



**TUGAS AKHIR - SB-141510**

**PENGARUH MUTAGEN KIMIA EMS (ETHYL  
METHANE SULPHONATE) TERHADAP  
KUALITAS FIOLOGIS BENIH DAN  
MORFOLOGI BIBIT TANAMAN TEMBAKAU  
(*Nicotiana tabacum*) VARIETAS MARAKOT**

**Bangun Surya Putra  
1513 100 053**

**Dosen Pembimbing:  
Kristanti Indah Purwani S.Si., M.Si**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2017**



FINAL PROJECT - SB-141510

**EFFECT OF EMS (ETHYL METHANE  
SULPHONATE) CHEMICAL MUTAGEN TO  
PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SEED AND  
SEEDLING MORPHOLOGY OF TOBACCO  
(*Nicotiana tabacum*) VARIETIES MARAKOT**

Bangun Surya Putra  
1513 100 053

Advisor Lecture:  
Kristanti Indah Purwani S.Si., M.Si

BIOLOGY DEPARTMENT  
MATHEMATICS AND SCIENCE FACULTY  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2017

**LEMBAR PENGESAHAN**

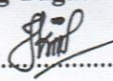
**PENGARUH MUTAGEN KIMIA EMS  
(ETHYL METHANE SULPHONATE) TERHADAP  
KUALITAS FISIOLOGIS BENIH DAN MORFOLOGI  
BIBIT TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum*)  
VARIETAS MARAKOT**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains  
pada  
Departemen S-1 Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**BANGUN SURYA PUTRA  
NRP. 1513 100 053**



**Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:**

Kristanti Indah Purwani S.Si., M.Si..........(Pembimbing 1)

Surabaya, 18 Juli 2017



Mengetahui,  
Kepala Departemen Biologi

  
Dr. Dewi Hidayati S.Si., M.Si  
NIP. 19691121 199802 2 001 

**PENGARUH MUTAGEN KIMIA EMS (ETHYL  
METHANE SULPHONATE) TERHADAP KUALITAS  
FISIOLOGIS BENIH DAN MORFOLOGI BIBIT  
TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum*) VARIETAS  
MARAKOT**

**Nama** : Bangun Surya Putra  
**NRP** : 1513100053  
**Departemen** : Biologi  
**Dosen Pembimbing** : Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si

**Abstrak**

Penyediaan benih bermutu merupakan permasalahan dalam peningkatan produksi tembakau. Induksi mutasi merupakan salah satu cara untuk mendapatkan varietas unggul yang memiliki produktivitas tinggi dan kualitas yang baik. Beberapa penelitian mengenai penggunaan mutagen kimia EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) menunjukkan pengaruh terhadap perkecambahan benih dan morfologi tanaman sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi mutagen EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau. Beberapa variasi konsentrasi EMS yang digunakan pada penelitian ini yaitu 0,1%, 0,5%, 1%, dan 1,5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi mutagen EMS berpengaruh nyata terhadap daya berkecambah dan tidak berpengaruh nyata terhadap laju perkecambahan dan kekuatan tumbuh benih. Perlakuan EMS dengan konsentrasi 1% dan 1,5% menunjukkan penurunan daya kecambah. Sedangkan pengamatan morfologi bibit tembakau tidak dilakukan karena benih yang dikecambahkan tidak dapat tumbuh menjadi bibit. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor lingkungan yaitu suhu, kelembaban dan media penanaman benih.

Kata kunci : *Benih tembakau, Induksi mutasi, Mutagen EMS*

**EFFECT OF EMS (ETHYL METHANE SULPHONATE)  
CHEMICAL MUTAGEN TO  
PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SEED AND SEEDLING  
MORPHOLOGY OF TOBACCO (*Nicotiana tabacum*)  
VARIETIES MARAKOT**

**Name** : Bangun Surya Putra  
**NRP** : 1513100053  
**Department** : Biology  
**Advisor Lecture** : Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si

**Abstract**

Provision of qualified seeds is a problem in increasing tobacco production. Induced mutation is the one way to obtain superior varieties which have high productivity and good quality. Several studies on the use of EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) chemical mutagen showed the effect on germination of seeds and plant morphology, so that a research was needed to find out the effect of EMS concentration on physiological quality of seed and seedling morphology of tobacco plants. Some variations of EMS concentration used in this study is 0,1%, 0,5%, and 1%.

The result of this research showed that difference of EMS concentration had significant effect on seed germination and had no significant effect on germination rate and growth strength of seed. Treatment with 1% and 1,5% concentration of EMS showing decreased germination. At the same time, the observation of seedling morphology can't be done because the seeds that have germinated can't grow. This is due to by several environmental factor, as temperature, humidity, and seedling medium.

Keyword : EMS mutagen, Induced mutation, Tobacco seed

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat dan hikmat yang diberikan, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Mutagen Kimia EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) Terhadap Kualitas Fisiologis Benih dan Morfologi Bibit Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Varietas Marakot”. Penulis mendapatkan banyak sekali doa dan bantuan berbagai pihak dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini. Atas berbagai bantuan dan dukungan tersebut, pada kesempatan ini penulis menghaturkan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Dosen Pembimbing, Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si. Penguji, Ibu Indah Trisnawati, M.Si., Ph.D. dan Bapak Dr. Nurul Jadid, S.Si., M.Sc., yang tidak kenal lelah memberikan ilmu, waktu berbagi dan nasihat dalam proses penyelesaian Tugas Akhir.

Kepala Departemen Biologi, Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si, atas bantuan dana penelitian departemen Biologi FMIPA ITS yang telah diberikan.

Kedua Orang Tua, yang tak henti-hentinya memberikan semangat dan kasih sayang yang luar biasa kepada penulis.

Ayuri Cintyasari, Acib Setia Ibadah, Ory Kurnia, Ichsan, Faishal, dan teman-teman lain yang telah membantu saya selama penelitian Tugas Akhir dan memberikan dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir saya dengan baik.

Surabaya, 18 Juli 2017

Bangun Surya Putra

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	ixi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Permasalahan .....	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan .....	4
1.5 Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Tembakau .....	5
2.1.1 Tanaman Tembakau varietas Marakot.....	7
2.2 Mutasi.....	8
2.3 Ethyl Methane Sulphonate (EMS).....	10
2.4 Pengaruh Mutagen Kimia EMS pada Tanaman .....	11
2.5 Perkecambahan Benih .....	12
2.5.1 Faktor yang Mempengaruhi Perkecambahan.....	12
2.5.2 Mekanisme Perkecambahan .....	15
2.6 Viabilitas Benih.....	17
2.7 Pengujian Benih.....	18
2.7.1 Uji Daya Kecambah .....	18
2.7.2 Uji Kekuatan Tumbuh (Vigor) .....	18
2.8 Kriteria Kecambah dalam Uji Perkecambahan .....	19
2.9 Standar Mutu Benih Tembakau Menurut SNI .....	20

BAB III METODOLOGI .....	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	21
3.2 Alat, Bahan, dan Cara Kerja .....	21
3.2.1 Alat dan Bahan .....	21
3.2.2 Cara Kerja .....	21
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	25
4.1 Pengaruh Konsentrasi EMS ( <i>Ethyl Methane Sulphonate</i> ) terhadap Viabilitas dan Vigoritas Benih Tembakau .....	25
4.2 Pengaruh Konsentrasi EMS ( <i>Ethyl Methane Sulphonate</i> ) terhadap Morfologi Bibit Tembakau .....	32
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA .....	35
LAMPIRAN.....	45
BIODATA PENULIS .....	50



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman tembakau varietas Marakot.....	7
Gambar 2.2	Alkilasi oleh EMS pada posisi O-6 guanin.....	10
Gambar 2.3	Kecambah tembakau normal (3 minggu) .....	19
Gambar 4.1	Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap daya kecambah benih tembakau var. Marakot.....	26
Gambar 4.2	Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap laju perkecambahan benih tembakau var. Marakot.....	27
Gambar 4.3	Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap kekuatan tumbuh benih tembakau var. Marakot.....	28

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Persyaratan Mutu Benih di Lapangan.....	20
Tabel 2. 2. Persyaratan Mutu Benih di Laboratorium.....	20
Tabel 4. 1. Data Hasil Uji Viabilitas dan Vigor Benih .....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Hasil Uji Viabilitas dan Vigor Benih.....	47
Lampiran 2	Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Daya Kecambah Benih.....	48
Lampiran 3	Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Laju Perkecambahan.....	49
Lampiran 4	Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Kekuatan Tumbuh Benih.....	50
Lampiran 5	Kecambah Tembakau Normal (umur 1 minggu).....	51



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Tembakau adalah salah satu komoditi perdagangan yang mampu menghasilkan cukai terbesar, menghasilkan devisa dan menyerap tenaga kerja yang relatif besar untuk aktivitas produksi dan pemasarannya. Tembakau memberikan pendapatan negara dari cukai tembakau rata-rata 43 trilyun/tahun (Hanadyo, 2013). Indonesia merupakan salah satu dari sepuluh besar negara produsen daun tembakau. Kontribusi Indonesia sekitar 15.000 ton daun tembakau atau 2,3% suplai dunia. Pengusahaan tembakau di Indonesia sebanyak 98% adalah perkebunan rakyat dan 2% adalah perkebunan besar nasional (Putri, 2015). Pentingnya peran dari tembakau terhadap perekonomian mengakibatkan kebutuhan tembakau di Indonesia juga semakin meningkat. Peningkatan produksi tembakau perlu diimbangi dengan peningkatan kualitas tanaman tembakau sehingga tembakau produksi lokal dapat laku di pasar dalam negeri maupun ekspor ke luar negeri. Untuk menunjang peningkatan ekonomi melalui perdagangan dan ekspor tembakau, maka diperlukan varietas unggul yang memiliki produktivitas tinggi dan kualitas yang baik.

Kualitas benih yang baik memiliki kaitan erat dengan viabilitas dan vigor benih (Lesilolo, 2013). Penggunaan benih bermutu dari varietas unggul sangat menentukan keberhasilan peningkatan produksi tanaman (Lesilolo, 2012). Dalam konteks agronomi, benih dituntut untuk bermutu tinggi, sebab benih harus mampu menghasilkan tanaman yang dapat berproduksi maksimum (Sutopo, 1998). Permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan tembakau rakyat diantaranya adalah penyediaan



benih bermutu (Rachman, 2007). Pada umumnya, petani tembakau memperoleh benih dari tanamannya sendiri dan disimpan di tempat yang kurang memenuhi syarat dengan kelembaban ruangan yang tinggi pada saat musim hujan. Hal demikian menyebabkan mutu benih di tingkat petani umumnya rendah. Penggunaan benih dengan daya berkecambah yang rendah akan meningkatkan biaya penyulaman dan pertumbuhan tanaman menjadi tidak merata sehingga produksi tidak optimal dan mutunya rendah (Hasanah, 2002). Benih tembakau dikatakan memenuhi syarat standar mutu jika memiliki daya berkecambah lebih dari 80% (SNI, 2006).

Upaya mendapatkan varietas unggul baru melalui pemuliaan tanaman perlu didukung adanya keanekaragaman genetik tanaman yang tinggi, yang dapat dilakukan melalui introduksi, hibridisasi, induksi mutasi dan rekayasa genetika (Sari, 2015). Diantara cara-cara tersebut induksi mutasi merupakan salah satu cara yang dipandang paling murah dan cepat dalam upaya peningkatan keanekaragaman genetik tanaman. EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) merupakan mutagen paling banyak digunakan dalam induksi mutasi karena sering menghasilkan mutan yang bermanfaat dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Van Harten, 1998). Beberapa penelitian melaporkan EMS menghasilkan peningkatan keanekaragaman dan menghasilkan mutan, misalnya dihasilkan mutan pisang yang resisten terhadap virus (Imelda *et al.*, 2000). Mutagen EMS juga menyebabkan peningkatan keragaman varian dari abaka / pisang manila (*Musa textilis*) dan berhasil mendapatkan mutan yang tahan terhadap penyakit layu Fusarium (Purwati *et al.*, 2007, Purwati *et al.*, 2008). Penggunaan mutagen kimia EMS juga berpengaruh terhadap viabilitas dan vigoritas benih tanaman. Hasil penelitian Jabeen dan Mirza (2002)





menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,5% dengan lama perendaman selama 6 jam memiliki efek menurunkan perkecambahan benih. Demikian pula pada penelitian yang dilakukan oleh Talebi (2012) yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan persentase perkecambahan pada benih padi seiring dengan meningkatnya konsentrasi EMS.

Beberapa penelitian mengenai penggunaan mutagen EMS dalam pemuliaan tanaman membuktikan bahwa EMS adalah mutagen kimia yang mampu menghasilkan mutan dengan keanekaragaman genetik tinggi dan dapat digunakan untuk menghasilkan mutan pada tanaman termasuk tanaman tembakau, sebagai salah satu upaya untuk mendapatkan varietas unggul dengan produktivitas tinggi. Akan tetapi, diperlukan konsentrasi yang tepat untuk mendapatkan mutan dengan keanekaragaman genetik dan viabilitas tinggi serta tingkat kematian (mortalitas) yang rendah sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi mutagen EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau. Alasan ini melatarbelakangi pemilihan judul penelitian “Pengaruh Mutagen Kimia EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) Terhadap Kualitas Fisiologis Benih dan Morfologi Bibit Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Varietas Marakot”.

## **1.2 Rumusan Permasalahan**

Permasalahan yang dibahas kali ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi mutagen kimia EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau varietas Marakot?
2. Berapa konsentrasi mutagen kimia EMS yang mampu memberikan pengaruh terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau varietas Marakot?

### **1.3 Batasan Masalah**

Batasan Masalah dari penelitian ini adalah :

1. Benih tanaman tembakau yang digunakan adalah benih tembakau varietas Marakot dari PT.SADHANA Purwosari.
2. Penelitian dilakukan di *greenhouse* dan tidak dilakukan pengukuran parameter lingkungan ketika penanaman, yaitu suhu, kelembaban, dan kondisi tanah yang digunakan.

### **1.4 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi mutagen kimia EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau varietas Marakot.
2. Mengetahui konsentrasi mutagen kimia EMS yang mampu memberikan pengaruh terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tanaman tembakau varietas Marakot.

### **1.5 Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh induksi mutasi menggunakan mutagen EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tembakau, yang diharapkan dapat mendukung peningkatan produktivitas tembakau.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Tembakau**

Tembakau termasuk golongan tanaman musiman, dalam dunia pertanian tergolong dalam tanaman perkebunan. Berikut adalah klasifikasi tanaman tembakau menurut Steenis (2005) :

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Classis : Dicotyledonae  
Ordo : Solanales  
Familia : Solanaceae  
Genus : Nicotiana  
Species : *Nicotiana tabacum* L.

Tanaman tembakau memiliki akar tunggang, jika tanaman tumbuh bebas pada tanah yang subur terkadang dapat tumbuh sepanjang 7,5 cm. Selain akar tunggang terdapat bulu-bulu akar dan akar serabut. Akar tanaman tembakau kurang tahan terhadap air yang berlebihan karena dapat mengganggu pertumbuhan akar bahkan tanaman dapat mati (Matnawi, 1997). Batang tanaman tembakau berbentuk agak bulat, batangnya agak lunak tetapi kuat; makin ke ujung semakin kecil. Ruas-ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun; batang tanaman tidak bercabang atau sedikit bercabang. Pada setiap ruas batang selain ditumbuhi daun juga ditumbuhi tunas yang disebut tunas ketiak daun. Diameter batang sekitar 5 cm (Cahyono, 1998).

Daun tembakau berbentuk lonjong atau bulat, tergantung pada varietasnya. Daun yang berbentuk lonjong ujungnya berbentuk runcing atau meruncing, sedangkan berbentuk bulat ujungnya berbentuk tumpul. Daun memiliki tulang-tulang menyirip, bagian tepi daun agak bergelombang dan licin. Ketebalan daun yang berbeda-beda, tergantung varietas budidaya. Daun tumbuh berselang-seling mengelilingi batang tanaman. Jumlah daun dalam satu tanaman 28-32 helai (Cahyono, 1998).

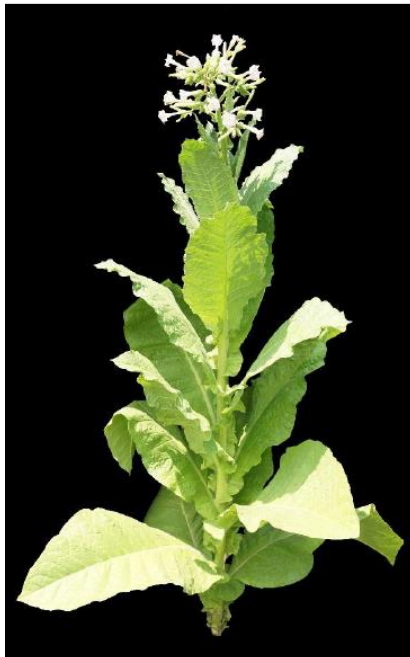


Bunga tanaman tembakau merupakan bunga majemuk yang tersusun dalam beberapa tandan dan masing-masing tandan berisi sampai 15 bunga. Bunga berbentuk terompet yang panjang. Warna bunga merah jambu sampai merah tua pada bagian atasnya sedangkan yang lain berwarna putih. Bunga tembakau akan mekar secara berurutan dari yang paling tua ke paling muda. Tanaman tembakau dapat mengadakan penyerbukan sendiri walaupun tidak menutup kemungkinan terjadi penyerbukan silang. Bunga ini berfungsi sebagai alat penyerbukan sehingga dapat dihasilkan biji-biji untuk perkembangbiakan. Bakal buah terletak di atas dasar bunga dan mempunyai 2 ruang yang membesar. Setiap ruang mengandung bakal biji yang banyak. Bakal buah ini dihubungkan oleh sebatang tangkai putik dengan sebuah kepala putik di atasnya (Cahyono, 1998).

Buah tembakau berbentuk bulat lonjong dan berukuran kecil, didalamnya banyak berisi biji yang bobotnya sangat ringan. Dalam setiap gram biji berisi 12000 butir biji. Tiap-tiap batang tembakau dapat menghasilkan rata-rata 25 gram biji. Kira-kira 3 minggu sesudah pembuahan, buah tembakau telah masak, biji dari buah tembakau yang baru dipungut kadang-kadang belum dapat berkecambah bila disemaikan, sehingga biji-biji tembakau perlu mengalami masa istirahat atau dormansi kira-kira 2-3 minggu untuk dapat berkecambah. Untuk dapat memperoleh kecambah yang baik sekitar 95% biji yang dipetik harus sudah masak dan telah disimpan dengan baik dengan suhu yang kering (Abdullah & Soedarmanto, 1998).

### 2.1.1 Tanaman Tembakau varietas Marakot

Tanaman tembakau varietas Marakot memiliki tinggi tanaman yang termasuk dalam kategori sedang, yaitu sekitar 113,3 hingga 148,7 cm. Jumlah daun sedikit, dengan panjang daun 55 cm dan lebar daun 27,8 cm. Bentuk daun bulat memanjang dan tepi daun berombak. Batang berwarna hijau kekuningan dan berbulu dengan diameter 2,31 cm. Tembakau varietas Marakot ini memiliki kerentanan terhadap penyakit TMV (*Tobacco Mosaic Virus*) dan TLC (*Tobacco Leaf Curl Virus*). Varietas Marakot termasuk dalam tembakau tipe *burley* (Anonim, 2016).



Gambar 2.1. Tanaman Tembakau var. Marakot  
(Anonim, 2016)

## 2.2 Mutasi

Mutasi merupakan perubahan materi genetik yang terjadi secara tiba-tiba, acak, dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang diwariskan (Girija & Dhanavel, 2009). Peristiwa terjadinya mutasi disebut mutagenesis dan makhluk hidup yang mengalami mutasi disebut mutan serta penyebab mutasi disebut mutagen (Shah *et al.*, 2008). Mutasi dihasilkan dari kesalahan selama replikasi DNA atau jenis lain dari kerusakan DNA (Sharma, 2015), atau menyebabkan kesalahan selama perbaikan DNA (Rodgers, 2016). Mutasi juga dapat terjadi akibat penyisipan atau penghapusan segmen DNA (Burrus, 2004). Secara molekuler, dapat dikatakan bahwa mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom, yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan (Oeliem, dkk, 2008). Berdasarkan tempat terjadinya mutasi dibedakan menjadi mutasi gen dan mutasi kromosom. Mutasi gen adalah perubahan urutan basa pada DNA yang mengakibatkan terjadinya perubahan kodon dan akhirnya merubah urutan asam amino pada polipeptida yang terbentuk. Mutasi kromosom adalah perubahan jumlah kromosom dan susunan atau urutan gen dalam kromosom (Brookes, 1998).

Jenis-jenis mutasi menurut Miglani (2010), yaitu :

- a. **Mutasi skala kecil** : disebut juga mutasi titik, dimana terjadi pergantian satu pasang nukleotida. Perubahan ini menjadi ukuran yang sangat kecil yang tidak bisa diamati bahkan di bawah mikroskop. Mutasi tersebut dapat dideteksi dengan membandingkan urutan nukleotida dari *wild type* dan mutan DNA / RNA. Karena substitusi tersebut, jumlah pasangan nukleotida tidak berubah dalam gen. Terdapat dua jenis mutasi titik, yaitu transisi dan transversi. Transisi adalah perubahan dari purin ke purin ( $A \rightarrow G$  atau  $G \rightarrow A$ ) atau pirimidin ke pirimidin ( $T \rightarrow C$  atau  $C \rightarrow T$ ), sedangkan transversi adalah perubahan dari purin ke pirimidin atau pirimidin ke purin ( $A \rightarrow T$  atau  $T \rightarrow A$ ).

- b. **Mutasi intermediet:** dalam hal ini baik ada tambahan (penyisipan) atau penghapusan (*removal*) dari satu atau beberapa pasang nukleotida dari gen. Hal ini menyebabkan perubahan dalam jumlah pasangan nukleotida dalam gen, sehingga perubahan tersebut dapat menyebabkan pergeseran dalam pembacaan frame atau pengelompokan kodon dan disebut sebagai mutasi *frameshift*.
- c. **Mutasi skala besar:** disebut juga mutasi kromosom, termasuk perubahan struktur kromosom dan perubahan jumlah kromosom. Jenis – jenis mutasi berdasarkan perubahan struktur kromosom yaitu delesi (penghapusan daerah kromosom), duplikasi (penambahan bagian dari suatu gen), inversi (pemotongan gen, kemudian diputar dengan sudut  $180^\circ$  dan disambungkan dalam urutan terbalik), translokasi (transfer suatu bagian dari kromosom ke kromosom yang sama, atau kromosom nonhomolog, atau dua kromosom nonhomolog yang saling bertukar). Sedangkan jenis mutasi berdasarkan perubahan jumlah kromosom yaitu monoploidi, diploidi, dan triploidi.

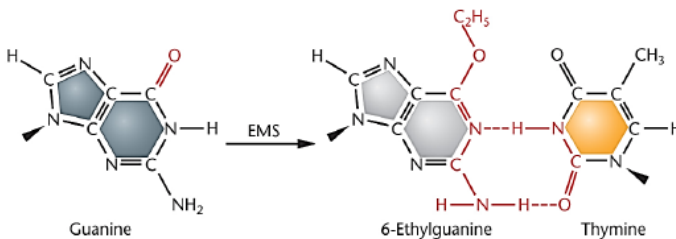
Menurut Zhu *et al.*, (2006), mutasi dapat terjadi secara spontan ataupun melalui induksi. Kedua mutasi tersebut dapat menimbulkan variasi genetik untuk dijadikan dasar seleksi tanaman, baik seleksi secara alami maupun buatan (pemuliaan). Mutasi pada tanaman dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada bagian tanaman baik bentuk maupun warnanya juga perubahan pada sifat-sifat lainnya (Herawati & Setiamihardja, 2000). Mutasi dapat terjadi pada setiap bagian tanaman dan fase pertumbuhan tanaman, namun lebih banyak terjadi pada bagian yang sedang aktif mengadakan pembelahan sel seperti tunas, biji dan sebagainya (Oeliem, dkk, 2008).



Induksi mutasi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan mutagen tertentu terhadap biji, serbuk sari, kultur jaringan dan sebagainya (Mahandjiev *et al.*, 2001). Mutagen fisik yang sering digunakan adalah ionisasi sinar alpha, beta, gamma, *fast neutron*, *electron beam* dan *ion beam*, sedangkan mutagen kimia adalah *sulphur mustard*, *Colchicine*, EMS dan DES (Crowder, 1993). Senyawa mutagen kimia *hydroxylamine*, *ethyl methane sulphonate* (EMS), *diethyl sulfate* (DES), dan *methyl methane sulphonate* (MMS) menyebabkan mutasi titik (Soeranto, 2003). Sedangkan senyawa kolkisin, orizalin (Wan *et al.*, 1991) dan kafein (Samuels & Staehelin, 1996) menyebabkan mutasi kromosom yaitu bertambahnya set kromosom.

### 2.3 Ethyl Methane Sulphonate (EMS)

EMS memiliki rumus kimia  $C_3H_8SO_3$  (Russel, 1992). Mutagen kimia EMS termasuk dalam golongan agen alkilasi yang dapat menyebabkan mutasi titik. EMS akan mengikatkan gugus etilnya pada basa guanin (G) pada posisi 7-N dan 6-O yang akan membentuk gugus O 6-etilguanin, yang akan berpasangan dengan timin dan menyebabkan transisi basa (Bhat *et al.*, 2007). Terjadinya etilasi ini menyebabkan kesalahan pemasangan basa ketika replikasi, sehingga menyebabkan mutasi acak pada rantai DNA (Sambrook & Russel, 2001).



Gambar 2.2. Alkilasi oleh EMS pada posisi O-6 guanin (Gnanamurthy, 2014)

Dibandingkan dengan mutagen kimia lainnya, EMS paling banyak digunakan karena mudah dibeli, harganya murah dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Van Harten, 1998). Selain itu, EMS juga terbukti efektif dapat menyebabkan mutasi titik pada berbagai tanaman selain murah dan mudah diperoleh jika dibandingkan dengan senyawa kimia lainnya. Menurut Alcantara *et al.*, (1996) mutagen EMS digunakan pada kisaran konsentrasi 0,5% sampai 1,5%.

#### **2.4 Pengaruh Mutagen Kimia EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) pada Tanaman**

Perubahan yang terjadi pada morfologi tanaman akibat perlakuan EMS seperti hasil penelitian pada tanaman stroberi yang diberi EMS menghasilkan daun dan ukuran buah yang lebih kecil daripada tanaman kontrol (Murti *et al.*, 2013), daun variegata pada *Arabidopsis* pada perlakuan 0,1 pada perendaman 6 jam (Chen *et al.*, 2000) dan hasil penelitian Jabeen dan Mirza (2004) yang melakukan induksi mutasi pada cabai besar dengan EMS 0,1% selama 6 jam, menghasilkan mutan kerdil.

Perlakuan EMS menyebabkan beberapa perubahan pada fisiologi tanaman, antara lain hasil penelitian Srivastava & Jitendra (2012), perlakuan EMS 0,5% dengan perendaman selama 3 jam, 5 jam, dan 7 jam menghasilkan kandungan klorofil tanaman safflower lebih rendah daripada kontrol. Kandungan terendah pada perlakuan selama 7 jam. Hasil penelitian lainnya yaitu Pande *et al.*, (2012) menyebutkan kombinasi perlakuan mutagen sinar X 25 Kr dan EMS 0,5% pada bunga matahari mengalami peningkatan kandungan klorofil. Kumar & Mishra (2004) melaporkan bahwa pada tanaman Okra (*Abelmoschus esculentus*), persentase perkecambahan umumnya menurun dengan meningkatnya dosis sinar gamma dan EMS.

Pada tanaman tembakau, terjadi efek penurunan daya kecambah dengan tingkat kematian lebih dari 50% pada konsentrasi 0,5% EMS dan terjadi penghambatan terhadap tinggi kecambah dan penurunan panjang akar seiring dengan meningkatnya konsentrasi mutagen EMS (Amarnath & Prasad, 1998). Penelitian lain menyatakan bahwa benih tembakau yang diberi perlakuan mutagen EMS pada konsentrasi EMS 0,8% dan 0,6% mencapai tingkat kematian embrio benih sebesar 36% dan 20% serta berpengaruh terhadap fertilitas tanaman, yaitu 34% dan 75% tanaman tembakau yang dapat menghasilkan biji (Julio *et al.*, 2004). Selain itu, EMS juga menghasilkan mutan dengan kandungan nikotin yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (Julio *et al.*, 2008).

## **2.5 Perkecambahan Benih**

### **2.5.1 Faktor yang Mempengaruhi Perkecambahan**

Menurut Sutopo (2004), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi perkecambahan, yang terdiri dari faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal yang mempengaruhi perkecambahan benih yaitu sebagai berikut :

- a. Air : merupakan kebutuhan dasar yang utama untuk perkecambahan. Kebutuhan air berbeda-beda bergantung dari spesies tanaman. Beberapa benih dapat bertahan pada kondisi air yang berlebihan dan sebaliknya terdapat benih tertentu yang bersifat peka terhadap air. Fungsi air pada proses perkecambahan yaitu melunakkan kulit benih sehingga benih mengalami pembengkakan sehingga mengakibatkan retaknya kulit biji, media reaksi biokimia sehingga terjadi proses metabolisme di dalam benih, dan mentranslokasikan cadangan makanan ke titik tumbuh.

- b. Suhu : merupakan syarat penting bagi perkecambahan biji. Suhu yang diperlukan dalam perkecambahan berkisar antara  $26,5^{\circ}\text{C}$  –  $35^{\circ}\text{C}$ . Biji akan gagal berkecambah atau terjadi kerusakan yang menghasilkan kecambah abnormal di luar kondisi suhu tersebut. Pengaruh suhu terhadap perkecambahan dapat dicerminkan melalui suhu minimum, optimum, dan maksimum. Suhu minimum adalah suhu terendah dimana perkecambahan dapat terjadi secara normal. Suhu optimum adalah suhu yang paling sesuai untuk perkecambahan, dan suhu maksimum adalah suhu tertinggi untuk dapat melakukan perkecambahan. Suhu dapat berpengaruh terhadap kerja enzim yang ada didalam benih. Suhu yang terlalu tinggi menyebabkan denaturasi protein dan apabila suhu terlalu rendah akan menyebabkan reaksi yang ada di dalam benih terhambat karena enzim menjadi inaktif.
- c. Oksigen : digunakan untuk respirasi, konsentrasi yang diperlukan untuk perkecambahan yaitu 20%. Dengan melakukan perombakan cadangan makanan melalui proses respirasi, benih akan memperoleh energi yang selanjutnya digunakan untuk proses perkecambahan. Apabila kadar oksigen sedikit maka proses respirasi pun dapat terhambat sehingga berpengaruh terhadap viabilitas benih dalam berkecambah.
- d. Cahaya : pada umumnya cahaya yang baik untuk perkecambahan yaitu cahaya dengan panjang gelombang  $660\text{ nm}$  –  $700\text{ nm}$ . Pengaruh cahaya terjadi pada benih yang lembab, sedangkan pada benih berkadar air rendah cahaya

memberikan pengaruh yang relatif kecil karena pigmen penyerap cahaya yaitu fitokrom tidak aktif pada benih berkadar air rendah.

- e. Media perkecambahan : harus gembur, dapat menyimpan air dan bebas dari organisme penyebab penyakit, terutama cendawan

Sedangkan faktor internal atau faktor dari dalam benih tersebut yang mempengaruhi perkecambahan yaitu :

- a. Tingkat kematangan benih : kematangan fisiologis benih berpengaruh terhadap daya tumbuh benih. Benih harus memiliki cadangan makanan yang cukup dan embrio yang telah terbentuk sempurna.
- b. Ukuran benih : benih memiliki cadangan makanan berupa karbohidrat, protein, lemak dan mineral di dalam jaringan penyimpanan yang digunakan sebagai bahan baku dan penghasil energi bagi embrio yang sedang berkecambah. Benih dengan ukuran besar dan berat memiliki cadangan makanan yang lebih banyak jika dibandingkan dengan benih dengan ukuran yang kecil dan ringan. Benih berukuran besar berpotensi dapat berkecambah dengan baik dan menghasilkan kecambah normal.
- c. Dormansi : apabila benih tersebut sebenarnya hidup tetapi tidak dapat berkecambah walaupun diletakkan pada keadaan yang memenuhi syarat perkecambahan. Periode dormansi dapat berlangsung musiman atau beberapa tahun, tergantung jenis benih dan tipe dormansinya.

- d. Kulit biji : Kulit benih mempunyai pengaruh pada keberhasilan perkecambahan benih karena semakin tebal kulit benih maka cahaya dan air akan sulit masuk karena kulit benih dapat berfungsi sebagai filter cahaya dan air. Kulit biji yang impermiabel juga dapat menghambat proses perkecambahan yang berlangsung karena ketidakmampuan air dan gas untuk menembus kulit biji. Perkecambahan benih benih yang mengandung kulit biji yang tidak permeabel dapat dirangsang dengan skarifikasi, yaitu perubahan kulit biji untuk membuatnya menjadi permeabel terhadap gas dan air.
- e. Hormon atau zat pengatur tumbuh : Tidak semua hormon tumbuhan (fitohormon) bersifat mendukung proses perkecambahan, beberapa fitohormon menghambat proses perkecambahan. Fitohormon yang berfungsi merangsang pertumbuhan pada saat proses perkecambahan antara lain, auksin, giberelin, dan sitokinin, sedangkan fitohormon yang berfungsi menghambat proses perkecambahan antara lain, etilen dan ABA (asam absisat).

### **2.5.2 Mekanisme Perkecambahan**

Salisbury (1992) menyatakan bahwa perkecambahan merupakan suatu proses dimana radikula (akar embrionik) memanjang keluar menembus kulit biji. Di balik gejala morfologi tersebut, terjadi proses fisiologi-biokemis yang kompleks, dikenal sebagai proses perkecambahan fisiologis yang meliputi:

#### **1. Penyerapan air**

Setelah biji menyerap air maka akan terjadi hidrasi protoplasma. Hal tersebut sangat penting dikarenakan sebagian besar fungsi kimia dalam sel berada di protoplasma. Setelah penyerapan, selanjutnya biji akan

menghasilkan hormon tumbuh yaitu *giberelin* (GA) yang berfungsi untuk menstimulus kegiatan enzim-enzim di dalam benih.

2. Pencernaan

Merupakan proses terjadinya pemecahan zat atau senyawa bermolekul besar dan kompleks menjadi senyawa bermolekul lebih kecil, sederhana, larut dalam air dan dapat diangkut melalui membran dan dinding sel. Sebagaimana yang diketahui bahwa cadangan makanan dalam biji merupakan senyawa yang bermolekul besar sehingga tidak mampu ditranslokasikan ke titik tumbuh sehingga harus dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana. Untuk pemecahan maka diperlukan adanya enzim.

3. Pengangkutan zat makanan

Hasil pencernaan diangkut dari jaringan penyimpanan makanan menuju titik-titik tumbuh. Karena biji belum memiliki jaringan pengangkut, zat makanan diangkut secara difusi atau osmosis dari satu sel ke sel lainnya dengan bantuan air.

4. Respirasi

Merupakan proses perombakan cadangan makanan menjadi senyawa lebih sederhana dengan membebaskan sejumlah tenaga. Pembebasan tenaga tersebut dibutuhkan untuk aktifitas sel diantaranya yaitu pembelahan sel.

## 5. Asimilasi

Merupakan proses penyusunan kembali senyawa sederhana menjadi senyawa yang lebih kompleks, misalnya protein yang sudah dirombak menjadi asam amino disusun kembali menjadi protein baru. Energi untuk penyusunan tersebut berasal dari proses respirasi.

## 6. Pertumbuhan

Ada dua bentuk pertumbuhan *embrionic axis* yaitu pembesaran sel-sel yang sudah ada dan pembentukan sel-sel yang baru pada titik-titik tumbuh. Pada umumnya bagian *embryonic axis* yang pertama kali keluar adalah radikula (akar) kemudian baru diikuti oleh plumula (calon daun).

## 2.6 Viabilitas Benih

Viabilitas benih adalah daya hidup suatu benih yang dapat ditunjukkan dengan gejala pertumbuhan atau gejala metabolisme (Sadjad, 1993). Viabilitas potensial adalah parameter viabilitas dari suatu lot benih yang menunjukkan kemampuan benih menumbuhkan tanaman normal yang berproduksi normal pada kondisi lapang yang optimum. Kemunduran benih adalah mundurnya mutu fisiologis benih yang dapat menimbulkan perubahan menyeluruh di dalam benih; baik fisik, fisiologi maupun kimiawi yang mengakibatkan menurunnya viabilitas benih (Hartati, 1999). Daya berkecambah merupakan tolak ukur viabilitas potensial yang merupakan simulasi dari kemampuan benih untuk tumbuh dan berproduksi normal dalam kondisi optimum (Sadjad, 1993).



## **2.7 Pengujian Benih**

### **2.7.1 Uji Daya Kecambah**

Daya kecambah benih memberikan informasi mengenai kemampuan benih untuk tumbuh normal dan menjadi tanaman yang mampu berproduksi optimum dalam kondisi lapangan yang optimum. Parameter yang digunakan dapat berupa persentase kecambah normal berdasarkan penilaian terhadap struktur tumbuh embrio yang diamati secara langsung. Sebagai parameter untuk viabilitas benih, digunakan persentase perkecambahan dimana perkecambahan harus cepat dan mencerminkan kekuatan tumbuhnya, yang dinyatakan dengan laju perkecambahan. Persentase perkecambahan adalah persentase kecambah normal yang dapat dihasilkan oleh benih murni pada kondisi yang menguntungkan dalam jangka waktu tertentu (Sutopo, 2004).

### **2.7.2 Uji Kekuatan Tumbuh (Vigor)**

Secara ideal, semua benih harus memiliki kekuatan tumbuh yang tinggi, sehingga bila ditanam pada kondisi lapangan yang beranekaragam akan tetap tumbuh sehat dan kuat serta berproduksi tinggi dengan kualitas yang baik (Sutopo, 2004). Vigor benih dicerminkan oleh dua informasi tentang viabilitas, masing-masing kekuatan tumbuh dan daya simpan benih. Vigor kekuatan tumbuh benih mencerminkan vigor benih apabila ditanam di lapangan. Vigor daya simpan merupakan suatu parameter vigor benih yang menunjukkan kemampuan benih selama penyimpanan dalam keadaan sub optimum. Benih yang memiliki vigor tinggi, mampu disimpan untuk periode simpan yang normal dalam keadaan sub optimum dan akan lebih panjang daya simpannya jika dalam keadaan ruang simpan yang optimum (Widajati *et al.*, 2013). Sutopo (2004), menyatakan bahwa pada hakikatnya vigor benih harus relevan dengan tingkat produksi, yang berarti bahwa benih yang memiliki vigor tinggi akan dapat mencapai tingkat produksi yang tinggi. Menurut Standarisasi Nasional



Indonesia/ SNI (2006), untuk benih yang berukuran kecil seperti benih tembakau, uji vigor (kekuatan tumbuh) dilakukan dengan menghitung jumlah kecambah yang telah tumbuh normal pada saat pengamatan 7 hari setelah dikecambahkan.

## 2.8 Kriteria Kecambah dalam Uji Perkecambahan

Sutopo (2004), menyatakan bahwa kriteria kecambah normal yaitu sebagai berikut :

- d. Memiliki sistem perakaran yang baik
- e. Perkembangan hipokotil yang baik dan sempurna
- f. Pertumbuhan plumula yang sempurna dengan daun hijau dan tumbuh baik
- g. Memiliki dua kotiledon

Sedangkan untuk kecambah abnormal, yaitu :

- a. Kecambah yang rusak, tanpa kotiledon, dan akar primer yang pendek
- b. Kecambah yang tidak membentuk klorofil
- c. Kecambah yang lemah

Selain itu, Mugnisjah (1990) menyatakan bahwa benih yang tidak berkecambah adalah benih yang hingga akhir pengujian tidak berkecambah.



Gambar 2.3. Kecambah Tembakau (umur 3 minggu)  
(Jing *et al.*, 2015).

## 2.9 Standar Mutu Benih Tembakau Menurut SNI (Standar Nasional Indonesia)

Menurut SNI (2006), persyaratan mutu benih tembakau yaitu sebagai berikut:

Tabel 2.1. Persyaratan Mutu Benih di Lapangan

No.	Jenis spesifikasi	Satuan	Benih dasar	Benih sebar
1	Kemurnian varietas	%	$\geq 99,5$	$\geq 99$
2	Isolasi jarak*	Meter	$\geq 200$	$\geq 100$
3	Isolasi dengan kerodong	Meter	$\geq 200$	Tidak dianjurkan**
4	Kesehatan tanaman	%	0	0

Keterangan : \*Metode isolasi yang digunakan untuk penangkaran benih dasar disesuaikan dengan kondisi di lapangan; bila isolasi jarak memungkinkan, maka tidak perlu dilakukan isolasi dengan kerodong, tetapi bila isolasi jarak kurang dari 200 m, harus dilakukan isolasi dengan kerodong.

\*\* Untuk penangkaran benih sebar, lebih dianjurkan penggunaan isolasi jarak karena isolasi dengan kerodong membutuhkan biaya lebih banyak.

Tabel 2.2. Persyaratan Mutu Benih di Laboratorium

No.	Jenis spesifikasi	Satuan	Benih dasar	Benih sebar
1	Kadar air	%	6 – 7	6 – 8
2	Benih murni	%	$\geq 99$	$\geq 97$
3	Daya berkecambah	%	$\geq 85$	$\geq 85$
4	Kotoran benih	%	$\leq 1$	$\leq 3$
5	Biji tanaman lain	%	0	0
6	Biji gulma	%	0	0

## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan dan *greenhouse* Departemen Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember pada bulan Desember 2016 hingga bulan Maret 2017.

### **3.2 Alat, Bahan, dan Cara Kerja**

#### **3.2.1 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah kaca arloji, gelas ukur, gelas beker, pipet volume, bulb, corong gelas, cawan Petri, pinset, pengaduk kaca, kertas saring, neraca analitik, penggaris, dan *pot tray*. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah benih tanaman tembakau varietas Marakot, *aquadest*, EMS 100%, buffer fosfat pH 7, pupuk kandang, tanah, dan fungisida.

#### **3.2.2 Cara Kerja**

- a. Pembuatan larutan EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*)

Dibuat larutan stok EMS 10% terlebih dahulu. Disiapkan EMS dengan konsentrasi 100% sebanyak 2 ml kemudian diencerkan dengan cara ditambahkan buffer fosfat hingga volumenya menjadi 20 ml. Kemudian larutan diencerkan menjadi 0,1%, 0,5%, 1% dan 1,5% dengan mengambil 0,2 ml, 1 ml, 2 ml, dan 3 larutan stok EMS dan masing-masing ditambah larutan buffer fosfat hingga volume larutan menjadi 20 ml.
- b. Perendaman benih tembakau dengan EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*)

Benih tembakau disiapkan sebanyak  $\pm 0,15$  gram, kemudian direndam dengan 100 ml *aquadest* dalam gelas



beker selama 24 jam pada suhu ruangan. Biji yang telah direndam dikeringkan di atas kertas saring. Digunakan 0,01 gram (120 butir) benih tembakau untuk setiap perlakuan perendaman dengan 3 kali ulangan. Pada benih kontrol, benih hanya direndam dengan 20 ml *aquadest*. Sedangkan pada perlakuan menggunakan EMS, benih direndam dalam 20 ml EMS dengan konsentrasi 0,1%, 0,5%, 1,0% dan 1,5%. Benih yang telah direndam *aquadest* dan dikeringkan kemudian dimasukkan ke dalam larutan EMS pada cawan Petri lalu diaduk dengan pengaduk kaca sehingga semua benih terkena larutan EMS secara merata dan direndam selama 6 jam. Setelah benih-benih tersebut diberi perlakuan, benih kemudian dibilas dengan air hingga bersih untuk menghilangkan sisa mutagen.

c. Uji viabilitas dan vigor benih

Uji viabilitas dan vigor benih dilakukan di dalam *greenhouse* dengan media tanam berupa tanah. Disiapkan terlebih dahulu media tanam berupa tanah yang dicampur dengan pupuk kandang dengan perbandingan 3:1. Benih yang telah diberi perlakuan dan benih kontrol disebar masing-masing sebanyak  $\pm 0,01$  gram (120 butir benih) pada *pot tray* yang telah berisi media campuran tanah dan pupuk kandang. Kemudian dilakukan penyiraman dua kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari. Parameter viabilitas yang diukur meliputi :

1. Daya berkecambah (%)

Daya berkecambah dihitung menggunakan rumus (menurut Kuswanto, 1996) sebagai berikut :

$$DK = \frac{JK}{JC} \times 100\%$$

DK : Daya kecambah

JK : Jumlah kecambah normal yang dihasilkan

JC : Jumlah benih yang diujikan

2. Laju Perkecambahan (hari)

Laju perkecambahan dihitung menggunakan rumus (menurut Sutopo, 1998) sebagai berikut :

$$LP = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_xT_x}{JB}$$

LP : Laju perkecambahan

N : Jumlah benih yang berkecambah pada satuan waktu tertentu

T : Jumlah waktu antara pengujian awal sampai pengujian akhir pada interval tertentu suatu pengamatan

JB : Jumlah total benih yang berkecambah

Sedangkan parameter vigor meliputi :

1. Kekuatan Tumbuh Benih

Kekuatan tumbuh benih dihitung berdasarkan persentase kecambah normal kuat antara pengamatan I dan II (hari ke-7 dan hari ke-14), menggunakan rumus (menurut Sadjad, 1993) sebagai berikut :

$$Kst = \frac{KK}{TB} \times 100\%$$

Kst : Kekuatan tumbuh

KK : Jumlah kecambah normal kuat

TB : Jumlah benih yang dikecambahkan

d. Pengamatan morfologi bibit umur 45 hari

Setelah dilakukan uji viabilitas dan vigoritas, diambil masing-masing 3 kecambah tembakau dari setiap perlakuan EMS lalu dipindah ke media tanam baru di dalam *polybag*. Kecambah ditumbuhkan selama 45 hari kemudian dilakukan pengamatan morfologi yaitu tinggi bibit, jumlah daun, dan panjang akar.





### **3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu perbedaan konsentrasi larutan EMS. Data kemudian dianalisis menggunakan ANOVA One Way untuk mengetahui pengaruh konsentrasi mutagen EMS terhadap kualitas fisiologis benih dan morfologi bibit tembakau yang dibandingkan dengan data kontrol. Dilakukan uji lanjutan Tukey apabila terdapat pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diujikan.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengaruh Konsentrasi EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) terhadap Viabilitas dan Vigoritas Benih Tembakau

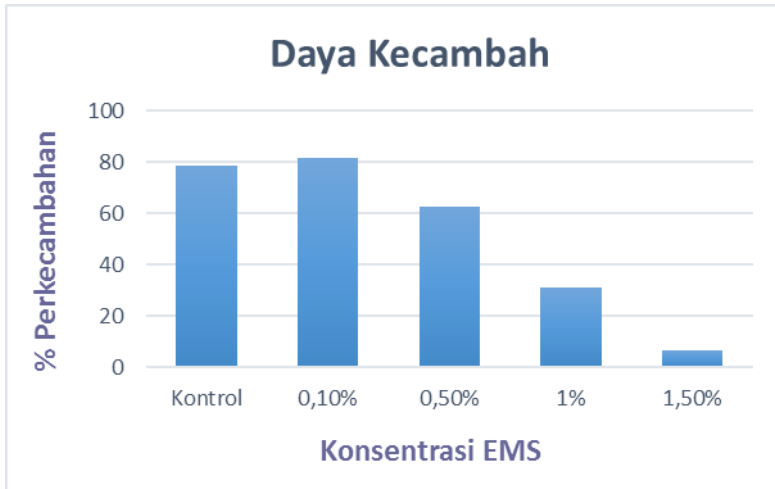
Hasil analisis statistik terhadap uji viabilitas (daya kecambah dan laju perkecambahan) dan vigoritas (kekuatan tumbuh) benih tembakau varietas Marakot dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Hasil rata-rata uji viabilitas dan vigoritas benih tembakau var. Marakot (0-21 hari pengamatan)

<b>Perlakuan</b>	<b>Daya Kecambah (%)</b>	<b>Laju Perkecambahan (hari)</b>	<b>Kekuatan Tumbuh (%)</b>
<b>Kontrol</b>	78,89a	17,95a	1,94a
<b>0,1%</b>	81,67a	14,32a	14,17a
<b>0,5%</b>	62,78a	15,75a	9,44a
<b>1%</b>	31,11b	15,66a	5,00a
<b>1,5%</b>	6,67b	15,01a	0,28a

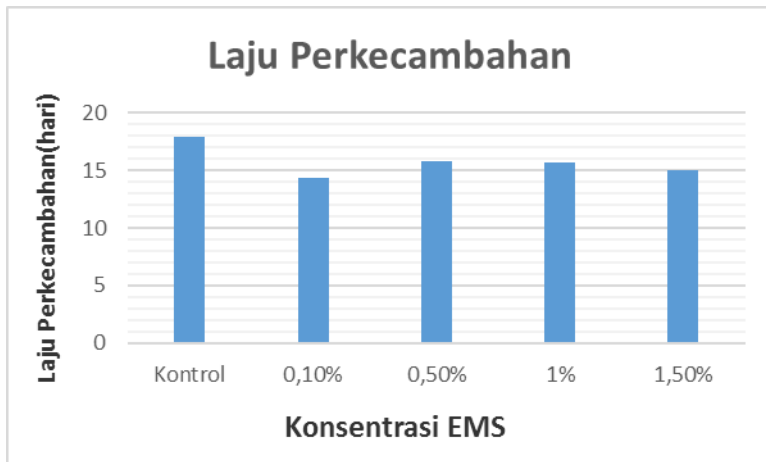
**Keterangan** : angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji Tukey 5%.

Berdasarkan tabel data tersebut, uji statistik ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi EMS berpengaruh nyata terhadap daya kecambah, yaitu pada konsentrasi 1% dan 1,5%. Perbedaan konsentrasi EMS tidak berpengaruh nyata terhadap laju perkecambahan dan kekuatan tumbuh benih.



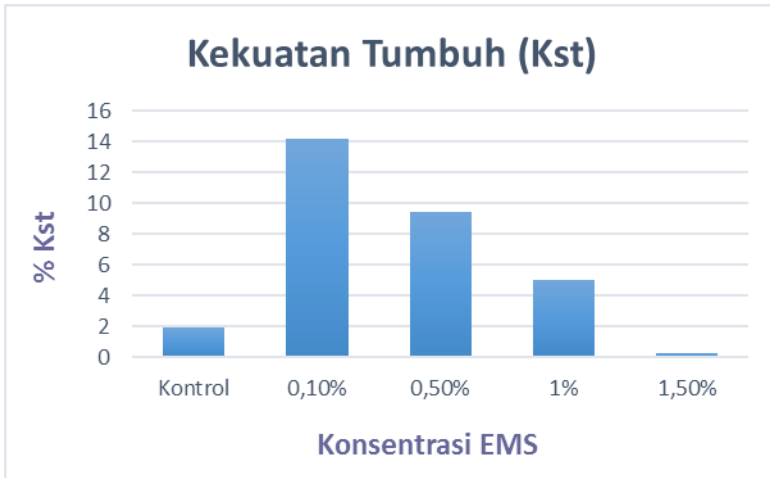
**Gambar 4.1.** Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap daya kecambah benih tembakau var. Marakot (0-21 hari pengamatan).

Penurunan daya kecambah terjadi seiring dengan besarnya konsentrasi EMS, yang ditunjukkan pada grafik (Gambar 4.1). Daya kecambah paling rendah terdapat pada benih yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi 1,5%, yaitu sebesar 6,67%. Hasil penelitian yang telah dilakukan sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya, yang menunjukkan bahwa efek penghambatan akan bertambah seiring dengan semakin tingginya konsentrasi EMS yang diberikan, dalam hal ini yaitu daya berkecambah benih. Pada penelitian yang dilakukan oleh Amarnath & Prasad (1998) terhadap tanaman tembakau yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi 0,1%, 0,3%, dan 0,5% selama 12 jam menunjukkan daya kecambah paling rendah pada konsentrasi EMS tertinggi (0,5%). Hasil serupa juga ditunjukkan pada jarak pagar (*Jatropha curcas*) (Dhakshanamoorthy, 2010) dan padi (Talebi, 2012).



**Gambar 4.2.** Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap laju perkecambahan benih tembakau var. Marakot (0-21 hari pengamatan).

Perlakuan perendaman EMS dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata pada parameter laju perkecambahan. Akan tetapi, terdapat perbedaan antara perlakuan dengan kontrol (Gambar 4.2). Benih yang diberi perlakuan EMS mampu berkecambah lebih cepat dibanding kontrol. Hal ini tidak sesuai dengan literatur, karena perlakuan EMS menghambat perkecambahan sehingga memperlambat perkecambahan benih. Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Mori *et al.*, (2016) pada tanaman kacang hijau (*Vigna radiata*), laju perkecambahan semakin lambat dengan semakin besarnya konsentrasi EMS.



**Gambar 4.3.** Grafik pengaruh konsentrasi EMS terhadap kekuatan tumbuh benih tembakau var. Marakot (0-21 hari pengamatan).

Penurunan persentase kekuatan tumbuh benih terjadi seiring tingginya konsentrasi EMS, yang ditunjukkan pada (Gambar 4.3). Persentase kekuatan tumbuh benih tertinggi terdapat pada perlakuan EMS konsentrasi 0,1% dengan rata-rata sebesar 14,17%. Sedangkan persentase kekuatan tumbuh benih terendah terdapat pada perlakuan EMS konsentrasi 1,5%, yaitu 0,28%. Hasil penelitian ini sesuai dengan literatur. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rustini & Pharmawati (2014), perlakuan EMS 1% dengan perendaman yang berbeda menyebabkan munculnya bibit menjadi terhambat. Hal ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi EMS, kekuatan tumbuh benih juga akan menurun karena adanya efek penghambatan oleh mutagen EMS.

Sebelum dilakukan perlakuan perendaman EMS, benih direndam terlebih dahulu ke dalam *aquadest* dan mengalami proses imbibisi, yaitu masuknya air ke dalam benih. Imbibisi akan menyebabkan kulit benih menjadi lunak dan retak, sehingga EMS dapat masuk ke dalam benih tembakau. Masuknya EMS ke dalam benih akan menyebabkan mutasi titik pada DNA sel embrio yang ada di dalam benih dan akan menyebabkan perubahan susunan asam amino. Sintesis hormon dan enzim yang terganggu oleh EMS menyebabkan terhambatnya metabolisme pada benih (Sambrook & Russell, 2001). Demikian juga dengan Jayakumar dan Selvaraj (2003), yang menyatakan bahwa tingginya konsentrasi EMS dapat merusak promotor pertumbuhan, meningkatkan penghambat pertumbuhan dan metabolisme benih, dan menyebabkan berbagai penyimpangan kromosom. Hal ini ditunjukkan pada tabel hasil penelitian (Tabel 4), bahwa terhambatnya metabolisme pada benih berdampak pada daya kecambah dan kekuatan tumbuh benih yang rendah, yaitu pada benih yang diberi perlakuan mutagen kimia EMS dengan konsentrasi paling tinggi (1,5%).

Efek EMS dalam menurunkan perkecambahan bisa juga dihubungkan dengan beda potensial air. Perbedaan potensial air di dalam sel dan di luar sel dapat menghambat perkecambahan benih karena adanya hambatan penyerapan air. Loveless (1991) menegaskan bahwa semakin besar konsentrasi partikel atau zat, makin rendah nilai potensial air. Dengan meningkatnya potensial osmotik, EMS akan menurunkan potensial air sehingga menyulitkan benih mendapatkan air. Konsentrasi EMS yang lebih tinggi dapat menurunkan potensial air di luar benih dan oleh karena itu benih tidak dapat melakukan imbibisi air yang cukup untuk perkecambahan (Singh & Kole, 2005).

Meskipun perkecambahan benih terhambat karena adanya EMS, tetapi kecambah tembakau masih dapat tumbuh pada semua konsentrasi perlakuan EMS. Hal ini diduga disebabkan karena adanya kemampuan benih untuk mengembangkan toleransi terhadap efek penghambatan mutagen dan benih tersebut telah meningkatkan kondisi fisiologis pada saat berlangsungnya proses perkecambahan, sehingga benih yang diberi perlakuan mutagen bisa mengalami perkecambahan walaupun lambat (Al-Qurainy & Khan, 2009). EMS merupakan senyawa yang beracun, sehingga menghambat pertumbuhan, tetapi akhirnya benih dapat beradaptasi dan mampu muncul ke permukaan tanah (Rustini & Pharmawati, 2014).

Selain efek penghambatan, EMS juga menunjukkan efek menstimulasi pertumbuhan benih. Pada perlakuan EMS dengan konsentrasi rendah (0,1%), daya kecambah dan kekuatan tumbuh benih lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan EMS lainnya, yaitu 81,67% dan 14,17% (Tabel 4). Menurut Lee *et al.*, (2017), pemberian mutagen EMS dengan konsentrasi yang rendah dapat menjadikan benih tetap viabel, akan tetapi variasi genetik yang dihasilkan mungkin rendah karena sedikitnya mutagen yang masuk ke dalam benih. Sebaliknya, pemberian EMS dengan konsentrasi yang tinggi dapat memunculkan lebih banyak variasi genetik karena banyaknya mutagen yang masuk ke dalam benih, meskipun benih tersebut memiliki daya berkecambah yang rendah dan tingkat kematian yang tinggi. Priyono & Susilo (2002), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi EMS menyebabkan semakin banyak EMS yang terserap sehingga toksisitas EMS semakin bertambah.



Benih bermutu adalah benih yang mampu berkecambah dalam kondisi yang cukup baik. Benih bermutu meliputi mutu fisik, fisiologis dan genetik (Yuniarti, 2014). Pada penelitian ini, perlakuan menggunakan EMS dengan beberapa konsentrasi (0,1%, 0,5%, 1%, dan 1,5%) memberikan pengaruh terhadap mutu fisiologis benih, yaitu viabilitas dan vigor benih yang ditunjukkan melalui daya berkecambah, laju perkecambahan, dan kekuatan tumbuh benih. Menurunnya daya kecambah benih dengan konsentrasi EMS yang semakin tinggi berkaitan dengan kekuatan tumbuh benih. Suatu kelompok benih yang menunjukkan pertumbuhan serempak dan kuat akan memiliki kekuatan tumbuh yang tinggi (Lesilolo, 2013). Benih tembakau yang tumbuh tidak serempak dan kuat, menunjukkan kekuatan tumbuh yang rendah sehingga berdampak pada rendahnya persentase daya berkecambah benih pada perlakuan EMS konsentrasi tinggi.

Laju perkecambahan menunjukkan kemampuan benih untuk berkecambah secara cepat pada rentang waktu selama pengamatan. Kemampuan benih yang cepat untuk berkecambah tentunya didukung oleh nilai daya kecambah dari setiap benih yang menunjukkan viabilitas yang tinggi (Lesilolo, 2012). Hal ini ditunjukkan pada hasil penelitian, yaitu benih dengan perlakuan EMS konsentrasi 0,1% dapat tumbuh lebih cepat (14,32 hari) dibanding benih perlakuan lainnya termasuk benih kontrol, dan didukung oleh persentase daya kecambah yang tinggi pula, yaitu 81,67 %. Pada benih kontrol, persentase daya kecambah dan kekuatan tumbuh lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan EMS konsentrasi 0,1%, yaitu 78,89% dan 1,94%. Hasil tersebut diduga karena kualitas fisiologis benih tembakau yang digunakan tidak sesuai dengan standar SNI sehingga daya kecambah dan kekuatan tumbuhnya rendah serta membutuhkan waktu yang cukup lama untuk berkecambah dibandingkan benih dengan perlakuan EMS, yaitu 17,95 hari. Daya kecambah benih tembakau sesuai standar SNI yaitu lebih dari 85%.

Hasil penelitian juga mengindikasikan bahwa benih dengan perlakuan mutagen EMS konsentrasi rendah (0,1%) menunjukkan viabilitas dan vigor benih yang tinggi, karena memiliki daya kecambah tinggi serta mampu berkecambah secara cepat dan serempak, yang menggambarkan kekuatan tumbuh yang tinggi. Viabilitas dan vigor yang tinggi menggambarkan benih tersebut memiliki kualitas fisiologis yang baik. Sebaliknya perlakuan EMS dengan konsentrasi tinggi (1% dan 1,5%) menurunkan viabilitas dan vigor benih, yang ditunjukkan dengan daya kecambah dan kekuatan tumbuh yang rendah.

#### **4.2 Pengaruh Konsentrasi EMS terhadap Morfologi Bibit Tembakau**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, benih tembakau yang telah dikecambahkan tidak berhasil tumbuh menjadi bibit tembakau. Oleh karena itu, pengamatan morfologi bibit tembakau tidak dapat dilakukan. Benih tembakau tidak dapat tumbuh diduga disebabkan oleh beberapa faktor eksternal yang mempengaruhi pertumbuhan benih, yaitu suhu, kelembaban dan media yang digunakan. Pada penanaman awal, benih mampu berkecambah hingga mencapai umur 3 minggu. Akan tetapi suhu *greenhouse* yang terlalu tinggi diduga menyebabkan kecambah tembakau menjadi layu dan mati. Tingginya suhu akan menyebabkan laju transpirasi semakin cepat (Collison *et al.*, 2002) dan keluarnya air melalui proses transpirasi tidak diimbangi oleh penyerapan air oleh akar karena tanah juga menjadi kering akibat tingginya suhu, sehingga menimbulkan cekaman kekeringan pada tanaman. Pada saat terjadi kekeringan, sebagian stomata daun menutup sehingga terjadi hambatan masuknya CO<sub>2</sub> dan menurunkan aktivitas fotosintesis serta menghambat sintesis protein dan dinding sel (Salisbury & Ross, 1995) sehingga menyebabkan kematian pada tanaman (Djazuli, 2010).

Setelah benih tembakau yang telah berkecambah tidak dapat tumbuh menjadi bibit, dilakukan penanaman kembali di *greenhouse* yang berbeda. Akan tetapi, lingkungan dan media penanaman yang terlalu lembab akibat penyiraman dilakukan dua kali sehari diduga menyebabkan sangat sedikitnya benih yang mampu berkecambah dari semua benih yang ditumbuhkan. Benih yang telah berkecambah juga tidak dapat bertahan hidup hingga akhirnya layu dan mati. Air berguna untuk melunakkan kulit biji dan menyebabkan pengembangan embrio dan endosperm. Akan tetapi, benih memiliki batas maksimum dalam menyerap air, jika penyerapan air sudah maksimum maka air tidak lagi diserap dan air yang berlebih akan menyebabkan busuknya biji (Nurshanti, 2013), sehingga biji tidak dapat berkecambah.



*“Halaman ini sengaja di kosongkan”*

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlakuan mutagen EMS dengan konsentrasi yang berbeda terhadap benih tanaman tembakau memberikan pengaruh nyata terhadap daya kecambah dan tidak berpengaruh nyata terhadap laju perkecambahan serta kekuatan tumbuh benih.
2. Perlakuan mutagen EMS dengan konsentrasi 1% dan 1,5% memberikan pengaruh menurunkan daya perkecambahan benih tembakau.
3. Pengamatan morfologi bibit tembakau tidak dapat dilakukan karena benih tidak dapat tumbuh sampai menjadi bibit, yang disebabkan oleh beberapa faktor lingkungan yaitu suhu, kelembaban, dan media penanaman benih.

#### **5.2 Saran**

Pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan benih tembakau. Penelitian selanjutnya juga diharapkan dilanjutkan hingga fase generatif sehingga dapat terlihat perbedaan karakteristik morfologi antara perlakuan EMS dengan tanaman kontrol, yang menunjukkan adanya variasi genetik yang disebabkan oleh induksi mutasi.

***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, A dan Soedarmanto. 1998. **Budidaya Tembakau**. Malang : CV Yasa Guna.

Alcantara, T.P., Bosland, P.W., and Smith, D.W. 1996. Ethyl Methane Sulfonate Induced Mutagenesis of *Capsicum annuum*. **Journal of Heredity**. 87:239-241.

Al-Qurainy, F. and Khan, S. 2009. Mutagenic Effects of Sodium Azide and Its Application in Crop Improvement. **World Applied Sciences Journal**. 6:1589-1601.

Amarnath, S. and Prasad, A.B. 1998, Induced Variability in Homozygous and Heterozygous Genotypes of Tobacco. **Indian Journal of Genetics**. 58(1): 69-77.

Anonim. 2016. **Buku Kunci Identifikasi Tanaman Tembakau**. Sadhana Agro Center: PT Sadhana.

Bhat, R., Upadhyaya, N., Chaudhury, A., Raghavan, C., Qiu, F., Wang, H., Wu, J., McNally, K., Leung, H and Till, B 2007. **Chemical and Irradiation Induced Mutants and Tilling**. In: N. M. Upadhyaya, Ed. Rice Functional Genomics: Challenges Progress and Prospects.

Brookes, M. 1998. **Day of the Mutators**. New Scientist. 2(1):38-42.

Burrus, V and Waldor. 2004. **Shaping Bacterial Genes with Integrative and Conjugate Elements**. Research Microbiology. 155(5):376-386.



Cahyono, Bambang. 1998. **Tembakau, Budidaya dan Analisis Tani**. Yogyakarta: Kanisius.

Chen, M., Choi, Y., and Rodermel, D.F. 2000. Mutation in the Arabidopsis VAR2 Locus Leaf Variegations Due to the Loss of Chloroplast FtsH protease. **Plant Journal**. 22(7):303-313.

Chopra, V.L. 2005. **Mutagenesis: Investigating the Process and Processing the Outcome for Crop Improvement**. Current Science. 89(2):353-359.

Collison, P., Kirkby, D., Macdonald, A. 2002. **Nelson GSCE Modular Science**. United Kingdom: Nelson Thornes Ltd.

Crowder, L.V. 1993. **Genetika Tumbuhan**. Terjemahan Kusdiarti, L., Sutarso (*ed*). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R., and Chidambaram, A. 2010. Physical and Chemical Mutagenesis in *Jatropha Curcas* L. to Induce Variability in Seed Germination, Growth and Yield Traits. **Journal of Plant Biology**. 55(2):113–125.

Djazuli, M. 2010. **Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan Dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam**. Bulletin Littro. 21(1): 8-17

Girija, M and Dhannavel, D. 2009. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays Ethyl Methanesulfonate and Their Combined Treatments in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Global Journal of Molecular Sciences**. 4(2):68-75.

Gnanamurthy, S and Dhanavel, D. 2014. **Effect of EMS on Induced Morphological Mutants and Chromosomal Variation in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.)**. International Letters of Natural Sciences. 22:33-43.



Hanadyo, R., Hadiastono, T., dan Martosudiro, M. 2013. Pengaruh Pemberian Pupuk Daun Cair Terhadap Intensitas Serangan *Tobacco Mosaic Virus* (TMV), Pertumbuhan, dan Produksi Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). **Jurnal HPT**. 1(2): 28-36.

Hartati, S dan Indriani. 1999. Pengaruh Invigorisasi Terhadap Viabilitas Benih dan Pertumbuhan Tanaman Kenaf (*Hibiscus cannabinus*). **Jurnal Litri**. 4(6).

Hasanah, M. 2002. Peran Mutu Fisiologik Benih dan Pengembangan Benih Tanaman Industri. **Jurnal Litbang Pertanian**.21(3):8

Herawati, T dan Setiamihardja, R. 2000. **Pemuliaan Tanaman Lanjutan**. Program Pengembangan Kemampuan Peneliti Tingkat S1 Non Pemuliaan Dalam Ilmu dan Teknologi Pemuliaan. Bandung: Universitas Padjajaran

Imelda, M., Deswina, P., Hartati, S., Estiati, A., and Atmowijoyo, S. 2000. **Chemical Mutation by Ethyl Methane Sulfonate (EMS) for Bunchy Top**. Virus Resistance in Banana. *Annales Bogorienses*. 38(3):205-211.

Jabeen, N. and Mirza, B. 2002. **Ethyl Methane Sulfonate Enhances Genetic Variability in *Capsicum annum***. *AJOPS*, 4: 425–8.

Jabeen, N., and Mirza, B. 2004. Ethyl Methane Sulfonate Induces Morphological Mutations in *Capsicum annum*. **International Journal of Agriculture Biology**. 6(2):340-345.

Jayakumar, S., and Selvaraj, R. 2003. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and Ethyl Methane Sulphonate in Sunflower (*Helianthus annus* L.). **Madras Journal Agriculture**. 90 (1):574-576.

Jing, X., P. Hou., Y. Lu., S. Deng., N. Li., R. Zhao., J. Sun., Y. Wang., Y. Han., T. Lang., M. Ding., Xin Shen and S. Chen. 2015. **Overexpression of Copper/Zinc Superoxide Dismutase from Mangrove *Kandelia Candel* in Tobacco Enhances Salinity Tolerance by The Reduction of Reactive Oxygen Species in Chloroplast.** *Plant Science.* 6(23):1-13

Julio E., Laporte F., Reis S., Rothan C., and de Borne F.D. 2004. **Targeted Mutation Breeding as a Tool for Tobacco Crop Improvement.** *Molecular Breeding.* 21:369-381.

Julio E., Laporte F., Reis S., Rothan C., and de Borne F.D. 2008. **Reducing the Content of Nicotine in Tobacco Via Targeted Mutation Breeding.** *Molecular Breeding.* 21:369-381.

Kumar, A and Mishra, M. N. 2004. **Effect of Gamma Rays, EMS, and NMU on Germination, Seedling Vigour, Pollen Viability, and Plant Survival in M1 and M2 generation of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.).** *Advances in Plant Science.* 17(1):295-297.

Kuswanto, H. 1996. **Dasar-Dasar Teknologi Produksi dan Sertifikasi Benih.** Yogyakarta : Penerbit Andi.

Lee, D. K., Kim, Y. S., and Kim, J. K. 2017. **Determination of The Optimal Condition for Ethylmethane Sulfonate-Mediated Mutagenesis in Korean Commercial Rice, Japonica Cv. Dongjin.** *Applied Biological Chemistry.*

Lesilolo, M. K., Patty, J dan Tetty, N. 2012. Penggunaan Desikan Abu dan Lama Simpan Terhadap Kualitas Benih Jagung (*Zea mays* L.) pada Penyimpanan Ruang Terbuka. **Jurnal Agrologia.** 1(1):51-59.

Lesilolo, M. K., Riry, J., dan Matatula, E. A. 2013. Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih Beberapa Jenis Tanaman yang Beredar Di Pasaran Kota Ambon. **Jurnal Agrologia**. 2(1):1-9

Loveless, A. R. 1991. **Prinsip Prinsip Biologi Tumbuhan Untuk Daerah Tropik. Jilid 1**. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.

Mahandjiev, A., Kosturkova, G., and Mihov, M. 2001. Enrichment of *Pisum sativum* Gene Resources through Combined Use of Physical and Chemical Mutagens. **Israel Journal of Plant Sciences**. 49(4):279-284.

Matnawi, Hudi, 1997. **Budidaya Tembakau Bawah Naungan**. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Miglani, G. S. 2010. **Developmental Genetics**. New Delhi: I.K International Publishing House. Ltd.

Mori, V. K., Kumar, R., Kiran, K., and Ribadiya, K. H. 2016. EMS and Gamma Rays Induced Mutation in Greengram (*Vigna Radiata* L.). **International Journal of Environmental Sciences**. 10(1):75-80.

Mugnisjah, W. 1990. **Pengantar Produksi Benih**. Bogor : ITB Press.

Murti, R. H., Kim, H. Y., and Yeoung, Y. R. 2013. Effectiveness of Gamma Ray Irradiation and Ethyl Methane Sulphonate On *in Vitro* Mutagenesis of Strawberry. **African Journal of Biotechnology**. 12(20):4803-4812.

Nurshanti, D. F. 2013. Tanggap Perkecambah Benih Palem Ekor Tupai (*Wodyetia Bifurcate*) Terhadap Lama Perendaman Dalam Air. **Jurnal Ilmiah Agriba**. 2: 216-224.

Oeliem, T. M. H., Yahya, S., Sofia, D., dan Mahdi, 2008. **Perbaikan Genetik Kedelai Melalui Mutasi Induksi Sinar Gamma Untuk Menghasilkan Varietas Unggul dan Tahan Terhadap Cekaman Kekeringan**. USU, Medan.

Pande, S., and Khetmalas, M. 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.

Priyono dan Susilo, A.W., 2002. Respon Regenerasi *In vitro* Eksplant Sisik Mikro Kerk Lily (*Lilium longiflorum*) terhadap *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS). **Jurnal Ilmu Dasar**. 3(2): 74-79.

Purwati, R.D., Budi, U., dan Sudarsono, S. 2007. Penggunaan Asam Fusarat dalam Seleksi *in vitro* untuk Resistensi terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense. **Jurnal Littri**. 7(2):80-91.

Purwati, R.D., Sudjindro, K.E., dan Sudarsono, S. 2008. Keragaman Genetika Varian Abaka yang Diinduksi dengan Ethyl Methane Sulphonate (EMS). **Jurnal Littri**. 15(4):152-161.

Putri, E.A., Suwandari, A., Ridjal, J.A. 2015. **Analisis Pendapatan dan Efisiensi Biaya Usahatani Tembakau Maesan 2 di Kabupaten Bondowoso**. JSEP. 8(1):64-69.

Rachman, A.H. 2007. **Status Pertembakauan Nasional. Prosiding Lokakarya Nasional Agribisnis Tembakau**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Surabaya, 7 Juni 2007.

Rodgers, K and McVey, M. 2016. Error-Prone Repair of DNA Double Strand Breaks. **Journal of Cell Physiology**. 231(1):15-24.

Russel, R.J. 1992. **Genetics**. Third Edition. Harper Collins Publishers, New York.

Rustini, N. K., dan Pharmawati, M. 2014. Aksi *Ethyl Methane Sulphonate* terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens L.*). **Jurnal Bioslogos**. 4(1):1-8

Sadjad, S. 1993. **Dari Benih Kepada Benih**. PT Grasindo, Jakarta.

Salisbury, F. B., and Ross, C. 1992. **Fisiologi Tumbuhan**. Bandung: ITB Press.

Salisbury, F. B., and Ross, C. 1995. **Plant Physiology**. California: Wadsworth Pub.Co.Inc.

Sambrook, J and Russel, D.W. 2001. **Molecular Cloning : A Laboratory Manual**. Eds 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Samuels, A.L and Staehelin, L.A. 1996. **Caffeine Inhibits Cell Plate Formation by Distrupting Membrane Reorganization Just After the Vesicle Fusion Step**. Departement of Biology, University of Colorado, Boulder, Colorado, Protoplasma. Austria : Springer-Verlag

Sari, L., Purwito, A., Sopandie, D., Purmaningsih, R., dan Enny Sudarmonowati. 2015. Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma pada Pertumbuhan Kalus dan Tunas Tanaman Gandum (*Triticum aestivum L.*). **Jurnal Ilmu Pertanian**. 1(1):44-50.

Shah, T. M., Mirza, J. I., Haq, M. A., and Atta, B. M. 2008. Induced Genetic Variability in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Comparative Mutagenic Effectiveness and Efficiency of

Sharma, S., Javadekar, S.M., Pandey, M., Srivastava, M., and Raghavan, R. 2015. **Homology and Enzymatic Requirements of Micromology-Dependent Alternative End Joining**. Cell Death Disease.

Singh R, and Kole, C.R. 2005. **Effect of Mutagenic Treatments with EMS on Germination and Some Seedling Parameters in Mungbean**. Crop Research. 30:236-240

SNI. 2006. **SNI Benih Tembakau Kelas Benih Dasar dan Benih Sebar. SNI. 01-7161-2006. ICS 27-180**. Standar Nasional Indonesia. Badan Standarisasi Nasional.

Soeranto, H. 2003. **Peran IPTEK Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industri Pertanian**. Jakarta: Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional.

Srivastava, P., and Jitendra, P. 2012. LICF Spectrum as a Fast Detector of Chlorophyll Damage in Safflower Growing under Mutagenic Stress. **World Journal of Agricultural Sciences**.8(3):322-325.

Steenis, C.G.G.J. 2005. **Flora**. PT. Pradnya Paramita, Jakarta.

Sutopo, L. 1998. **Teknologi Benih**. PT Rajawali, Jakarta.

Sutopo, L. 2004. **Teknologi Benih**. PT Rajawali, Jakarta.



Talebi, A.B., Talebi, A.B., and Behzad Shahrokhifar. 2012. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. **American Journal of Plant Sciences**. 3:1661-1665.

Wan, Y., Duncan, D.R., Rayburn, A.L., Petolino, J.F and Widholm, J.M. 1991. **The Use of Antimicrotubule Herbicides for the Production of Doubled Haploid Plants from Anther-Derived Maize Callus**. Theoretical and Applied Genetics. 81:205-211.

Van Harten, A.M. 1998. **Mutation Breeding: Theory and Practical Application**. New York: Cambridge University Press.

Yuniarti, N., M. Zanzibar., Megawati., dan Budi Leksono. 2014. Perbandingan Vigoritas Benih *Acacia mangium* Hasil Pemuliaan dan Belum Dimuliakan. **Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea**. 3(1):57-64.

Widajati, E., Murniati, J.M., Palupi, E.R., Kartika, T. Suhartanto, M. R., dan Qadir, A. 2013. **Dasar Ilmu dan Teknologi Benih**. Bogor: PT. Penerbit IPB Press.

Zhu, X.D., Chen, H.Q., and Shan, J.X. 2006. **Nuclear Techniques for Rice Improvement and Mutant Induction in China National Rice Research Institute**. Plant Mutation Reports. 3(1):7-10.

***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Uji Viabilitas dan Vigor Benih.

Perlakuan	Ulangan	Daya berkecambah (%)	Laju perkecambahan (hari)	Kekuatan Tumbuh (%)
Kontrol	1	79,17	18,11	3,33
	2	80,83	17,28	2,50
	3	76,67	18,47	0,00
0,1%	1	100,00	12,09	29,17
	2	85,00	14,16	12,50
	3	60,00	16,70	0,83
0,5%	1	60,00	15,38	5,83
	2	75,83	15,02	22,50
	3	52,50	16,85	0,00
1,0%	1	40,83	14,70	8,33
	2	29,17	14,66	6,67
	3	23,33	17,61	0,00
1,5%	1	5,00	14,50	0,00
	2	5,83	14,43	0,83
	3	9,17	16,09	0,00

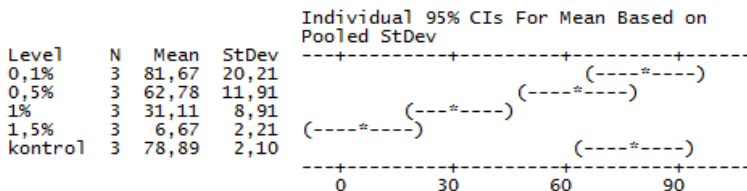


## Lampiran 2. Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Daya Kecambah Benih.

### One-way ANOVA: daya kecambah versus konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentrasi	4	12631	3158	24,71	0,000
Error	10	1278	128		
Total	14	13909			

S = 11,30    R-Sq = 90,81%    R-Sq(adj) = 87,14%



Pooled StDev = 11,30

### Grouping Information Using Tukey Method

konsentrasi	N	Mean	Grouping
0,1%	3	81,67	A
kontrol	3	78,89	A
0,5%	3	62,78	A
1%	3	31,11	B
1,5%	3	6,67	B

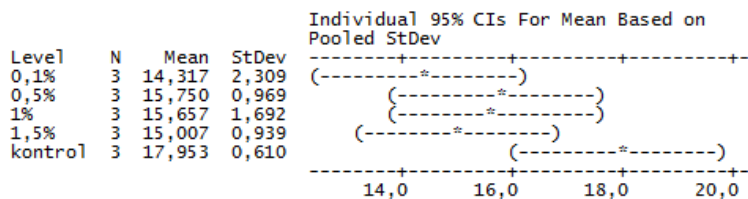
Means that do not share a letter are significantly different.

### Lampiran 3. Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Laju Perkecambahan.

#### One-way ANOVA: Laju perkecambahan versus Konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
Konsentrasi	4	22,41	5,60	2,70	0,093
Error	10	20,77	2,08		
Total	14	43,18			

S = 1,441 R-Sq = 51,89% R-Sq(adj) = 32,65%



Pooled StDev = 1,441

#### Grouping Information Using Tukey Method

Konsentrasi	N	Mean	Grouping
kontrol	3	17,953	A
0,5%	3	15,750	A
1%	3	15,657	A
1,5%	3	15,007	A
0,1%	3	14,317	A

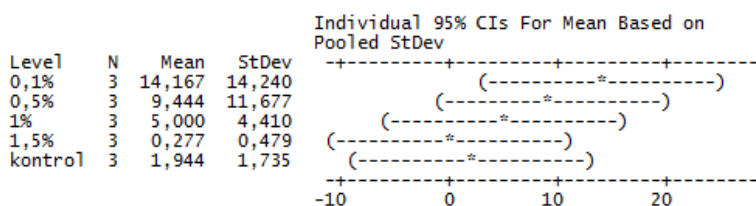
Means that do not share a letter are significantly different.

#### Lampiran 4. Hasil Uji ANOVA One Way dan Uji Lanjutan Tukey terhadap Kekuatan Tumbuh Benih.

##### One-way ANOVA: kekuatan tumbuh versus konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentrasi	4	385,9	96,5	1,33	0,323
Error	10	723,6	72,4		
Total	14	1109,5			

S = 8,507    R-Sq = 34,78%    R-Sq(adj) = 8,69%



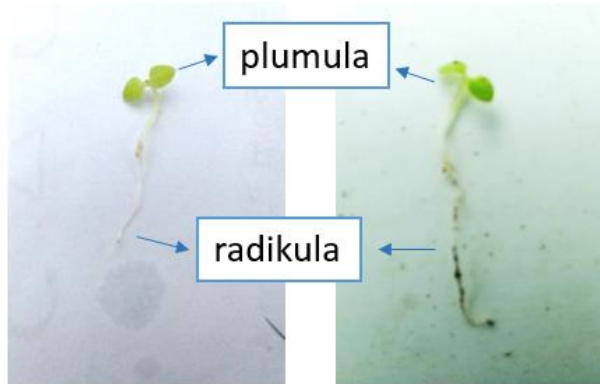
Pooled StDev = 8,507

##### Grouping Information Using Tukey Method

konsentrasi	N	Mean	Grouping
0,1%	3	14,167	A
0,5%	3	9,444	A
1%	3	5,000	A
kontrol	3	1,944	A
1,5%	3	0,277	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 5. Foto Kecambah Tembakau Normal (umur 1 minggu)





***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Surabaya, 8 Mei 1995. Anak pertama dari pasangan drs. Suyitno dan Lilis Suryani. Penulis memulai pendidikan dasar di SDN Rungkut Menanggal II Surabaya. Kemudian melanjutkan pendidikan di jenjang sekolah menengah pertama di SMPN 35 Surabaya. Setelah lulus, penulis melanjutkan pendidikan selanjutnya di

SMAN 16 Surabaya.

Setelah lulus SMA, penulis diterima di jurusan S1 Biologi ITS melalui Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis aktif mengikuti organisasi di lingkungan ITS sebagai staff Minat Bakat Departemen Kesejahteraan Mahasiswa (Kesma) Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (HIMABITS), *Steering Comitee* (SC) Sie Publikasi *big event* Biological Opus Fair IX, Ketua Komunitas Musik Biologi (BioArt), dan staff Departemen Ukhuwah Usaha Lembaga Dakwah Jurusan (LDJ) Forum Kajian Islam Qurani (FKIQ) Biologi ITS. Penulis juga aktif dalam kegiatan kepanitiaan sebagai koordinator Sie Keamanan dan Perijinan acara Wisuda Party 110, panitia *big event* Biological Opus Fair 7 dan 8, dan panitia Pelatihan Dasar Keislaman (PENDAKI) Lembaga Dakwah Jurusan (LDJ) Forum Kajian Islam Qurani (FKIQ) Biologi ITS. Penulis juga memiliki beberapa pengalaman kerja dengan dosen Jurusan Biologi ITS, yaitu sebagai Asisten Praktikum Mata Kuliah Struktur Tumbuhan dan Fisiologi Tumbuhan.