

Keragaman Nukleotida Gen *Lcy-b* (*Lycopene beta cyclase*) Kultivar Tomat *Betavila F1*, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1*

MUHAMMAD THOIFUR IBNU FAJAR¹, PURNOMO², NIKEN SATUTI NUR HANDAYANI¹

¹Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

²Laboratorium Sistematis Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Sleman, Yogyakarta 55281

email: ibnu4040@gmail.com

ABSTRACT

Tomato has three *lycopene* gene, namely *lycopene beta cyclase* (*Lcy-b*), *lycopene beta-cyclase kromoplas* (*Cyc-b*) and *lycopene epsilon cyclase* (*Lcy-e*). *Lcy-b* gene can be used as determinant of phylogenetic relationship between tomato and chili. This research aims to know phylogenetic relationship among tomatoes cultivar, namely *Betavila F1*, *Fortuna F1* and *Tymoti F1*, then phylogenetic relationship between these tomatoes cultivar and tomatoes sequences *Kristin* KC140137.1, *Darsirius* KC140135.1, *Pennellii* XM 015217853.1, *Villosum* KP313876.1 and *outgroup Capsicum annuum* GU085266.1. Besides that, this research also aims to know the difference of nucleotide among tomatoes cultivar and the others tomato sequences and the *outgroup Capsicum annuum* based of alignment result. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) method and NCBI primer design used to isolate *Lcy-b* gene. Acquired sequences were analyzed by Mega 6 and *Clustal X* softwares. The result of phylogenetic relationship among tomatoes cultivar showed *Betavila F1* cultivar closely related to *Tymoti F1* cultivar and *Fortuna F1* cultivar closely related to *Tymoti F1* cultivar. Phylogenetic relationship between tomatoes cultivar and the other tomatoes sequences showed *Fortuna F1* cultivar closely related to *Darsirius* cultivar and varieties *Pennellii*, *Betavila F1* cultivar distantly related to the other tomatoes sequences, and *Tymoti F1* cultivar closely related to *Kristin* cultivar. The difference of nucleotide were found at *Pennellii* tomato that is 1 nucleotide with transition mutation, found at *Villosum* tomato that are 12 nucleotides with transition and transversion mutation, and found at *Capsicum annuum* that are 16 nucleotides with transition and transversion mutation. Phylogenetic relationship using *Lcy-b* gene expected to be used as a transgenic strategy to modify carotenoid content that improves tomatoes nutrition.

Keywords: *Fortuna F1*, *lycopene beta-cyclase* gene, phylogenetic relationships, tomato *Betavila F1*, *Tymoti F1*

INTISARI

Tomat memiliki tiga gen *lycopene* yakni *lycopene beta cyclase* (*Lcy-b*), *lycopene beta-cyclase kromoplas* (*Cyc-b*) dan *lycopene epsilon cyclase* (*Lcy-e*). Gen *Lcy-b* dapat digunakan sebagai penentu hubungan kekerabatan yang jauh antara tomat dengan cabai. Penelitian ini pertama bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan di antara kultivar tomat *Betavila F1*, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1* dan hubungan kekerabatan ketiga kultivar tomat tersebut dengan sekuen tomat *Kristin* KC140137.1, *Darsirius* KC140135.1, *Pennellii* XM 015217853.1, *Villosum* KP313876.1 dan *outgroup Capsicum annuum* GU085266.1. Tujuan penelitian kedua untuk mengetahui perbedaan basa nukleotida di antara ketiga kultivar tomat lokal dengan sekuen tomat lain tersebut dan *outgroup Capsicum annuum* berdasarkan hasil *alignment*. Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan desain primer NCBI digunakan untuk mengisolasi gen *Lcy-b*. Sekuen yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan program Mega 6 dan *Clustal X*. Hasil kekerabatan ketiga kultivar tomat menunjukkan kultivar *Betavila F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Tymoti F1* dan kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Tymoti F1*. Kekerabatan ketiga kultivar tomat dengan sekuen tomat *gene bank* menunjukkan kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan kultivar

Darsirius dan varietas *Pennellii*, kultivar *Betavila F1* berkerabat jauh dengan sekuen tomat *gene bank* dan kultivar *Tymoti F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Kristin*. Perbedaan basa nukleotida ditemukan pada tomat *Pennellii* sebanyak 1 basa nukleotida mutasi transisi, 12 basa nukleotida mutasi transisi dan transversi pada tomat *Villosum* dan 16 basa nukleotida mutasi transisi dan transversi pada *Capsicum annuum*. Kekerbatan molekular dengan menggunakan gen *Lcy-b* diharapkan dapat dijadikan sebagai strategi transgenik untuk memodifikasi kandungan karotenoid yang meningkatkan nutrisi buah tomat.

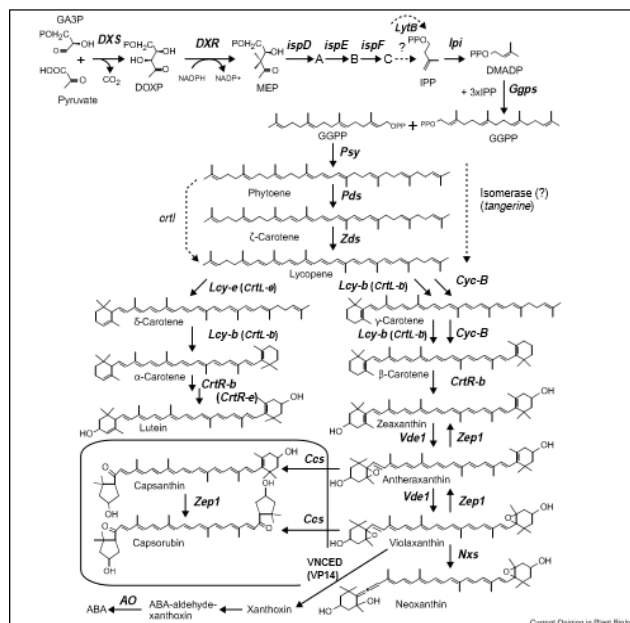
Kata Kunci: *Fortuna F1*, gen lycopene beta cyclase, hubungan filogenetik, tomat *Betavila F1*, *Tymoti F1*

PENDAHULUAN

Karotenoid adalah pigmen pemberi warna pada tumbuhan yang fungsinya bagi manusia sebagai antioksidan, prekursor hormon dan fungsi bagi tumbuhan komponen penting dari organel fotosintesis. Karotenoid terakumulasi hampir di semua tipe plastida, tidak hanya di kloroplas, karotenoid ditemukan di sebagian besar jaringan dan organ tumbuhan (Howit & Pogson, 2006). Karotenoid terakumulasi sebagai metabolit sekunder pada kromoplas menyediakan warna yang berbeda pada bunga dan buah (Ronen *et al.*, 2000). Karotenoid merupakan molekul *isoprene* yang umum untuk semua jaringan

fotosintesis. Karotenoid dibagi menjadi karoten hidrokarbon seperti likopen dan β -karoten dan xantofil seperti lutein (Bramley, 2012). Likopen dan lutein merupakan karotenoid penting karena sangat bermanfaat untuk memelihara kesehatan yang baik (El-Raey *et al.*, 2013). Likopen adalah salah satu dari 600 karotenoid yang disintesis oleh tanaman dan mikroorganisme fotosintesis (Breemen & Pajkovic, 2008).

Sintesis likopen dikontrol oleh gen *Psy* (*phytoene synthase*) dan gen *Pds* (*phytoene desaturase*) selama pematangan buah (Rosati *et al.*, 2000). Jalur biosintesis karotenoid ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Jalur biosintesis karotenoid sampai menghasilkan likopen dan gen likopen beta cyclase (Hirschberg, 2001)

Aktivitas gen *Lcy-b* yang mengkode kloroplas diekspresikan di daun, bunga dan buah sampai tahap pematangan buah,

aktivitas gen *Cyc-b* yang mengkode kromoplas diekspresikan di bunga dan buah sampai tahap pematangan buah (Dalal *et al.*,

2010) dan aktivitas gen *Lcy-e* yang mengkode enzim *lycopene epsilon cyclase* di daun dan buah (Giorio *et al.*, 2013). Gen *lycopene beta cyclase* memiliki panjang 1955 bp.

Tujuan penelitian ini pertama adalah untuk mengetahui hubungan kekerabatan di antara ketiga kultivar tomat lokal dan hubungan kekerabatan ketiga kultivar tomat dengan sekuen tomat *Darsirius*, *Kristin*, *Pennellii*, *Villosum* dan *outgroup Capsicum annuum* kultivar *Valensia*. Tujuan kedua dari penelitian ini untuk mengetahui perbedaan basa nukleotida di antara kultivar tomat dan *outgroup Capsicum annuum* kultivar *Valensia*.

Pada studi sebelumnya, gen likopen ini dapat digunakan untuk merekonstruksi filogeni atau hubungan kekerabatan berbagai varietas tomat antara tomat liar dan tomat kultivar dan mengetahui perbedaan basa nukleotida yang mengalami mutasi di antara kultivar tomat. Selain itu, keberadaan gen likopen sebagai salah satunya gen *chromoplast beta cyclase (Cyc-b)* di alam berkontribusi sebagai penanda molekular yang membantu persilangan atau strategi transgenik untuk memodifikasi kandungan

karotenoid dalam budidaya tomat (Araujo *et al.*, 2007).

METODE

Isolasi DNA genom tomat. Isolasi DNA genom tomat dilakukan dengan modifikasi metode CTAB (Doyle & Doyle 1990). Isolasi DNA genom tomat dilakukan pada sampel daun muda ketiga kultivar tomat *Betavila F1*, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1* sebanyak 140 mg. Kemudian hasil isolasi DNA disimpan di kulkas suhu -20°C sampai waktu penggunaan sebagai DNA *template* untuk proses PCR.

Amplifikasi Gen *Lcy-b* dengan metode PCR. Amplifikasi DNA gen *Lcy-b* tomat dilakukan berdasarkan prosedur Kappa dengan komponen reaksi PCR tersaji pada Tabel 1. Amplifikasi DNA gen *Lcy-b* menggunakan pasangan primer *forward* dan *reverse*. Runutan nukleotida untuk primer *Lcy-b forward* adalah AGTGGAAGAGCACCCCTTTG, sedangkan untuk primer *Lcy-b reverse* adalah TACTGGAAGTGGACCACCCA. Pasangan primer tersebut menghasilkan panjang produk amplifikasi sebesar 301 pasang basa yang tersaji pada Gambar 2.

Tabel 1. Komponen reaksi PCR

Komponen	Volume	Konsentrasi final
2x KAPA2G Fast Readymix ²	12,5 μl	1X
Primer forward	1,25 μl	0,5 μM
Primer reverse	1,25 μl	0,5 μM
ddH ₂ O PCR	8 μl	N/A
Template DNA	2 μl	10 $\mu\text{g/ml}$
Total Volume PCR <i>mix</i>	25 μl	

Kondisi reaksi amplifikasi yang dilakukan menurut prosedur Kappa dan suhu *annealing* TM primer gen *Lcy-b* adalah sebagai berikut: 35 siklus terdiri dari predenaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 15 detik, *annealing* suhu 53°C selama 15 detik, *extension* 72°C selama 20 detik, dan *post extension* 72°C selama 5 menit.

Analisis hasil amplifikasi PCR dengan elektroforesis. Sampel DNA hasil PCR diambil sebanyak 5 μl dimasukkan dalam sumuran gel agarosa 1,5 % yang telah dicampur dengan Etidium Bromida 0,5 μl dan

sumuran gel terakhir dimasukkan *ladder* DNA 100 bp. Pita DNA diamati pada *UV transilluminator* dan difoto menggunakan kamera dengan mode monokrom. Hasil yang sesuai target ukuran gen *Lcy-b* kemudian dikirim untuk proses sekuensing ke 1st Base DNA Sequencing Malaysia. Proses sekuensing bertujuan untuk memperoleh data yang memuat sekuen basa nukleotida gen *lycopene beta cyclase*.

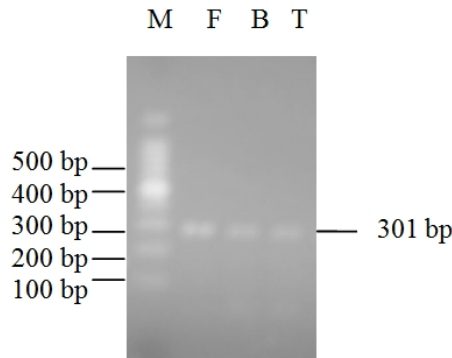
Analisis data dengan *Clustal X* dan *Mega 6*. Kekerabatan ketiga kultivar tomat hasil sekuensing dan sekuen tomat *gene bank* yang telah diperoleh dalam bentuk *fasta*,

dilakukan proses *alignment* menggunakan *software Clustal X*. Selanjutnya dilakukan rekonstruksi pohon filogenetik untuk melihat kedekatan atau kekerabatan ketiga kultivar tomat dengan sekuen gen *likopen* kultivar tomat lain dari NCBI dan sekuen gen *outgroup* lain yaitu *Capsicum annuum* L. dengan menggunakan aplikasi *software* Mega

6 dengan menu *Phylogeny, Construct Test Neighbor joining Tree*.

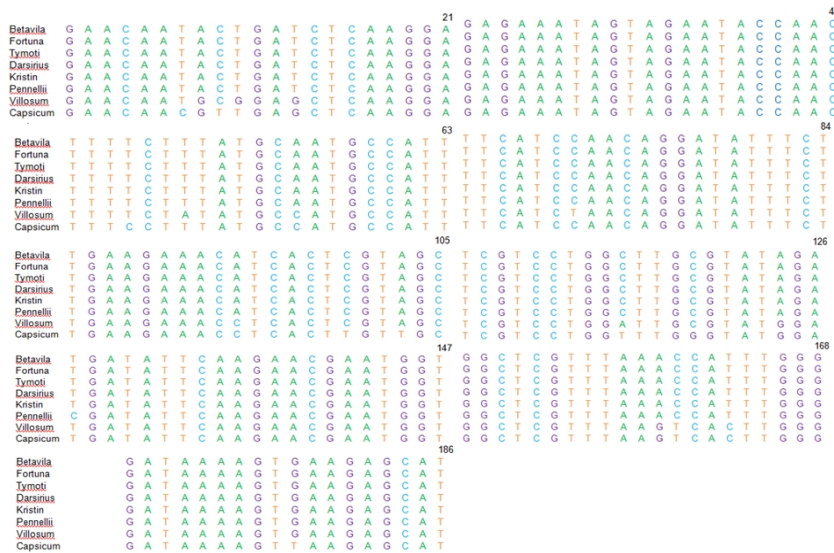
HASIL

Amplikon DNA gen *Lcy-b*. Hasil amplifikasi PCR gen *Lcy-b* menghasilkan amplikon berukuran sebesar 301 bp (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA *Lycopene beta cyclase* pada gel Agarose 1,5%. (Keterangan: B. *Betavila F1*, F. *Fortuna F1*, T. *Tymoti F1*; M: DNA marker 100 bp).

Alignment basa nukleotida kultivar *Betavila F1*, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1* dengan sekuen tomat *gene bank* dan *outgroup Capsicum annuum* L. sepanjang 186 bp.



Gambar 3. Alignment ketiga kultivar tomat dengan sekuen tomat *Darsirius*, *Kristin*, *Pennellii*, *Villosum* dan *outgroup Capsicum annuum* kultivar *Valencia*.

Tabel 2. Mutasi transisi dan transversi pada varietas tomat *Pennellii*, *Villosum* dan *Capsicum annuum* kultivar *Valencia*

Sampel	Mutasi transisi basa nukleotida ke-											
	7	8	9	10	13	46	49	55	70	94	100	103
Betavila	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A
Fortuna	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A

Tymoti	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A
Darsirius	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A
Kristin	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A
Pennellii	T	A	C	T	T	T	T	A	C	A	C	A
Villosum	T	G	C	G	G	T	A	C	T	C	C	A
Capsicum	C	G	T	T	G	C	T	C	C	C	T	T

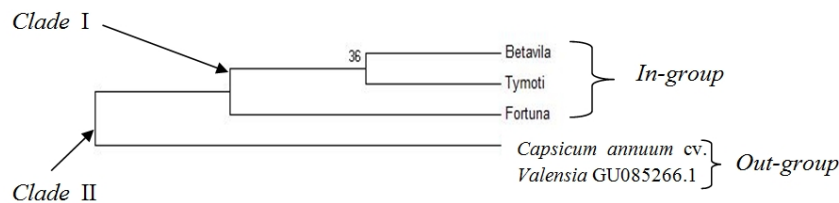
Mutasi transisi basa nukleotida ke-

Betavila	115	119	124	127	159	160	163	178
Fortuna	C	C	A	T	A	C	T	G
Tymoti	C	C	A	T	A	C	T	G
Darsirius	C	C	A	T	A	C	T	G
Kristin	C	C	A	T	A	C	T	G
Pennellii	C	C	A	T	A	C	T	G
Villosum	C	C	A	C	A	C	T	G
Capsicum	A	C	G	T	G	T	C	G
Betavila	T	G	G	T	G	T	C	T

Keterangan: Mutasi transisi dan transversi dengan huruf cetak tebal

Kekerabatan kultivar *Betavila F1*, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1*. Rekonstruksi pohon filogenetik dibentuk berdasarkan hasil *alignment* antara sampel kultivar tomat

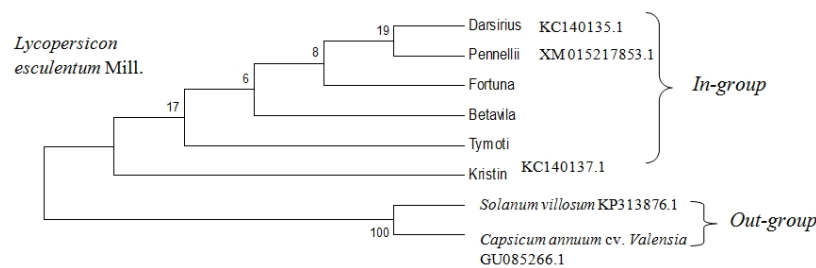
Betavila F1, *Fortuna F1* dan *Tymoti F1* dengan sekuen *outgroup C. annuum* kultivar *Valensia*.



Gambar 4. Rekonstruksi pohon kekerabatan ketiga kultivar tomat dengan satu sekuen *gene bank Capsicum annuum* kultivar *Valensia* atas dasar gen *Lcy-b* menggunakan algoritme *Neighbor Joining*, model evolusi *kimura 2 parameter* dengan pengulangan bootstrap 1000.

Tabel 3. Jarak genetik basa nukleotida DNA *Lycopene beta cyclase* ketiga kultivar tomat *Betavila F1*, *Fortuna F1*, dan *Tymoti F1* dengan data base sekuen *gene bank* dan *outgroup Capsicum annuum* kultivar *Valensia*

Species 1	Species 2	Distance	Species 1	Species 2	Distance
Betavila	Fortuna	0.000	Kristin	Pennellii	0.005
Betavila	Tymoti	0.000	Betavila	Villosum	0.071
Fortuna	Tymoti	0.000	Fortuna	Villosum	0.071
Betavila	Darsirius	0.000	Tymoti	Villosum	0.071
Fortuna	Darsirius	0.000	Darsirius	Villosum	0.071
Tymoti	Darsirius	0.000	Kristin	Villosum	0.071
Betavila	Kristin	0.000	Pennellii	Villosum	0.077
Fortuna	Kristin	0.000	Betavila	Capsicum	0.098
Tymoti	Kristin	0.000	Fortuna	Capsicum	0.098
Darsirius	Kristin	0.000	Tymoti	Capsicum	0.098
Betavila	Pennellii	0.005	Darsirius	Capsicum	0.098
Fortuna	Pennellii	0.005	Kristin	Capsicum	0.098
Tymoti	Pennellii	0.005	Pennellii	Capsicum	0.106
Darsirius	Pennellii	0.005	Villosum	Capsicum	0.064



Gambar 5. Rekonstruksi pohon filogenetik dengan *bootstrap consensus tree*

PEMBAHASAN

Alignment basa nukleotida kultivar Betavila F1, Fortuna F1 dan Tymoti F1 dengan sekuen tomat gene bank dan outgroup Capsicum annuum L. sepanjang 186 bp. Berdasarkan hasil *alignent* gen *Lcy-b* ketiga kultivar tomat tidak ditemukan perbedaan basa nukleotida (Gambar 3). Perbedaan basa nukleotida yang mengalami mutasi transisi yaitu pergantian basa purin (A/G) ke basa purin (G/A) atau basa pirimidin (C/T) ke basa pirimidin (T/C) (Wirdatei *et al.*, 2013) dan mutasi transversi yaitu pergantian basa purin (A/G) ke basa pirimidin (C/T) atau sebaliknya basa pirimidin (C/T) ke basa purin (A/G) (Kino and Sugiyama, 2000) hanya ditemukan pada sekuen tomat lain yaitu varietas tomat *Pennellii*, *Villosum* dan *C. annuum* kultivar *Valensia*. Variasi mutasi transisi dan transversi basa nukleotida tersaji pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 yang menunjukkan mutasi transisi dan transversi pada varietas tomat *Pennellii*, *Villosum* dan *Capsicum annuum* kultivar *Valensia*, varietas tomat *Pennellii* menunjukkan mutasi transisi hanya pada basa nukleotida ke-127 sehingga tidak mengalami banyak perubahan basa nukleotida. Varietas tomat *Villosum* menunjukkan mutasi transisi pada basa nukleotida ke-8, 70, 124, 159, 160, 163, dan mutasi transversi pada basa nukleotida ke-10, 13, 49, 55, 94, dan 115. Jumlah perubahan basa nukleotida sebanyak 12 basa nukleotida. Kemudian *C. annuum* kultivar *Valensia* yang mengalami mutasi transisi terdapat pada basa nukleotida ke-7, 8, 9, 46, 100, 115, 124, 159, 160, dan 163. Mutasi transversi *C. annuum* kultivar *Valensia* terdapat pada basa nukleotida ke-13, 55, 94, 103, 119, dan 178.

Mutasi transisi dan transversi pada *C. annuum* kultivar *Valensia* sebanyak 16 basa nukleotida.

Pohon filogenetik pada Gambar 4 terdapat nilai *bootstrap* yang menunjukkan pengulangan sampling untuk memperoleh rekonstruksi pohon filogenetik yang benar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dharmayanti, (2011), analisis *bootstrap* adalah metode yang menguji seberapa baik *set* data model yang bertujuan untuk memperkecil kesalahan dalam merekonstruksi pohon filogenetik dengan proses sampling ulang sehingga dapat teruji validitas rekonstruksi pohon filogenetik dan topologi pohon filogenetik yang diprediksi menjadi signifikan jika *set* data *resampled* berulang kali bernilai >70% yang memprediksi cabang-cabang yang sama. Meskipun pohon filogenetik yang terbentuk memiliki nilai *bootstrap* kurang dari 70%, tetapi topologi pohon filogenetik yang terbentuk sudah benar karena *Capsicum annuum* kultivar *Valensia* menjadi kelompok *outgroup*. Pohon filogenetik (Gambar 4) membentuk dua *clade* yaitu *clade* I terdiri dari kultivar *Betavila F1*, *Tymoti F1*, dan *Fortuna F1*, *subclade* kultivar *Betavila F1* dan *Tymoti F1* yang berkumpul dalam kelompok *ingroup* dan *clade* II yaitu *C. annuum* kultivar *Valensia* yang menjadi kelompok *outgroup*. *Subclade* kultivar *Betavila F1* berkerabat dekat dengan *subclade* kultivar *Tymoti F1* dan kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan *subclade* kultivar *Tymoti F1*, meskipun memiliki panjang cabang pohon filogenetik yang lebih jauh dari kedua kultivar *subclade* dari dasar pohon. Hal ini berarti sejak terjadinya percabangan dari nenek moyang bersama, kultivar *Betavila F1* dengan kultivar *Tymoti F1* keduanya memiliki laju perubahan

genetik yang sedikit yang direfleksikan dengan panjang cabang pohon filogenetik yang lebih dekat ke dasar pohon dibandingkan dengan kultivar *Fortuna F1* yang memiliki laju perubahan genetik yang sedikit banyak dengan panjang cabang pohon filogenetik yang jauh dari dasar pohon.

Spesies luar *C. annuum* kultivar *Valensia* memiliki laju perubahan genetik yang banyak ditunjukkan dengan panjang cabang pohon filogenetik yang lebih jauh dari dasar pohon filogenetik dibandingkan dengan kelompok *ingroup* sehingga dikelompokkan menjadi kelompok *outgroup*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Campbell *et al.* (2008), panjang cabang pohon filogenetik dapat merefleksikan jumlah perubahan genetik yang terjadi seperti dicontohkan panjang cabang pohon filogenetik dari dasar pohon ke mencit lebih pendek dibandingkan dengan panjang cabang filogenetik menuju spesies luar lalat *Drosophila* yang menyiratkan sejak terjadinya divergensi dari nenek moyang bersama, lebih banyak perubahan genetik yang terjadi pada garis keturunan lalat *Drosophila* daripada garis keturunan mencit.

Kekerabatan ketiga kultivar tomat berdasarkan sekuen tomat *gene bank* dan *outgroup Capsicum annuum* L. Pohon filogenetik pada Gambar 5 yang terbentuk berdasarkan hasil *alignment* dan perbedaan jarak genetik (Tabel 3) menunjukkan kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan sekuen tomat *gene bank* varietas *Pennellii* dan kultivar *Darsirius* karena memiliki panjang cabang pohon filogenetik yang dekat dengan dasar pohon sehingga terdapat perbedaan jarak genetik yang sedikit dan kultivar tomat *Fortuna F1* lebih maju dibandingkan dengan kultivar *Betavila F1*. Kemudian kultivar *Betavila F1* berkerabat jauh dengan sekuen tomat lain dari data base, tetapi kultivar *Betavila F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Fortuna F1* yang ditunjukkan panjang cabang kultivar *Betavila F1* lebih dekat dengan kultivar *Fortuna F1* dibandingkan dengan panjang cabang yang lebih jauh dengan kultivar *Tymoti F1* dan kultivar *Betavila F1* lebih maju dibandingkan dengan kultivar *Tymoti F1*.

Berdasarkan pada Gambar 5 kultivar *Tymoti F1* berkerabat dekat dengan sekuen tomat *gene bank* kultivar *Kristin* karena memiliki sedikit perbedaan jarak genetik yang direfleksikan dengan panjang cabang pohon filogenetik yang dekat dengan dasar pohon. Kultivar *Tymoti F1* tergolong kultivar yang lebih primitif dibandingkan dengan kultivar *Betavila F1* yang ditunjukkan dengan panjang cabang pohon filogenetik yang jauh dari dasar pohon.

Kekerabatan ketiga kultivar tomat lokal pada Gambar 5 menunjukkan hubungan kekerabatan yang jauh dengan *outgroup* sekuen tomat *Villosum* dan *C. annuum* kultivar *Valensia* yang ditunjukkan dengan panjang cabang pohon filogenetik lebih jauh dari dasar pohon filogenetik dan jarak genetik yang banyak dibandingkan dengan kultivar tomat lain.

Sekuen tomat *Villosum* menjadi *outgroup* dan berkerabat dekat dengan *C. annuum* kultivar *Valensia* karena memiliki jarak genetik yang tidak berbeda jauh (Tabel 3) dan didukung dengan nilai *Bootstrap* 100%.

Ketiga kultivar tomat lokal yaitu *Betavila F1*, *Fortuna F1*, dan *Tymoti F1* yang bergabung dengan sekuen tomat *Darsirius*, *Pennellii*, dan *Kristin* memiliki nilai *Bootstrap* kurang dari 70%. Nilai *bootstrap* diantara 70%-100% menunjukkan percabangan pohon filogenetik tidak akan berubah. Sebaliknya, jika nilai *bootstrap* kurang dari 70% maka peluang terjadinya susunan percabangan sangat tinggi dan ketika dilakukan analisis pohon filogenetik pohon filogenetik yang dibentuk masih dapat berubah-ubah (Simpson, 2006; Rukmana, 2015). Meskipun demikian, percabangan pohon filogenetik yang terbentuk dari ketiga kultivar tomat lokal tersebut dengan sekuen tomat *Darsirius*, *Pennellii*, dan *Kristin* dapat dipercaya berdasarkan perbedaan jarak genetik pada Tabel 3 yang sedikit, bernilai 0.000 yang berarti tidak ada perbedaan jarak genetik.

Studi sebelumnya menurut Rosati *et al.*, (2000), modifikasi gen *Lcy-b* dapat meningkatkan level beta karoten sampai tujuh kali di bawah kontrol promoter *Pds* (*phytoene desaturase*). Akhirnya keragaman gen *Lcy-b*

pada penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi sebagai strategi transgenik untuk memodifikasi kandungan karotenoid pada buah tomat.

KESIMPULAN

1. Kultivar *Betavila F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Tymoti F1* dan kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Tymoti F1*.
2. Kultivar *Fortuna F1* berkerabat dekat dengan sekuen *gene bank* kultivar *Darsirius* dan varietas *Pennelli*. Kultivar *Betavila F1* berkerabat jauh dengan tomat lain kultivar *Darsirius*, *Kristin* dan varietas *Pennelli* dan berkerabat dekat dengan kultivar *Fortuna F1*. Kultivar *Tymoti F1* berkerabat dekat dengan kultivar *Kristin*. Ketiga kultivar tomat berkerabat jauh dengan spesies luar *C. annuum* kultivar *Valensia*.
3. Perbedaan basa nukleotida tidak ditemukan pada ketiga kultivar tomat dan hanya ditemukan pada sekuen tomat varietas *Pennellii* yang mengalami mutasi transisi sebanyak 1 basa nukleotida. Perbedaan basa nukleotida juga ditemukan pada kelompok *outgroup* varietas *Villosum* yang mengalami mutasi transisi dan mutasi transversi sebanyak 12 basa nukleotida dan *C. annuum* kultivar *Valensia* yang mengalami mutasi transisi dan mutasi transversi sebanyak 16 basa nukleotida.

DAFTAR PUSTAKA

- Araujo AH, Fonseca MEDN, Boiteux LS. 2007. Nucleotide Diversity of a Major Carotenoid Biosynthetic Pathway Gene in Wild and Cultivated Solanum (Section Lycopersicon) Species. *Brazilian Journal Plant Physiology* 19 (3): 233-237.
- Bramley PM. 2012. Regulation of Carotenoid Formation during Tomato Fruit Ripening and Development. *Journal of Experimental Botany* 53 (377): 2107-2113.
- Breemen RBV and Pajkovic N. 2008. Multitargeted Therapy of Cancer by Lycopene. *Journal Cancer Letters* 269 (2): 339-351.
- Campbell NA, Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorky PV, Jackson RB. 2008. Biologi Edisi 8, Jilid 2. Jakarta: Erlangga. hal.101-105.
- Dalal M, Chinnusamy V, Bansal KC. 2010. Isolation and Functional Characterization of Lycopene β -cyclase (CYC-B) Promoter from Solanum habrochaites. *Journal Biomed Central Plant Biology* 10: 61.
- Dharmayanti I. 2011. Filogenetika Molekular: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Jurnal Wartazoa* 21 (1): 1-10.
- El-Raey MA, Ibrahim GE, Eldahshan OA. 2013. Lycopene and Lutein: A Review for Their Chemistry and Medicinal Uses. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2 (1): 245-254.
- Giorio G, Yildirim A, Stigliani AL, D'Ambrosio C. 2013. Elevation of Lutein Content in Tomato: A Biochemical Tug-of-War Between Lycopene cyclase. *Journal Metabolic Engineering* 20: 167-176.
- Hirschberg J. 2001. Carotenoid Biosynthesis in Flowering Plants. *Journal and Physiology Metabolism* 4: 210-218.
- Kino K and Sugiyama H. 2000. GC-CG Transversion Mutation Might be Caused by 8-Oxoguanine Oxidation Product. *Journal Nucleic Acid Symposium* 44: 139-140.
- Ronen G, Carmel-Goren L, Zamir D, Hirschberg. 2000. An Alternative Pathway to β -Caroten Formation in Plant Chromoplast Discovered by Map-Based Cloning of Beta and Old-Gold Color Mutation in Tomato. *Journal Proceedings of The National Academy of Sciences* 97 (20): 11102-11107.
- Rosati C, Aquilani R, Dharmapuri S, Pallara P, marusic C, Tavazza R, Bouvier F, Camara B, Giuliano G. 2000. Metabolic Engineering of beta-carotene and Lycopene Content in Tomato Fruit. *The Plant Journal* 24 (3): 413-419.

Rukmana S. 2015. Perbandingan Sekuen Kapang *Trichoderma* sp. Berdasarkan Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA Dengan Menggunakan Database NCBI. [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim. hal. 54.

Simpson MG. 2006. *Plant Systematic*. California: Elsevier Academic Press.

Wirdateti, Semiadi G dan Yulianto. 2013. Identifikasi Trenggiling (*Manis javanica*) Menggunakan Penanda Cytochrome B Mitokondria DNA. *Jurnal Veteriner* 14 (4): 467-474.