

Induksi Mutasi Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.) dengan Ethyl Methanesulfonate pada Berbagai Tingkat Waktu Perendaman

I MADE AGUS WIARTANA¹, MADE PHARMAWATI^{1,2}, I KETUT SUADA³

¹Program Studi Magister Ilmu Biologi, Program Pascasarjana Universitas Udayana, Bali

²Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Udayana, Bali

³Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Bali

Email : pharmawati@hotmail.com

ABSTRACT

Induction of Mutation of Red Chili (*Capsicum Annuum* L.) Using Ethyl Methanesulfonate at Several Soaking Periods. One way to increase genetic variation is through induced mutation using chemical mutagen. Ethyl methanesulfonate (EMS) is a chemical compound that can cause mutations and commonly used in plant. In this study seeds of red chili were treated using EMS 1% through seed soaking. Seeds of red chili were soaked with EMS 1% in phosphate buffer pH 7 for 6, 9, 12 and 15 hours at room temperature. As control, seeds were soaked in phosphate buffer pH 7. This study aims to evaluate, physiological and reproductive characters of plants after treated with EMS. Experiment was conducted in an open field with 5 replicates for each treatment. Results showed that concentration of chlorophyll a, b and total chlorophyll increased in plants derived from seed treated with EMS 1% for 9 hours compared to control and other soaking periods. Soaking seeds with EMS 1% for 12 hours increased viability of pollen compared to control and other treatments. The first time of flowering occurred earlier at 6 and 9 hours soaking period.

Keywords : *Ethyl Methanesulfonate, morphology, physiology, red chili, reproductive, soaking period*

PENDAHULUAN

Cabai merah merupakan salah satu sayuran yang memiliki banyak manfaat serta disukai baik di Indonesia maupun di mancanegara. Cabai merah biasanya dipakai sebagai bumbu dapur dan pelengkap masakan, selain itu juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai campuran obat-obatan herbal bahkan sebagai anti kanker (Satyanarayana, 2006). Kandungan kimia utama cabai merah yang bermanfaat sebagai obat adalah antioksidan, lasparaginase, dan capsaicin (Kilham, 2006).

Harga cabai merah yang tidak stabil di pasaran membuat pengaruh yang cukup drastis bagi perekonomian Indonesia. Pada akhir 2010, cabai

mengalami kenaikan harga yang tinggi. Kenaikan harga cabai mencapai Rp 100.000 hingga Rp 150.000 per kg dengan harga awal sekitar Rp 30.000 per kg (BPS, 2011).

Penurunan harga cabai yang terjadi akhir tahun 2010 menunjukkan perubahan yang tidak biasa. Inflasi cabai biasanya diikuti oleh deflasi pada bulan berikutnya dengan besaran yang kurang lebih sama sehingga harga cabai cenderung kembali turun di sekitar level harga ketika sebelum terjadi kenaikan. Namun, hingga awal tahun 2011 harga cabai lambat untuk turun kembali dan cenderung bertahan (BPS, 2012).

Salah satu cara mengatasi permasalahan produksi cabai merah adalah dengan

meningkatkan variasi genetik secara fisiologi dan reproduksi melalui mutagenesis menggunakan senyawa kimia. Mutagen kimia Ethyl Methanesulfonate (EMS) merupakan senyawa kimia yang paling sering digunakan dalam penelitian mutasi induksi (Soeranto, 2003). Ethyl methanesulfonate merupakan senyawa alkil yang menyebabkan perubahan basa yaitu terjadinya delesi pasangan basa tertentu dalam kromosom (VanHarten, 1998).

Penelitian ini bertujuan menguji variasi waktu perendaman biji cabai merah pada konsentrasi EMS 1% (v/v) terhadap fisiologi dan reproduksi tanaman cabai merah. Melalui mutasi induksi cabai merah dengan senyawa kimia seperti EMS akan didapatkan suatu variasi cabai merah yang nantinya diharapkan mampu memberikan solusi permasalahan-permasalahan pertanian cabai merah di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah benih cabai merah "Hot Paper Smart" yang didapatkan dari toko pertanian di Denpasar. Ethyl Methanesulfonate 1% disiapkan dengan melarutkan dalam buffer phosphate pH 7. Benih direndam dalam air selama 6 jam untuk proses imbibisi, selanjutnya benih cabai direndam dalam EMS konsentrasi 1% selama 6, 9, 12 dan 15 jam pada suhu ruang dan kontrol direndam dalam buffer phosphate pH 7. Benih disemai dalam bungkusan, dan setelah bibit berusia 21 hari dipindah ke bedeng. Pengamatan dilakukan terhadap karakter reproduktif yaitu umur tanaman mulai berbunga dan viabilitas serbuk sari cabai merah serta karakter fisiologi yaitu kandungan klorofil a, b dan total daun cabai merah.

Pengamatan terhadap hari saat berbunga diamati pada enam tanaman yang dipilih untuk setiap perlakuan dan ulangan serta dicatat mulai saat tanaman pertama kali berbunga dan berbuah. Viabilitas serbuk sari diamati dengan mengambil serbuk sari dari 5 bunga yang telah mekar dari 2 tanaman terpilih pada setiap perlakuan dan

ulangan. Serbuk sari ditaburkan di atas kaca objek dan ditetesi dengan *aceto-carmin* 2% dan dibiarkan selama 30 menit, dibuat masing-masing 1 preparat untuk setiap bunga. Preparat yang telah diwarnai diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40 x dan dihitung jumlah serbuk sari pada 10 lapang pandang (Tyagi, 2002). Pengamatan dilakukan terhadap serbuk sari yang viabel dan tidak viabel. Serbuk sari yang viabel menyerap zat warna *aceto-carmin* dan memiliki dinding yang tidak mengerut, sedangkan serbuk sari yang tidak viabel tidak menyerap zat warna *aceto-carmin* dan memiliki dinding yang mengerut.

Cara menghitung persentase viabilitas serbuk sari adalah sebagai berikut:

$$\frac{\text{rata-rata serbuk sari viabel}}{\text{rata-rata jumlah serbuk sari yang diamati}} \times 100\%$$

Uji klorofil dilakukan dengan metode yang dijelaskan oleh Lichtenthaler & Wellburn (1983). Masing-masing perlakuan dan ulangan dipilih 3 tanaman dan diambil daun ketiga dari pucuk dan sudah berkembang sempurna untuk diekstraksi klorofilnya. Sampel daun sebanyak 100 mg dihaluskan dengan cara digerus, ditambahkan 3 ml aseton 80% dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 2 menit. Dari hasil sentrifugasi didapatkan pellet dan supernatan. Supernatan diambil dan dipindahkan ke labu takar. Pellet yang masih dalam tabung ditambahkan 1 ml aseton dan disentrifugasi kembali. Supernatan yang didapatkan dipindahkan ke labu takar sebelumnya sampai mencapai 5 ml, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 663 dan 645 nm.

Kandungan klorofil (mg/L) dalam ekstrak dihitung menurut rumus berikut:

1. Klorofil a mg/L berat daun = $12,7 \times E_{663} - 2,69 \times E_{645}$
2. Klorofil b mg / L berat daun = $22,9 \times E_{645} - 4,68 \times E_{663}$
3. Klorofil total mg / L berat daun = $20,2 \times E_{645} + 8,02 \times E_{663}$

E Nilai absorbansi

Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dan jika hasil berbeda nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan perendaman biji cabai merah dengan EMS 1% menunjukkan hari saat pertama tanaman berbunga yang berbeda-beda pada setiap perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Umur Tanaman Cabai Merah Saat Mulai Berbunga pada Berbagai Lama Waktu Perendaman EMS 1%

Perlakuan	Umur Pertama Berbunga ¹⁾ (Hari)
Kontrol	53,67±5,90 ^(b)
EMS 1%, 6 jam	35,00±4,57 ^(a)
EMS 1%, 9 jam	35,00±4,57 ^(a)
EMS 1%, 12 jam	53,67±5,90 ^(b)
EMS 1%, 15 jam	53,67±5,90 ^(b)

¹⁾ Angka adalah nilai rata-rata ± standar error. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$)

Perlakuan selama 6 jam dan 9 jam menghasilkan tanaman cabai dengan rata-rata berbunga paling cepat yaitu 35 hari. Perendaman dengan 1% EMS yang terlalu lama (12 jam dan 15 jam) tidak menyebabkan perubahan pada umur munculnya bunga. Mutagen dapat merubah hari berbunga dan berbuah pada tanaman (Nahiyani *et al.*, 2014). Menurut Nasare & Choudhary (2011) tanaman yang diberi perlakuan mutagen yang mulai berbunga 15 – 20 hari sebelum kontrol tergolong tanaman *early flowering*. Penelitian lain untuk hari berbunga lebih awal juga dilaporkan pada tanaman *Lathyrus stivus* L. (Kumar & Dubey, 1998; Girhe & Choudhary, 2002). Temuan ini menunjukkan bahwa EMS dapat mengubah hari untuk berbunga menjadi lebih awal.

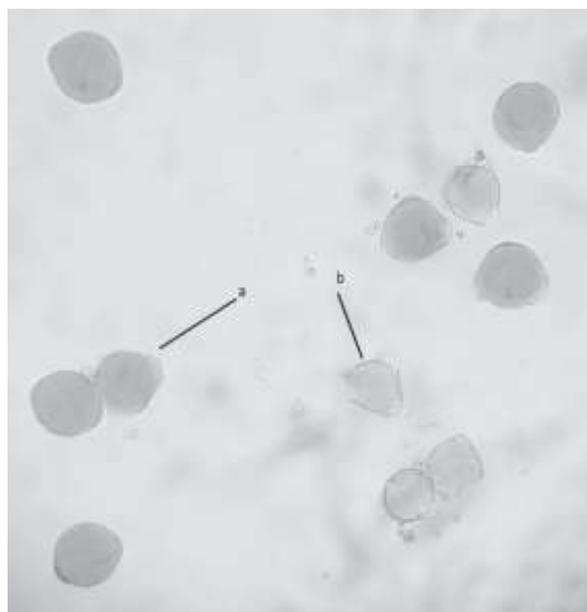
Perendaman biji cabai merah dengan konsentrasi EMS 1% terhadap viabilitas serbuk sari tanaman cabai merah menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh signifikan (Tabel 2)

Tabel 2. Rata-Rata Viabilitas Serbuk Sari

Perlakuan	Viabilitas Serbuk Sari ¹⁾ (%)
Kontrol	97±0,01 ^(bc)
EMS 1%, 6 jam	93±0,03 ^(ab)
EMS 1%, 9 jam	89±0,02 ^(a)
EMS 1%, 12 jam	99±0,00 ^(c)
EMS 1%, 15 jam	93±0,02 ^(ab)

¹⁾ Angka adalah nilai rata-rata ± standar error. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$)

Perlakuan perendaman biji cabai dengan EMS 1% selama 12 jam menghasilkan tanaman dengan viabilitas serbuk sari paling tinggi yaitu sebesar 99%. Sedangkan tanaman dengan perlakuan



Gambar 1. Serbuk Sari Bunga Cabai Merah; a) Serbuk Sari Viabel, b) Serbuk Sari Tidak Viabel; Perbesaran Mikroskop 4 x 10

perendaman biji cabai dengan EMS 1% selama 9 jam menghasilkan tanaman dengan viabilitas serbuk sari paling rendah yaitu sebesar 89%.

Terdapat peningkatan dan penurunan viabilitas serbuk sari pada perlakuan perendaman EMS 1% dengan waktu perendaman yang berbeda, hal ini dapat dikaitkan dengan EMS sebagai mutagen dapat menghambat dan meningkatkan viabilitas serbuk sari dengan mengacaukan enzim dan hormon yang merangsang pembentukan serbuk sari pada lama perendaman tertentu, dosis mutagen juga sangat berpengaruh terhadap kondisi serbuk sari sehingga serbuk sari yang dihasilkan dapat menjadi steril ataupun fertil yang akhirnya mempengaruhi peningkatan dan penurunan viabilitas serbuk sari (Pathak *et al.*, 1983). Menurut Ramya *et al.* (2014), pemberian mutagen pada *Vigna mungo* L. Hepper menurunkan fertilitas serbuk sari seiring meningkatnya konsentrasi mutagen yang diberikan. Lgnacimuthu & Babu (1989) juga melaporkan hasil yang sama pada tanaman Urd dan mungbeans jenis liar dan kultivar. Sedangkan menurut Yunita *et al.* (2012) pemberian mutagen sodium azida dapat meningkatkan viabilitas serbuk sari pada tanaman cabai besar (*Capsicum annuum* L).

Karakter fisiologi yang diamati adalah kandungan klorofil daun tanaman cabai merah

dengan perlakuan EMS 1% pada benih yang direndam selama 6, 9, 12, 15 jam dan kontrol pada 11 MST. Hasil ANOVA menunjukkan perlakuan perendaman biji cabai merah dengan EMS 1% selama 6, 9, 12, 15 jam dan kontrol terhadap klorofil a, b dan total yang dihasilkan tanaman cabai merah menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh signifikan ($P < 0.05$) (Tabel 3).

Data penelitian menunjukkan perlakuan EMS 1% selama 9 jam menunjukkan kandungan klorofil a, b dan total paling tinggi dan pada tanaman kontrol memiliki kandungan yang paling rendah. Klorofil merupakan pigmen penangkap dan penyerap cahaya yang digunakan dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan energi bagi tanaman. Daun merupakan bagian utama tanaman yang menghasilkan energi dalam jumlah besar dikarenakan setiap millimeter persegi daun mengandung setengah juta kloroplas (Kimball, 1983).

Peran klorofil a dalam fotosintesis yaitu mengubah energi radiasi menjadi energi kimia dan mengangkut energi ke pusat reaksi molekul. Sedangkan klorofil b menyerap energi radiasi dan meneruskan ke klorofil a. Peningkatan klorofil dapat dihubungkan dengan bertambahnya kompleks pemanenan cahaya dan membesarnya antena pada fotosistem II yang menyebabkan

Tabel 3. Kandungan Klorofil a, b dan Total Cabai Merah pada Berbagai Lama Waktu Perendaman EMS 1%

PERLAKUAN	Kandungan Klorofil ¹⁾ (µg/ml)		
	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil total
Kontrol	24,68±0,51 ^(a)	31,41±1,75 ^(a)	56,08±2,23 ^(a)
EMS 1%, 6 jam	26,18±0,36 ^(b)	36,04±1,12 ^(b)	62,20±1,39 ^(b)
EMS 1%, 9 jam	26,38±0,35 ^(b)	42,30±1,63 ^(c)	68,66±1,63 ^(c)
EMS 1%, 12 jam	25,25±0,43 ^(ab)	35,16±1,20 ^(b)	60,39±1,45 ^(ab)
EMS 1%, 15 jam	26,26±0,52 ^(b)	33,44±1,23 ^(ab)	59,68±1,72 ^(ab)

¹⁾ Angka adalah nilai rata-rata ± standar error. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$)

tingkat efisiensi penangkapan cahaya meningkat (Rotundo *et al.*, 2004). Pada penelitian ini didapatkan hasil kandungan klorofil yang meningkat dengan perlakuan EMS 1%. EMS juga dapat meningkatkan klorofil dengan mempengaruhi kandungan karotenoid yang diinduksi oleh mutagen EMS pada fotosistem tanaman (Pande & Khetmalas, 2012). Harahap (2005) mengemukakan bahwa mutagen dapat meningkatkan klorofil pada daun. Dengan bertambahnya klorofil pada daun maka energi yang dihasilkan akan semakin besar, dan tentunya akan mempengaruhi perkembangan tanaman dengan meningkatnya sistem metabolisme pada tanaman karena pasokan energi yang besar.

Selain klorofil, proses fotosintesis juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti intensitas cahaya, kondisi lingkungan, kandungan unsur hara dan mineral tanah, tahap perkembangan tanaman serta faktor genetik. Tanaman cabai merah memiliki suhu optimum sebesar 15-25°C untuk fotosintesis maksimum (Lakitan, 2011). Penelitian ini dilakukan di daerah kisaran suhu antara 24-29°C, jika dihubungkan dengan suhu optimum fotosintesis maka daerah yang dijadikan tempat penelitian masih mendukung bagi tanaman cabai merah untuk dapat berfotosintesis dengan optimal dan dapat meningkatkan jumlah klorofil tanaman.

SIMPULAN

Waktu perendaman benih dengan 1% EMS yang dapat meningkatkan kandungan klorofil adalah selama 9 jam dibandingkan waktu lainnya. Perendaman benih cabai merah dengan EMS 1% selama 12 jam meningkatkan viabilitas serbuk sari dibandingkan waktu perendaman lainnya pada penelitian ini. Umur berbunga paling cepat terjadi pada perlakuan EMS 1% dengan perendaman selama 6 dan 9 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 2011. Laporan ringkas studi cabai. Laporan bulanan data sosial ekonomi. Edisi 9. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- BPS. 2012. Produksi Cabai Besar, Bawang Merah, dan Mangga Tahun 2011. Jakarta: Biro Pusat Statistik
- Girhe, S. & A.D. Choudhary. 2002. Induced morphological mutants in *Lathyrus sativus*. *Journal Cytology and Genetics*. 3: 1-6
- Harahap, F. 2005. Induksi variasi genetik tanaman manggis (*Garcinia mangostana*) dengan radiasi sinar gamma. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kilham, C. 2006. Chiles, The Hottest Health Promoters. [on line] <http://www.medicinehunter.com>
- Kimball, J. 1983. Biologi Umum Edisi Ke Lima. Erlangga. Jakarta
- Kumar, S. & D.K. Dubey, 1998, Induced morphological mutations in *Lathyrus sativus* L. *Journal Cytology and Genetics*., 33:131-137.
- Lakitan, B. 2011. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. Ed 1, Cet 9. Jakarta: Rajawali Pers.
- Lgnacimuthu, S. & C.R. Babu. 1989. Induced chromosomal abnormality and pollen sterility in wild and cultivated urd and mung beans. *Cytologio*. 51(1):159-167.
- Lichtenthaler, H.K. & A.R. Wellburn. 1983. Determination of total carotenoids and Chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. 603: 591-592.

- Nahiyan, A.S.M., L. Rahman, S. Raiyan, H. Mehraj, & A.F.M. Jamal Uddin. 2014. Selection of EMS Induced Tomato Variants Through Tilling for Point Mutation. *Bangladesh Research Publications Journal*. 10 (2): 214-222
- Nasare, P.N., & A.D. Choudhary. 2011. Early Flowering and High Yielding Mutants In *Ocimum sanctum* Linn. *Indian Streams Reseach Journal*. 1(3): 202-204.
- Pande, S. & M. Khetmalas. 2012. Biological Effect of Sodium Azide and Colchicine on Seed Germination and Callus Induction in *Stevia Rebaudiana*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 3 (1): 93-98.
- Pathak, C.S., D.P. Singh, & A.A. Deshpande. 1983. Male and female sterility in hot pepper (*Capsicum annum* L.). *Capsicum Newsletter*. 97-98
- Ramya, B., G. Nallathambi, and S. Ganesh Ram. 2014. The effect of mutagens on M1 population of black gram (*Vigno mungo* L. Hepper). *African Journal of Biotechnology*. 13(8): 951-956.
- Rotundo, A., M. Forlani, & C. Di Vaio. 2004. Influence of shading net n vegetative and productive characteristics, gas exchange and chlorophyll content of the leaves in two blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott). (serial on line). <http://www.actahort.org/books/457/457-42.htm> (9 September 2004).
- Satyanarayana, M.N. 2006. Capsaicin and gastric ulcers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46: 275-328
- Soeranto, H. 2003. Peran Iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. *Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi*. Jakarta: Badan Tenaga Nuklir Nasional.
- Tyagi, A.P. 2002. Cytogenetics and Reproductive Biology of Some BELE (*Abelmoschus manihot* Linn., Medic Sub-Species manihot) Cultivars. *Pacific Journal of Natural Science*. 20: 4-8.
- VanHarten, A.M. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. New York: Cambridge University Press.
- Yunita, S. N. K., M. Pharmawati, & I. K. Junitha. 2012. Pengaruh Mutagen Kimia Sodium Azida Terhadap Morfologi Tanaman Cabai Besar (*Capsicum annum* L). *Metamorfosa Journal of Biological Sciences*, I (1).