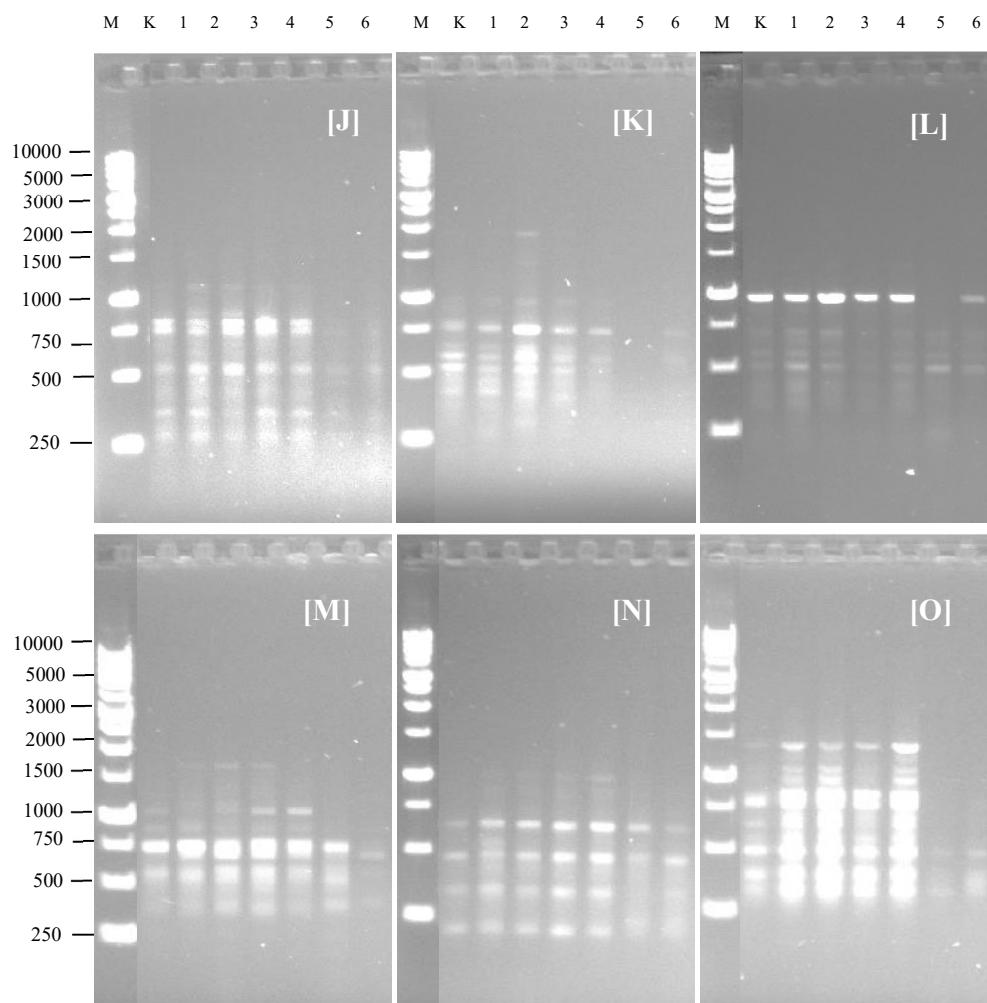
Genotipe	Kontrol	R1U14	R1U17	R2U8	R2U2	R2U17	R2U6
Kontrol	1						
R1U14	0.7143	1					
R1U17	0.7059	0.8403	1				
R2U8	0.7479	0.6975	0.7563	1			
R2U2	0.7227	0.7563	0.7311	0.7899	1		
R2U17	0.5379	0.3697	0.3613	0.5042	0.5126	1	
R2U6	0.4874	0.4706	0.4286	0.5042	0.5462	0.7479	1



Gambar 1. Dendogram jarak genetik tanaman mutan M-2 cabai hasil radiasi sinar gamma.



Gambar 2. Hasil Amplifikasi RAPD mutan M-2 Cabai dengan primer A16 [A]; Z13 [B]; OPJ-20 [C]; C09 [D]; K02 [E]; K08 [F]; D08 [G]; S13 [H] dan K14 [I]. M = Marker, K = tanaman kontrol, 1 = Mutan R1U14; 2 = Mutan R1U17; 3 = Mutan R2U8; 4 = Mutan R2U2; 5 = Mutan R2U17, dan 6 = Mutan R2U6



Gambar 2-lanjutan. Hasil Amplifikasi RAPD mutan M-2 Cabai dengan primer P06 [J]; X01 [K]; D11 [L]; P08 [M]; D12 [N]; K06 [O]. M = Marker, K = tanaman kontrol, 1 = Mutan R1U14; 2 = Mutan R1U17; 3 = Mutan R2U8; 4 = Mutan R2U2; 5 = Mutan R2U17, dan 6 = Mutan R2U6

KESIMPULAN

1. Tingkat polimorfisme yang diperoleh dalam studi ini tergolong tinggi (83.28%).
2. Mutan R2U6 memiliki jarak genetik yang terjauh (0.4874) dengan tanaman kontrol dibandingkan dengan genotipe lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau (UIN SUSKA) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambavane, A. R., Sawardekar, S. V., Sawantdesai, S. A., & Gokhale, N. B. 2015. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.12.04>
- Arulbalachandran, D., Mullainathan, L., Karthigayan, S., Somasundaram, S. T., & Velu, S. 2010. Genetic Variation in Mutants of Black Gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) Evaluated by RAPD Markers. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 13(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s12892-009-0132-6>
- Asadi. 2013. Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan terhadap Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *Jurnal AgroBiogen*, 9(3), 135–142.
- Aslam, R., Bhat, T. M., Choudhary, S., Ansari, M. Y. K., & Shahwar, D. 2017. Estimation of genetic variability, mutagenic effectiveness and efficiency in M2 flower mutant lines of Capsicum annuum L. treated with caffeine and their analysis through RAPD markers. *Journal of King Saud University - Science*, 29(3): 274–283. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.04.008>
- Dhillon, R. S., Saharan, R. P., Jattan, M., Rani, T., Sheokand, R. N., Dalal, V., & Wuehlisch, G. Von. 2014. Molecular characterization of induced mutagenesis through gamma radiation using RAPD markers in *Jatropha curcas* L. *African Journal of Biotechnology*, 13(7), 806–813. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2934>
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Fattori, V., Hohmann, M. S. N., Rossaneis, A. C., Pinho-Ribeiro, F. A., & Verri, J. W. A. 2016. Capsaicin: Current Understanding of Its Mechanisms and Clinical Uses. *Molecules*, 21(884), 1–33. <https://doi.org/10.3390/molecules21070844>
- Hanafy, R. S., & Akladious, S. A. 2018. Physiological and molecular studies on the effect of gamma radiation in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 683–692. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.02.012>
- Jan, S., Parveen, T., Siddiqi, T. O., & Mahmooduzzafar. 2012. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews*, 20, 17–39. <https://doi.org/10.1139/a11-021>
- Kamaruddin, N. Y., & Abdullah, S. 2017. Assessment of the Genetic Variability and Fibre Composition of Gamma Ray induced Mutant Lines of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Pertanika Journal of Science and Technology*, 25(S), 325–334.
- Khursheed, S., Raina, A., Parveen, K., & Khan, S. 2019. Induced phenotypic diversity in the mutagenized populations of faba bean using physical and chemical mutagenesis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18 (2): 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.03.001>
- Kumar, N. S., & Gurusubramanian, G. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision*, 11(3), 116–124.
- Kumari, N., & Thakur, S. J. 2014. Randomly Amplified Polymorphic DNA-A Brief Review. *American Journal of Animal and Veterinary Science*, 9(1), 6–13.
- Maesaroh, A., Amurwanto, A., & Yuniaty, A. 2014. Analisis RAPD Kecipir Polong Panjang(*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)) DC Hasil Mutasi Iradiasi Sinar Gamma. *Scripta Biologica*, 1(1), 1–7.
- Martanti, D., Poerba, Y. S., & Yulita, K. S. 2014. Karakterisasi Mutan Kentang Hitam (*Plectranthus rotundifolius* (poir.) spreng.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma yang Toleran Salinitas dan Kekeringan dengan Menggunakan Marka RAPD dan ISSR. *Widyariset*, 17(3), 435–444.
- Martida, V., & Pharmawati, M. (2016). Pemilihan Primer RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Pada PCR (Polymerase Chain Reaction) Tanaman Kamboja (*Plumeria* sp.). *Jurnal Simbiosis*, IV(1), 16–18.
- Mejri, S., Mabrouk, Y., Voisin, M., & Delavault, P. 2013. Variation in quantitative characters of faba bean after seed irradiation and associated

- molecular changes. *African Journal of Biotechnology*, 11(33), 8383–8390. <https://doi.org/10.5897/AJB11.291>
- Mullainathan, L., Sridevi, A., Umavathi, S., & Gandhi, E. S. 2014. Genetic variation in mutants of chilli (*Capsicum annuum*) Revealed by RAPD marker. *International Letters of Natural Sciences*, 6, 1–8.
- Najafi, N., Hosseini, R., & Ahmadi, A. R. (2011). Impact of gamma rays on the Phaffia rhodozyma genome revealed by RAPD-PCR. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(4), 216–221.
- Nei, M. 1978. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics*, 89, 583–590.
- Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Rahim, H. A., Miah, G., & Usman, M. 2016. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(1), 1–16. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1087333>
- Pawar, S. S., Bharude, N. V., Sonone, S. S., Deshmukh, R. S., Raut, A. K., & Umarkar, A. R. (2011). Chillies as food, spice and medicine: a perspective. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 1(3), 311–318.
- Rohlf, F. J. 1999. NTSYS- pc version 2.0.Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Softwere, Setauket. New York.
- Rosmaina and Zulfahmi. (2013). Genetic Diversity of *Eurycoma longifolia* Jack Based on Random Amplified Polymorphic DNA Marker. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*, XIX(2), 138–144. <https://doi.org/10.7226/jtfm.19.2.138>
- Saleh, B. K., Omer, A., & Teweldemedhin, B. 2018. Medicinal uses and health benefits of chili pepper (*Capsicum* spp.): a review. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(4), 325–328. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00183>
- Shirasawa, K., Hirakawa, H., Nunome, T., Tabata, S., & Isobe, S. 2016. Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato. *Plant Biotechnology Journal*, 14, 51–60.<https://doi.org/10.1111/pbi.12348>
- Taheri, S., Abdullah, T. L., & Ahmad, Z. (2013). Use of Intersimple Sequence Repeat Assay for Detection of DNA Polymorphism Induced by Gamma Rays in *Curcuma alismatifolia*. *HORTSCIENCE*, 48(11), 1346–1351.
- Verma, R. C., Bhala, V. P., & Khah, M. A. 2017. Studies on mutagenic effects of gamma irradiation on chilli (*Capsicum annuum* L.). *Chromosome Botany*, 12(1), 13–16.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., & Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications*. Second Edition. Taylor & Francis Group. Boca Raton.
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. B. J., Ye, Z. H., & Mao, J. X. 2000. Popgen ver. 1.32: Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Alberta, Canada.
- Yulita, K. S., Ahmad, F., Martanti, D., & Poerba, Y. S. (2014). Analisis Keragaman Genetik Kentang Hitam [*Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel] Berdasarkan Marka ISSR dan RAPD. *Berita Biologi*, 13(2), 127–135.
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA Untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi*, 3(2), 41–52.