



**APLIKASI PCR (*Polimerase Chain Reaction*) MENGGUNAKAN
PRIMER SPESIFIK UNTUK MENDETEKSI CABAI YANG TOLERAN
TERHADAP KEKERINGAN**

Ria Oktavianti¹, Maizar², Rosmaina³

¹ Program Magister Agronomi, Pascasarjana Universitas Islam Riau,
Pekanbaru, Riau, Indonesia

² Program Magister Agronomi, Pascasarjana Universitas Islam Riau,
Pekanbaru Riau, Indonesia

³Fakultas Pertanian Universitas Islam Sultan Syarif Kasim, Pekanbaru,
Riau, Indonesia

Email : riaoktavianti1991@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mencari genotype yang toleran terhadap kekeringan. Penelitian ini menggunakan 16 genotype cabe koleksi dari Laboratorium pemuliaan dan genetika UIN Suska Riau yang dicobakan dengan empat primer spesifik yaitu TIL, DREB2A, P5CS, dan Primer Pair 2 (BLAS). Hasil penelitian menunjukkan dua primer yang mampu mengamplifikasi DNA cabe yaitu Primer TIL dan Primer Pair 2, tetapi yang mendapat hasil yang sesuai adalah primer TIL. Berdasarkan hasil amplifikasi primer TIL yang dilihat dengan hasil elektroporesis, 16 genotype cabe yang di uji terdapat 11 genotype yang terdeteksi toleran terhadap kekeringan, genotype tersebut adalah genotype cabe (RFC-005), cabe (RFC-006), cabe (G-UIN-016), cabe (G-UIN-015), cabe (G-UIN-065), cabe (UIN-097), cabe (UIN-035), cabe (UIN-100), cabe (UIN-099), cabe (UIN-037) dan cabe (UIN-096). Sedangkan 5 genotype yang tidak toleran adalah cabe (G-UIN-019), cabe (G-UIN-008), (G-UIN-038), cabe (RFC-013) dan cabe (UIN-036).

Kata kunci : Cabe, Primer Spesifik, PCR, toleran kekeringan.

ABSTRACT

The purpose of this study was to find tolerant genotypes. This research was conducted on 16 chilli genotypes from UIN Suska Riau Laboratory of Breeding and Genetics. Using four specific primers wich were TIL, DREB2A, P5CS, and Primary Pair 2 (BLAS). Results of the study showed amplifikasi of chilli DNA could be obtained using TIL and Pair 2. Primer however th corsponding result were obtain only by using TI to be drought tolerant, while 5 genotypes were found drought intolerant. The drought tolerant genotypes were (RFC-005), (RFC-006), (G-UIN- 016), (G-UIN-015), (G-UIN-065), (UIN-097), (UIN-035), (UIN-100), (UIN-099), (UIN-037) and (UIN-096). While 5 intolerant genotypes were (G-UIN-019), (G-UIN-008), (G-UIN-038), (RFC-013) and (UIN-036).

Keyword : Chilli, Primer Spesifik, PCR, Drought Tolerant.

1. PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum* L) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mampu tumbuh dengan baik di daerah tropis atau daerah subtropical dengan temperature regional (Ilbi, 2003 dan Lifebure, 2001). Cabai menduduki peringkat pertama baik luas tanam maupun produksi komoditas sayur-sayuran (BPS, 2018). Hampir di seluruh Indonesia masyarakat menggunakan cabai sebagai bahan pokok dalam pengolahan makanan dan sebagai sumber pendapatan bagi para budidaya cabai.

Prospek budidaya cabai memiliki potensi yang sangat besar. cabai menduduki peringkat pertama di Riau untuk luas tanaman sayuran. Tahun 2011 mencapai 3.523 Ha dan mengalami penurunan hingga sampai pada tahun 2015 yang luas panen tercatat 3.088 Ha. Begitu juga dengan hasil produksi Cabai mengalami penurunan secara signifikan pada tahun 2015 yaitu 11.956 Ton/Ha (BPS, 2018).

Penurunan hasil produksi cabai dapat diakibatkan oleh serangan hama dan penyakit seperti kutu kebul, antraknosa, dan busuk buah yang menyebabkan gagal panen (Nurfalach, 2010). Selain hama dan penyakit yang merupakan kendala bagi petani dalam penanaman cabai adalah dampak dari global warming, dimana pemanasan global mengakibatkan perubahan iklim

secara rata-rata yang berdampak pada (Suarsana, 2011). Bencana kekeringan sering terjadi di Indonesia. Hasil pengamatan jangka panjang menunjukkan bahwa terjadinya musim kemarau panjang akibat adanya fenomena anomali iklim global El Nino pada umumnya terjadi secara periodik setiap 5 tahun sekali (Bey et al., 1992 cit Djazuli, 2010).

Perubahan iklim yang terjadi saat ini secara umum merugikan semua pihak, namun dampak yang cukup besar akan mengenai sektor pertanian. Salah satu dampak besar adalah perubahan siklus musim kemarau dan penghujan, dan perubahan curah hujan. Kedua perubahan ini akan menimbulkan potensi tingginya kegagalan panen, selain itu petani akan kesulitan untuk menentukan waktu memulai bercocok tanam karena ketidakpastian musim kemarau dan musim hujan (Departemen Pertanian, 2007). Kemarau yang berkepanjangan akan menyebabkan kekeringan pada lahan pertanaman. Sehingga petani mengalami kesulitan dalam budidaya terutama pada tanaman cabai.

Kekeringan dan salinitas adalah dua kondisi lingkungan utama yang menghambat pertumbuhan tanaman dan menurunkan produktivitas pertanian secara signifikan. Tidak semua tanaman dapat meminimalkan dampak kekeringan dan kerusakan dengan mekanisme adaptasi. Biasanya tanaman yang telah

berevolusi yang mampu memberikan ketahanan terhadap berbagai kondisi yang tidak baik (Umezawa et al., 2006). Sementara, petani sangat perlu memilih benih yang tahan terhadap kondisi kekeringan.

Mengantisipasi hal tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan pendekatan molekuler untuk mengidentifikasi tanaman/varietas yang sesuai dengan kondisi kekeringan. Pendekatan ini lebih efektif dibandingkan dengan penanda morfologi secara tradisional, karena memungkinkan akses langsung ke DNA dan untuk memahami hubungan kekerabatan antar tanaman (Williams et al., 1990; Paterson et al., 1991). Selain itu metode ini dapat mengidentifikasi tanaman dalam waktu yang singkat meskipun dalam jumlah yang besar.

Penanda molekuler seperti RAPD dan ISSR telah banyak digunakan di berbagai spesies tanaman untuk identifikasi, analisis kultivar, studi populasi dan pemetaan hubungan genetik dan juga mencari variasi genetik dari tanaman yang tahan terhadap kekeringan. Hal ini telah dilakukan pada tanaman tomat dengan pemberian perlakuan stress (Williams et al., 1990; Mansour., 2009). Dalam penelitian ini cara yang digunakan untuk mencari varietas cabai (*Capsicum annum* L.) yang tahan terhadap kekeringannya yaitu dengan menggunakan primer spesifik dengan tehnik PCR.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan April - Mei 2018. Analisis DNA dilakukan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Pekanbaru dan untuk PCR dilaksanakan di Laboratorium Genetika Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Penelitian yang dilakukan di laboratorium Genetika dan pemuliaan UIN Suska Riau melalui beberapa tahapan yaitu:

Isolasi DNA

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap kegiatan yang harus dilakukan secara berurut diantaranya adalah :

1) Persiapan Sampel

Masing-masing sampel diambil dari bagian daun muda ada tanaman cabai yang sudah disemai selama dua minggu (2 minggu), sampel diambil dari daun muda dan sehat yang akan digunakan untuk isolasi DNA. Sampel di masukkan kedalam tempat/mikrotube yang sudah disediakan dan berisi buffer. Masing-masing sampel diberi label pada mikrotube tersebut agar tidak tertukar. Sampel siap dibawa ke laboratorium untuk penelitian selanjutnya.

2) Ekstraksi DNA

Bahan yang digunakan adalah 16 sampel daun segar galur cabai (*Capsicum annum* L) yang sudah disimpan didalam larutan buffer, metode yang digunakan dalam ekstraksi DNA berdasarkan metode Doyle and Doyle (1990) yang telah

dimodifikasi. Tahapan ekstraksi DNA sebagai berikut :

Tahap 1 daun cabai yang sudah di siapkan digerus dengan menambah 500 µl buffer ekstraksi yang telah dipanaskan di dalam waterbath sampai daun Cabai menjadi bubur. Kemudian dimasukkan kedalam tube, dan ditambah kembali 500 µl buffer ekstraksi.

Tahap 2 setelah penggerusan, sampel di inkubasi dalam waterbath dengan suhu 65°C selama 45-60 menit dimana setiap 15 menit dikocok perlahan-lahan, setelah itu didinginkan pada suhu kamar.

Tahap 3 Setelah itu diberi 500 µl larutan kloroform IAA (isoamil alcohol) dengan perbandingan 24:1 dan dikocok. Campuran disentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 11.000 rpm. Dan diambil fase atas. Tahap ini diulangi selama 3x.

Tahap 4 selanjutnya ditambahkan dengan 200 µl NaCl 5 M, dan 500 µl isopropanol dingin kemudian disimpan dalam freezer 30 menit pada suhu -20°C, selanjutnya disentrifuge selama 3 menit dengan kecepatan 11.000 rpm. tahap ini akan terbentuk pellet DNA.

Tahap 5 Kemudian fase cairan dibuang, pellet DNA dicuci dengan 300 µl etanol 100%, kemudian disentrifuge pada kecepatan 11.000 rpm selama 3 menit.

Tahap 6 tahap kelima diulangi tetapi dengan menggunakan etanol 70%, dan disentrifuge pada kecepatan 11.000 selama 3 menit.

Tahap 7 Selanjutnya pellet yang terbentuk dikeringkan dengan membalik tabung di atas tisu, dengan hati-hati selama 30-60 menit

Tahap 8 Setelah cukup kering DNA dilarutkan dengan menggunakan 50 µl larutan TE. Selanjutnya disimpan di dalam freezer pada suhu -20°C sampai DNA digunakan.

Uji Kualitas DNA

Uji kualitas DNA dilakukan dengan tujuan untuk melihat bagaimana kualitas DNA yang terbentuk, layak atau tidaknya DNA untuk digunakan pada tahap selanjutnya. Jika pita terbentuk dengan jelas dan tegas, maka DNA layak untuk digunakan untuk tahap selanjutnya.

Pengujian kualitas DNA diuji dengan melakukan elektroporesis pada gel agarose dengan konsentrasi 0,8 % (w/v). Pembuatan gel agarose 0,4 g agarose ditambah 50 ml TAE 1x. Campuran dipanaskan dengan menggunakan microwave selama 2 menit hingga larutan bening. Larutan di atas dituang ke dalam cetakan gel yang telah disiapkan (posisi sisir pembuatan sumur diletakkan dengan jarak 0,5-1 mm dari dasar cetakan. Gel dibiarkan memadat selama 1 jam.

Elektroporesis dilakukan dengan menggunakan buffer TAE 1x pada tegangan 100 volt selama ± 30 menit (perjalanan dari arah kutub negatif kearah kutub positif. Setelah elektroporesis, gel direndam dalam larutan etidium bromide (5 µl/500 ml air) selama ± 20 menit, lalu dibilas dengan menggunakan air kran selama ± 15 menit. Setelah itu gel diletakkan diatas

UV transmittor. Kemudian didokumentasi dengan menggunakan Gel Doc (Bio-rad).

Primer Spesifik

primer yang digunakan yaitu :

- Primer Pair 2 (LOC107843194) dan DREB2A

Primer ini dirancang dengan menggunakan gen heat stress transcription factor A-3 [*Capsicum annum*] dengan ID: LOC107843194 sebagai gen target dan XM_016687411, *Capsicum annum* cultivar Zunla-1 chromosome 9, Pepper Zunla 1 (NC_029985.1). Dua di antara daerah tersebut dipilih untuk dasar merancang sepasang primer. Perancangan ini dapat dilakukan dengan program computer GeneRunner ataupun secara semimanual dengan memperhatikan parameter-parameter yang umum, antara lain jumlah nukleotida 15-22 mers, kandungan GC 50% atau lebih. Tidak terdapat kemungkinan adanya saling komplemen antara basa di dalam satu rantai primer ataupun antara primer yang satu dengan lainnya.

- P5CS dan TIL

Primer ini merupakan primer yang digunakan pada penelitian terdahulu yang digunakan tanaman yang berkerabat solanum. Sehingga memungkinkan dapat digunakan sebagai penanda.

PCR

Volume reaksi PCR adalah 15 µl yang terdiri dari 7,5 µl Hot Star Taq Plus Master Mix (Qiagen), 1,8 µl primer (5 µl), 1,5 µl coral load 10x, 2 µl DNA

template, dan 2,2 µl H₂O bebas T-Nase. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan PCR CFX 9600 Bio-rad pengaturan program mesin PCR adalah sebagai berikut: : pre-denaturasi 95°C selama 5 menit, diikuti 30 siklus yang terdiri dari denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing 36°C selama 1 menit, extension 72°C selama 1 menit dan final extension 72°C selama 8 menit.

Hasil PCR (5 µl) kemudian dielektroporesis lagi. Pembuatan gel sama pada saat uji kualitas DNA, hanya saja konsentrasi yang berbeda. Pada saat PCR, menggunakan gel dengan konsentrasi 1% (w/v) dan buffer TAE 1x sebanyak 50 ml. Setelah itu lakukan elektroporesis selama 30 menit pada tegangan 100 volt sampai penanda loading dye berada sekitar 1 cm atas batas gel bagian bawah. Kemudian gel direndam dalam larutan etidium bromide (5 µl/500 ml air) selama 20 menit, kemudian direndam menggunakan air kran selama ± 15 menit. Setelah itu gel diletakkan di atas UV transmittor, didokumentasi menggunakan Gel Doc (Bio-Rad).

Konfirmasi Hasil yang diperoleh

Hasil PCR yang dapat dilihat dengan hasil elektroporesis, kemudian kemunculan pita dikonfirmasi dengan hasil lapangan yang diteliti oleh mahasiswa S1 Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau yaitu penelitian Mainamnah (2017) dan Liani (2017).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi DNA

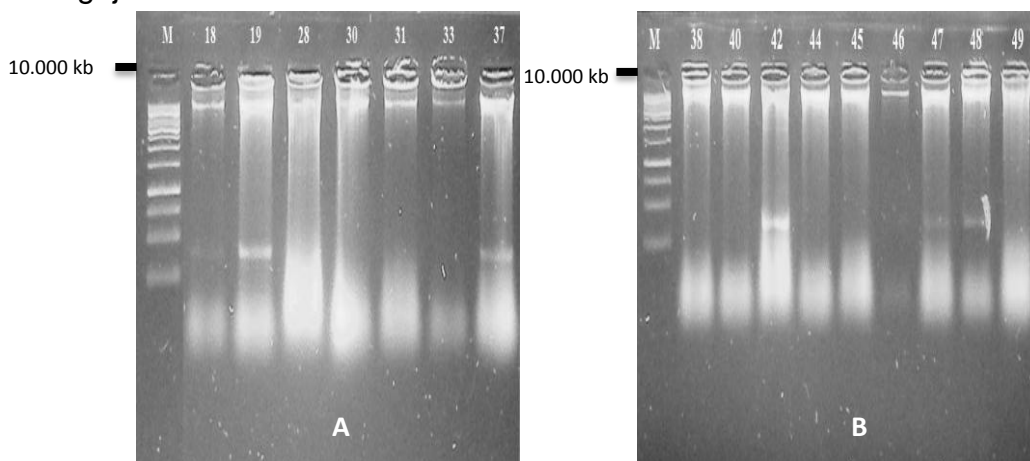
Ekstraksi DNA merupakan tahapan awal yang dilakukan dalam analisis DNA, keberhasilan dalam mengisolasi DNA sangat berpengaruh penting dalam keberhasilan penelitian selanjutnya, tahapan yang dilakukan merupakan tahapan mendegradasi sel untuk mengeluarkan DNA kemudian mengekstraksi DNA untuk memperoleh DNA yang murni dan bebas dari kontaminan.

Uji kualitas DNA merupakan tahap selanjutnya setelah memperoleh DNA, uji kualitatif DNA dengan metode elektroforesis gel agarosa. Uji kualitas DNA bertujuan untuk mengetahui keberadaan DNA dalam larutan sampel yang diteliti. Elektroforesis merupakan metode standar yang digunakan untuk identifikasi, pemisahan dan purifikasi fragmen DNA.

Pada umumnya untuk menguji kuantitatif dan kualitatif

DNA dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan elektroforesis gel agarose. Uji kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu spektrofotometer UV-Vis yang mempunyai teknologi nano, DNA murni akan menyerap cahaya ultraviolet karena adanya basa purin dan pirimidin. Pita DNA akan menyerap cahaya pada 260 nm sedangkan kontaminasi protein dan fenol akan menyerap cahaya pada 280 nm, sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm, dan nilai kemurnian DNA berkisar antara 1,8 dan 2,0.

Penelitian ini hanya melakukan uji kualitatif DNA dengan menggunakan elektroforesis gel agarose, dikarenakan laboratorium belum memiliki alat spektrofotometri, dan hasil uji kualitas DNA dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif 16 Genotype Cabai.

- Marker (GeneRuler 10.000 kb DNA Ladder), Sampel Cabai No 18(Cabai RFC-005), 19(Cabai RFC-006), 28(Cabai G-UIN 019), 30(Cabai G-UIN 016), Cabai 33(Cabai G-UIN 008), 37(Cabai G-UIN 015)
- Marker (GeneRuler 10.000 kb DNA Ladder), Sampel Cabai No 38(Cabai UIN-038), 40(Cabai UIN-097), 42(Cabai UIN-035), 44(Cabai UIN-100), 45(Cabai UIN-099), 46(Cabai RFC-013), 47(Cabai UIN-037), 48(Cabai UIN-096), 49(Cabai UIN-036)

hasil uji kualitas DNA dengan menggunakan elektroporesis, dengan konsentrasi 0,8 % (w/v) selama 30 menit dengan tegangan 100 volt. Berdasarkan hasil dokumentasi DNA yang terlihat menunjukkan bahwa kualitas DNA untuk 16 genotipe cabai yang diekstraksi memiliki ketebalan yang hampir sama. Beberapa genotype yang memiliki pita DNA yang tipis terdapat pada genotipe cabai G-UIN-008 dan cabai RFC-013. Profil DNA yang tipis menunjukkan bahwa pada DNA yang diekstraksi memiliki konsentrasi DNA yang paling sedikit dibandingkan dengan DNA yang lain. Sehingga ketika DNA akan digunakan pada tahap PCR harus dilakukan optimasi terlebih dahulu, untuk menghasilkan hasil yang lebih baik.

Irmawati (2003) menyatakan bahwa pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi, dan DNA total yang diekstraksi dalam keadaan utuh, sedangkan pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan bahwa pita DNA mengalami pemutusan molekul DNA pada saat ekstraksi sehingga DNA genom terpotong menjadi bagian lebih kecil. Terputusnya genom antar molekul dapat disebabkan adanya gerakan fisik yang berlebihan pada saat pemipetan, pembalikan endorf, sentrifus, atau terlalu tinggi temperatur, selain itu juga dapat disebabkan oleh bahan kimia tertentu.

Gambar 1. selain menunjukkan profil pita yang

tebal, terdapat hasil pita DNA smear, dan hampir terlihat diseluruh sampel yang diuji. Ketika memperoleh pita yang smear hal ini mengindikasikan bahwa hasil ekstraksi DNA tersebut masih kotor, dikarenakan dalam kandungan DNANYA masih mengandung klorofom atau kandungan fennol yang tinggi, dapat juga disebabkan oleh kontaminasi protein, polisakarida dan RNA (Qiagen, 2002). Smear pita yang terlihat tebal dimiliki oleh sampel 42 yaitu genotipe cabai UIN-035 sementara yang paling tipis smeernya terdapat pada sampel 46 yaitu genotipe cabai RFC-013 pada sampel inilah dapat dikatakan DNA bersih. Adapun cara lain untuk menghilangkan smear yaitu dengan pengenceran DNA.

OPTIMASI PRIMER

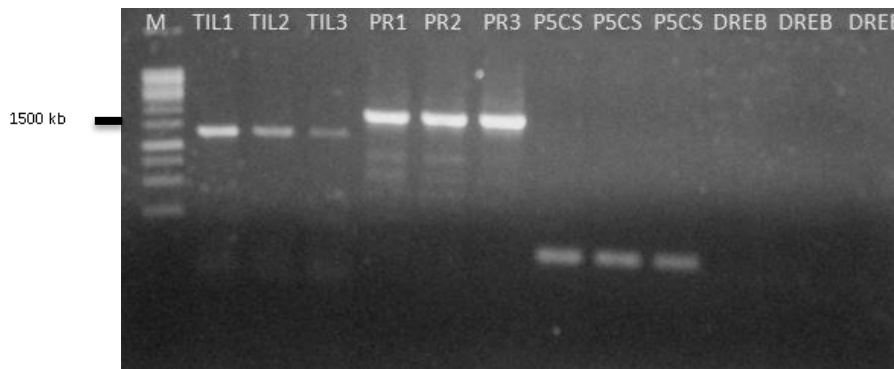
Optimasi primer merupakan tahapan yang dilakukan untuk memastikan primer yang akan digunakan mampu mengamplifikasi genotipe yang akan dicobakan. Kemudian hasil tersebut dilihat dengan cara elektroporesis sehingga dapat diketahui ada atau tidaknya pita DNA yang teramplifikasi oleh primer, selanjutnya kemunculan pita pada gel manandakan bahwa primer mampu mengamplifikasi gen yang akan dituju. Penelitian ini bertujuan untuk mencari genotype dari beberapa cabai yang toleran terhadap kekeringan.

Optimasi dilakukan dengan cara 16 genotip cabai di Bulk (dicampur) menjadi satu dengan volume 1µl, kemudian sampel yang sudah di bulk diamplifikasi dengan masing-masing primer

yang digunakan. Primer tersebut adalah TIL, Primer Pair 2 (BLAST), DREB2A dan P5CS. Hasilnya kemudian dielektroporesis untuk melihat ada atau tidaknya pita yang teramplifikasi oleh primer. Untuk melihat hasil optimasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil ke-empat primer yang diamplifikasi menunjukkan bahwa 2 primer yaitu TIL dan Primer Pair 2 mampu menghasilkan pita, sedangkan primer P5CS memiliki pita akan tetapi dibawah dari marker, ini menunjukkan pita

biner, yang berarti bukan gen target. Sedangkan pada DREB2A sama sekali tidak memunculkan pita. Hal ini dapat disebabkan karena adanya ketidakcocokan primer terhadap DNA genotipe cabai, selain itu juga suhu yang tidak sesuai ketika amplifikasi juga dapat mempengaruhi. Ketidakmunculan pita pada dasarnya menunjukkan bahwa didalam DNA cabai tidak memiliki gen target yang diinginkan, sehingga primer tersebut tidak dapat digunakan pada tahap selanjutnya.



Gambar 2. Hasil Optimasi Primer Spesifik, Marker (GeneRuler 10.000 kb DNA Ladder), 16 Sampel DNA (bulk), Primer TIL (TIL1,TIL2,TIL3), Primer Pair 2 (PR1, PR2, PR3), Primer P5CS (P5CS1, P5CS2, P5CS3), Primer DREB2A (DREB1, DREB2,DREB3)

Visualisasi Genotipe Cabai Dengan Menggunakan Primer Spesifik

Empat primer yang akan digunakan namun hanya dua primer yang mampu membaca gen pada DNA 16 genotype cabai yaitu primer TIL dan primer Pair 2, sementara kedua primer yang lainnya yaitu P5CS dan DREB2A tidak digunakan dalam tahap selanjutnya. Hasil PCR yang telah dilakukan pada 16 genotip cabai menunjukkan beberapa genotipe muncul pita dan ada juga beberapa genotype yang tidak muncul pita setelah di PCR. terdapat 11 genotipe yang berhasil

teramplifikasi, sedangkan 5 genotipe lainnya tidak dapat teramplifikasi sehingga pita tidak muncul, adapun 11 genotipe tersebut yang berhasil adalah genotipe Cabai RFC-005, Cabai RFC-006, Cabai G-UIN-016, Cabai G-UIN 015, Cabai G- Cabai UIN-065, Cabai G-UIN-097, Cabai UIN-035, Cabai UIN-100, Cabai UIN-099, Cabai UIN-037 dan Cabai UIN-036. Sedangkan genotipe yang tidak memunculkan pita adalah Cabai G-UIN-019, Cabai G-UIN-008, Cabai UIN-038, Cabai UIN-035, Cabai RFC-013 dan Cabai UIN-036. Sedangkan primer pair 2 mampu mengamplifikasi seluruh genotip

yang diteliti. masing-masing genoptipe memunculkan pita. Hasil amplifikasi primer TIL dan Primer Pair 2 terhadap 16 genotipe cabai,

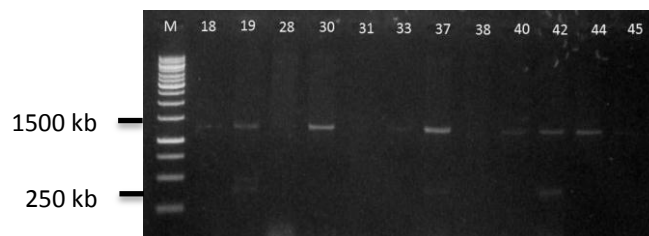
Hasil amplifikasi akan terlihat sebagai pita DNA. Hasil amplifikasi dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1 . Hasil Amplifikasi PCR 16 Genotipe Cabai dengan menggunakan Primer TIL dan Primer Pair 2, ada Pita (+), Tidak ada Pita (-)

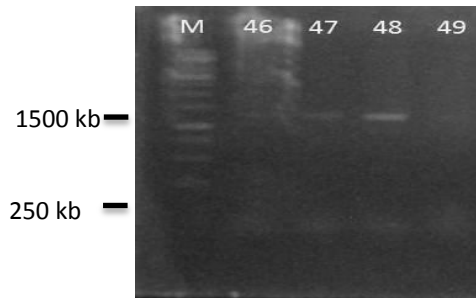
No	No Sampel	Genotipe	Primer	
			TIL	PR2
1	18	Cabai (RFC-005)	+	+
2	19	Cabai (RFC-006)	+	+
3	28	Cabai (G-UIN-019)	-	+
4	30	Cabai (G-UIN-016)	+	+
5	31	Cabai (G-UIN-008)	-	+
6	33	Cabai (G-UIN-015)	+	+
7	37	Cabai (G-UIN-065)	+	+
8	38	Cabai (UIN-038)	-	+
9	40	Cabai (UIN-097)	+	+
10	42	Cabai (UIN-035)	+	+
11	44	Cabai (UIN-100)	+	+
12	45	Cabai (UIN-099)	+	+
13	46	Cabai (RFC-013)	-	+
14	47	Cabai (UIN-037)	+	+
15	48	Cabai (UIN-096)	+	+
16	49	Cabai (UIN-036)	-	+

Kemunculan pita pada masing-masing sampel terdapat pada ukuran bp kisaran antara 1500-250 bp, sementara ukuran gen target yang diinginkan pada ukuran 326 bp, hal ini menunjukkan bahwa gen target berhasil teramplifikasi dengan baik, sementara itu tidak semua genotype menghasilkan pita yang bersih dan tebal namun ada juga genotype yang menghasilkan pita

yang tipis tetapi jelas. Genotype yang menghasilkan pita yang jelas terdapat pada genotip cabai G-UIN 016, cabai G-UIN 065, dan cabai UIN-096. sedangkan genotip yang menghasilkan pita yang tipis terdapat pada genotip cabai RFC-005, cabai G-UIN 015 dan cabai UIN-099. Hasil Elektroporesis dapat dilihat pada gambar 4 dan Gambar 5.



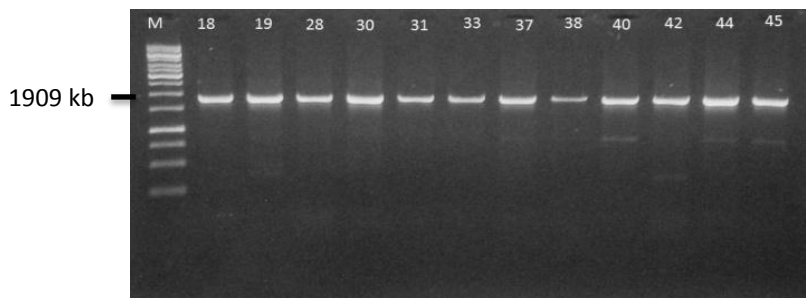
Gambar 3 Hasil Amplifikasi Primer TIL, Marker 1500-250 kb (GeneRuler 10.000 kb DNA Ladder), Sampel Cabai No 18(Cabai RFC-005), 19 (Cabai RFC-006), 28(Cabai G-UIN-019), 30(Cabai G-UIN-016), 33(Cabai G-UIN-008), 37(Cabai G-UIN-015), 38(Cabai UIN-038), 40(Cabai UIN-097), 42(Cabai UIN-035), 44(Cabai UIN-100), 45(Cabai UIN-099)



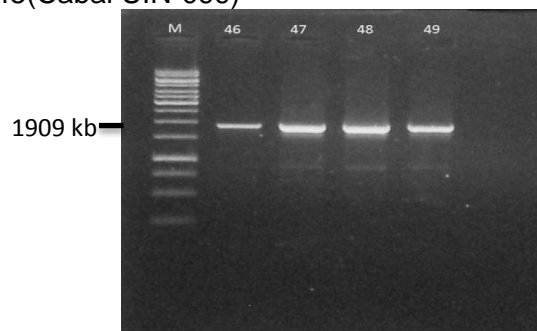
Gambar 4 Hasil Amplifikasi Primer TIL, Marker 1500-250 kb (GeneRuler 10.000 kb DNA Ladder) Sampel Cabai No 46(Cabai RFC-013), 47(Cabai UIN-037), 48(Cabai UIN-096), 49(Cabai UIN-036)

Primer selanjutnya yang mampu mengamplifikasi genotipe cabai adalah primer pair 2 yang merupakan primer yang dirancang dari BLAST dengan menggunakan *Capsicum annuum* cultivar Zunla-1 chromosome 9, Pepper Zunla 1 Ref_v1.0 (NC_029985.1), sebagai query yang digunakan untuk merancang primer

pair 2. Selain itu primer ini berfungsi sebagai penanda heat stress dengan simbol gen LOC107843194, Gene description heat stress transcription factor A-3, tipe gen yaitu sebagai protein coding. Primer ini mampu mengamplifikasi pada ukuran 1909 bp. Profil pita hasil amplifikasi DNA dapat dilihat pada Gambar 6. dan Gambar 7.



Gambar 5. Hasil Amplifikasi Primer Pair 2 (BLAST), Marker 1909 bp (GeneRuler 10000 kb DNA Ladder) Sampel Cabai No. 18(Cabai RFC-005), 19(Cabai RFC-006), 28(Cabai G-UIN 019), 30(Cabai G-UIN 016), 33(Cabai G-UIN 008), 37(Cabai G-UIN 015), 38(Cabai UIN-038), 40(Cabai UIN-097), 42(Cabai UIN-035), 44(Cabai UIN-100), 45(Cabai UIN-099)



Gambar 6. Hasil Amplifikasi Primer Pair 2 (BLAST), Marker 1909 bp (GeneRuler 10000 kb DNA Ladder), Sampel Cabai No 46(Cabai RFC-013), 47(Cabai UIN-037), 48(Cabai UIN-096), 49(Cabai UIN-036)

Hasil amplifikasi primer pair 2 menunjukkan adanya kemunculan pita unuk seluruh genotip pada ukuran 1909 bp. hal ini menunjukkan bahwa primer mengamplifikasi seluruh genotype cabai yang dicobakan, dari masing-masing genotipe menghasilkan pita yang tebal dan jelas, hal ini dapat dilihat dengan hasil elektroporesis. Hasil tersebut membuktikan bahwa primer pair 2 tidak dapat menjadi digunakan sebagai pembeda dalam menentukan gen yang tahan kekeringan pada tanaman cabai, sehingga primer tersebut tidak direkomendasikan sebagai primer spesifik yang mampu mengidentifikasi gen kekeringan pada cabai.

Perbandingan Hasil Analisis Di Lapangan Dengan Hasil Analisis Primer Spesifik

Cabai pada kondisi kekeringan akan mengalami perubahan baik dalam bentuk fisik ataupun unsur-unsur yang terkandung didalamnya sebagai bentuk dalam penyesuaian diri terhadap lingkungan. Perubahan fisik pada tanaman cabai yang kekeringan akan mengalami berbagai macam diantaranya bertambahnya tinggi tanaman, diameter batang, jumlah bunga yang rontok dan yang paling banyak terjadi adalah menurunnya produksi pada pada tanaman. Seperti pada penelitian Liani (2017) hasil produksi cabai pada penelitiannya mengalami penurunan hal ini dikarenakan pada fase pembungaan bunga akan lebih banyak yang rontok akibat tanaman dalam kondisi tercekam sehingga cabai akan mengalami gangguan metabolisme yang sebabkan kurang air yang menyuplai pada tanaman.

Hasil penelitian dilapangan yang telah dilakukan oleh Liani (2017) dan Mainanah (2017) terdapat beberapa tanaman yang memiliki tingkat toleran yang tinggi dan beberapa tanaman yang

memiliki toleran yang rendah terhadap cekaman kekeringan. hal ini dilihat dari perhitungan terhadap berbagai macam parameter yang di amati. hasil penelitian ini sesuai dengan analisis DNA dengan menggunakan primer spesifik terutama dengan menggunakan primer TIL.

TIL merupakan primer yang memiliki gen lipocalins, pada umumnya lipocalin merupakan sekelompok protein yang terkandung dalam bakteri, invertebrate, dan hewan vertebrata, namun untuk tanaman lipocalin masih sedikit penelitian yang meneliti pada tanaman. Tahun 2005, Charroon melakukan penelitian pada tanaman untuk mengetahui kandungan lipokalin yang tekandung di dalamnya, hasilnya menunjukkan ternyata pada tanaman juga banyak terkandung lipocalin. Lipokalin ini bekerja pada saat tanaman dalam kondisi kekeringan. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk tanaman tomat (Motohashi, 2017) hasil menunjukkan bahwa dengan adanya kandungan lipokalin pada tanaman, tanaman akan lebih cepat merespon baik secara fenotipe. Dengan dibuktikan adanya hambatan dari Chloroplast Lipocalins (CHL) dengan menunjukkan kloroplas pada daun yang menguning selain itu juga SICHL juga berperan dalam toleransi terhadap stres oksidatif (Wahyudi., 2017)

Tanaman yang mengandung lipokalin akan mengalami respon-respon beragam untuk menyesuaikan dengan kondisi yang dialami tanaman cabai. Seperti halnya pada penelitian Maimanah (2017) dan Liani (2017), fenotipe pada tanaman cabai yang toleran dapat dilihat pada jumlah buah pertanaman dan bobot buah pertanaman, cabai yang toleran akan menunjukkan respon yang sensitive pada parameter yang lain,

seperti diameter batang, jumlah bunga yang rontok dan berat basah tajuk. Begitu juga pada tanaman tomat, respon yang terjadi pada fenotipe tomat mengalami respon yang berlebihan ketika berada pada kondisi tercekam, tanaman SITIL akan mengalami reaksi berlebihan dan lebih responsive terhadap cahaya (cahaya kuat) dan juga stress oksidatif. ketika tanaman

berada di cahaya yang kuat tanaman akan menunjukkan peningkatan jumlah daun yang keriting, daun akan lebih panjang, berbunga lebih awal, jumlah bunga lebih banyak dan gagang buah lebih besar (Wahyudi, 2017). Perbandingan pengamatan primer TIL dan dilapangan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Hasil Amplifikasi Primer TIL Dan Primer Pair 2 Dengan Hasil Di Lapangan

No	No Sampel	Genotipe	Primer		Lapangan
			TIL	PR2	
1	18	Cabai (RFC-005)	+	+	T
2	19	Cabai (RFC-006)	+	+	M
3	28	Cabai (G-UIN-019)	-	+	T
4	30	Cabai (G-UIN-016)	+	+	T
5	31	Cabai (G-UIN-008)	-	+	S
6	33	Cabai (G-UIN-015)	+	+	T
7	37	Cabai (G-UIN-065)	+	+	T
8	38	Cabai (UIN-038)	-	+	S
9	40	Cabai (UIN-097)	+	+	T
10	42	Cabai (UIN-035)	+	+	M
11	44	Cabai (UIN-100)	+	+	M
12	45	Cabai (UIN-099)	+	+	T
13	46	Cabai (RFC-013)	-	+	S
14	47	Cabai (UIN-037)	+	+	S
15	48	Cabai (UIN-096)	+	+	T
16	49	Cabai (UIN-036)	-	+	S

Keterangan : T=Toleran, M=Medium, S=Sensitif

Hasil amplifikasi primer TIL pada umumnya sampel yang menunjukkan kemunculan pita merupakan sampel yang memiliki toleran lebih tinggi, hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian Maimanah (2017) dan Liani (2017). Perbandingannya dapat dilihat pada Tabel 2.

Genotip yang toleran diantaranya adalah genotype cabai (RFC-005), cabai (RFC-006), cabai (G-UIN-016), cabai (G-UIN-015), cabai (G-UIN-065), cabai (UIN-097), cabai (UIN-035), cabai (UIN-100), cabai (UIN-099), cabai (UIN-037)

dan cabai (UIN-096). Sedangkan yang tidak toleran adalah cabai (G-UIN-019), cabai (G-UIN-008), cabai (G-UIN-038), cabai (RFC-013) dan cabai (UIN-036), hasil tersebut merupakan hasil yang dilihat berdasarkan kemunculan pita yang terdeteksi hasil amplifikasi Primer TIL, begitu juga hasil dilapangan kemunculan pita mengarah pada tanaman yang memiliki sifat toleran dan medium toleran, sementara genotype yang sensitive tidak menunjukkan kemunculan pita. Namun dari hasil tersebut terdapat genotype cabai (G-UIN-019) yang

memiliki sifat toleran saat diaplikasikan dilapangan sedangkan hasil amplifikasi tidak menunjukkan adanya kemunculan pita. hal ini bisa disebabkan di kandungan DNA tidak terdapat gen lipokalin sehingga pada saat amplifikasi PCR, primer tidak dapat membaca gen lipokalin tersebut. Tidak semua tanaman memiliki kandungan lipokalin, berdasarkan penelitian Charoon (2005) untuk *Capsicum annum* L lipokalin memiliki lokasi subseluler pada kloroplas dan teridentifikasi hanya 12 %, sangat sedikit dibandingkan tanaman yang lain seperti *Oryza sativa* (86%), *Zea mays* (87%) *Solanum tuberosum* (73%) dan masih banyak tanaman lainnya.

Hasil penelitian menunjukkan beberapa genotype yang toleran terhadap kekeringan merupakan hasil yang diperoleh dari pengamatan secara molekuler dan dikonfirmasi dengan hasil lapangan. akan lebih baik apabila menggunakan primer spesifik kekeringan lebih banyak lagi, dengan demikian primer dapat digunakan sebagai acuan terhadap para peneliti atau pemulia sebagai acuan untuk mencari genotype cabai yang toleran terhadap kekeringan dan hasil yang diperoleh lebih akurat dibandingkan hanya menggunakan satu primer.

Informasi mengenai tanaman cabai yang toleran terhadap kekeringan ini kiranya dapat digunakan bagi para pemulia sebagai dasar untuk menciptakan genotype-genotype baru yang tahan terhadap kekeringan, dengan kualitas yang lebih baik lagi untuk masa yang akan datang. Dilihat dari sarana dan prasarana di masa sekarang dengan teknologi yang sangat baik, akan sangat memudahkan bagi pemulia untuk terus berkreasi dengan ide-ide yang cemerlang.

4. Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan dua primer yang mampu mengamplifikasi DNA cabe yaitu Primer TIL dan Primer Pair 2, tetapi yang mendapat hasil yang sesuai adalah primer TIL. Berdasarkan hasil amplifikasi primer TIL yang dilihat dengan hasil elektroporesis, 16 genotype cabe yang di uji terdapat 11 genotype yang terdeteksi toleran terhadap kekeringan, genotype tersebut adalah genotype cabe (RFC-005), cabe (RFC-006), cabe (G-UIN-016), cabe (G-UIN-015), cabe (G-UIN-065), cabe (UIN-097), cabe (UIN-035), cabe (UIN-100), cabe (UIN-099), cabe (UIN-037) dan cabe (UIN-096). Sedangkan 5 genotype yang tidak toleran adalah cabe (G-UIN-019), cabe (G-UIN-008), (G-UIN-038), cabe (RFC-013) dan cabe (UIN-036).

DAFTAR PUSTAKA

- Bansal, K.C, & Nagarajan. 1986. Leaf Water Content, Stomatal, conductance and Proline Accumulation in leave of potato (*Solanum tuberosum* L) in response to water stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, 4, 397-404
- Bey, A., H. Pawitan, I. Las, B. Tjasyono, and F. Winarso. 1992. Evaluation of Indonesian climate and anticipation of dry season. *Prosiding Seminar Nasional Antisipasi Iklim 1992 dan Dampaknya terhadap Pertanian Tanaman Pangan*. PERHIMPI- Badan Litbang Pertanian. pp. 23-49
- BPS Riau. 2018. Luas panen dan produksi sayur-sayuran di Riau.

- <https://riau.bps.go.id/statictable/2017/01/24/304/luas-panen-tanaman-sayur-sayuran-menurut-jenis-2011-2015-ha-.html>
- BPS. 2018.
<https://www.bps.go.id/site/resultTab>
- Charron. JBF, Ouellet F, Pelletier. M, Danyluk. J, Chauve. C, and Fathey Sarhan. Identification, Expression, and Evolutionary Analyses of Plant Lipocalin. *Journal Plant Physiology*. Vol. 139, pp. 2017–2028.
www.plantphysiol.org _
2005 American Society of Plant Biologists 2017
- Direktorat Perlindungan Perkebunan. 2007
Perubahan Iklim Global akibat emisi gas rumah kaca berkaitan dengan usaha perkebunan.
[Http://ditjenbun.Deptan.go.id/web/perlinbun](http://ditjenbun.Deptan.go.id/web/perlinbun).
- Djazuli. M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan Dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam. *Balai Penelitian Tanaman Obat Dan Aromatik. Bul. Litro*. Vol. 21 No. 1, 2010, 8 - 17
- Doyle, J.J and Doyle. J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Jurnal Phytochem Boll*, 12:13-15.
- Deblonde, P., and J. Ledent. 2001. Effects of moderate drought conditions on green leaf number stem height, leaf length and tuber yield of potato cultivars. *Eur. J. Agron*. 14:31-41.
- Dermawan,R dan Asep Harpenas. 2010. Budi Daya Cabai Unggul,Cabai Besar, Cabai keriting, Cabai Rawit, dan Paprika. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Ekanayake, I.J., and D.J. Midmore. 1992. Genotypic variation for root pulling resistance in potato and its relationship with yield under water-deficit stress. *Euphytica* 61:43-53
- Fatchiyah, EL Arumingtyas, S Widyarti, S Rahayu. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga, Jakarta
- Handoyo, D., dan A. Rudiretna. 2000. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR). *Junal Unitas*, 9 (1): 17-29
- Ilbi, Hulya. 2003. RAPD markers assisted varietal identification and genetic purity test in pepper, *Capsicum annum*. *Journal. Scientia Horticulturae* 97(3-4):211-218
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok Hatchery. Thesis. Bogor: IPB.

- Kaidah, S. 1999. Analisis keragaman genetik tanaman salak (*Salacca sp*) indonesia dengan teknik Random Ampified Polymorphic DNA (RAPD). Tesis. Agronomi Pertanian Instut Pertanian Bogor.
- Knipp, G., and B. Honermeier. 2006. Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum L.*) generating fructans. *J. Plant Physiol.* 163:392-397.
- Kurniawan, Anas. 2012. Makalah Reaksi Polimerase Berantai atau Polymerase Chain Reaction (PCR). <http://lenkabelajar.blogspot.com/2012/09/created-by-annas-kurniawan-universitas.html>
- Liu, Q., M. Kasuga, Y. Sakuma, H. Abe, S. Miura, K. Yamaguchi-Shinozaki, and K Shinozaki. 1998. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transcription pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10:1391-1406.
- Lefebvre, V., Goffinet, B., Chauvet, J.C., Caromel, B., Signoret, P., Brand, R., Palloix, A., 2001. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theor. Appl. Genet.* 102, 741–750
- Liani. 2017. Penampilan Beberapa Genotipe cabe terhadap Kekeringan. Skripsi. UIN Sultan Syarif Kasim. Riau
- Maimanah. 2017. Toleransi Beberapa Genotipe Cabai Terhadap Kekeringan. Skripsi. UIN Sultan Syarif Kasim. Riau
- Mansour.A, H. M. Ismail, M. F. Ramadan, And G. Gyulai. 2009. variations In Tomato (*Lycopersicon Esculentum*) Cultivars Grown Under Heat Stress. *J. Verbr. Lebensm.* 4 (2009): 118 – 127
- Minarsih, H, Subiyarti, D, Riyadi.I, Putra. SM, Ambarsari.L. 2015. Evaluasi Varietas, Sumber Eksplan dan Strain Agrobakterium terhadap Keberhasilan Transformasi tebu dengan gen P5CS. *Journal Menara Perkebunan.* 83(1). 1-9
- NCBI. 2018. Basic Lokal Alighment Search Tool (BLAST). <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Nurfalach. D.R. 2010. Budidaya Tanaman Cabai Merah(*Capsicum Annum L.*) Di UPTD Perbibitan Tanaman Hortikultura Desa Pakopen Kecamatan

Bandungan Kabupaten
Semarang Universitas
Sebelas Maret. Surakarta

Hayati, Vol. 12, No. 4. Hlm.
127-130

Pharmawati, Made. 2009.
Optimalisasi Ekstraksi Dna
Dan Pcr-Rapd Pada
Grevillea spp.
(PROTEACEAE). Jurnal
Biologi. XIII (1) : 12 -16

Rohlf, F.J. 1998. NTSYSpc:
Numerical taxonomy and
multivariate analysis system
Version 2,0. User Guide.
Exeter Software. Applied
Biostatistics Inc. New York.
31p

Paterson, Andrew H. Susan
Damon, John D. Hewitt,
Daniel Zamir, Haim D.
Rabinowitch, Stephen E.
Lincoln, Eric S. Lander and
Steven D. Tanksley. 1991.
Mendelian Factors
Underlying Quantitative
Traits in Tomato:
Comparison Across
Species, Generations, and
Environments. Genetics
Society of America.
Vol(127)(1). hal :199-204.

Sahoo.LP 1, Mohanty.SK dan
Rout.GR.2014. Profiling of
18 cultivars of Capsicum
annuum L. using
morphological and
molecular markers. Acta
Advances in Agricultural
Sciences Volume 2 (2014),
Issue 8, 08-17 Journal
homepage:
www.aaasjournal.com ISSN:
2345-6817

Pino.MT, Andrea.A, Andrea M,
Zoran J, and Tony H.H.
Chen. 2013. Enhanced in
vitro drought tolerance of
Solanum tuberosum and
Solanum commersonii
plants overexpressing the
ScCBF1 gene. Cien. Inv.
Agr. 40(1):171-184.

Sakuma Y1, Maruyama K,
Osakabe Y, Qin F, Seki M,
Shinozaki K, Yamaguchi-
Shinozaki K. Functional
Analysis of An Arabidopsis
Transcription Factor,
DREB2a, Involved in
Drought-responsive Gene
Expression Journal Plant
Cell. Vol. 18, 1292–1309.
www.plantcell.org^a 2006
American Society of Plant
Biologists.

Qiagen. 2002. QIAquick Spin
Handbook. www.qiagen.com

Ratna dewi.D dan Frank. W2 .
2005. Ekspresi Gen
GFDD4-1 pada
Physcomitrella patens dan
Gen Homolog pada
Arabidopsis thaliana dalam
Respons terhadap
Cekaman Abiotik.

Santoso, Djoko, 2001.
Pengembangan pelacak
DNA spesifik gen melalui
bioinformatika: Identifikasi
gen penyandi protein biji 21
kDa pada kakao UAH
Indonesia.

Schafleitner.R, Raymudo.G.
Ricardo. E, Ameli. G,

- Jose.P, Mariano. M, Alejandro. D, Luz. T, Carlos. A, Gianina. N, Marideth, B. 2007. Field Screening for Variation of Drought Tolerance in *Solanum tuberosum* L. by Agronomical, Physiological and Genetic Analysis. *Journal. Potato Research* (50: 71-85)
- Shinozaki. K dan Yamaguchi-Shinozaki. K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and Tolerance. *Journal Experimental Botani* Vol(58),(2): 221-227
- Su, J., and R. Wu. 2004. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Sci.* 166:941–948.
- Suarsana. M. Putu S.W. 2011. Global Warming: Ancaman Nyata Sektor Pertanian Dan Upaya Mengatasi Kadar Co2 Atmosfer. *Widyatech Jurnal Sains Dan Teknologi.* Vol. 11 No. 1 Agustus 2011
- Tremblay GL, M Havaux and F Ouellet. 2009. The chloroplastic lipocalin AtCHL prevents lipid peroxidation and protects *Arabidopsis* against oxidative stress *The Plant Journal* (2009) 60, 691–702
- Tessema,BB. 2017. Genetic studie towards elucidation of drought Tolerance of potato. Wageningen University. Netherlands
- Tenriulo A, Suryati E, Parenrengi A, Rosmiat. 2001. Ekstraksi DNA rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan metode fenol kloroform. *Marina Chimica Acta.* 2:6-10.
- Umezawa T, Okamoto M, Kushiro T, Nambara E, Oono Y, Seki M, Kobayashi M, Koshiba T, Kamiya Y, Shinozaki K (2006b). CYP707A3, a major ABA hydroxylase involved in dehydration and rehydration response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 46: 171–182.
- Wahyudi A, Aryani D, Inaba R, Reiko M. 2017. Lipocalin Protein In Tomato: Light Response in over-Expressed TIL1, TIL2 and Virus-Induced gene silencing (VIGS) plants. https://www.researchgate.net/publication/321747778_Lipocalin_Proteins_In_Tomato_Light_Response_In_OverExpressed_Til1_Til2_ChI_And_Virus_Induced_Gene_Silencing_Vigs_Plants
- Weisz, R., K. Kaminski, and Z. Smilowitz. 1994. Water deficit effects on potato leaf growth and transpiration: utilizing fraction extractable soil water for comparison with other crops. *American Journal of Potato Research* 71:829-840

Williams, John G.K Anne.R,
Kenneth, Jlivak, J. Antoni
rafalski, scott V. Tingey.
1990. DNA polymorphisms
amplified by arbitrary
primers are useful as
genetic markers. *Nucleic
Acids Research*, Vol. 18,
No. 22 653

Yulianti, M., E. D. Pujawawati dan
Badruzsaufari. 2006.

Analisis kariotipe pisang
mauli. *Jurnal Bioscientiae*, 3
(2): 103-109

Yusniwati. 2008. Galur
Cabai Transgenik Toleran
Kekeringan Dengan Gen P5CS
Penyandi Enzim Kunci
Biosintesis Prolina: Regenerasi
Dan Karakterisasi Regeneran.
Desertasi Institut Pertanian Bogor