

**EKSTRAK ETANOLIK UMBI KEMBANG SUNGSANG
DAN DAUN TAPAK DARA SEBAGAI SUBSTITUSI
KOLKISIN DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS BUAH MELON**



SKRIPSI

Oleh:

Resi Mardianti
NPM. E1J010015

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BENGKULU
2014**

SUMMARY

USE ETHANOLIC EXTRACTS FROM FRAME LILY BULB AND VINCA ROSEA LEAVES AS THE SUBSTITUTES FOR COLCHICINE FOR MELON GROWTH AND YIELD QUALITY IMPROVEMENTS (Resi Mardianti, supervised by Marwanto and Eko Suprijono, 2014, 31 pages)

The increasing market demand for melon can not be fulfilled for both quantity and quality from local production. Consequently, the fruit should be imported from other countries. The common features of locally produced melon are small fruit, thin mesocarp, and low sugar content. Fruit quality can be improved genetically by doubling the chromosome numbers with an anti mitotic agents, such as colchicines from frame lily bulb and vincristine from vinca rosea leaves. Objective of this study was to compare the growth and yield quality of melon fruit resulted from seeds submerged in two different types of mutagen.

Study was conducted at experimental orchard of Agronomy Laboratory from April 2013 to July 2013. A randomized complete block design with five replications was used to allocate 10 treatments of mutagen applications, namely: (1) seed were submerged in distilled water (control), (2) seeds were submerged in 100 g L^{-1} pure colchicines (equivalent to 0,1%), (3) seeds were submerged in 165 g L^{-1} solution of ethanolic extracted from frame lily bulb for 8 hrs, (4) seeds were submerged in 0,1% solution of ethanolic extracted of vinca rosea leaves (equivalent to 2,5 g vinca rosea leaves powder) for 8 hrs, (5) seeds were submerged in 1 g L^{-1} (equivalent to 0,1%) pure colchicines solution for 16 hrs, (6) seeds were submerged in 165 g L^{-1} solution of ethanolic extracted from frame lily bulb for 16 hrs, (7) seeds were submerged in 0,1% solution of ethanolic extract of vinca rosea leaves (equivalent to 2,5 g vinca rosea leaves powder) for 16 hrs, (8) seeds were submerged in 1 g L^{-1} (equivalent to 0,1%) pure colchicines solution for 24 hrs, (9) seeds were submerged in 165 g L^{-1} solution of ethanolic extracted from frame lily bulb for 24 hrs, and (10) seeds were submerged in 0,1% solution of ethanolic extract of vinca rosea leaves (equivalent to 2,5 g vinca rosea leaves powder) for 24 hrs. Data were collected for vine length (cm), leave number, fresh weight (g), leaf area (cm^2), stomata density, vine diameter(mm), root length(cm), leaf greenness, fruit weight (kg), fruit diameter(cm), 100 seed weight (g), and soluble content.

Results indicated that seeds submergence in mutagenic solutions had resulted in wider leaf area, higher stomata density than control. Significant effect of mutagens were found on fruit weight, fruit diameter, and 100 seed weight, but not on fruit sugar content.

Etheir ethanolic extracts from frame lily bulb or from vinca rosea leaves could be used as the substitute for pure colchicines in improving growth and yield quality of melon fruit.

(Agroecotechnology Study Program, Department of Agriculture Production, Faculty of Agriculture, University of Bengkulu)

RINGKASAN

EKSTRAK ETANOLIK UMBI KEMBANG SUNGSANG DAN DAUN TAPAK DARA SEBAGAI SUBSTITUSI KOLKISIN DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN DAN KUALITAS BUAH MELON (Resi Mardianti, di bawah bimbingan Marwanto dan Eko Suprijono. 2014. 31 Halaman)

Impor buah melon cukup tinggi karena kebutuhan konsumsi melon meningkat. Untuk mengurangi ketergantungan terhadap buah melon impor ini, maka produksinya perlu ditingkatkan. Selain itu, mutu buah juga perlu diperbaiki karena melon lokal umumnya memiliki kualitas buah rendah dibandingkan melon impor, yaitu ukuran buah yang kecil, daging buah tipis dan tingkat kemanisan rendah. Peningkatan kualitas buah dapat ditempuh dengan meningkatkan ukuran sel-sel buah melalui penggandaan kromosom dari diploid menjadi tetraploid dengan senyawa *anti mitotic agent* seperti kolkisin dari ekstrak umbi kembang sungsang maupun *vincristine* dari ekstrak daun tapak dara. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan jenis mutagen dengan lama perendaman yang tepat untuk mensubstitusi kolkisin dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kualitas buah melon.

Penelitian ini dilaksanakan di Kebun Percobaan Laboratorium Agronomi dari bulan April sampai dengan Juli 2013 dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor dan 5 ulangan. Perlakuan terdiri atas K0 = Benih direndam di dalam akuades, K1 = Benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 8 jam, K2 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 165.00 g/L (setara 0,1%) selama 8 jam, K3 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 8 jam, K4 = Benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 16 jam, K5 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 165.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 16 jam, K6 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 16 jam, K7 = benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 24 jam, K8 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 165.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 24 jam, K9 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 24 jam. Variabel yang diamati meliputi panjang tanaman (cm), jumlah daun, bobot basah (g), luas daun (cm²),

kerapatan stomata, diameter batang (mm), panjang akar (cm), tingkat kehijauan daun, berat buah (Kg), diameter buah (cm), bobot seratus biji(g) dan kandungan bahan terlarut.

Hasilnya perlakuan perendaman benih dalam mutagen mengakibatkan daun yang terbentuk lebih luas daripada daun perlakuan tanpa mutagen. Selain itu mutagen ini juga menyebabkan kerapatan stomata pada daun lebih tinggi daripada tanpa mutagen. Pada kualitas buah melon bahwa perlakuan mutagen berpengaruh nyata terhadap berat buah, diameter buah, bobot 100 biji namun tidak nyata terhadap kadar gula buah. Pengaruh positif mutagen ekstrak etanolik umbi kembang sunngsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara dapat mensubstitusi peran mutagen kolkisin murni dalam meningkatkan pertumbuhan dan kualitas buah melon.

(Program Studi Agroekoteknologi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu)

**EKSTRAK ETANOLIK UMBI KEMBANG SUNGSANG
DAN DAUN TAPAK DARA SEBAGAI SUBSTITUSI
KOLKISIN DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS BUAH MELON**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh derajat

Sarjana Pertanian pada Fakultas Pertanian

Universitas Bengkulu



Oleh:

Resi Mardianti
NPM. E11010015

Pembimbing:

Ir. Marwanto, M.Sc. Ph.D

In Eko Suprijono, MP

Bengkulu

2014

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 10 Maret di Desa Selali Kecamatan Pino Raya Kabupaten Bengkulu Selatan dari Bapak Yahman Abidin dan Ibu Runa Herayani. Penulis merupakan putri pertama dari tiga bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Nanjungan pada tahun 2005, SMP Negeri 1 Pino Raya tahun 2007, dan SMK Negeri 2 Bengkulu Selatan pada tahun 2010. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan jenjang S1 di Program Studi Agroekoteknologi minat Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu melalui jalur Penelusuran Potensi Akademik.

Selama menjadi mahasiswa penulis selain aktif di bidang akademik, penulis juga aktif di bidang non-akademik, yaitu dalam organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa tingkat fakultas dan Palang Merah Indonesia tingkat Universitas pada tahun 2012. Penulis melaksanakan kuliah kerja nyata (KKN) periode 70 pada tanggal 1 Juli sampai 31 Agustus 2013 di Desa Jambu, Kecamatan Merigi Kelindang Kabupaten Bengkulu Tengah. Penulis juga telah melaksanakan Kuliah Lapangan di Pusat Pengembangan Pertanian Pedesaan Swadaya Bengkulu Selatan.

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

- Sebuah impian, jika kamu menginginkannya kamu akan mendapatkannya dan tidak akan terjadi kecuali kamu percaya pada dirimu.
- Miliki impian, besarkan impian dan jiwai impian tersebut.
- Carilah rezeki seperti kamu ingin menemukan dunia, beribadahlah kamu seperti kamu akan mati besok.
- Rasa malas hanya menyenangkan sesaat akan tetapi yang sebenar-benarnya seumur-umur menyengsarakanmu.

PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

- Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya disetiap kehidupanku
- Bapak dan ibu yang telah membesarkan, mendidik, mengajari, membimbing dan mencintai. Doa-doa yang selalu mengiringiku dan semangat yang diberikan, akan menjadi kekuatan untukku dalam menjalani hidup ini.
- Untuk adik-adikku yang luar biasa, yang selalu mendoakan dan memberikan senyuman, arianto, Virza Claudia Mentari.
- Untuk keluarga besarku (dari ibu dan bapak) yang selalu memberiku semangat dan dukungannya.
- Sahabat-sahabatku
- Seluruh Dosen dan Mahasiswa Agroekoteknologi
- Agama, Bangsa dan Almamaterku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamin puji syukur hanya untuk Allah SWT, karena atas nikmat dan karunia-NYA yang masih memberikan kesempatan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini, dengan judul EKSTRAK ETANOLIK UMBI KEMBANG SUNGSANG DAN DAUN TAPAK DARA SEBAGAI SUBSTITUSI KOLKISIN DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN DAN KUALITAS BUAH MELON yang dilaksanakan pada bulan April sampai Juli 2013 di kebun percobaan Laboratorium Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Shalawat dan salam selalu tecurahkan kepada Nabi Muhamad SAW. Semoga dengan selalu bershalawat bisa membuat doa tersampaikan dan menjadikan hidup ini lebih baik.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini, penulis selalu mendapat bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh sebab itu penulis mengucapkan terima kasih sebesar- besarnya kepada Ir. Marwanto, M.Sc., Ph.D dan Ir. Eko Suprijono. M.P selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing pendamping yang telah banyak memberi masukan, petunjuk, dan pengetahuan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini, dengan penuh dedikasi. Ucapan terima kasih juga kepada Ir. Fahrurrozi, M.Sc, Ph.D, dan Ir. Hartal M.P selaku penguji yang telah memberikan koreksian dan masukan dalam penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ir. Merakati Handayaningsi, M.Sc., selaku dosen pembimbing Program Kreativitas Mahasiswa bidang penelitian (PKMP) yang telah membantu dalam menyelesaikan tulisan ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dirjen Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membantu pendanaan kegiatan PKMP ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan, untuk itu kritik dan saran yang mambangun sangat penulis harapkan. Selanjutnya penulis berharap skripsi ini bermanfaat bagi yang membacanya.

Bengkulu, November 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Mutagen	4
2.2. Penggandaan Kromosom dan Mutasi	6
2.3. Tetraploid	8
2.4. Aksi Mutagen dalam Menggandakan Kromosom	9
2.5. Budidaya Melon	10
III. METODE PENELITIAN	11
3.1. Pelaksanaan Penelitian	11
3.2. Analisis Data	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1. Gambaran Umum Penelitian	16
4.2. Pertumbuhan Tanaman	16
4.3. Kualitas Buah Melon	19
V. SIMPULAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	25

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai F hitung analisis varians pada variabel pertumbuhan tanaman.....	17
2. Rerata Luas Daun dan Kerapatan Stomata.....	18
3. Rangkuman Analisis Ragam Kualitas Buah Melon.....	19
4. Rerata Kualitas Buah Melon.....	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus Bangun Kolkisin Murni.....	4
2. Vinblastine dan Vincristine.....	6
3. Mikrotubul dan Aksi Kolkisin dan <i>Vinca alkaloid</i>	10

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Denah Penelitian.....	26
2. Data Curah Hujan	27
3. Data Analisis Panjang Tanaman, Jumlah Daun dan Panjang Akar	28
4. Data Analisis Diameter Batang, Tingkat Kehijauan daun, kerapatan stomata ...	29
5. Data Analisis Kualitas Buah.....	30
6. Data Analisis Berat basar akar, batang dan daun.....	31

I. PENDAHULUAN

Melon (*Cucumis melo* L.) termasuk salah satu jenis buah-buahan yang cocok dibudidayakan di Indonesia dan disukai oleh konsumen karena buahnya memiliki cita rasa yang enak, manis, beraroma wangi dan khas, serta menyegarkan meskipun buahnya berbiji. Melon juga memiliki daya pikat yang tinggi bagi pembudidayanya karena harganya relatif lebih tinggi daripada komoditas buah hortikultura pada umumnya (Sobir dan Siregar, 2014).

Data statistik menunjukkan bahwa produksi buah melon di Indonesia terus mengalami peningkatan. Pada tahun 2010 produksi melon mencapai 85.161 ton meningkat pada tahun 2011 yang mencapai 103.563/ton (BPS Indonesia, 2012). Konsumsi melon di Indonesia tahun 2010 mencapai 1,94 sampai 2,10 kg/kapita dan diperkirakan pada tahun 2015 sampai 2018 konsumsi buah melon dalam negeri akan meningkat hingga mencapai 2,80 sampai 3,14 kg/kapita/tahun (Kementan, 2012). Meningkatnya permintaan terhadap buah melon ini dipenuhi melalui impor. Untuk mengurangi ketergantungan terhadap buah melon impor ini, maka produksinya perlu ditingkatkan. Selain itu, mutu buah melon juga perlu diperbaiki karena melon lokal umumnya memiliki kualitas buah rendah dibandingkan melon impor, yaitu ukuran buah kecil, daging buah tipis dan tingkat kemanisan rendah. Peningkatan kualitas buah dapat ditempuh dengan meningkatkan ukuran sel-sel buah melalui penggandaan kromosom dari diploid menjadi tetraploid dengan senyawa *anti mitotic agent* seperti kolkisin maupun *vincristine* dari ekstrak daun tapak dara.

Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan hasil ekstraksi dari tumbuhan *Colchicum autumnale* L, yang hanya diperoleh dari daerah subtropis. Kolkisin yang digunakan untuk menciptakan buah tanpa biji umumnya diimpor dari Jepang dengan harga yang mahal. Berdasarkan kenyataan tersebut, perlu dicari *anti mitotic agent* alternatif pengganti kolkisin yang bahannya diperoleh dari sumber daya lokal di Indonesia. Menurut Gillis (1997), pada bidang kesehatan terdapat tiga golongan *antimitotic agent* yang berbeda yang telah teridentifikasi, yaitu (1) golongan *taxanes*, yang di dalamnya termasuk *paclitaxel* (*taxol*) and *docetaxel*, (2) golongan *vinca alkaloids*, yang didalamnya termasuk *vincristine*, *vinblastine*, *vindesine*, dan *vinorelbine*, dan (3) kolkisin (*colchicine*).

Sebagai *anti mitotic agents*, pola aksi (*mode of action*) ketiganya sama, yaitu dengan cara menggagalkan polimerisasi protein tubulin menjadi mikrotubulus melalui pengikatan subunit β -tubulin dari mikrotubulus. Dengan gagalnya polimerisasi tubulin ini, mikrotubulus yang lengkap yang akan menarik kromosom duplikasinya ke kutub sel pada

proses pembelahan sel tidak terbentuk. Akibatnya, pembelahan sel tetap berada pada fase metafase dan kromosom duplikasinya tersebut tetap berada pada bidang metafase (*metaphase plate* atau *division plate*) dan pembelahan sel batal terjadi namun jumlah khromosomnya telah berlipat ganda.

Golongan *taxanes* hanya diperoleh dari kulit tanaman *Western yew* yang tidak ada di Indonesia, kolkisin dari tumbuhan *Colchicum autumnale* L. yang hanya tumbuh di daerah subtropis dan *vinca alkaloids* dari tanaman tapak dara [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] atau *Vinca rosea*. Bahan pengganti kolkisin dari tanaman *Colchicum autumnale* L. yang cukup potensial adalah ekstrak umbi kembang sungsang (*Gloriosa superba*). Tanaman ini dapat ditemukan di pekarangan penduduk sebagai tanaman hias karena keindahan bunganya. Semua bagian tanaman ini mengandung kolkisin. Dari bagian tanaman tersebut, umbi merupakan bagian tanaman kembang sungsang yang umum digunakan untuk diekstrak sebagai kolkisinnya. Sementara itu, penggunaan umbi kembang sungsang sebagai pengganda kromosom untuk tanaman hortikultura masih terbatas. Selain itu, permasalahannya adalah belum diketahuinya dosis yang tepat untuk melon. Untuk itu, perlu diketahui konsentrasi ekstrak umbi kembang sungsang yang paling tepat yang peranannya sama seperti kolkisin dari tanaman *Colchicum autumnale* L. dalam menggandakan kromosom tanaman melon.

Selain umbi kembang sungsang, *anti mutatic agent vinca alkaloids* dari tanaman tapak dara [*Catharanthus roseus* (L.) D. Don] mempunyai potensi yang besar untuk dijadikan sebagai alternatif pengganti kolkisin dalam menggandakan kromosom karena tanaman tapak dara ini hidup sepanjang tahun di daerah tropis dan tumbuh subur di Indonesia.

Tanaman tapak dara oleh masyarakat Indonesia selama ini dimanfaatkan hanya sebatas sebagai tanaman obat tradisional dan keberadaannya sering dianggap kurang bermanfaat sehingga tanaman ini dibiarkan tumbuh liar. Di negara maju, efek farmakologis sari tanaman tapak dara terutama sebagai obat anti kanker telah banyak dikaji, dimanfaatkan dan dikembangkan. Namun, penerapannya dalam bidang perbaikan tanaman belum mendapatkan perhatian yang serius. Data ilmiah yang tersedia tentang keberhasilan pemberian sari tapak dara dalam poliploidisasi tanaman baru sebatas pada bawang merah (Listiawan *dkk.*, 2009). Agar sari tapak dara dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai mutagen alami pengganti kolkisin, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruhnya terhadap poliploidisasi pada tanaman lain seperti melon dalam rangka meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kualitas buah melon.

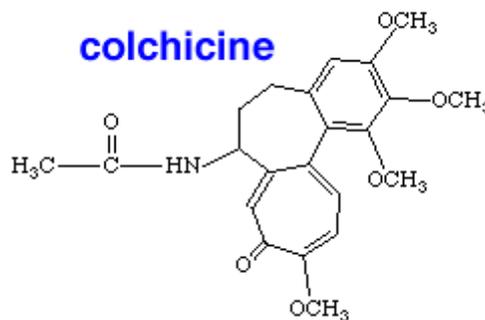
Kepekaan terhadap perlakuan mutagen amat berbeda di antara spesies tanaman. Oleh karena itu, baik konsentrasi maupun waktu perlakuan akan berbeda pula, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda akan lain pula dosis dan waktunya. Untuk mutagen kolkisin, konsentrasi yang diberikan untuk menginduksi poliploid biasanya berkisar 0.006 sampai 1.0%, sedang konsentrasi untuk perlakuan pada benih umumnya sebesar 0.05% dengan waktu perendaman 3 sampai 5 hari (Addink, 2002). Untuk sari tapak dara, proses poliploidisasi berhasil dengan cara merendam umbi bawang merah selama 18 jam dengan konsentrasi 0,1%. Sementara itu, ketersediaan data ilmiah yang menunjukkan khasiat dari sari tapak dara pada induksi poliploid pada tanaman melon masih sangat terbatas sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai hal tersebut agar sari tapak dara dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis mutagen dengan lama perendaman yang tepat untuk mensubsitisi kolkisin dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kualitas buah melon.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mutagen

Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik dapat dilakukan melalui mutasi. Mutasi adalah perubahan dalam struktur gen baik yang terjadi secara spontan maupun secara buatan dengan menggunakan agensia fisik atau kimia. Program mutasi dilaksanakan apabila sumber gen untuk sifat ketahanan tidak terdapat pada plasma nutfah yang dimiliki (Nasir, 2002). Mutagen kimia terdiri atas agen alkilasi yang merupakan bahan kimia yang sangat kuat dan banyak digunakan dalam pemuliaan mutasi dan bahan kimia lainnya, mencakup analog basa Nitzchia, peroksida dan alkaloid tertentu yang memiliki sifat-sifat mutagenik.

Salah satu alkaloid yang sering digunakan antara lain kolkisin. Menurut Eigsti dan Dustin (1957) kolkisin merupakan suatu senyawa yang dapat diekstrak dari umbi dan biji tanaman krokus (*C. autumnale*) yang termasuk anggota famili *Liliaceae*. Kolkisin murni mempunyai rumus kimia $C_{22}H_{25}O_6N$.



Gambar 1. Rumus Bangun Kolkisin Murni (Eigsti dan Dustin,1957)

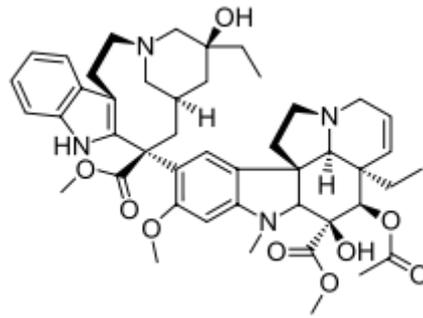
Penggunaan kolkisin pada titik tumbuh dari tanaman akan mencegah pembentukan serabut-serabut gelendong dan pemisahan kromosom pada anafase dari mitosis menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembentukan dinding sel, perlakuan ini dapat menyebabkan peningkatan jumlah kromosom sebelum terjadi penggandaan (Crowder, 1997). Menurut Nasir (2002), penggandaan kromosom dapat terjadi secara spontan atau buatan. Penggandaan buatan terjadi bila pada pembelahan sel kromosom juga mengganda, tetapi nukleusnya gagal mengganda sehingga membentuk inti dengan jumlah kromosom ganda. Bila penggandaan kromosom terjadi segera setelah pembuahan maka individu yang dihasilkan akan menjadi poliploid sempurna, sedangkan penggandaan pada

tahap perkembangan lanjut hanya membentuk sektor poliploid saja. Bila penggandaan terjadi setelah meiosis, maka pengurangan gamet akan terbentuk dan bila dibuahi dengan gamet normal maka akan terbentuk poliploidi tidak berimbang. Metode yang paling penting dan berguna yaitu menggandakan jumlah kromosom dengan perlakuan kolkisin yang dipekatkan dalam pasta lanolin atau dalam larutan pada bahan vegetatif. Pasta kolkisin dioleskan pada titik tumbuh bibit, atau bibit dapat dimasukkan kedalam larutan kolkisin dengan jalan membalikkan tanaman muda atau merendamnya kedalam larutan selama periode waktu tertentu (Crowder, 1997). Menurut Eigsti dan Dustin (1957) lamanya kontak antar sel tanaman dengan larutan kolkisin ini berkisar 24 sampai 96 jam.

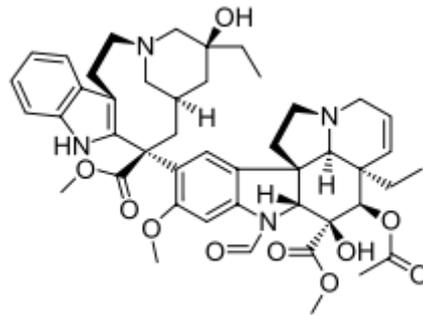
Menurut Poespodarsono (1988), kepekaan terhadap perlakuan kolkisin amat berbeda di antara spesies tanaman. Oleh karena itu baik konsentrasi maupun waktu perlakuan akan berbeda pula, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda akan lain pula dosis dan waktunya. Untuk biji yang cepat berkecambah, biji direndam dalam larutan selama 1 sampai 5 hari sebelum tanam. Untuk kecambah dicelup kedalam larutan kolkisin selama 3 sampai 4 jam, sedangkan untuk tunas larutan dioleskan atau diteteskan.

Tiap spesies tanaman mempunyai tanggapan yang berbeda terhadap konsentrasi kolkisin yang diperlukan untuk mengubah posisi kromosom. Biasanya 0.5 sampai 1.0% pasta atau larutan kolkisin dapat menimbulkan poliploidi. Kolkisin ternyata mengganggu pembentukan serabut gelendong dan sitokenesis berikutnya, sehingga membentuk sel dengan jumlah kromosom yang meningkat. Perlakuan kolkisin biasanya mengakibatkan perbedaan tingkat ploidi dalam jaringan batang, karena itu perlu membuat pemeriksaan sitologis dari mixoploid untuk mengidentifikasi tetraploid (Crowder, 1997). Penggunaan kolkisin hanya untuk tujuan yang mempunyai arti penting, karena harganya cukup mahal. Disamping untuk tujuan pemuliaan biasanya digunakan pula pada penelitian-penelitian. Perlakuan kolkisin termasuk perlakuan mutasi karena merubah kromosom yang berakibat berubahnya sifat tanaman (Poespodarsono, 1988).

Selain kolkisin (baik yang terdapat pada tanaman krokus dan kembang sunngang), mutagen yang dapat menggandakan kromosom ditemukan juga pada tanaman daun tapak dara. Lebih lanjut, diketahui bahwa terdapat lebih dari 70 macam alkaloid yang ditemukan di akar, batang, daun dan biji tapak dara, termasuk 28 bi-indole alkaloid. Alkaloid yang diketahui adalah *vinblastine* (VLB), *vincristine* (VCR), *leurosine* (VLR), *vincadioline*, *leurosidine*, dan *catharantine* (Misra dan Gupta, 2006).



Gambar 2. Vinblastine (Misra dan Gupta, 2006)



Gambar 3. Vincristine (Misra dan Gupta, 2006)

2.2. Pengandaan Kromosom dan Mutasi

Brewbaker (1983) menyatakan, evolusi tanaman tingkat tinggi berlangsung dengan bertambahnya jumlah kromosom sebagai hasil poliploid. Salah satu sumber keragaman dalam pemuliaan tanaman adalah dari perubahan jumlah kromosom. Suatu organisme yang memiliki lebih dari dua set kromosom atau genom dalam sel-sel somatiknya biasa disebut poliploidi (Poespodarsono, 1988). Poliploidi adalah perubahan satu set kromosom lengkap. Tanaman pada umumnya memiliki jumlah kromosom $2x$, namun karena beberapa sebab ada pula tanaman yang memiliki jumlah kromosom haploid (x) atau triploid ($3x$), tetraploid ($4x$).

Terdapat beberapa cara untuk menggandakan jumlah kromosom (poliploidi) sebagai sumber keragaman genetik. Salah satu caranya melalui mutasi. Mutasi adalah perubahan dalam struktur gen baik terjadi secara spontan atau buatan menggunakan agensia fisik atau kimia (Nasir, 2002). Mutasi alami berlangsung dalam jangka waktu yang lama (Brewbaker, 1983). Mutagen kimia terdiri atas agen alkilasi yang merupakan bahan kimia yang sangat kuat dan banyak digunakan dalam pemuliaan dengan cara mutasi.

Sejak ditemukan senyawa sejenis alkaloida bernama kolkisin yang dapat mengandakan kromosom pada tahun 1937, banyak pemulia yang tertarik untuk mendapatkan tetraploid secara buatan. Teknik pembenihan semangka tanpa biji

menggunakan kolkisin, ditemukan pertama kali oleh pemulia tanaman berkebangsaan Jepang, Prof. Dr. Hitoshi Kihara (Allard 1988; Kalie, 2002). Eigsti dan Dustin (1957) menyatakan bahwa pemberian kolkisin mengakibatkan tidak terbentuknya benang pengikat kromosom yang akan menarik kromosom ke kutub sel pada proses pembelahan sel. Sehingga sel tidak membelah dan menimbulkan poliploidi. Suminah *dkk* (2002) menambahkan bahwa kolkisin memiliki kemampuan untuk melipat gandakan jumlah kromosom. Larutan kolkisin yang diberikan pada titik tumbuh kecambah tanaman akan menyebabkan kromosom mengganda. Sebab, pemberian kolkisin terhadap sel yang sedang membelah mengakibatkan kegagalan pembentukan dinding sel baru. Akibatnya, kromosom yang mengganda pada proses pembelahan sel tetap berada di sel induk karena sel anaknya tidak terbentuk.

Kolkisin mempunyai pengaruh yang istimewa dalam menghentikan aktivitas benang-benang pengikat kromosom (*spindle*), sehingga kromosom yang sudah membelah tidak memisahkan diri dalam anafase dari pembelahan sel hewan maupun tanaman. Dengan terhentinya proses pemisahan dalam metafase, maka pemberian kolkisin ini menyebabkan jumlah kromosom di dalam sel menjadi dobel. Penggunaan kolkisin untuk membentuk poliploidi telah diterapkan pada ratusan spesies tanaman dan beberapa spesies hewan (Brewbaker, 1983).

Ada beberapa cara penerapan perlakuan kolkisin, tergantung pada tujuan penelitian, peralatan, dan jenis tanaman. Diantaranya adalah metode imersi biji (*seed immersion*), metode tetes pada jaringan meristem ujung, metode imersi stek, metode in vitro, dan metode penyuntikan (*injection*). Penerapan kolkisin pada semangka ialah dengan metode imersi biji, yaitu suatu metode perendaman benih dalam suatu cawan petri yang telah dilapisi tissue atau kapas. Biji diusahakan tidak terendam seluruhnya agar biji dapat memperoleh oksigen dengan baik. Teknik perakitan semangka tanpa biji digunakan kolkisin dalam proses pembentukannya. Caranya adalah benih yang menjadi tetua betina semangka triploid harus digandakan terlebih dahulu dengan merendam benih di dalam larutan kolkisin agar menjadi tetraploid. Persilangan antara semangka tetraploid sebagai induk betina dengan semangka diploid akan menghasilkan benih semangka triploid (Kalie, 2002). Benih semangka triploid ini bila ditanam akan menghasilkan semangka tanpa biji. Proses ini harus diulang setiap kali akan menghasilkan semangka tanpa biji. Karena, semangka tanpa biji (triploid) tidak mempunyai benih yang fertil untuk ditanam kembali.

Tingkat keberhasilan pengaruh kolkisin untuk menghasilkan tanaman semangka tetraploid umumnya berkisar 10 sampai 20% (Prajnanta, 1999). Kolkisin akan efektif

apabila ditetaskan atau direndam pada saat sel membelah. Sebab, kolkisin akan diserap oleh sel dan mempengaruhi pembelahan sel yang sedang berlangsung. Penetasan ini sebaiknya dilakukan pada pagi atau sore hari. Yaitu pada saat suhu udara rendah dan kelembaban tinggi. Hal ini dilakukan karena sifat kolkisin yang mudah menguap (Kalie, 2002). Perendaman dengan air sebelum perlakuan perendaman dengan larutan kolkisin akan lebih mengefektifkan pemberian kolkisin, sebab sel-sel benih sudah berimbibisi terlebih dahulu. Dengan demikian, benih lebih mudah menerima pengaruh kolkisin. Benih semangka yang akan digandakan sebaiknya juga direndam dahulu dalam larutan fungisida agar tidak terkontaminasi penyakit (Prajnanta, 1999). Cara lain menginduksi poliploidi adalah menggunakan Nitrogen-oksida dan pemberian panas. Namun hasilnya lebih rendah jika dibandingkan dengan kolkisin (Brewbaker, 1983). Zat kimia lain yang dapat menginduksi poliploidi yaitu asenaften, kloralhidrat, sulfanilamid, etil-merkuri-klorid, dan heksaklorosikloheksan. Akan tetapi zat-zat tersebut hanya larut dalam gliserol, tidak seperti kolkisin yang dengan mudah dapat larut dalam air (Suryo, 1995).

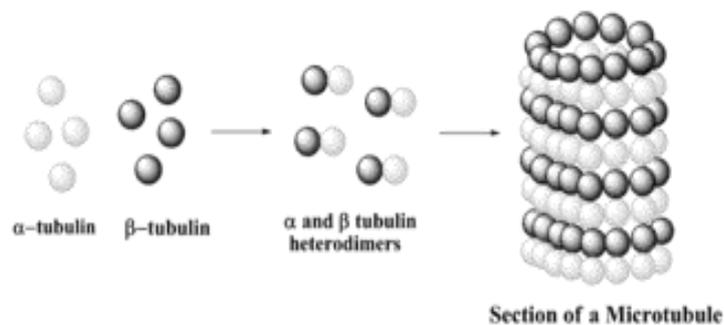
2.3. Tetraploid

Poliploidi atau penggandaan kromosom dibedakan menjadi autopoliploid dan allopoliploid. Autopoliploid adalah apabila genom yang sama mengalami kelipatan ($n_1 + n_1$), contohnya triploid dan tetraploid. Allopoliploid adalah apabila genom-genom yang berbeda berkumpul melalui hibridisasi ($m_1 + m_2$), contohnya persilangan *Nicotiana tabacum* ($2n = 48$) dengan *N. Glutinosa* ($2n = 24$) menghasilkan *N. digluta* ($2n = 72$). Tetraploid juga dibedakan menjadi autotetraploid dan allopoliploid. Tumbuhan autotetraploid didapat dari penggandaan jumlah kromosomnya dengan pemberian perlakuan seperti kolkisin. Tumbuhan allotetraploid adalah tumbuhan tetraploid yang didapat dengan persilangan antar spesies atau genus (Suryo, 1995).

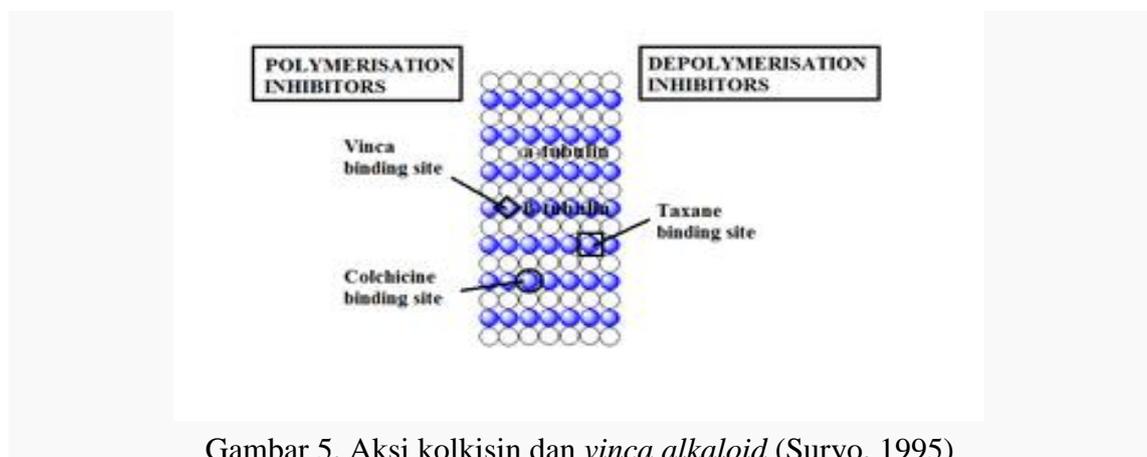
Perlakuan perendaman benih mentimun dalam kolkisin berpengaruh terhadap bentuk morfologi tanaman tetraploidnya, seperti daun dan ukuran biji yang lebih besar (Smith *et al*, 2000). Sifat-sifat umum dari tanaman tetraploid diantaranya tanaman tampak lebih kekar tetapi kurang tahan terhadap perubahan lingkungan serta serangan hama dan penyakit tanaman. Daun-daun ukurannya lebih besar dan warnanya lebih hijau. Sel-sel epidermis daun dan stomata mempunyai ukuran lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploid. Akan tetapi sel-sel penutup ukurannya lebih besar, sehingga jumlah stomata dalam satuan luas jaringan epidermis daun menjadi berkurang (Suryo, 1995).

2.4. Aksi Mutagen dalam Menggandakan Kromosom

Kolkisin maupun *vin kristin* dan *vinblastine* berperan tidak hanya sebagai inhibitor tubulin, namun juga sebagai inhibitor pembelahan sel. Tubulin merupakan senyawa penyusun mikrotubul (Gambar 4). Mikrotubul berperan penting dalam pembelahan sel dengan cara terlibat dalam pergerakan dan penempelan kromosom selama mitosis. Keadaan mikrotubul di dalam sel tidak statis, namun dinamis suatu saat memanjang (polimerisasi) dan saat lainnya memendek (depolymerisasi) saling silih berganti. Sifat ini menjadikan mikrotubul memiliki peran penting selama pembelahan sel. Kehadiran tubulin inhibitor akan mengganggu polimerisasi dan depolymerisasi mikrotubul. Untuk kolkisin dan *vinca alkaloid* peranannya mengganggu polimerisasi mikrotubul (Gambar 5).



Gambar 4. Mikrotubul (Suryo, 1995)



Gambar 5. Aksi kolkisin dan *vinca alkaloid* (Suryo, 1995)

2.5. Budidaya Melon

Tanaman melon dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di daerah sub tropis dan tropis. Di Indonesia dapat tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 300- 1000 meter dari permukaan laut, akan tetapi sudah banyak dibudidayakan di dataran rendah dengan ketinggian kurang dari 250 meter dari permukaan laut (Rukmana, 1994).

Iklim untuk tanaman melon, suhu udaranya yang ideal $25^{\circ} - 30^{\circ}$ C. kelembapan udara 50- 70% dan untuk curah hujan untuk tanaman melon 1500- 2500 mm/tahun karena curah hujan yang terlalu tinggi dapat mengugurkan calon buah dan menguntungkan bagi pathogen (Margianasari *et al.*, 2012) serta membutuhkan sinar matahari penuh sekitar 10 – 12 jam/hari (Rukmana, 1994) .

Melon dapat tumbuh di beberapa jenis tipe tanah, akan tetapi akan berproduksi optimum pada tanah tekstur lempung berpasir atau kelas tanah andosol,aluvial yang banyak mengandung bahan organik, oleh sebab itu melon tidak menyukai tanah terlalu basah, tanah liat berat(Sobir dan Siregar, 2014). pH tanah yang cocok untuk tanaman melon antara 6,0 – 6,8 akan tetapi masih toleran pada pH 5,8 – 7,2 (Tjahjadi, 1989)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juli 2013 di Lahan Percobaan Laboratorium Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu (UNIB) Kelurahan Kandang Limun Kecamatan Muara Bangka hulu, Bengkulu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor dan lima ulangan (Lampiran 1). Faktor tersebut adalah perendaman benih melon dalam mutagen yang berbeda selama 8, 16, dan 24 jam. Mutagen yang digunakan terdiri atas kolkisin murni, ekstrak etanolik umbi kembang sunngang, dan ekstrak etanolik daun tapak dara. Untuk lebih jelasnya faktor perlakuan tersebut sebagai berikut:

K0 = Benih tanpa direndam mutagen

K1 = Benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 8 jam

K2 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sunngang 165.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 8 jam

K3 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 8 jam

K4 = Benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara dengan 0,1%) selama 16 jam

K5 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sunngang 165.00 g/L (setara dengan 0,1 %) selama 16 jam

K6 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 16 jam

K7 = Benih direndam di dalam larutan kolkisin murni 1.00 g/L (setara 0,1%) selama 24 jam

K8 = Benih direndam di dalam larutan ekstrak etanolik umbi kembang sunngang 165.00 g/L (setara 0,1%) selama 24 jam

K9 = Benih direndam di dalam 0.1% larutan ekstrak etanolik daun tapak dara (setara dengan 2,5 gram serbuk daun tapak dara kering) selama 24 jam

Bahan yang digunakan adalah benih melon varietas *Action* 434, kolkisin murni (Sigma), umbi kembang ungsang, daun tapak dara, pupuk urea, SP-36, KCl, pupuk kandang, dan pestisida. Alat yang digunakan meliputi cangkul, gembor, selang air, bambu,

kayu, waring, parang, meteran, ember, gunting, gayung, benang putih, polibag, meteran, timbangan analitik, leaf area meter, mikroskop, jangka sorong, *Chlorophyll Meter*, dan timbangan analitik.

Penelitian ini dilaksanakan dalam enam tahap, yaitu (1) ekstraksi mutagen dari umbi kembang sungsang dan daun tapak dara, (2) pembuatan larutan mutagen, (3) persiapan media tanam, (4) perendaman benih, (5) penanaman, pemeliharaan, pemanenan, dan (6) pengukuran variabel yang diamati.

Ekstraksi Mutagen

Ekstraksi mutagen dari umbi kembang sungsang dilakukan dengan metode maserasi (Pandey dan Bandik, 2012). Umbi kembang sungsang dengan diameter 1.0 sampai 1.5 cm dipotong-potong setebal 2.0 mm, dikering di dalam *oven* dengan temperatur 75⁰C selama 6 jam dan selanjutnya dihaluskan dengan *rotary mill* dengan ukuran saringan 3/16 *inch*. Setelah halus, mutagen dari serbuk umbi kembang sungsang diekstrak dengan cara memasukkan 100 g serbuk halus umbi kembang sungsang ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 100 mL dan kemudian ditambahkan campuran 70 mL etanol 70% dan 30 mL air. Campuran ini dipanaskan dengan *hot plate* dengan suhu 70⁰C sampai air dan etanolnya menguap hingga terbentuk endapan berupa padatan berwarna kecoklatan.

Ekstraksi mutagen dari daun tapak dara dilakukan dengan metode Misra dan Gupta (2006). Daun yang telah tua dipisahkan dari rantingnya, dikeringkan di dalam *oven* selama 72 jam dengan suhu 70⁰C dan selanjutnya dihaluskan dengan *rotary mill* dengan ukuran saringan 3/16 *inch*. Setelah halus, serbuk daun tersebut direndam di dalam campuran 70 mL etanol 90% dan 30 mL air selama 24 jam, dan selanjutnya disaring dengan kain kasa. Larutan hasil saringan kemudian dipanaskan dengan *hot plate* dengan suhu 70⁰C sampai terbentuk endapan padat berwarna hijau.

Pembuatan Larutan Mutagen

Ada tiga jenis larutan mutagen yang perlu dibuat dalam penelitian ini, yaitu larutan kolkisin murni, larutan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang, dan larutan ekstrak etanolik daun tapak dara. Untuk larutan kolkisin murni, konsentrasi yang digunakan didasarkan pada hasil penelitian Daryono (1998), yaitu 0.1%. Larutan kolkisin murni ini dibuat dengan melarutkan 0.1 g kolkisin murni (berupa pasta) dalam 100 mL aquades dan mengaduknya dengan spatula hingga merata.

Untuk membuat larutan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang didasarkan pada hasil penelitian Pandey dan Bandik (2012), yaitu dalam 1.0 g ekstrak etanolik kembang sungsang terkandung 0.6% kolkisin murni. Dalam penelitian ini digunakan 4.125 g ekstrak

umbi kembang sungsang sehingga di dalam ekstrak kembang sungsang ini terkandung setara dengan 0.02475 g kolkisin murni. Menurut hasil penelitian Daryono (1998), konsentrasi kolkisin yang efektif adalah 0.1%. Untuk membuat konsentrasi 0.1% ini, 4.125g ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dicampur dengan 25 ml aquades dan diaduk dengan spatula hingga merata.

Konsentrasi ekstrak etanolik daun tapak dara yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada hasil penelitian Listiawan *dkk.* (2009) pada bawang merah, yaitu 0.1% sebagai konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi poliploid. Sementara itu, dalam 1 g daun kering tapak dara terkandung 4 mg alkaloid total (*vin kristin, vinblastin*) atau kandungan alkaloid total dalam 1 g serbuk daun tapak dara kering sebanyak 0.04% (Misra dan Gupta, 2006). Dengan demikian, untuk membuat alkaloid total dengan konsentrasi 0.1% diperlukan 2.5 g serbuk daun tapak dara kering untuk diekstrak.

Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini berupa campuran tanah, pupuk kandang, dan sekam dengan perbandingan 2:1:1. Tanah yang digunakan adalah tanah topsoil yang diambil di sekitar Laboratorium Agronomi dengan ditambah kapur dolomit sebanyak 5 ton/ha (0,25 kg/polibag). Media yang sudah dicampur dimasukkan ke dalam polibag yang berukuran 40 x 50 cm sebanyak 10 kg. Selanjutnya, dilakukan pengaturan polibag di lahan dengan jarak antar polibag 30 cm.

Perendaman Benih

Benih melon yang digunakan adalah benih melon varietas *Action 434*. Benih melon dipilih dengan ukuran dan berat yang seragam dan direndam di dalam cawan petri yang berisi larutan mutagen sesuai dengan perlakuannya, ditambah dengan kontrol dengan lama perendaman 8, 16, dan 24 jam.

Penanaman, Pemeliharaan, dan Pemanenan

Benih yang sudah direndam sesuai dengan perlakuan ditanam di dalam polybag. Dalam setiap polybag ditanam satu benih melon dengan kedalaman 2 cm. Dalam setiap lubang tanam diberi carbufuron sebanyak lima butir untuk menghindari serangan hama.

Pemeliharaan tanaman dalam penelitian ini meliputi pemupukan, penyiraman, pengendalian organisme pengganggu, pengendalian gulma, pengikatan tanaman, pemotongan meristem pucuk, penjarangan buah, dan pembungkusan buah. Penyiraman dilakukan dua kali sehari pada pagi dan sore hari bila tidak terjadi hujan dan apabila turun

hujan tidak dilakukan penyiraman. Untuk menjaga tanaman dari persaingan dalam perebutan unsur hara, maka dilakukan pengendalian gulma dengan cara manual.

Pemupukan dilakukan sesuai dosis yang dianjurkan yaitu 300 kg Urea, 200 kg SP36 dan 200 kg KCl. Ketika tanaman memasuki fase generatif diberikan pupuk tambahan 100 kg NPK 16:16:16. Urea yang diberikan setara dengan 7,1 g/polibag, SP36 sebanyak 4,7 g polibag⁻¹, KCL sebanyak 4,7g polibag⁻¹, dan NPK mutiara 2,4 g polibag⁻¹. Pemberian urea dilakukan satu kali pada umur 14 hari setelah tanam (hst) dengan cara ditugal, SP36 satu kali pada awal tanam dengan cara disebar, NPK 16:16:16 setiap satu minggu sekali dengan cara dilarutkan dalam air, dan KCl dua kali setelah memasuki fase generative pada minggu ke lima.

Pengikatan tanaman melon dilakukan dengan menggunakan benang agar tanaman tersebut tidak roboh dan agar dapat merambat. Pengikatan mulai dilakukan ketika tanaman berumur 25 HST saat tanaman melon mulai merambat atau tanaman sudah memiliki sulur.

Pemotongan dilakukan terhadap cabang sekunder yang belum berfungsi dan dapat merugikan tanaman yang terletak di bawah ruas 9 dan atas ruas 13. Sedangkan untuk pemotongan meristem pucuk dilakukan pada ruas tanaman ke 21 yang posisi ruasnya dihitung dari pangkal batang sampai ujung tanaman. Pemotongan ini dilakukan untuk menghentikan pertumbuhan vegetatif tanaman.

Penjarangan buah dilakukan dengan menyisakan satu buah pada satu tanaman. Buah yang disisakan adalah buah yang terletak antara ruas 9 sampai 13. Kemudian, buah dibungkus dengan koran bekas untuk menghindari seragan hama.

Pemanenan buah melon dilakukan pada saat buah melon berumur 65 – 70 hari dengan memiliki ciri-ciri buah sudah beraroma harum, sudah terbentuk jaring merata, ada retakan di sekitar tangkai buah dan ada garisnya.

Pengukuran Variabel

Variabel yang diamati meliputi:

- 1) Panjang Tanaman (cm) diukur 1 minggu sekali menggunakan meteran dari pangkal batang hingga titik tumbuh. Pengukuran dilakukan sampai minggu ke 5.
- 2) Jumlah daun dihitung 1 minggu sekali pada daun yang telah terbuka penuh.
- 3) Bobot Basah (g) tanaman ditimbang dengan timbangan analitik delapan minggu setelah tanam.
- 4) Luas Daun (cm²) diukur dengan *Leaf Area Meter* dengan cara meletakkan daun diatas pendeteksi luas daun dilakukan delapan minggu setelah tanam.

- 5) Kerapatan Stomata dihitung dengan cara mengoleskan kutek berwarna bening bagian bawah daun. Setelah kutek kering, kemudian ditempelkan selotip selanjutnya selotip ditarik dan ditempelkan pada kaca preparat lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali. Pengamatan dilakukan delapan minggu setelah tanam. Kerapatan stomata dihitung dengan rumus:

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{stomata}}{\text{Luas bidang pandang}}$$

- 6) Diameter Batang (mm) diukur dengan jangka sorong pada lingkaran batang terbesar pada enam minggu setelah tanam.
- 7) Panjang Akar (cm) diukur dari pangkal akar sampai ujung akar yang paling panjang pada delapan minggu setelah tanam.
- 8) Tingkat Kehijauan Daun diukur menggunakan *Chlorophyll meter* dengan cara mengambil bagian atas, tengah, bawah daun kemudian dirata-ratakan dengan menekan tombol *average* dilakukan pada umur delapan minggu setelah tanam.
- 9) Berat Buah (kg) ditimbang dengan timbangan jarum *camary* pada saat panen.
- 10) Diameter Buah (cm) diukur dengan penggaris pada bagian terbesar dari buah. Pada saat panen.
- 11) Bobot 100 biji/gram dengan cara menghitung biji hasil panen kemudian dikeringkan di dalam oven hingga suhu 70°C selanjutnya ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.
- 12) Kandungan Bahan Terlarut diukur terhadap buah dengan *HandRefractrometer* pengukuran dilakukan dengan cara mengambil cairan pada buah dan cairan ini diletakkan pada kaca alat tersebut pada saat panen.

3.2. Analisis Data

Data dari hasil pengamatan dianalisa secara statistik dengan analisis varian (uji F taraf 5%). Apabila perlakuan mutagen menunjukkan beda nyata, maka selanjutnya uji jarak berganda atau *Duncan multiple range test* (DMRT).