

ARTIKEL

KAJIAN MUTAGEN EMS PADA KONSENTRASI SUB LETHAL UNTUK MENINGKATKAN KERAGAMAN MUTAN LADA (*Piper nigrum* L.)

[*Study of EMS Mutagen at Sub-Lethal Concentrations to Enhance Pepper (*Piper nigrum* L.) Mutant Diversity*]

Iman Suswanto*, Tris Haris Ramadhan, Kukuh Hernowo

Program of Agrotechnology, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Tanjungpura University, Pontianak 78124, West Kalimantan, Indonesia Tel./Fax. +62-271-663375,

ABSTRAK

Keberhasilan perakitan tanaman baru melalui mutasi telah banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan memperoleh konsentrasi EMS yang menghasilkan keragaman mutan lebih tinggi sebagai alternatif menghasilkan varietas baru dan memperoleh variabel penduga yang dapat digunakan sebagai indikator dalam penyusunan mutan lada. Perlakuan penelitian berupa konsentrasi *sub lethal* EMS terdiri atas kontrol tanpa EMS (d0); dosis 0,15% (d1); dosis 0,2% (d2); dosis 0,25 % (d3) dan 0,3% (d4) sebagai konsentrasi LC₅₀. Penelitian menggunakan boks berisi media gambut dan pasir (1:1) yang disusun berdasarkan rancangan acak lengkap dengan ulangan 5 kali. Masing-masing boks diisi 40 biji sehingga total biji yang diuji sebanyak 200 butir/perlakuan. Variabel yang diamati berupa tinggi hipokotil, panjang akar, jumlah daun dan ukuran kotiledon. Analisis data dengan anova dilanjutkan dengan uji Duncan tingkat kepercayaan 0,05. Variabel data yang signifikan dilanjutkan dengan kajian sebaran data fenotipe untuk menentukan *skewness* (kecondongan) dan *kurtosis*/keruncingan puncak kurva). Pengukuran keragaman dilakukan dengan perhitungan koefisien keragaman genetik (KKG), koefisien keragaman fenotip (KKF) dan heretabilitas (h^2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 0,1%; 0,2% dan 0,3% menghasilkan keragaman karakter penting berupa panjang akar, panjang hipokotil dan panjang/lebar kotiledon. Keempat variabel pada fase kecambah memiliki nilai heritabilitas pada kisaran sedang (S) sampai tinggi (T) sehingga layak digunakan sebagai indikator dalam penyusunan mutan lada.

Kata kunci: EMS, mutan lada diversity, konsentrasi *sub-lethal*

ABSTRACT

The success of new plant assembly through mutation has been widely reported. This study aims to obtain EMS concentrations that produce higher mutant diversity as an alternative to producing new varieties and to obtain predictive variables that can be used as indicators in the compilation of pepper mutants. The research treatments consist of sub-lethal EMS concentrations consisting of control without EMS (d_0); doses of 0.15% (d_1); doses of 0.2% (d_2); doses of 0.25 % (d_3), and 0.3% (d_4) as LC_{50} concentrations. The research used boxes containing peat and sand media (1:1) arranged based on a completely randomized design with 5 replications. Each box was filled with 40 seeds, so the total seeds tested were 200 seeds/treatment. The observed variables were hypocotyl height, root length, number of leaves, and cotyledon size. Data analysis with ANOVA was followed by Duncan's test at a confidence level of 0.05. Significant data variables were further studied by analyzing the distribution of phenotype data to determine skewness and kurtosis. Diversity measurements were conducted by calculating genetic coefficient of variation, phenotypic coefficient of variation, and heritability (h^2). The results showed that concentrations of 0.1%; 0.2% and 0.3% produced important character diversity such as root length, hypocotyl length, and cotyledon length/width. All four variables in the seedling phase had heritability values ranging from moderate (M) to high (H), making them suitable indicators for pepper mutant preparation.

Keywords: EMS, mutan pepper diversity, sub lethal concentrations

PENDAHULUAN

Saat ini budidaya lada menghadapi beberapa kendala antara lain biji buah mengecil, rentan terhadap kekeringan dan gangguan penyakit/hama tanaman. Umumnya petani lada dari kalangan masyarakat kecil dan kebanyakan hanya menerapkan teknologi secara turun-temurun. Kebanyakan petani lada sebenarnya membutuhkan alternatif pilihan varietas baru yang lebih baik. Penggunaan kultivar baru diharapkan dapat dijadikan sebagai komponen pengendalian terhadap tekanan lingkungan biotik maupun abiotik.

Sampai saat ini penyediaan varietas lada baru dapat dikatakan stagnan. Hal ini disebabkan oleh performa varietas lada lama sudah banyak menderita akibat tekanan lingkungan yang tidak sesuai lagi seperti serangan hama/penyakit baru, tanaman banyak yang sudah tua atau tanaman mati akibat serangan hama/penyakit. Dalam kondisi demikian, petani harus mencari sendiri varietas yang dianggap cocok pada agroekosistem setempat. Oleh karena itu, upaya peremajaan lada diharapkan mendapatkan varietas baru yang lebih baik.

Perbaikan sifat lada dapat dilakukan apabila tersedia pilihan sesuai dengan kebutuhan. Mutasi tanaman menggunakan senyawa kimia EMS telah banyak dilaporkan mampu menghasilkan keragaman turunan mutan yang sangat besar sehingga memberi peluang untuk mendapatkan kultivar baru. Keragaman genetik untuk beberapa karakter yang diinginkan berhasil diinduksi melalui mutasi. Pentingnya peningkatan keragaman genetik berkaitan dengan proses seleksi. Hal ini dikarenakan dengan adanya variabilitas yang luas, proses seleksi dapat dilakukan secara efektif karena akan memberikan peluang yang lebih besar untuk diperoleh karakter-karakter yang diinginkan.

Dalam tujuh dekade ini setidaknya terdapat 2252 varietas mutan dari berbagai tanaman secara resmi dirilis (Maluszynski *et al.*, 2000). Menurut Alcantara *et al.* (1996) mutagen EMS yang digunakan pada rentang konsentrasi 0,5% sampai 1,5% dan lama perendaman 3 jam sampai 9 jam dapat menghasilkan mutan pada cabai besar. Dosis yang efektif dari induksi mutasi ditunjukkan dengan LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) yaitu terjadinya kematian 50% populasi organisme uji. Pengujian konsentrasi sub lethal diperlukan untuk memahami berbagai sifat dari populasi uji akibat dampak mutagen terhadap organisme. Pengujian sub lethal diperlukan disebabkan oleh fisiologi organisme uji masih dalam taraf gangguan/kerusakan yang masih ditolerir oleh organisme uji. Menurut Suswanto *et al.* (2022), induksi mutasi lada dengan EMS menghasilkan LC_{50} pada konsentrasi 0,3% dengan lama perendaman 3 jam menghasilkan keragaman pada panjang akar, panjang hipokotil dan panjang kotiledon.

Penelitian bertujuan memperoleh konsentrasi EMS yang menghasilkan keragaman mutan lebih tinggi sebagai alternatif varietas pengganti varietas lama dan memperoleh variabel penduga

yang dapat digunakan sebagai indikator dalam penyusunan mutan lada. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi *sub-lethal* atau konsentrasi yang tidak mematkan target uji. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperoleh mutan lada unggul lebih efektif dan efisien.

BAHAN DAN CARA KERJA

Pelaksanaan mutasi

Bahan uji biji lada kultivar Bengkayang dipanen dari kebun masyarakat sebanyak 40 butir biji/tanaman masing-masing diperoleh dari 5 tanaman berbeda sebagai ulangan. Pemberian EMS dilakukan terhadap benih lada berdasarkan metode dari Alcantara *et al.* (2004). Benih lada direndam dalam air selama 1 jam, selanjutnya direndam selama 3 jam dalam EMS 0,15%; 0,2%; 0,25% dan 0,3% yang dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7. Sebagai kontrol biji direndam dalam buffer fosfat pH 7 pada suhu ruang. Penentuan konsentrasi sub lethal sesuai dengan Suswanto *et al.* (2022). Biji lada yang telah diperlakukan dicuci dengan air mengalir selama 30 menit untuk menghilangkan sisa-sisa mutagen yang menempel pada biji. Selanjutnya biji lada dari tanaman yang sama disemaikan dalam satu box plastik, masing-masing diisi 40 benih dan diulang sebanyak 5 kali. Total biji untuk 5 boks sebanyak 200 butir. Boks plastik yang digunakan berukuran 60 x 30 x 15 cm³ berisi media minimal (pasir dan gambut perbandingan 1 : 3 volume/volume).

Pengamatan Variabel

Biji berkecambah memerlukan waktu 30 hari setelah sebar (HSS) dan observasi berakhir pada 90 HSS. Perawatan pesemaian berupa penyiraman air untuk menjaga kadar air media tanam. Data yang diamati berupa: daya kecambah, tinggi hipokotil, panjang akar, jumlah daun dan ukuran kotiledon. Semua data dianalisis dengan uji ragam dan apabila terdapat signifikansi dilanjutkan dengan uji duncan dengan tingkat kepercayaan 0.05. Semua variabel data lada selanjutnya dihitung nilai variasi fenotipe (σ^2p), variasi genotipe (σ^2g) dan heretabilitas (h^2). Untuk mengetahui besarnya keragaman genetik dari aksesori mutan dilakukan perhitungan koefisien keragaman genetik (KKG) dan koefisien keragaman fenotip (KKF). Semakin tinggi KKG mengindikasikan bahwa mutagen berhasil menciptakan karakter genetik baru yang berbeda dengan tetuanya.

Perhitungan Variabel Pengamatan.

Perhitungan dari sisi pemuliaan dilakukan terhadap variasi genotipe (σ^2g), variasi fenotipe (σ^2p) dan heretabilitas (h^2), KKF dan KKG. Analisis data sesuai dengan metoda Hartati *et al.* (2017), mutan lada dianggap memiliki sifat yang lebih baik/unggul apabila nilai rata-rata karakter lebih tinggi dari kontrol.

Tabel 1. Sumber keragaman, derajat bebas, kuadrat tengah dan nilai harapan dari anova (*Sources of diversity, degrees of freedom, mean squares, and expected values from the ANOVA*).

Sumber Keragaman (<i>Sources of diversity</i>)	Derajat Bebas (DB) (<i>Free degree</i>)	Notasi Nilai Harapan Kuadrat Tengah (<i>Notation Expected Value of Middle Squares</i>)	Nilai Harapan Kuadrat Tengah (<i>Expected Value of Middle Squares</i>)	Uji F (<i>Test F</i>)
Ulangan (<i>repetition</i>)	r - 1	N3	$\sigma^2 + g\sigma^2$	N3/N1
Perlakuan (<i>Treatment</i>)	g - 1	N2	$\sigma^2 + r\sigma^2$	N2/N1
Galat	(r-1) x (g-1)	N1	σ^2e	
Total	r(g-1)			

Dari tabel di atas digunakan untuk menghitung variasi genotipe (σ^2g) dan variasi fenotipe (σ^2p):

Variasi genotipe diperoleh dari rumus:

$$\sigma^2g = (N3-N2)/r$$

Variasi fenotipe diperoleh dari rumus :

$$\sigma^2p = \sigma^2g + \sigma^2e$$

Dari perhitungan di atas digunakan untuk mengetahui nilai heritabilitas (h^2) menggunakan rumus:

Nilai heritabilitas (h^2) menurut Stansfield (1988) dibagi dalam kategori tinggi = $h^2 > 0,5$; sedang = $0,2 \leq h^2 \leq 0,5$ dan rendah = $h^2 \leq 0,2$.

koefisien keragaman genotip dengan rumus:

koefisien keragaman fenotipe dengan rumus:

Keterangan: Nilai KKG maupun KKF diklasifikasikan berdasarkan Moedjiono dan Mejaya (1994) yaitu rendah ($0\% \leq 25\%$), agak rendah ($25\% \leq 50\%$), cukup tinggi ($50\% \leq 75\%$), dan tinggi ($75\% \leq 100\%$).

Analisis Statistik

Data Tinggi hipokotil ditentukan dengan mengukur mulai dari leher akar sampai titik tumbuh kotiledon. Perhitungan jumlah helaian daun dilakukan pada daun yang telah terbuka sempurna. Data panjang hipokotil, jumlah daun, panjang dan jumlah akar dianalisis menggunakan ANOVA (*Analisis of Variance*). Jika berbeda nyata diuji lanjut dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat kepercayaan 0,05.

Uji statistik berikutnya berupa distribusi data untuk mengetahui nilai *skewness* /kecondongan kurva dan *kurtosis*/keruncingan kurva. Menurut Roy (2000) pada pemuliaan hasil persilangan antara dua tetua maka hasil perhitungan nilai *Skewness*/kecondongan = 0 berarti karakter dikendalikan oleh aksi gen bersifat aditif, *skewness* < 0 berarti aksi gen aditif dengan epistasis duplikat, dan *skewness* > 0 aksi gen aditif dengan epistasis komplementer. *Kurtosis* menggambarkan keruncingan puncak kurva. *Kurtosis* negatif akan menghasilkan puncak kurva relatif datar atau bentuk *platykurtic* artinya suatu karakter dikendalikan oleh banyak gen, *kurtosis* positif maka puncak grafik meruncing atau *leptokurtic* artinya karakter dikendalikan oleh sedikit gen.

HASIL

Keragaman Karakter Agronomis Mutan Lada

Hasil analisis ragam pada Tabel 2 menunjukkan bahwa penggunaan EMS melalui biji lada berpengaruh terhadap panjang akar, panjang hipokotil, panjang dan lebar kotiledon. Sementara pengamatan pada jumlah akar, jumlah daun, panjang dan lebar daun tidak berbeda. Hasil uji ini berarti pemberian EMS menginduksi sifat baru yang berbeda dengan tetua asal (*wild type*) ditunjukkan dengan munculnya morfologi yang lebih besar atau sebaliknya semakin kecil/kerdil. Hasil uji statistik tidak nyata pada variabel pengamatan berarti EMS tidak menghasilkan keragaman fenotipe baru.

Tabel 2. Beberapa karakter morfologi mutan lada hasil mutasi pada konsentrasi sub lethal EMS melalui perendaman biji pada umur 90 hari setelah semai (HSS) (*Several morphological traits of pepper mutants resulting from mutation at sub-lethal concentrations of EMS through seed soaking at 90 days after sowing*).

Karakter (Characteristics)	Konsentrasi EMS (EMS Concentrations) (%)					Nilai-P (P-value)
	0	0,15	0,2	0,25	0,3	
Jumlah akar (Number of roots)	1,38	1,29	1,29	1,33	1,17	0,5479
Panjang akar (Root length)	1,48 b	4,47 a	4,99 a	3,96 a	5,52 a	0,0032*
Panjang hipokotil	1,19 b	3,49 a	3,45 a	2,94 a	3,29 a	0,0001*
Panjang kotiledon (Cotyledon length)	1,69 ab	1,54 bc	1,95 a	1,27 bc	1,37 c	0,0023*
Lebar kotiledon (Cotyledon width)	1,75 ab	1,71 ab	1,92 a	1,36 c	1,44 bc	0,0205*
Jumlah daun (Number of leaves)	1,69	1,41	1,57	1,15	1,25	0,0644
Panjang daun (Leaf length)	1,85	1,49	1,87	1,29	1,685	0,4755
Lebar daun (Leaf width)	1,06	0,94	0,97	0,68	1,08	0,2782

Keterangan: angka yang diikuti huruf sama dalam satu baris, tidak berbeda nyata uji Duncan taraf 0,05; *= berbeda nyata

Pola Sebaran Karakter Agronomis Mutan Lada

Hasil pengamatan pada Gambar 1 menunjukkan pengaruh EMS terhadap karakter baru yang muncul menghasilkan pola sebaran karakter agronomis bervariasi. Pada variabel panjang akar kisaran antara 1,0 - 14,30 cm pola kurva lebih condong ke kanan dengan nilai *skewness* 1,47. Posisi rata-rata/*mean* maupun median bergeser ke kanan dari mode kurva sehingga nilai rata-rata karakter mutan lada cenderung lebih tinggi. Karakter panjang akar dikontrol oleh aksi gen yang bersifat epistasis komplementer artinya sifat tersebut dihasilkan dari interaksi antara dua gen berbeda yang bekerja saling melengkapi untuk menghasilkan fenotipe panjang akar. Nilai kurtosis pada variabel panjang akar sebesar 3,31 menghasilkan puncak kurva meruncing, dapat diartikan karakter tersebut dikendalikan oleh sedikit gen.

Pada variabel panjang hipokotil serta panjang dan lebar kotiledon, *skewness* semua negatif atau lebih kecil dari nol. Hal ini berarti karakter tersebut dikontrol oleh gen-gen berbeda bersifat epistasis duplikat yaitu gen-gen tersebut saling tumpang tindih untuk menghasilkan fenotipe tertentu. Jika satu dari dua gen tersebut memiliki alel dominan, maka fenotip yang dominan akan muncul, sementara jika yang bertemu alel resesif maka gen pengontrol fenotipe tidak akan terpengaruh. Di lain pihak nilai dari *kurtosis* pada variabel panjang hipokotil dan panjang kotiledon bernilai positif maka menghasilkan puncak meruncing yang berarti karakter dikontrol oleh sedikit gen, sedangkan pada lebar kotiledon menghasilkan kurtosis negatif yang berarti puncak kurva datar sehingga karakter ini dikontrol oleh banyak gen.

Gambar 1. Sebaran fenotipe beberapa karakter agronomis populasi mutan lada (*Phenotypic distribution of several agronomic traits in pepper mutant populations*).

Sifat morfologi dari tetua dan mutan lada dari hasil perlakuan EMS pada Tabel 3 menunjukkan bahwa sifat morfologi mutan lada memiliki pola sejalan dengan potensi karakter tetuanya. Sebagai contoh pada karakter panjang akar, lada tetua memiliki nilai *skewness* yang besar (1,97), maka mutan lada juga memiliki potensi nilai *skewness* yang besar pula (1,47). Pola serupa juga terjadi pada karakter panjang hipokotil, panjang kotiledon dan lebar kotiledon, memiliki nilai *skewness* negatif berturut-turut -0,16; -0,47 dan -0,49 diikuti pula dengan nilai *skewness* negatif berturut-turut -0,35; -0,61 dan -0,48. Hal serupa terjadi juga pada nilai *curtosis* sebagai indikator penentu jumlah gen yang mengontrol fenotipe tertentu. *Curtosis* karakter panjang akar tetuanya bernilai positif (6,28) diikuti pula pada mutan lada (3,31). Demikian pula pada karakter panjang hipokotil, panjang kotiledon dan lebar kotiledon, *curtosis* pada tetua maupun mutan lada memiliki nilai negatif.

Tabel 3. Beberapa sifat statistik dari morfologi kultivar Bengkayang sebagai tetua (*wild type*) dan mutan lada hasil perlakuan EMS (*Some statistical properties of cultivar morphology of the Bengkayang cultivar as a parental (wild type) and mutant pepper resulting from EMS treatment*)

Karakter (characteristics)	Tetua (Parental)				Mutan (mutant)			
	<i>Skewness</i>	<i>Curto sis</i>	Kisaran morfo Logi (morphology range)\standard (cm)	SD (dev. standard)	<i>Skew ness</i>	<i>Curtosis</i>	Kisaran morfo Logi (morphology range)\ (cm)	SD (dev. standard)
Panjang Akar (Root Length)	1,97	6,28	1,8-13,1	2,03	1,47	3,31	1,0-14,3	±2,23
Panjang Hipokotil (Hypocotyl Length)	-0,16	0,60	2,0-4,9),60	-0,35	1,66	0,6-5,5	±0,72
Panjang Kotiledon (Cotyledon Length)	-0,47	0,01	0,9-2,2),31	-0,61	0,61	0,4-2,3	±0,35
Lebar Kotiledon (Width of the Cotyledon)	-0,49	-0,13	0,8-2,4),37	-0,48	-0,09	0,4-2,6	±0,46

Hal berbeda yang ditunjukkan pada Tabel 3 adalah pada kisaran morfologi dan standar deviasi dari tetua dan mutan ladanya. Nilai kisaran karakter morfologi mutan lada secara konsisten lebih luas dibandingkan dengan tetuanya dan didukung pula dengan nilai standar deviasi (SD) mutan lada yang secara umum terdapat kecenderungan terjadi peningkatan, meskipun dalam jumlah kecil. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan EMS dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan keragaman sifat aksesori, baik karakter superior maupun sebaliknya karakter inferior.

Koefisien Keragaman Genetik, Keragaman Fenotip dan Heritabilitas Mutan Lada

Hasil pengamatan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai koefisien keragaman genetik dan koefisien keragaman fenotipe pada variabel panjang hipokotil dan panjang/lebar kotiledon populasi mutan lada memiliki nilai rendah sampai agak rendah, kecuali pada variabel panjang akar memiliki KKF tinggi. Nilai KKF sejalan dengan sebaran data yang tercantum pada Gambar 1, terlihat bahwa panjang akar memiliki keragaman fenotip yang paling tinggi, diikuti oleh variabel panjang hipokotil dan panjang/lebar kotiledon. Meskipun panjang akar memiliki kategori KKF tinggi (T), tetapi ternyata hanya diikuti oleh nilai KKG agak rendah (A). Informasi yang diperoleh dari tabel ini menjelaskan bahwa sifat agronomis panjang akar yang sangat beragam ternyata lebih ditentukan oleh keberhasilan adaptasi tanaman terhadap lingkungannya dibandingkan dengan sifat turunan/genetik. Meskipun demikian hasil tabel ini juga memberi informasi bahwa penggunaan EMS dalam meningkatkan keragaman genetik maupun fenotip memberi harapan besar akan keberhasilan perakitan mutan lada karena nilai heritabilitas yaitu keturunan yang diseleksi akan menyerupai induknya dengan tingkat keberhasilan sedang (S) sampai tinggi (T).

Tabel 4. Nilai koefisien keragaman genetik, koefisien keragaman fenotip dan nilai heritabilitas mutasi Lada dengan EMS melalui perendaman biji (*Genetic variation coefficient, phenotypic variation coefficient, and heritability index of Pepper mutations with EMS through seed soaking*)

Karakter (Characteristics)	σ^2g	σ^2p	KKG	Kategori (Category)	KKF	Kategori (Category)	h^2	Kategori (Category)
Panjang Akar (Root Length)	1.930	3.319	34.73	A	83.69	T	0,58	T
Panjang Hipokotil (Hypocotyl Length)	0.913	1.142	23.88	A	49.67	A	0,79	T
Panjang Kotiledon (Cotyledon Length)	0.065	0.109	6.36	R	14.37	R	0,59	T
Lebar Kotiledon (Width of the Cotyledon)	0.044	0.092	5.24	R	12.74	R	0,48	S

Keterangan: Kategori nilai KKG maupun KKF Rendah/R (0-25%); Agak rendah/A (25-50%); Cukup tinggi/C (50-75%); Tinggi/T (75-100%) dan nilai heritabilitas dibagi dalam tinggi (T)= $h^2 > 0,5$; sedang (S) = $0,2 \leq h^2 \leq 0,5$ dan rendah (R)= $h^2 \leq 0,2$ (Description: Low KKG and KKF value category/R (0-25%); Relatively low/A (25-50%); Quite high/C (50-75%); Height/T (75-100%) and heritability value divided by height (T)= $h^2 > 0.5$; medium (S) = $0.2 \leq h^2 \leq 0.5$ and low (R) = $h^2 \leq 0.2$)

PEMBAHASAN

Sifat morfologi dari mutan lada sebagai respons pemberian EMS ternyata dapat meningkatkan pertumbuhan pada jaringan meristem hipokotil, kotiledon dan ujung akar. Akar memiliki peran penting yang dapat menentukan keberhasilan perbanyakan secara vegetatif. Banyak setek lada mati disebabkan oleh kegagalan pembentukan akar. Perubahan karakter lada mutan diduga berkaitan dengan proses metabolisme pada jaringan meristem, baik meristem apikal pada akar, meristem hipokotil maupun meristem interkalar pada kotiledon. Jaringan meristem interkalar selain mendukung perpanjangan bagian batang, juga mendukung jaringan meristem lain seperti meristem ujung dan meristem lateral sehingga membutuhkan materi penyusun sel yang lebih banyak. Hal ini berarti perubahan genetik dapat berdampak pada peningkatan performa

metabolisme tanaman. Menurut Thangwana *et al.* (2021) menyatakan bahwa penggunaan EMS pada biji kacang tepary (*Phaseolus acutifolius*) secara alami memiliki ciri-ciri morfologi biji bervariasi pada ukuran dan ketebalan kulit akan berpengaruh terhadap kemampuan imbibisi air dan penyerapan mutagen. Keragaman sifat biji ini memberi sumbangan besar terhadap pembentukan mutan dari setiap biji. EMS akan bekerja saat sel embrio mulai aktif menyebabkan mutasi titik pada untai DNA yang nantinya menyebabkan perubahan susunan asam amino. Perubahan yang terjadi dapat mendukung pertumbuhan yang superior seperti peningkatan aktifitas auksin, peningkatan pembelahan sel, penambahan volume sel dan lainnya. Lebih lanjut Arisha *et al.* (2014) menyatakan bahwa mutagen juga dapat berdampak pada kerusakan kromosom maupun proses fisiologi pada jaringan tanaman sehingga justru menghambat pertumbuhan.

Kurva normal membantu dalam memberi informasi secara menyeluruh variasi fenotipik, frekuensi karakter tertentu, mengidentifikasi anomali atau pencilan data yang mungkin terjadi sehingga dapat dijadikan landasan pada tahap seleksi. Secara umum, kurva normal memberikan kerangka kerja yang penting dalam menjelaskan dan menganalisis keragaman genetika dalam populasi, serta dalam merencanakan strategi pemuliaan yang lebih efektif. Salah satu informasi penting dalam kurva normal adalah *skewness*/kecondongan kurva. Pada kasus condong kanan, berarti terdapat individu yang memiliki rata-rata karakter bersifat lebih tinggi dibandingkan tetuanya atau sebaliknya apabila condong kiri berarti muncul karakter dengan nilai rata-rata lebih rendah dari tetua. Baik condong kiri maupun kanan memberi informasi karakter agronomis yang dikehendaki. Sebagai contoh dalam perakitan lada maka karakter batang bercabang atau ruas memendek/*dwarf* bisa jadi menjadi pilihan meskipun mutan lada ini kelihatan inferior dari tetuanya.

Kurva normal juga terdapat informasi *curtosis*/kerucingan puncak kurva. Kondisi ini dapat memberi petunjuk mengenai karakter dalam populasi yang cenderung terpusat di sekitar nilai rata-rata (mesokurtik), memiliki puncak memanjang di kedua sisi (platikurtik), atau puncak yang sangat tajam (leptokurtik). Bentuk puncak kurva membantu pendugaan suatu karakteristik dikendalikan oleh banyak gen dengan efek kecil atau beberapa gen dengan efek besar. Di duga variabel panjang akar, panjang hipokotil, panjang/lebar kotiledon dapat digunakan menjadi indikator dalam penyusunan mutan lada pada fase perkecambahan. Dengan fokus pengamatan pada variabel ini maka dapat menghemat waktu, biaya dan tenaga. Menurut Sulistyowati *et al.* (2016), diperlukan parameter genetik maupun karakter agronomi populasi sebagai penduga seleksi. Pemilihan karakter sebagai kriteria seleksi memerlukan informasi secara akurat seperti keragaman genetik, heritabilitas, sifat mekanisme gen dan jumlah gen yang mengontrol suatu sifat. Variabel yang paling umum adalah bobot biji per tanaman karena karakter berhubungan langsung dengan daya hasil.

Variabel penduga dalam pemuliaan baik konvensional maupun mutasi berupa koefisien keragaman genetik dan fenotip. Kedua variabel tersebut digunakan untuk memberikan gambaran tentang besarnya keragaman yang terdapat dalam suatu populasi. Keheterogenan atau keragaman dalam bidang pemuliaan tanaman memiliki arti penting sebagai indikasi bahwa dalam populasi terdapat beragam karakter yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber gen unggul. Namun demikian harus dapat dipastikan bahwa karakter morfologi unggul kadangkala dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan tidak diwariskan pada generasi berikutnya. Oleh karena itu perlu ditambah variabel penduga berikutnya berupa nilai heritabilitas. Pemahaman nilai duga heritabilitas memudahkan pemulia tanaman untuk memaksimalkan langkah seleksi, karena bila nilainya tinggi berimplikasi pada tingkat keberhasilan yang lebih tinggi pula. Heritabilitas juga menjadi tolok ukur yang menentukan apakah perbedaan penampilan suatu karakter disebabkan oleh faktor genetik atau lingkungan. Karakter yang memiliki nilai heritabilitas tinggi menggambarkan bahwa faktor genetik memiliki proporsi yang lebih besar dalam membentuk fenotip suatu tanaman sehingga karakter tersebut mudah dihasilkan dari hasil mutasi. Menurut Chelsea *et al.* (2020) menyatakan bahwa nilai heritabilitas yang tinggi menunjukkan hubungan yang tinggi antara genotipe dengan fenotipe. Nilai duga heritabilitas yang tinggi terjadi karena faktor genetik dari keragaman suatu karakter memiliki pengaruh yang lebih besar dari faktor lingkungan. Tingginya nilai heritabilitas

meningkatkan keberhasilan proses seleksi. Pada penelitian ini beberapa faktor yang menentukan tingginya heritabilitas antara lain keragaman tetua yang relatif tinggi, terjadi peningkatan keragaman mutan lada hasil mutasi dengan EMS dan nilai *curtosis* positif mengindikasikan fenotipe hanya dikontrol oleh gen sedikit atau gen tunggal. Lebih lanjut Suprpto & Kairudin (2017) bahwa nilai heritabilitas tinggi untuk suatu karakter yang diikuti dengan keragaman genetik luas menunjukkan bahwa karakter tersebut penampilmannya lebih ditentukan oleh faktor genetik sehingga seleksi pada populasi ini akan efisien dan efektif. Heritabilitas tinggi, sebagian besar variasi fenotipe disebabkan oleh variasi genetik, maka seleksi akan memperoleh tingkat keberhasilan yang tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian di muka dapat disimpulkan bahwa penggunaan EMS untuk perakitan mutan lada dapat menggunakan konsentrasi 0,15%; 0,2% dan 0,3%. Konsentrasi tersebut meningkatkan keragaman karakter penting berupa panjang akar, panjang hipokotil dan panjang/lebar kotiledon. Keempat variabel pada fase kecambah memiliki nilai heritabilitas pada kisaran sedang (S) sampai tinggi (T) sehingga layak digunakan sebagai variabel indikator dalam penyusunan mutan lada unggul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Tanjungpura yang telah membiayai pelaksanaan program ini melalui dana DIPA UNTAN sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor: 3028/UN22.3/PT.01.03/2023, Tanggal 13 April 2023.

KONTRIBUSI PENULIS

IS: penyusunan draf naskah dan perbaikan artikel; THR: membantu penelitian mulai penyiapan tanaman uji, pemberian perlakuan dan perawatan tanaman; KH: pengumpulan data, analisis statistik dan penyusunan draf naskah.

REFERENSI

- Alcantara, T.,P. Bosland, Smith, D. 1996. Ethyl Methanesulfonate- Induced Seed Mutagenesis of *Capsicum annuum*. *Journal of Heredity*, 87(3), pp.239–241.
- Arisha, M. H., Liang, B., Shah, S.N.M. 2014. Kill curve analysis and response of first generation *Capsicum annuum* L. B12 cultivar to ethyl methane sulfonate. *GMR Genetic and Molecular Research*, 13(4), pp.10049–10061.
- Brunelle, D.C., Clark, J.K., Sheridan W.F. 2017. Genetic Screening for EMS-Induced Maize Embryo-Specific Mutants Altered in Embryo Morphogenesis. *G3: Genes/Genomes/Genetics*, pp.1–28.
- Chelsea, F,S. Anwar, Sudarman A.D., Kusmiyati, F. 2020. Evaluasi Keragaman Mutan Generasi MV3 Aster Cina (*Callistephus chinensis* L.) Hasil Mutasi Induksi Sinar Gamma. *Berkala Bioteknologi*, 3(2), pp.27-33
- Handayati, W. 2013. Perkembangan Pemuliaan Mutasi Tanaman Hias di Indonesia Advancement of Mutation Breeding on Ornamental Plants in Indonesia. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi*, 9(1), pp.67–80.
- Hartati, S., Yunus, A., Nugroho, F. 2017. Keragaan Anggrek Persilangan ♀*Vanda Celebica* X ♂*Vanda Dearei* Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Agrotech Res J.*, 1(1), pp.7–12.
- Jankowicz-cieslak, J., Huynh, O.A., Brozynska, M., Nakitandwe, J., Till, B.J. 2012. Induction, rapid fixation and retention of mutations in vegetatively propagated banana. *Plant Biotechnology Journal*, 10, pp.1056–1066.
- Kristina, N., Syahid, S. 2015. Pengaruh Kolkhisin Terhadap penampilan Lada (*Piper nigrum* L.) Mutan dan Analisis Ploidi. *Littri*, 21(3), pp.125–130.
- Maluszynski, Nichterlein, M.K., Van Zanten, L., Ahloowalia, B.S. 2000. Officially released mutant varieties – the FAO/IAEA Data-base. *Mut Breed Rev* 12, pp.1–84

- Moedjiono, Mejaya, M.J. 1994. Variabilitas genetik beberapa karakter plasma nutfah jagung koleksi Balittan Malang. *Zuriat*, 5(2), pp.27-32
- Roy, D. 2000. Plant Breeding: Analysis and exploitation of variation. Calcutta: Narosa Publishing House.
- Rustini, N., Pharmawati, M. 2014. Aksi Ethyl Methane Sulphonate terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L). *Jurnal Bios Logos*, 4(1), pp.1–8.
- Sulistiyowati, Y, Trikoesoemaningtyas, Sopandie, D., Ardie S.W., Nugroho, S. 2016. Parameter Genetik dan Seleksi Sorgum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] Populasi F4 Hasil Single Seed Descent (SSD). *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(2), pp.175-184
- Suprpto, M., Kairudin, N. 2017. Variasi Genetik, Heritabilitas, Tindak Gen dan Kemajuan Genetik Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) pada Ultisol. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9(2), pp.183-190.
- Suswanto, I., Hendarti I., Ramadhan, T.H. 2022. Perbaikan sifat lada (*Piper nigrum* L.) menggunakan mutagen ethyl methane sulphonate (EMS). *Agroqua*, 20(2), pp.263-271.
- Suteja, H., Rostini N., Amien, S., 2019. Pengaruh perlakuan ethyl methanesulphonate terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kentang granola (biji) Effect of ethyl methanesulphonate treatment on germination and growth of granola potato (true potato seed). *Jurnal Kultivasi*, 18(1), pp.5–6.
- Stanfield, W.D. 1988. Theory and Problems of Genetics. 2nd ed. New York (US): McGraw-Hill.
- Thangwana, A., Gwata, E.T., Zhou, MM. 2021. Impact of chemical mutagenesis using ethyl methane sulphonate on tepary bean seedling vigour and adult plant performance. *Heliyon* 7, pp.1-9
- Triani, A., Ahadiyat, Y.R., Nurchasanah, S. 2021. Respons Tanaman Padi Varietas Inpari Terhadap Mutagen Sodium Azide. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 21(1), pp.51–60.
- Wang, C.T., Tang, Y.Y., Wang, X.Z., Zhang, S.W., Li, G.J., Zhang, J.C., Yu, S.L. 2011. Sodium azide mutagenesis resulted in a peanut plant with elevated oleate content. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14(2), pp.11-24