

Pengaruh Perlakuan *Ethyl Methane Sulfonate* pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L.) dan Ketahanannya terhadap *Chilli Veinal Mottle Virus* (ChiVMV)

The Effect of Ethyl Methane Sulfonate on Chilli Pepper (*Capsicum annuum* L.) and Their Resistance to Chilli Veinal Mottle Virus (ChiVMV)

Ifa Manzila^{1*}, Sri Hendrastuti Hidayat², Ika Mariska¹, dan Sriani Sujiprihati³

¹Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian
Jl. Tentara Pelajar No. 3A Cimanggu Bogor 16114

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

³Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 8 Juli 2010/Disetujui 18 Oktober 2010

ABSTRACT

Ethyl Methane Sulfonate (EMS) may induce mutation leading to somaclonal variation if it is used at the appropriate combination of EMS concentration and exposure time. Variation in somaclonal might be valuable as a source of resistance to plant pathogens including plant viruses. This study was aimed 1) to determine the optimum EMS concentration and incubation time that may induce somaclonal variation in chilli pepper; and 2) to evaluate the resistance of the somaclone to ChiVMV infection. Shoot-tip explants of five chilli pepper genotypes (Jatilaba, ICPN 12#4, PBC495, Helem, and Gelora) were treated with EMS at combination of different concentrations (0.25%, 0.5% 1.0% and control), and incubation time (15, 30, 60 min). Subsequently, each explant was grown in multiplication media (MS media + 5 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ TDZ), rooting media (MS media + 1 mg L⁻¹ NAA), and acclimatization media (mixture of soil : sand : compost 2:1:1 w/w). Our results showed that the higher EMS concentration and the longer incubation period the smaller the number of survive explants. The highest survival rate 20.4 % was achieved with 0.5% EMS in combination with 60 min incubation period. This treatment combination also showed induction of phenotypic variation. Two somaclonal plants derived from Gelora genotype, designated as somaclones K1 and K2, survived until fruit development and maturation. A total of 245 progenies of K1 and 243 progenies of K2, respectively were evaluated for their resistance to ChiVMV infection through mechanical inoculation using ChiVMV-Cikabayan isolate. Following the detection of ChiVMV using DAS-ELISA, it was confirmed that 4.09% of the somaclonal progenies were resistance to ChiVMV.

Keywords: *Capsicum annuum* L., ChiVMV, ethyl methane sulfonate, induce mutation, resistance

PENDAHULUAN

Tanaman cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas andalan hortikultura di Indonesia. Tanaman tersebut ditanam di seluruh provinsi di Indonesia dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi sehingga mendapat prioritas untuk dikembangkan. Produktivitas cabai di Indonesia mencapai 5.85 ton ha⁻¹ (Direktorat Bina Program Tanaman Pangan dan Hortikultura RI, 2004). Sampai saat ini produktivitas cabai di Indonesia masih sangat rendah apabila dibandingkan dengan potensinya yang dapat dicapai yaitu 10 ton ha⁻¹ (Biro Pusat Statistik, 2009).

Salah satu faktor penyebab rendahnya produksi cabai secara nasional adalah adanya gangguan hama dan penyakit.

Beberapa laporan penelitian menunjukkan bahwa salah satu virus utama yang menyerang tanaman cabai adalah *Chilli Veinal Mottle Potyvirus* (ChiVMV) (Duriat 1996; Womdim *et al.*, 2001). Infeksi ChiVMV menjadi penting karena kerugian yang ditimbulkannya cukup besar. Strategi pengendalian penyakit yang disebabkan oleh ChiVMV harus diarahkan pada pengembangan varietas tahan. Bila sumber gen ketahanan terhadap virus sangat terbatas, maka salah satu metode yang dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman cabai adalah dengan induksi keragaman somaklonal melalui kultur *in vitro*. Pemanfaatan fenomena variasi somaklonal dapat dikombinasikan dengan induksi mutasi pada eksplan, sehingga lebih besar peluang terjadinya mutasi untuk memperoleh varian yang diinginkan.

Pemuliaan mutasi merupakan suatu metode yang saat ini banyak digunakan sebagai upaya untuk memperluas variasi genetik tanaman. Diantara mutagen kimia, *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dilaporkan sebagai salah

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: ifa_biogen@yahoo.com

satu bahan yang efektif menginduksi mutasi (Natarajan, 2005). EMS pada umumnya menyebabkan mutasi titik yaitu terjadinya delesi pasangan basa tertentu dalam kromosom. Senyawa EMS merupakan senyawa alkali yang berpotensi sebagai mutagen untuk tanaman tingkat tinggi. Dibandingkan dengan mutagen kimia lainnya, EMS paling banyak digunakan karena mudah diperoleh, murah, dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Van Harten, 1998). Penggunaan EMS untuk memicu terjadinya mutasi telah banyak dilaporkan, diantaranya untuk mendapatkan tanaman paprika yang memiliki polen dan buah yang tahan penyakit busuk buah (Ashok *et al.*, 1995), tanaman pisang yang tahan atau toleran *banana bunchy top nanovirus* (Imelda *et al.*, 2000), tanaman kentang dengan keragaman fenotipe, dan tanaman tomat tahan penyakit busuk buah (Yudhvir, 1995). Semua studi tersebut menyatakan bahwa EMS adalah suatu mutagen yang efektif oleh karenanya dapat digunakan untuk menghasilkan mutan pada tanaman cabai. Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan keragaman genetik cabai melalui perlakuan EMS pada tunas terminal untuk mendapatkan tunas yang tahan ChiVMV.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian dan rumah kaca Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor dari bulan Agustus 2008 sampai dengan Desember 2009.

Tanaman cabai yang digunakan terdiri atas 5 genotipe yaitu Jatilaba, ICPN 12#4, PBC495, dan Helem yang berasal dari koleksi Plasma Nutfah Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB, dan Gelora yang merupakan genotipe yang dikembangkan oleh petani. Deteksi keberadaan virus pada tanaman cabai somaklonal yang diuji dilakukan menggunakan metode DAS-ELISA

Induksi Mutasi dengan EMS dan Regenerasi Tanaman Cabai

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas terminal kecambah cabai genotipe Jatilaba, ICPN 12#4, PBC495, Helem, dan Gelora. Potongan tunas terminal sepanjang 0.4 cm dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, masing-masing sebanyak 30 buah. Ke dalam tabung erlenmeyer dimasukkan EMS dengan konsentrasi larutan EMS (0%, 0.25%, 0.5% atau 1.0%) sehingga tunas terendam dan digoyang selama 15, 30 atau 60 menit dengan kecepatan 60 rpm. Selanjutnya tunas dicuci menggunakan aquades steril tiga kali kemudian ditanam pada media MS tanpa penambahan ZPT. Eksplan yang masih hidup pada konsentrasi (lethal concentration 50) LC₅₀ adalah genotipe Gelora dan PBC495, kemudian masing-masing 40 tunas dipilih dan dipindahkan ke media proliferasi. Setelah proliferasi selama enam bulan dalam media induksi multiplikasi tunas, diperoleh 20 tunas dari

masing-masing genotipe yang berhasil tumbuh yaitu Gelora dan PBC495. Selanjutnya tunas cabai tersebut ditumbuhkan dalam media pemanjangan tunas. Tunas cabai yang sudah memiliki ruas ditumbuhkan dalam media perakaran hingga membentuk *plantlet*. Media induksi tunas hasil modifikasi yang digunakan adalah MS (Murashige dan Skoog) dengan penambahan 5 mg L⁻¹ BAP dan 0.5 mg L⁻¹ thidiazuron (TDZ). Media pemanjangan tunas yang digunakan adalah media MS dengan penambahan 3 mg L⁻¹ BAP dan 0.5 mg L⁻¹ TDZ. Media perakaran adalah ½ MS dengan penambahan 1 mg L⁻¹ NAA (Manzila *et al.*, 2010).

Aklimatisasi Planlet Cabai

Planlet dari genotipe Gelora sebanyak 20 tanaman dan PBC495 sebanyak 14 tanaman yang telah berakar ditanam dalam pot plastik berisi campuran pasir dan kompos steril dengan perbandingan 1:1 (v/v), kemudian disungkup dengan kantong plastik bening untuk menjaga kelembaban. Aklimatisasi dilakukan selama 2 minggu sebelum dipindahkan ke ruang kedap serangga, bibit yang dihasilkan kemudian dipindahkan kedalam kantong plastik hitam (*polybag*) dengan ukuran 20 cm x 20 cm x 30 cm yang berisi media campuran tanah, pasir dan kompos dengan perbandingan 2:1:1 (b/b) sebanyak 5 kg dan dipelihara di rumah kaca hingga tanaman berbuah.

Pemeliharaan tanaman di rumah kaca meliputi penyiraman, pemupukan (pupuk majemuk NPK 15:15:15) dan pengendalian hama dan penyakit sesuai cara bercocok tanam cabai. Buah dari masing-masing tanaman diberi nomor dan bijinya dikeringanginkan. Peubah yang diamati yaitu tinggi tanaman, tinggi percabangan dikotomus, jumlah percabangan, ada atau tidaknya bunga, waktu berbunga, dan fenotipe khusus pada tanaman seperti daun menggulung, daun variegata, dan albino.

Inokulasi ChiVMV pada Tanaman Cabai Somaklonal Hasil Perlakuan EMS

Bibit tanaman cabai hasil aklimatisasi ditanam di rumah kaca dengan menggunakan baki perbanyak tanaman. Setiap baki perbanyak tanaman berisi 24 lubang tanam. Media tanam yang digunakan adalah campuran tanah : pupuk kandang : kompos dengan perbandingan 2:1:1 (b/b). Tanaman cabai kontrol, ditumbuhkan pada baki perbanyak tanaman yang sama sebagai pembanding.

Inokulasi ChiVMV dilakukan menggunakan metode inokulasi mekanis baku dengan ChiVMV isolat Cikabayan sebagai sumber inokulum. Setiap tanaman diinokulasi pada 2 helai daun termuda yang telah membuka penuh (30 hari setelah semai). Pengamatan gejala penyakit dilakukan satu hari setelah inokulasi sampai 21 hari setelah inokulasi. Deteksi ChiVMV pada tanaman yang diinokulasi dilakukan dengan metode DAS-ELISA (Kumari *et al.*, 2006). Pengelompokan respon tanaman mengikuti kriteria yang dikemukakan oleh Green (1991).

Penapisan dan Evaluasi Tanaman Somaklonal Cabai terhadap Infeksi ChiVMV

Evaluasi ketahanan pada tanaman somaklonal dilakukan terhadap tanaman yang ditumbuhkan dari biji hasil tanaman somaklonal 1 (K1) dan somaklonal 2 (K2). Sebanyak 245 dan 243 benih K1 dan K2 dipilih secara acak. Setelah inokulasi ChiVMV secara mekanis, gejala yang muncul pada masing-masing tanaman K1 dan K2 diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh EMS terhadap Pertumbuhan Tunas

Perlakuan perendaman menggunakan larutan EMS berpengaruh terhadap daya tumbuh tunas terminal. Persentase kematian tunas terminal dipengaruhi oleh konsentrasi EMS dan waktu perendaman. Semakin tinggi konsentrasi EMS dan semakin lama waktu perendaman yang diberikan, semakin meningkat persentase tunas yang mati (Tabel 1).

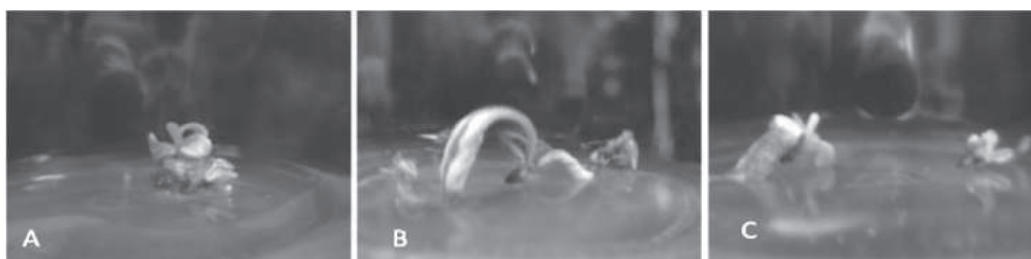
Eksplan yang mengalami kematian memperlihatkan perubahan warna beberapa saat setelah diperlakukan. Perubahan awal terjadi pada bagian potongan eksplan yang pada awalnya berwarna putih kehijauan, namun kemudian berubah secara bertahap menjadi coklat kehitaman. Eksplan yang semula berwarna putih kehijauan juga dapat mengalami perubahan warna secara cepat menjadi coklat. Tunas terminal yang hidup adalah tunas terminal yang tetap berwarna putih kehijauan setelah perlakuan EMS (Gambar 1). Eksplan yang tidak diperlakukan dengan EMS tidak mengalami perubahan warna. Warna yang semula putih lama kelamaan menjadi kehijauan. Perubahan terlihat pada jaringan hasil potongan yang sedikit mengalami pembengkakan.

Tunas terminal dengan perlakuan EMS 1% dan waktu perendaman 60 menit mengalami kematian jaringan dengan persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan yang diberi perlakuan konsentrasi EMS lebih rendah dan waktu perendaman lebih singkat (Tabel 1). Pada konsentrasi EMS 0.25% dengan waktu perendaman 15, 30 atau 60 menit persentase kematian jaringan berturut-turut berkisar 10-36%, 10-46%, dan 30-80%; pada konsentrasi EMS 0.5% berturut

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi EMS dan waktu perendaman terhadap kematian jaringan eksplan cabai

Waktu perendaman dan konsentrasi EMS	Persentase kematian eksplan pada tiap genotipe (%)*				
	Jatilaba	ICPN 12# 4	PBC495	Helem	Gelora
15 menit					
0.25%	23	10	30	30	36
0.5%	47	37	57	30	80
1.0%	100	100	83	58	100
30 menit					
0.25%	17	10	33	30	46
0.5%	39	30	97	30	57
1.0%	100	100	100	80	75
60 menit					
0.25%	40	57	30	80	53
0.5%	69	83	60	96	60
1.0%	100	100	100	100	100
Kontrol 0%	10	27	23	20	10

Keterangan: * = Jumlah tanaman tiap perlakuan 100



Gambar 1. Penampakan eksplan genotipe cabai ‘Gelora’ pada perlakuan berbagai konsentrasi EMS dengan waktu perendaman 60 menit; A) EMS 0.25%; B) EMS 0.5%; C) EMS 1%

turut adalah 30-80%, 30-97% dan 49-96%; sedangkan pada konsentrasi EMS 1% dengan masa perendaman yang sama seperti di atas kematian jaringan berkisar antara 58-100% (Tabel 1). Peningkatan konsentrasi EMS dan waktu perendaman cenderung menghambat pertumbuhan sel-sel dan tidak menutup kemungkinan menimbulkan kematian jaringan. Aplikasi EMS dapat mempengaruhi terjadinya penghambatan pada pembelahan dan pertambahan jumlah sel (Dhanavel *et al.*, 2008). Kematian sel tanaman akibat mutagen kimia dapat terjadi secara langsung, yaitu kerusakan DNA atau akibat tidak langsung, yaitu adanya pengaruh toksik sehingga mengakibatkan sel tidak mampu bermultiplikasi membentuk tunas (Biswas *et al.*, 2002)

Kelima genotipe uji yaitu Jatilaba, ICPN 12#4, PBC495, Helem dan Gelora memperlihatkan respon yang berbeda terhadap perlakuan EMS yang diberikan. Pada konsentrasi EMS 0.5% kematian jaringan terbanyak terlihat pada genotipe Jatilaba, ICPN 12#4, dan Helem. Konsentrasi EMS yang dibutuhkan untuk menimbulkan mutasi setiap tanaman berbeda-beda tergantung dari tanaman dan jenis eksplan yang digunakan misalnya pada tanaman anggur, gandum, dan pisang konsentrasi EMS untuk LC₅₀ berturut-turut adalah 0.04%, 0.8% dan 0.7% (Imelda *et al.*, 2000; Sakin, 2002; Singh *et al.*, 2007)

Berdasarkan persentase jaringan dan jumlah eksplan yang tetap hidup, nilai LC₅₀ terjadi pada konsentrasi EMS 0.5% dan waktu perendaman 60 menit. LC₅₀ adalah nilai dimana 50% dari eksplan yang diperlakukan dengan EMS tetap hidup dan dapat diregenerasikan. Pada konsentrasi EMS 0.5% dan waktu perendaman 60 menit, genotipe PBC495 dan Gelora masih memiliki kemampuan bertahan hidup sampai 40% (Tabel 1). Pada *Vigna unguiculata* L. Walp nilai LC₅₀ diperoleh pada konsentrasi EMS 15 mM atau setara dengan 0.2% EMS (Girija dan Dhanavel, 2009). Pada penelitian lain, pemberian 0.2% EMS pada jaringan tanaman *Tradescantia* mampu menyebabkan terjadinya mutasi atau menyebabkan terjadinya substitusi DNA

hingga 50% (Moya *et al.*, 2001). Jabeen dan Mirza (2002) melaporkan bahwa biji cabai yang diberi perlakuan EMS 0.5% selama 6 jam mampu meningkatkan variasi genetik. Selain merupakan agen pengkelat, EMS juga mengandung bahan *mesylate ester* yang berpotensi sebagai bahan mutagenik, karsinogenik, dan teratogenik (Sarat *et al.*, 2010).

Pengaruh EMS terhadap Multiplikasi Tunas

Perendaman jaringan dalam larutan EMS berpengaruh terhadap kemampuan jaringan bermultiplikasi membentuk tunas (Tabel 2). Eksplan tunas terminal dari setiap genotipe cabai yang diberi perlakuan EMS 0.5% selama 60 menit menunjukkan waktu inisiasi tunas yang berbeda. Waktu inisiasi tunas untuk genotipe PBC495 dan Gelora menjadi lebih cepat dengan perlakuan EMS, sedangkan inisiasi tunas pada genotipe Jatilaba membutuhkan waktu lebih lama setelah diberi perlakuan EMS. Terjadinya perbedaan dalam daya inisiasi tunas dapat berhubungan dengan faktor genetik dari genotipe maupun penurunan kualitas jaringan setelah perendaman EMS sebagai akibat toksisitas EMS. Hal serupa dilaporkan oleh peneliti terdahulu, bahwa perendaman dengan EMS pada benih cabai dapat menurunkan tingkat perkecambahan (Jabeen dan Mirza, 2002). Secara umum tidak ada perbedaan dalam rata-rata tinggi tunas antara genotipe yang diberi perlakuan EMS 0.5% selama 60 menit dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Rata-rata jumlah tunas genotipe PBC495 dan Gelora yang diberi perlakuan EMS 0.5% selama 60 menit cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan pada kondisi kontrol. Pada konsentrasi EMS 0.5% dan masa perendaman 60 menit jumlah tunas yang dihasilkan dari masing-masing genotipe Jatilaba, PBC495 dan Gelora berturut-turut adalah 2.56 ± 1.47; 4.93 ± 2.62; 6.44 ± 0.95 (Tabel 2). Jumlah, tinggi, dan kualitas tunas yang rendah diduga karena perlakuan EMS yang bersifat sebagai agen pengkelat dapat menyebabkan

Tabel 2. Waktu inisiasi tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun yang terbentuk pada eksplan tunas terminal Jatilaba, PBC495 dan Gelora yang ditanam pada media MS + 5 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ TDZ

Perlakuan pada beberapa genotipe cabai	Rata-rata waktu inisiasi tunas (minggu)	Rata-rata tinggi tunas (cm)	Rata-rata jumlah tunas	Rata-rata jumlah daun
EMS 0.5% 60 menit				
Jatilaba	10.18 ± 0.69	0.53 ± 0.32	2.56 ± 1.47	2.22 ± 1.04
PBC495	6.73 ± 0.67	0.94 ± 0.48	4.93 ± 2.62	2.61 ± 1.16
Gelora	6.22 ± 0.61	1.38 ± 0.29	6.44 ± 0.95	3.15 ± 0.53
Kontrol				
Jatilaba	7.91 ± 0.83	0.53 ± 0.08	1.36 ± 0.67	roset
PBC495	8.08 ± 2.83	0.83 ± 0.28	2.91 ± 1.04	2.0 ± 0.77
Gelora	7.00 ± 2.45	1.38 ± 0.46	4.73 ± 1.62	3.73 ± 1.42

Keterangan: MS = Murasige dan Skoog; BAP = Benzil Amino Purin; TDZ = Thidiazuron

terjadinya mutasi titik, sehingga mereduksi sifat fertilitas, penghambatan kemampuan jaringan membentuk tunas, bahkan dapat menyebabkan kematian (Green *et al.*, 2003).

Pengaruh pemberian 0.5% EMS dengan masa perendaman 60 menit dapat bersifat positif, yaitu mempercepat waktu inisiasi tunas dan meningkatkan jumlah tunas (seperti pada genotipe PBC495 dan Gelora), namun dapat pula bersifat negatif yaitu tinggi tunas tidak mengalami perubahan (roset) sehingga menyulitkan pada saat induksi perakaran. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa penggunaan EMS 0.5% dan perendaman 3 jam dapat menginduksi adanya perubahan morfologi tanaman (Jabeen dan Mirza, 2004). Perubahan tanaman akibat mutagen kimia menyebabkan terjadinya stimulasi biosintesis beberapa asam amino sehingga meningkatkan aktivitas berbagai enzim seperti *polyphenol oxidase*, *catalase* dan *peroxidase* sehingga menghambat pertumbuhan tunas dan daun (Lage dan Esquibel, 1997). Tidak semua tunas yang dihasilkan dapat membentuk akar (Tabel 2). Gelora dan PBC495 mempunyai kemampuan untuk membentuk akar walaupun lambat. Berbeda dengan Jatilaba, walaupun mampu membentuk tunas tapi kemampuannya dalam membentuk akar sangat rendah (data tidak disajikan). Jumlah akar dan panjang akar yang dihasilkan dapat meningkatkan daya serap hara untuk proses metabolisme dan fotosintesis sehingga memacu pertumbuhan tunas (Arous *et al.*, 2001)

Karakter Tanaman Somaklonal Hasil Aklimatisasi

Tanaman somaklonal yang dapat diaklimatisasi adalah tanaman yang membentuk akar yaitu PBC495 dan Gelora. Pada proses aklimatisasi banyak *planlet* yang tidak mampu bertahan terhadap perubahan lingkungan dari kondisi *in vitro*, kemungkinan karena lapisan lilin atau kutikula tidak berkembang baik, lignifikasi batang kurang berkembang, dan stomata pada daun tidak berkembang (Hazarika, 2003). *Planlet* yang berhasil diaklimatisasi hanya berasal dari genotipe Gelora. Setelah melalui tahapan aklimatisasi dan pemeliharaan di ruang kultur dan ruang kedap serangga, yang mampu bertahan hidup hanya dua varian. Kedua varian somaklonal tersebut mampu menghasilkan buah dan benih cabai. Tanaman somaklonal 1 (K1) menghasilkan 70 buah, sedangkan varian somaklonal 2 (K2) hanya menghasilkan 16 buah. Varian K1 dan K2, selanjutnya digunakan dalam kegiatan evaluasi ketahanan terhadap ChiVMV.

Secara umum penampilan tanaman somaklonal tidak jauh berbeda dengan tanaman normal. Walaupun demikian kedua tanaman somaklonal cenderung memiliki tinggi tanaman dan tinggi cabang dikotomus yang lebih rendah dibandingkan tanaman kontrol (Tabel 3). Jumlah percabangan tanaman K1 dan K2 cenderung lebih banyak (17 dan 13) dibandingkan tanaman kontrol (12). Kedua tanaman somaklonal memiliki waktu berbunga lebih

lama dibandingkan tanaman kontrol (Tabel 3). Selain itu penampilan daun yang menggulung pada tanaman somaklonal menunjukkan adanya variasi morfologi akibat perlakuan EMS. Pengukuran terhadap buah dari hasil tanaman somaklon menunjukkan adanya perbedaan terutama pada bobot buah. Tanaman somaklonal 1 (K1) cenderung menghasilkan buah lebih besar dibandingkan tanaman somaklonal 2 (K2) (Tabel 4).

Tabel 3. Karakter varian morfologi pada tanaman somaklon (K1 dan K2) hasil induksi mutasi dengan EMS 0.5% dan waktu perendaman 60 menit

Varian morfologi	K1	K2	Tanaman kontrol
Tinggi tanaman (cm)	111	124	143
Tinggi dikotomus (cm)	28	27	43
Daun menggulung	+	+	-
Daun variegata	-	-	-
Albino	-	-	-
Bunga	+	+	+
Jumlah percabangan	17	13	12
Waktu berbunga*)	53	57	40

Keterangan : - = Daun tidak menggulung; daun tidak variegata; tidak albino
 + = Daun menggulung; bunga normal
 *) hari setelah pindah tanam

Tabel 4. Karakter buah yang dihasilkan oleh tanaman somaklonal hasil induksi mutasi dengan EMS 0.5% dan waktu perendaman 60 menit

Karakter buah*	K1	K2	Tanaman kontrol
Bobot buah (g)	3.58 ± 1.31	2.83 ± 1.09	3.43 ± 0.80
Panjang buah (cm)	8.22 ± 0.89	7.63 ± 1.45	7.83 ± 0.67
Panjang tangkai buah (cm)	3.20 ± 0.44	2.91 ± 0.29	2.89 ± 0.30
Diameter buah (cm)	3.16 ± 0.44	2.91 ± 0.30	2.90 ± 0.36

Keterangan: * Dihitung berdasarkan rata-rata pengukuran 70 buah untuk K1 dan 16 buah untuk K2

Penapisan dan Evaluasi Tanaman Somaklonal Cabai terhadap Infeksi ChiVMV

Jumlah tanaman bergejala pada populasi K1 adalah 229 tanaman dari total 245 tanaman uji, sedangkan pada populasi K2 adalah 223 tanaman dari total 243 tanaman uji. Persentase tanaman terinfeksi dari kedua populasi somaklonal tersebut berdasarkan kriteria Green (1991) berturut turut adalah 93% dan 91.7%, sedangkan tanaman yang tidak memperlihatkan gejala berturut-turut adalah 6.5% dan 8.23% dari seluruh tanaman uji (Tabel 5). Gejala yang tidak nampak pada tanaman yang diinfeksi dengan virus ChiVMV merupakan salah satu indikasi bahwa tanaman tersebut adalah tahan. Tanaman yang tahan terhadap virus mampu menghambat replikasi virus dan penyebarannya di dalam tanaman sehingga konsentrasi virus di dalam tanaman menjadi rendah (Agrios, 2005). Fenomena lain adalah bahwa genom tanaman mempunyai sinyal tertentu sehingga reseptor yang dimilikinya akan mengenali virus yang masuk ke dalam sel tanaman dan akan memicu munculnya

induksi ketahanan Hull (2002). Keberadaan ChiVMV pada tanaman uji selanjutnya dikonfirmasi melalui deteksi DAS-ELISA. Berdasarkan hasil ELISA diketahui bahwa jumlah tanaman terinfeksi pada masing-masing tanaman somaklonal lebih tinggi dibandingkan hasil pengamatan gejala. Hasil tersebut menunjukkan adanya fenomena gejala lemah atau gejala laten. Gejala ChiVMV pada tanaman cabai genotipe Gelora mula-mula memperlihatkan belang atau spot-spot hijau di beberapa bagian permukaan daun yang lama kelamaan warna belang hijau tersebut menyebar dan menyatu ke tulang daun. Pada tanaman cabai di lapang yang terinfeksi virus ini umumnya memperlihatkan gejala yang bervariasi. Gejala yang sering muncul adalah lesio lokal, mosaik, *vein clearing*, bilur, nekrosis, namun ada pula yang tidak memperlihatkan gejala atau disebut gejala yang lemah sehingga tidak terdeteksi secara visual (Siriwong *et al.*, 1995). Hasil deteksi ini juga menunjukkan bahwa teknik DAS-ELISA cukup sensitif yaitu mampu mendeteksi ChiVMV sampai pengenceran 1:1000 (Opriana, 2009).

Tabel 5. Penapisan dan evaluasi respon klon cabai hasil induksi mutagen kimia EMS terhadap ChiVMV

Jumlah tanaman uji	Jumlah tanaman terinfeksi (%)		Jumlah tanaman toleran (%)	
	Gejala	DAS-ELISA	Tidak bergejala	DAS-ELISA
245	229 (93.0)	234 (95.5)	16 (-6.50)	11(4.48)
243	223 (91.7)	234 (96.2)	20 (8.23)	9 (3.70)

KESIMPULAN

1. Semakin tinggi konsentrasi EMS dan semakin lama waktu perendaman, maka persentase eksplan yang mati meningkat.
2. EMS 50% dan perendaman 60 menit menimbulkan keragaman morfologi.
3. Genotipe Gelora menghasilkan dua genotipe somaklon dan dari uji ketahanan terhadap virus ChiVMV di dapatkan 4.09% yang tahan terhadap ChiVMV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Badan Litbang Pertanian dan Pimpinan Proyek Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) atas dukungan dana untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*, Edisi ke-5. Elsevier Academic Press, New York.

Arous, S., M. Boussaid, M. Marrachi. 2001. Plant regeneration from zygotic embryo hypocotyls of Tunisian chili (*Capsicum annum* L.). *J. Appl. Hort.* 3:17-22.

Ashok, Y.P., P. Sharma, A. Yadav. 1995. Effect of different ethyl methane sulfonate treatments on pollen viability and fruit rot incidence in bell pepper. *Ann. Agric. Res.* 16:442-444.

Biro Pusat Statistik. 2009. *Produksi Sayuran Indonesia*. Jakarta. <http://www.bps.go.id>. [17 Mei 2010].

Biswas, B., A. Chowdhury, Bhattacharya, B. Mandal. 2002. In vitro screening for increasing drought tolerance in rice. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 38:525-530.

Direktorat Bina Program Tanaman Pangan dan Hortikultura RI. 2004. *Luas Panen, Rata-rata Hasil dan Produksi Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Departemen Pertanian. Jakarta.

Dhanavel, D., P. Pavadai, L. Mullainathan, D. Mohana, G. Raju, M. Girija, C. Thilagavathi. 2008. Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp.) *Afr. J. Biotechnol.* 7:4116-4127.

Duriat, A.S. 1996. Cabai merah: komoditas prospektif dan andalan. hal. 1-3. *Dalam* A.S. Duriat, W. Widjaja A. Hadisoeganda, T.A. Soetiarso, L. Prabaningrum (Eds.) *Teknologi Produksi Cabai Merah*. Pusat

Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.

- Girija, M., D. Dhanavel. 2009. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, Ethyl Methane Sulfonate, and their combined treatments in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Global J. Mol. Sci.* 4:68-75.
- Green, E.A., C.A. Codomo, N.E. Taylor, J.G. Henikoff. 2003. Spectrum of chemically induced mutation from a large-scale reverse-genetic screen in Arabidopsis. *J. Genetics* 164:731-740.
- Green, S.K. 1991. Guidelines for diagnostic work in plant virology. *AVRDC Tech. Bull.* 15:1-63.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*, Edisi ke-4. Academic Press, San Diego.
- Hazarika, B.N. 2003. Acclimatization of tissue cultured plants. *Curr. Sci.* 85:1704-1712.
- Imelda, M., P. Deswina, S. Hartati, A. Estiati, S. Atmowijoyo. 2000. Chemical mutation by Ethyl Methane Sulfonate (EMS) for *bunchy top virus* resistance in Banana. *Annales Bogorienses* 7:19-25.
- Jabeen, N., B. Mirza. 2002. Ethyl methane sulfonate enhances genetic variability in *Capsicum annuum*. *Asian J. Plant Sci.* 1:425-428.
- Jabeen, N., B. Mirza. 2004. Ethyl methane sulfonate induces morphological mutations in *Capsicum annuum*. *Int. J. Agri. Biol.* 6:340-345.
- Kumari, S.G., K.M. Makkouk, N. Attar. 2006. An improved antiserum for sensitive serologic detection of chickpea chlorotic dwarf virus. *J. Phytopathol.* 154:129-133.
- Lage, L.S.C., M.A. Esquibel. 1997. Growth stimulation produced by methylene blue treatment in sweet potato. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 48:77-81.
- Manzila, I., S.H. Hidayat, I. Mariska, S. Sujiprihati. 2010. Induksi kalus dan daya regenerasi tunas cabai melalui kultur *in vitro*. *J. AgroBiogen* 6:1-11.
- Moya, C.A., A.S. Licas, G.Z. Gonzales, O.T. Bugarin, E.P. Camberos, A.F. Velasco. 2001. Evaluation of genotoxic activity of maleic hydrazide, ethyl methane sulfonate, and N-nitroso diethylamine in *Tradescantia*. *Salut publica de Mexico* 43:563-569.
- Natarajan, A.T. 2005. Chemical mutagenesis: from plants to human. *Curr. Sci.* 89:312-317.
- Opriana E. 2009. Metode deteksi untuk pengujian respon ketahanan beberapa genotipe cabai terhadap infeksi *Chilli Veinal Mottle Potyvirus* (ChiVMV). Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sakin, M. A. 2002. The use of induced micro-mutations for quantitative characters after EMS and gamma ray treatments in Durum wheat breeding. *Pak. J. Appl. Sci.* 2:1102-1107.
- Sarat, M., M. Ramakrishna, Y. Suresh, S. Harikrishna, C. Rambabu, K. Koshore, K.N. Reddy. 2010. Low-level determination of residual methyl methane sulfonate and ethyl methane sulfonate in pharmaceuticals by gas chromatography with mass spectrometry. *E. J. Chem.* 7:629-635.
- Singh, S.K., V. Yerramilli, R.N. Khawale. 2007. Molecular marker-assisted selection of *in vitro* chemical mutagen-induced grapevine mutants. *Curr. Sci.* 92:1056-1060.
- Siriwong, P., K. Kittipakorn, M. Ikegami. 1995. Characterization of chilli vein-banding mottle virus isolated from pepper in Thailand. *Plant Pathol.* 44:718-727.
- Van Harten, A.M. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. Cambridge University Press, New York.
- Womdim, N.R., I.S. Swai, M.L. Chadha, G.K. Selassie, G. Marchoux. 2001. Occurrence of Chilli veinal mottle virus in *Solanum aethiopicum* in Tanzania. *Plant Dis.* 85:801
- Yudhvir, S. 1995. Mutagenic effect of N-nitroso-N-methyl Urea and ethyl ethane sulfonate on the incidence of fruit rot in tomato. *New Agriculturist* 6:89-94.