

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

**PERBAIKAN SIFAT LADA (*Piper nigrum* L.) MENGGUNAKAN
MUTAGEN ETHYL METHANE SULPHONATE (EMS)
(*Improved properties of Pepper (Pepper nigrum L.) using Mutagen Ethyl Methane
Sulphonate (EMS)*)**

Iman Suswanto^{*}, Indri Hendarti, Tris Haris Ramadhan

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Tanjungpura, Pontianak
Jalan Prof. Hadari Nawawi, Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia (78121)

*Corresponding author: iman.suswanto@faperta.untan.ac.id

ABSTRACT

The study aimed to determine the LC₅₀ using EMS on pepper and obtain a better mutant than the parents. The material used was Indian variety pepper, and the chemical mutagen was Ethyl Methane Sulphonate (EMS). Two hundred Indian Cultivar pepper seeds obtained from community gardens were treated with EMS mutagen at a concentration of 0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8, and 1.0% with 3 hours of immersion. Observations consisted of germination, mutagen damage and agronomic characters. The LC₅₀ calculation was obtained from the regression relationship of dead sprouts with several doses of EMS application which had the best fitting curve with the highest determination value (R²). The results showed that pepper germination was relatively low (62%). The impact of using EMS mutagens causes growth inhibition or even death of sprouts. The higher the concentration, the higher the mortality rate. The relationship between the concentration of mutagens and the mortality rate follows the polynomial equation $y = 188.45x - 97.21x^2 + 2.71$ with a determination value of 99%. Based on the regression model, the LC₅₀ value is 0.3%. In this study, the EMS concentration of 0.2% succeeded obtaining a better mutant pepper than the parental. indicated by increasing the length and width of the cotyledons, respectively, 20 and 24% greater than the control.

Keywords: cotyledons, EMS, LC₅₀, mutant pepper

ABSTRAK

Penelitian bertujuan menentukan LD₅₀ penggunaan EMS pada lada dan memperoleh lada mutan yang lebih baik dari tetua. Bahan uji menggunakan lada varietas India dan mutagen kimia Ethyl Methane Sulphonate (EMS). Sebanyak 200 biji lada India yang diperoleh dari kebun masyarakat diberi perlakuan mutagen EMS pada dosis 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0% dengan lama perendaman 3 jam. Pengamatan terdiri atas daya kecambah, daya rusak mutagen, dan karakter agronomis. Penghitungan LC₅₀ diperoleh dari hubungan regresi kecambah mati dengan beberapa dosis aplikasi EMS yang memiliki kesesuaian *best fitting curve* dengan standar determinasi (R²) tertinggi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perkecambahan lada relatif rendah sebesar 62%. Dampak penggunaan mutagen EMS menyebabkan hambatan pertumbuhan atau bahkan kematian kecambah. Semakin tinggi konsentrasi diikuti oleh tingkat kematian yang semakin tinggi pula. Adapun hubungan konsentrasi mutagen dengan tingkat kematian mengikuti persamaan polinomial $y = 188,45x - 97,21x^2 + 2,71$ dengan standar determinasi 99%. Berdasarkan model regresi diperoleh nilai LD₅₀ sebesar 0,3%. Pada penelitian ini, penggunaan EMS pada konsentrasi 0,2% berhasil memperoleh lada mutan yang lebih baik dari tetuanya, ditunjukkan dengan peningkatan

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

ukuran panjang dan lebar kotiledon berturut-turut 20 dan 24% lebih besar dibandingkan kontrol.

Kata Kunci: EMS, lada mutan, LD₅₀, kotiledon

PENDAHULUAN

Saat ini pemanfaatan lada (*Piper nigrum* L.) bukan saja terbatas pada penambah cita rasa masakan, tetapi juga kandungan senyawa bioaktif untuk tujuan pengobatan. Seiring dengan meningkatnya kebutuhan manusia maka sifat-sifat yang dimiliki oleh varietas lada juga harus lengkap sehingga dapat memenuhi kebutuhan pasar seperti buah besar, produksi tinggi, kandungan bahan aktif tinggi, tahan terhadap cekaman lingkungan biologi maupun fisik (Takooree et al., 2019). Salah satu upaya meningkatkan keragaman sifat lada sesuai dengan kebutuhan adalah melalui perakitan varietas menggunakan mutagen kimia. Mutagen kimia EMS sering digunakan pada bahan-bahan tanaman berupa biji, plantlet kultur jaringan maupun polen. Biji atau bagian tanaman yang berukuran kecil seperti biji cabai, tembakau, padi, lada, sawi dan lain-lain efektif diperlakukan dengan mutagen kimia karena biaya relatif murah, penggunaan mutagen sederhana dan peluang keberhasilan induksi mutan relatif tinggi (Brunelle et al., 2017; Suteja et al., 2019). Sebaliknya, penggunaan EMS pada bahan tanaman berukuran besar seperti umbi, rimpang atau umbi lapis akan efisien menggunakan jaringan titik tumbuh.

Beberapa kultivar/varietas unggul yang telah dilaporkan dari keberhasilan induksi kimiawi maupun radiasi berupa perbaikan ketahanan terhadap hama/penyakit, perbaikan kandungan nutrisi, ketahanan cekaman lingkungan dan lain-lain (Jankowicz-cieslak et al., 2012). Aplikasi

mutasi banyak dilakukan pada tanaman hias yang sangat mengharapkan keunikan dari bentuk atau warna (Handayati, 2013). Menurut Triani et al. (2021), sifat-sifat padi mutan yang dikehendaki seperti kerdil, kematangan biji lebih awal dan responsif terhadap pemupukan. Pada kacang tanah, perendaman biji dengan 0.39% sodium azida menghasilkan biji yang mengandung oleat lebih tinggi (Wang et al., 2011). Varian abaka lebih tahan terhadap *Fusarium* (Purwati, et al., 2008).

Keberhasilan mutasi tiap tanaman tergantung pada konsentrasi dan lama perendaman (Yanti, 2012). Menurut Alcantara et al. (1996) mutagen EMS dapat digunakan pada rentang konsentrasi 0,5% sampai 1,5% dengan lama perendaman 3 - 9 jam. Dosis efektif induksi mutasi pada berbagai komoditas terjadi pada LD₅₀ (*Lethal dose* 50) atau saat terjadi kematian 50% dari populasi diuji. Perbaikan sifat tanaman dengan EMS terjadi akibat perubahan struktur pada gen atau kromosom akibat alkilasi guanine basa sehingga G membentuk pasangan G-T yang dalam kondisi normal membentuk pasangan G-C. Mutasi ini menghasilkan tingkat variabilitas atau keragaman genetik dengan munculnya sifat genetik baru pada tanaman dalam jumlah yang sangat tinggi. Perubahan pada mutan mengalami perubahan morfologi seperti panjang batang/akar tanaman, diameter batang, ukuran daun, bentuk daun, perbaikan proses fisiologi dan kadang-kadang diikuti fenomena chimery (Kristina & Syahid, 2015).

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

Penelitian bertujuan menentukan LC₅₀ sebagai konsentrasi acuan untuk mendapatkan peluang maksimal terbentuknya lada mutan dan memperoleh lada mutan yang lebih baik dari tetuanya dari karakter pertumbuhan tinggi hipokotil, ukuran kotiledon dan panjang akar.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan berupa benih lada varietas India yang diperoleh dari kebun masyarakat. Perlakuan EMS pada benih lada sesuai metoda Alcantara et al. (1996). Benih lada direndam dalam aquades selama 12 jam untuk memudahkan pengupasan kulit dari biji. Selanjutnya benih lada sebanyak 200 butir, masing-masing direndam dalam EMS yang dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7,0 dengan dosis berturut-turut 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0% selama 3 jam pada suhu ruang. Biji lada kontrol direndam dengan aquades. Berikutnya biji dicuci untuk menghilangkan sisa-sisa mutagen berturut-turut dengan 0,5% etil asetat dalam buffer fosfat pH 7,0 dilanjutkan dengan 5mM sodium tiosulfat pH 9.0 masing-masing selama 45 menit. Biji ditiriskan kemudian disemaikan dalam pot berisi media pasir dan gambut perbandingan 1 : 3 volume/volume. Perawatan perkecambah dilakukan dengan penyiraman air ledeng sampai biji berkecambah.

Pengamatan Variabel dan Analisis Data

Daya kecambah. Variabel ini diamati pada 30 hari setelah sebar (HSS) dengan metode Yufdi & Sunarti (1987). Biji berkecambah dihitung dengan membandingkan biji berkecambah menghasilkan kotiledon normal dibagi total biji yang ditanam. Selanjutnya kecambah lada dipindah ke pot

sampai berumur 2 BSS untuk pengamatan lebih lanjut.

Biji rusak (Injured seed). Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui dampak kerusakan/kematian kecambah akibat penggunaan mutagen sesuai metoda Arisha et al. (2014). Pengamatan bersamaan dengan pengamatan daya kecambah. Adapun untuk menghitung biji rusak sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Biji Rusak} \\ & = \frac{\text{Kontrol} - \text{Perlakuan}}{\text{Kontrol}} \times 100\% \end{aligned}$$

Penetapan LC₅₀. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui dosis mutagen yang menyebabkan kematian 50% populasi. LC₅₀ diperoleh dari pengamatan biji rusak yang dihitung dengan hubungan regresi antara dosis mutagen (variabel independent Y) dan jumlah kematian kecambah (variabel indepenen x) menggunakan fungsi *trendline program* Excel. Pemilihan model didasarkan pada nilai R kuadrat tertinggi (*best fitting curve*).

Karakter agronomis lada. Variabel terdiri atas: panjang hipokotil dan panjang akar diukur masing-masing dari leher akar sampai kotiledon kecambah dan dari pangkal batang sampai ujung akar terpanjang menggunakan mistar. Kotiledon diukur panjang dan lebar menggunakan mistar.

Analisis data. Data pengamatan karakter agronomis berupa hipokotil, akar dan kotiledon dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan rata-rata lada mutan pada masing-masing perlakuan dosis EMS dengan nilai rata-rata kontrol beserta standar deviasinya. Analisis data sesuai dengan metoda Hartati et al. (2017), lada mutan dianggap memiliki sifat yang lebih

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

baik/unggul apabila nilai rata-rata karakter lebih tinggi dari kontrol.

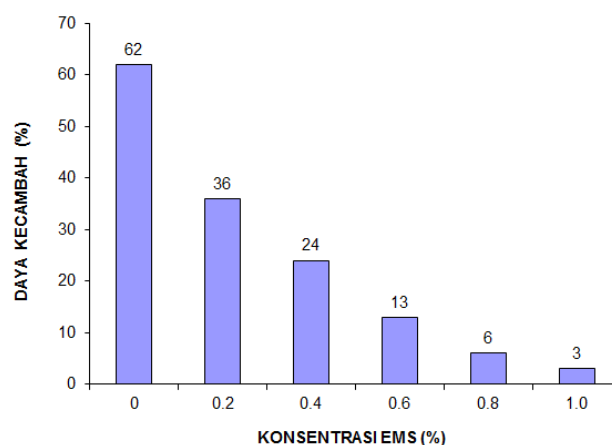
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Daya Kecambah

Hasil pengamatan daya kecambah pada Gambar 1 menunjukkan bahwa persentase perkecambahan biji lada sebesar 62%. Di duga keberhasilan perkecambahan ditentukan oleh tingkat kematangan, fertilitas biji dan sifat dormansi biji. Dalam satu tandan buah lada umumnya memperlihatkan tingkat kemasakan bervariasi, sebagian kulit buah sudah berwarna merah dan sebagian lagi masih hijau. Hal ini berarti tingkat kemasakan fisiologis biji dalam satu tandan beragam sehingga daya kecambah biji juga berbeda-beda. Secara morfologi lada memiliki bunga majemuk yang tersusun dalam satu tangkai tandan bunga. Bunga bersifat hermafrodit, benang sari dan kepala putik terletak dalam satu bunga, tetapi kedua jenis bunga terpisah dan bunga tidak dilengkapi dengan hiasan bunga/*perianthium* serta bagian daun pelindung/*bractea* justru menutupi sebagian besar bunga. Bentuk

bunga demikian membutuhkan agent pembantu penyerbukan yang cukup baik seperti tiupan angin maupun serangga polinator. Kegagalan penyerbukan dapat disebabkan oleh ketidakhadiran serangga maupun angin terlalu kencang akibat cuaca buruk akan menghambat pembentukan buah fertil. Hal ini berarti keberhasilan perkawinan pada kebun lada masyarakat relatif rendah akan berpengaruh pada keberhasilan perkecambahan biji lada.

Faktor lain penyebab kegagalan perkecambahan biji lada dapat disebabkan oleh lamanya waktu yang dibutuhkan benih untuk berkecambah (lebih dari 15 HSS). Kondisi demikian dapat meningkatkan resiko kerusakan akibat terlalu lama kontak dengan berbagai mikroorganisme tanah dan pengaruh lingkungan abiotik lainnya. Keterlambatan perkecambahan dari masa normal berkecambah menghasilkan kualitas kecambah yang buruk disebabkan oleh benih belum mencukupi dormansi, benih belum masak fisiologi, kondisi pertumbuhan kurang ideal dan lain-lain.



Gambar 1. Perkecambahan benih lada dengan perlakuan beberapa konsentrasi EMS pada umur 4 MST

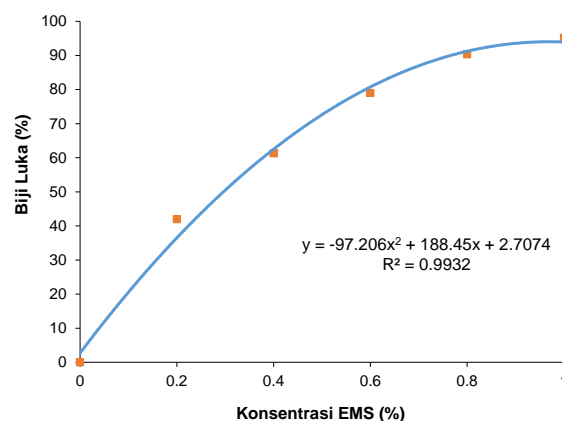
DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

Menurut Elfiani & Jakoni (2015) dan Yufdi & Sunarti (1987), beberapa jenis biji membutuhkan waktu perkecambahan cukup lama seperti jambu air, jambu biji, jambu monyet membutuhkan waktu sampai 15 hari setelah sebar. Pengujian daya kecambah dari 4 varietas lada berkisar antara 51 - 76%. Lebih lanjut de Figueiredo & Sazima (2000) menyatakan bunga lada bersifat hermafrodit, berumah dua dalam satu tangkai, pembentukan buah membutuhkan penyerbukan dapat berupa selfing, dibantu angin atau serangga. Kegagalan penyerbukan akan menghasilkan buah steril yang tidak dapat berkecambah.

2. Biji Terluka (Seed Injury)

Hasil pengamatan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa penggunaan EMS cenderung menyebabkan penurunan daya kecambah. Penurunan persentase kecambah

hidup secara drastis terjadi mulai konsentrasi 0,4% menyebabkan kematian perkecambahan pada kisaran 60%. Di duga pemberian EMS lebih dari 0,4% memiliki efek merusak bagi perkecambahan. Penggunaan dosis ini pada komoditas lain seperti cabai, padi atau pada jaringan titik tumbuh pisang sebagai agens induksi mutasi dapat mencapai dosis lebih dari 0,5% untuk menyebabkan kematian lebih dari 50% populasi. Hal ini berarti perkecambahan lada lebih sensitif terhadap EMS. Waktu perkecambahan yang cukup lama menyebabkan deposit mutagen pada jaringan tetap tinggi menyebabkan jaringan menjadi lemah atau bahkan mengalami kerusakan. Pada biji-biji yang masa perkecambahan cepat, misalnya selama satu minggu maka deposit EMS pada jaringan akan segera tersebar seiring dengan penambahan sel selama pertumbuhan.



Gambar 2. Hubungan konsentrasi EMS dengan tingkat kerusakan perkecambahan lada

Menurut Arisha et al. (2014) efek merusak EMS dapat disebabkan oleh dampak kerusakan kromosom maupun proses fisiologi pada jaringan tanaman. Secara umum peningkatan kerusakan kromosom/fisiologi seiring dengan peningkatan konsentrasi dan lama perendaman mutagen. Efek gangguan mutagen dapat diketahui pada

ketidakmampuan berkecambah, pertumbuhan tanaman, dan kelangsungan hidup tanaman.

3. Penentuan LC₅₀

Hasil analisis regresi berdasarkan nilai R kuadrat tertinggi (*best fitting curve*) pada Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi EMS terhadap perkecambahan lada mengikuti persamaan

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

kuadrat $y = -188,45x + 97,21x^2 + 2,71$ dengan standar determinasi 99%. Nilai standar determinasi 0,99 berarti besarnya pengaruh penggunaan konsentrasi EMS terhadap perkecambahan lada dapat dijelaskan dengan tingkat keakuratan yang dijelaskan oleh hubungan antara x dan Y mencapai 99%.

Persamaan tersebut dapat dimanfaatkan untuk mengetahui besarnya konsentrasi/dosis mematikan (LC_{50}) yang dijadikan sebagai konsentrasi acuan untuk memperoleh frekuensi keragaman genetik maksimal dengan dampak kerusakan fisiologi minimal (Alcantara *et al.*, 1995). *Lethal Concentration 50* ditunjukkan dengan matinya tanaman uji mencapai 50% populasi pada konsentrasi bahan kimia sebagai agens perlakuan. Berdasarkan persamaan tersebut, maka nilai LC_{50} EMS pada perendaman biji lada sebesar 0,3%. Konsentrasi LC_{50} EMS pada lada sebesar 0,3% menunjukkan bahwa keberhasilan menginduksi mutasi biji lada yang berukuran relatif besar tidak selalu membutuhkan EMS dengan konsentrasi tinggi. Menurut Alcantara *et al.* (1995), kisaran aplikasi konsentrasi yang banyak digunakan pada beragam tanaman uji berkisar antara 0,5 -2,0%.

4. Pengaruh EMS terhadap Karakter Agronomis Lada

Hasil pengamatan pada Tabel 1 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa penggunaan EMS mempengaruhi karakter agronomis pada pertumbuhan akar, kotiledon dan kemunculan daun. Penggunaan EMS sampai dosis tertinggi pada penelitian ini tidak mengganggu pertumbuhan hipokotil. Penggunaan konsentrasi EMS tertinggi (1%) menyebabkan hambatan pertumbuhan akar. Bahkan pada kotiledon, penggunaan EMS mulai konsentrasi 0,4% sudah menyebabkan

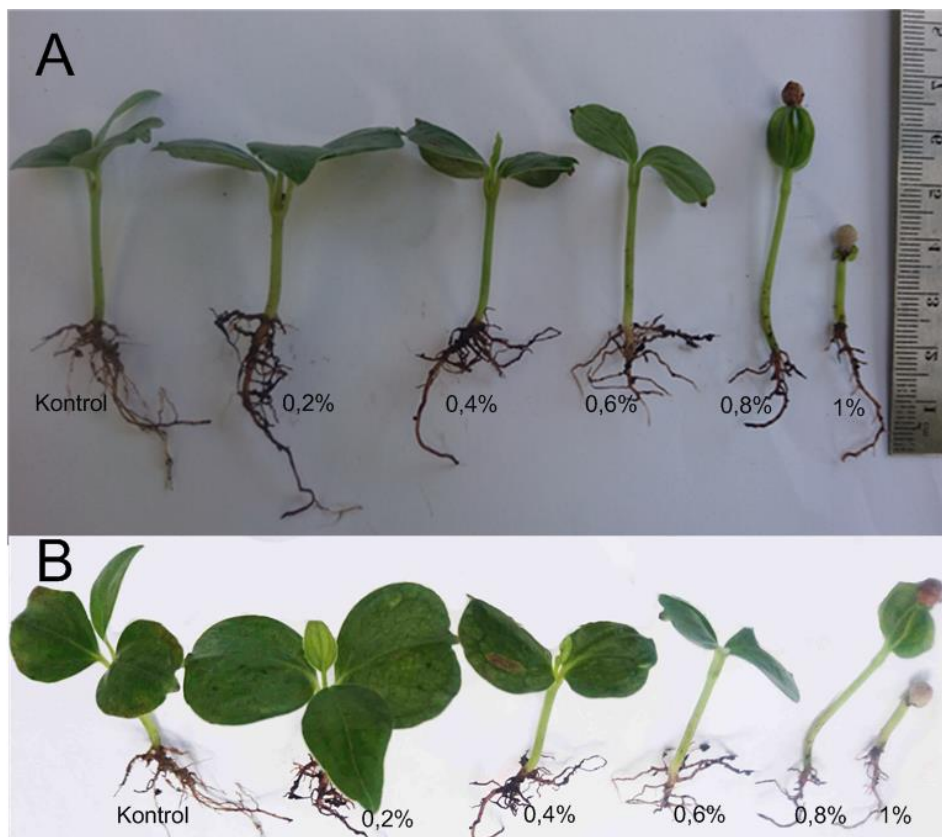
gangguan pertumbuhan baik panjang maupun lebar kotiledon. Gambar 3 memperlihatkan penggunaan EMS 0,8% atau lebih menyebabkan hambatan pembukaan kotiledon. Di lain pihak, penggunaan konsentrasi EMS 0,2% memacu pertumbuhan daun mencapai 2 lembar lebih banyak dibandingkan kontrol yang baru menghasilkan 1 helai daun. Dari hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa penggunaan EMS 0,2% memperlihatkan kecepatan pertumbuhan tanaman lebih baik dibandingkan dengan kontrol.

Lada mutan pada perlakuan EMS 2% memiliki ciri-ciri pertumbuhan akar normal, hipokotil lebih kekar dan ukuran kotiledon yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Adapun peningkatan ukuran panjang dan lebar kotiledon berturut-turut sebesar 19,62 dan 23,92%. Dengan demikian secara umum dapat disimpulkan bahwa penggunaan EMS 0,2% menghasilkan beberapa karakter agronomis yang lebih baik dan konsentrasi EMS 4% atau lebih menghasilkan respons pertumbuhan yang buruk. Dikaitkan dengan hasil pendugaan LC_{50} pada konsentrasi EMS 0,3%, maka LC_{50} berada diantara konsentrasi terbaik EMS 2% dan konsentrasi EMS 4% yang mulai memperlihatkan respons buruk pada karakter agronomis. Diduga nilai LC_{50} yang didasarkan pada variabel tingkat kerusakan/kematian selaras dengan hasil observasi pada variabel karakter agronomis. Hal ini berarti konsentrasi EMS pada LC_{50} dapat dijadikan sebagai patokan dosis aplikasi terbaik karena menggabungkan dampak mutagen yang menghasilkan karakter agronomis unggul diikuti dengan frekuensi terbentuknya lada mutan yang lebih banyak.

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

Tabel 1. Pengaruh beberapa konsentrasi EMS terhadap karakter agronomis kecambah lada umur 2 BSS

Konsentrasi EMS (%)	Panjang Hipokotil (cm)	Panjang Akar (cm)	Kotiledon	
			Panjang (cm)	Lebar (cm)
Kontrol	2,53 ± 0,23	3,56 ± 0,95	2,09 ± 0,13	2,09 ± 0,24
0,2	2,04 ± 0,11	3,52 ± 0,84	2,50 ± 0,07	2,59 ± 0,10
0,4	3,01 ± 0,41	3,47 ± 0,55	1,59 ± 0,43	1,69 ± 0,37
0,6	2,89 ± 0,62	3,76 ± 0,57	1,12 ± 0,30	1,28 ± 0,31
0,8	2,93 ± 0,60	3,08 ± 0,63	0,92 ± 0,90	1,02 ± 0,25
1,0	1,68 ± 0,85	1,89 ± 0,68	0,65 ± 0,17	0,68 ± 0,42



Gambar 3. Pertumbuhan lada mutan hasil perlakuan beberapa konsentrasi EMS pada 2 BSS (gambar A tampak samping dan B tampak atas)

Menurut Usharani et al. (2016), bahan penyusun EMS merupakan senyawa beracun dapat menghambat pertumbuhan dan menimbulkan efek toksisitas terhadap

tanaman. Kelebihan EMS yang mudah terhidrolisis menjadi senyawa yang tidak aktif/tidak dapat mengurangi kerusakan bagi tanaman dan lingkungan. Lebih lanjut Rustini & Pharmawati (2014) menyatakan faktor lain

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

yang menyebabkan terjadinya penurunan tinggi tanaman, jumlah daun, panjang, lebar daun, tanaman adalah karena adanya kerusakan seluler pada meristem tanaman. Penurunan karakter vegetatif tanaman dapat dikaitkan dengan penurunan aktifitas auksin, penghambatan sintesis auksin dan penyimpangan kromosom.

KESIMPULAN

Dari uraian di muka, penggunaan EMS sebagai mutagen pada lada, dapat disimpulkan bahwa penggunaan EMS 0,2% menghasilkan karakter agronomis yang lebih baik seperti kecambah lebih vigor, daun muncul lebih cepat dan peningkatan ukuran panjang dan lebar kotiledon berturut-turut 19,62 dan 23,92% lebih besar dibandingkan kontrol. Penggunaan EMS mulai konsentrasi 0,4% menyebabkan gangguan pertumbuhan kotiledon dan hambatan pembukaan kotiledon terjadi pada penggunaan EMS 0,8% dan 1%. Penggunaan EMS pada LC₅₀ berada pada konsentrasi 3%, dan pendugaan hubungan antara konsentrasi EMS dengan kematian perkecambahan lada mengikuti persamaan $y = -188,45x + 97,21x^2 + 2,71$ dengan standar deviasi sebesar 99%.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DIPA Universitas Tanjungpura Tahun Anggaran 2020 yang telah mendanai kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcantara, T., Bosland, P., & Smith, D. (1996). Ethyl Methanesulfonate-Induced Seed Mutagenesis of *Capsicum annuum*. *Journal of Heredity*, 87(3), 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), 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*, Oct, 1–28. <https://doi.org/10.1534/g3.117.300293>
- de Figueiredo, R., & Sazima, M. (2000). Pollination biology of piperaceae species in Southeastern Brazil. *Annals of Botany*, 85, 455–460. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.1087>
- Elfiani, & Jakoni. (2015). Pengujian daya berkecambah benih dan evaluasi struktur kecambah benih. *Jurnal Dinamika Pertanian*, 30(1), 45–52.
- Handayati, W. (2013). Perkembangan pemuliaan mutasi tanaman hias di Indonesia of Advancement mutation breeding on ornamental plants in Indonesia. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 9(1), 67–80.
- Hartati, S., Yunus, A., & F. Nugroho. (2017). Keragaan angrek persilangan ♀Vanda Celebica X ♂Vanda Dearei hasil iradiasi sinar gamma. *Agrotech Res J.*, 1(1), 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, 1056–1066. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00733.x>
- Kristina, N., & Syahid, S. (2015). Pengaruh kolkhisin terhadap penampilan lada (*Piper nigrum* L.) mutan dan analisis Ploidi. *Littri*, 21(3), 125–130.

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i.3023

- Purwati, Rully Dyah, Sudjindro, S., Kartini, E., & Sudarsono, S. (2008). *Keragaman Genetika Varian Abaka Yang Diinduksi Dengan*. 14(1), 16–24.
- Rustini, N. , & Pharmawati, M. (2014). Aksi ethyl methane sulphonate terhadap munculnya bibit dan pertumbuhan cabai rawit (*Capsicum frutescens* L). *Jurnal Bios Logos*., 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.35799/jbl.4.1.2014.4836>
- Suteja, H., Rostini, N., & Amien, S. (2019). Pengaruh perlakuan ethyl methanesulphonate terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kentang granola (biji). *Jurnal Kultivasi*, 18(1), 5–6.
- Takooree, H., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R. R., Venugopala, K. N., Jeewon, R., Zengin, G., & Mohamad, F. (2019). A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–34. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565489>
- Triani, A., Ahadiyat, Y. R., & Nurchasanah, S. (2021). Respons tanaman padi varietas inpari terhadap mutagen sodium azide. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 21(1), 51–60. <http://dx.doi.org/10.25181/jppt.v21i1.1996>.
- Usharani, K. S., Kumar, C. R. A., & Vanniarajan, C. (2016). *EMS - Chemical Mutagen for Induction of Mutations*. 5(19), 286–289.
- 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). <https://doi.org/10.2225/vol14-issue2-fulltext-4>
- Yanti, Y. (2012). Aktivitas peroksidase mutan pisang kepok dengan ethyl methane sulphonate (EMS) secara in vitro. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.31258/jnat.14.1.32-36>
- Yufdi, M., & Sunarti, T. (1987). Perkecambahan benih 4 varietas pada kadar air tanah yang berbeda. *Bull. Litro*, 2(1), 17–22.