

**ANALISIS FASE MITOSIS DAN KROMOSOM MERISTEM AKAR CABAI RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) BERDASARKAN WAKTU FIKSASI***Analysis of Mitotic Phases and Chromosomes in Root Meristems of Cayenne Pepper
(*Capsicum frutescens* L.) Based on Fixation Time***Hafizhah Al-Amanah^{1*}, Andi Muliarni Okasa², Siti Halimah Larekeng³, Devi Armita⁴**¹Program Studi Ilmu Pertanian, Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin²Program Studi Sistem-Sistem Pertanian, Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin³Program Studi Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin

Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Makassar, Sulawesi Selatan, 90245, Indonesia

⁴Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Jl. Sultan Alauddin No.63, Romangpolong, Gowa, Sulawesi Selatan, 92113, Indonesia

¹*)hafizhah.al.amanah@unhas.ac.id**ABSTRAK**

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan komoditas hortikultura strategis yang memerlukan pengembangan genetik berkelanjutan, namun kemajuan pemuliaannya sering kali terhambat oleh kendala teknis dalam analisis sitogenetika. Standardisasi protokol sitologi, khususnya waktu fiksasi, sangat krusial untuk mengatasi masalah ukuran kromosom yang kecil dan ritme pembelahan sel yang fluktuatif pada genus *Capsicum*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik fase mitosis dan visualisasi kromosom meristem akar cabai rawit berdasarkan variasi waktu fiksasi. Menggunakan metode preparasi squash, sampel akar kecambah berumur 8 hari difiksasi pada interval pukul 09.00 hingga 12.00, dimaserasi dengan HCl 1M, dan diwarnai menggunakan aseto-orcein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh fase pembelahan sel (interfase hingga telofase) dapat diidentifikasi, namun kualitas visualisasinya sangat bergantung pada presisi waktu pengambilan sampel. Analisis dinamika seluler mengungkapkan bahwa puncak aktivitas mitosis (*mitotic peak*) dengan akumulasi fase metafase tertinggi serta penyebaran kromosom yang paling jelas tercapai secara konsisten pada waktu fiksasi pukul 11.00 hingga 11.30. Sebaliknya, populasi sel pada pukul 09.00–10.30 masih didominasi oleh fase interfase. Temuan ini menetapkan standar teknis baru dalam optimasi analisis sitologi *C. frutescens*, yang esensial bagi keberhasilan analisis kariotipe, evaluasi ploidi, dan program rekayasa kromosom di masa depan.

Kata Kunci: *Capsicum*, squash, mitosis, kromosom, waktu fiksasi**ABSTRACT**

Cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) is a strategic horticultural crop that requires continuous genetic improvement; however, breeding progress is often hindered by technical constraints in cytogenetic analysis. Standardizing cytological protocols, particularly fixation timing, is crucial for addressing the challenges of small chromosome size and fluctuating cell division rhythms inherent in the *Capsicum* genus. This study aimed to analyze the mitotic phase characteristics and chromosome visualization in *C. frutescens* root meristems across varying fixation intervals. Using the squash preparation method, root tips from 8-day-old seedlings were fixed between 09:00 and 12:00 WIB, macerated in 1M HCl, and stained with aceto-orcein. The results demonstrated that although all cell cycle phases could be identified, the visualization quality was strictly dependent on the sampling precision. Cellular dynamics analysis revealed that the mitotic peak, characterized by the highest metaphase accumulation and optimal chromosome spread, was consistently achieved at a fixation window of 11:00–11:30 WIB. In contrast, the cell populations sampled between 09:00 and 10:30 were predominantly in interphase. These findings establish a definitive technical baseline for optimizing *C. frutescens* cytological analysis, serving as an essential prerequisite for accurate karyotyping, ploidy evaluation, and future chromosome engineering.

Keywords: *Capsicum*, squash, mitosis, chromosome, fixation time**PENDAHULUAN**

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) diakui sebagai komoditas hortikultura bernilai ekonomi tinggi yang permintaannya terus mengalami tren

peningkatan yang signifikan di pasar domestik Indonesia. Peningkatan mutu dan produktivitas tanaman cabai tidak lagi dapat bergantung semata pada metode pemuliaan konvensional, tetapi memerlukan

penerapan pendekatan berbasis bioteknologi dan manipulasi genetik, salah satunya melalui induksi poliploidi (Pradana & Hartatik, 2019). Keberhasilan program rekayasa kromosom untuk menghasilkan galur mutan yang unggul sangat bergantung pada pemahaman yang mendalam mengenai kinetika siklus sel dan evaluasi sitogenetika tingkat dasar. Dalam hal ini, jaringan meristem apikal akar merupakan spesimen biologi yang paling ideal untuk mengamati dinamika kromosom karena sel-sel penyusunnya senantiasa aktif membelah (Perilli *et al.*, 2012).

Pengamatan fase pembelahan mitosis pada tanaman famili Solanaceae, khususnya genus *Capsicum*, memiliki tantangan teknis tersendiri. Kromosom cabai rawit diketahui memiliki ukuran yang relatif kecil, sehingga menuntut ketepatan yang tinggi dalam tahapan preparasi sitologis (Dewi *et al.*, 2022). Metode squash dengan pewarnaan merupakan teknik preparasi kromosom yang paling umum digunakan karena prosedurnya yang terjangkau dan efektif untuk memvisualisasikan kromatin (Setyawan & Sutikno, 2000). Namun, keberhasilan metode ini sangat dipengaruhi oleh tingkat keberhasilan maserasi menggunakan larutan asam klorida (HCl) dan metode pewarnaan. Durasi perendaman HCl yang tidak presisi dapat menyebabkan sel bertumpuk akibat lamela tengah yang tidak

melunak, atau sebaliknya, menyebabkan kerusakan arsitektur kromosom dan dinding sel apabila maserasi berlangsung terlalu lama (Widianti & Fasya, 2023). Rendahnya keterlihatan kromosom sangat berkaitan dengan kualitas dan optimalisasi proses pewarnaan selama persiapan preparat mikroskopis.

Selain tantangan preparasi kimiawi, kendala utama dalam analisis sitogenetika tanaman adalah penentuan waktu pemotongan ujung akar yang tepat. Aktivitas pembelahan sel (indeks mitosis) pada meristem apikal tidak terjadi secara konstan, melainkan sangat diregulasi oleh ritme sirkadian dan faktor lingkungan seperti suhu dan intensitas cahaya (Rocha *et al.*, 2019). Pemotongan akar yang dilakukan secara acak sering kali hanya menghasilkan akumulasi sel pada fase interfase atau profase awal, sehingga kromosom tidak dapat dihitung dan dianalisis kariotipnya. Oleh karena itu, standardisasi jendela waktu pembelahan aktif (*mitotic peak*) spesifik untuk setiap spesies sangat esensial (Wahyuni *et al.*, 2017).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan memvisualisasikan fase-fase pembelahan mitosis pada meristem akar *C. frutescens* menggunakan metode squash, serta mengevaluasi determinan teknis seperti kualitas maserasi dan pewarnaan aseto-orcein. Secara khusus, penelitian ini juga

difokuskan untuk menentukan rentang waktu pemotongan akar yang paling optimal guna memperoleh persentase fase metafase tertinggi. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan standar protokol preparasi kromosom yang presisi untuk mendukung kelancaran program evaluasi ploidi dan rekayasa genetika tanaman cabai rawit di masa mendatang.

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Universitas Hasanuddin, Makassar. Waktu pelaksanaan penelitian berlangsung pada Oktober 2025. Pengambilan sampel meristem akar dilakukan pada rentang waktu pukul 06.00 hingga 12.00 WITA untuk menangkap aktivitas pembelahan sel yang optimal.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikroskop cahaya binokuler, kaca objek (*object glass*), kaca penutup (*cover glass*), kamera ponsel untuk dokumentasi visual, pinset, botol flakon, pipet tetes, dan peralatan perkecambahan. Bahan utama yang digunakan adalah benih cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.), larutan 8-hidroksikuinolin untuk pra-perlakuan, larutan Carnoy sebagai fiksatif, asam klorida (HCl) 1M untuk maserasi, larutan aseto-orcein sebagai pewarna, dan air distilasi.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif observasional untuk mengevaluasi fase-fase mitosis pada meristem akar cabai rawit. Parameter yang diamati meliputi karakteristik morfologi sel pada tahap interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase, serta kualitas visualisasi kromosom pada berbagai waktu fiksasi. Populasi sampel berupa sel meristem dari ujung akar kecambah berumur 8 hari setelah semai. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan kualitas preparat dan kejelasan fase pembelahan sel pada setiap interval waktu pengambilan sampel.

Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian dimulai dengan perkecambahan benih cabai rawit hingga berumur 8 hari. Ujung akar dipanen sesuai rentang waktu yang ditentukan, kemudian diberikan pra-perlakuan dengan merendam sampel ke dalam larutan hidroksikuinolin. Selanjutnya, sampel difiksasi menggunakan larutan Carnoy dan diinkubasi pada suhu ruang.

Pelunakan dinding sel, dilakukan dengan proses maserasi menggunakan larutan HCl 1M. Setelah maserasi, sampel diwarnai dengan larutan aseto-orcein guna meningkatkan kontras visual pada kromatin dan inti sel. Ujung akar yang telah diwarnai diletakkan di atas kaca objek dan ditutup dengan kaca penutup. Tahap kritis

dilakukan melalui metode *Squash* (penekanan) secara perlahan dan merata untuk memastikan sel-sel menyebar dalam satu lapisan tunggal (*monolayer*) tanpa merusak struktur mekanis jaringan.

Pengamatan visual preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya binokuler pada perbesaran 100x untuk pemindaian awal dan 400x untuk analisis detail fase. Dokumentasi hasil pengamatan dilakukan sesegera mungkin untuk menghindari artefak akibat pengeringan preparat. Prosedur ini mengacu pada metode sitologi yang dimodifikasi (Al-Amanah *et al.*, 2016.; Amanah *et al.*, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil observasi mikroskopis menunjukkan bahwa kelima fase dalam siklus pembelahan sel dapat diidentifikasi secara visual dengan resolusi yang sangat jelas (Gambar 1). Tahap interfase dikarakterisasi oleh keberadaan benang-benang kromatin yang masih tampak halus, difus, dan belum tersusun teratur di dalam nukleoplasma, yang menandakan sel sedang berada pada fase persiapan

pembelahan (Raja *et al.*, 2015). Pada fase profase, terjadi kondensasi materi genetik yang ditandai dengan penebalan dan visualisasi benang kromosom, bersamaan dengan degradasi membran inti sel. Selanjutnya, fase metafase dicirikan oleh kondensasi kromosom yang maksimal, diikuti dengan migrasi dan penjajaran kromosom secara presisi pada bidang ekuator sel (Fallesen *et al.*, 2024; Kaduchova *et al.*, 2023). Fase anafase, yang ditandai oleh terpisahnya kromatid saudara menuju kutub sel yang berlawanan. Siklus ini diakhiri oleh telofase, di mana selubung inti terbentuk kembali mengelilingi set kromosom anak dan diikuti oleh sitokinesis. Kejelasan representasi visual dari setiap tahapan ini mengonfirmasi bahwa jaringan meristem apikal akar merupakan spesimen biologi yang sangat ideal dan aplikatif untuk studi sitogenetika dan kinetika mitosis tanaman (Perilli *et al.*, 2012; Pradana & Hartatik, 2019).

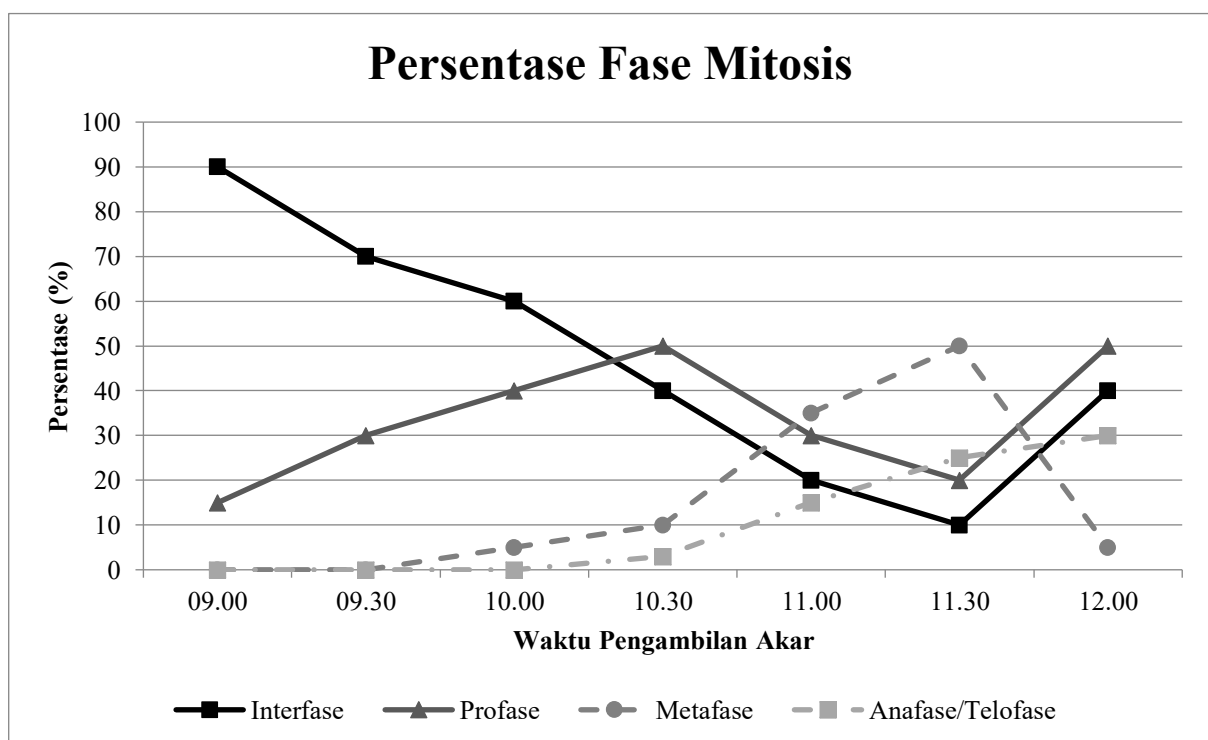
Tingkat keberhasilan visualisasi mitosis ini dipengaruhi oleh kualitas pewarnaan dan ketepatan durasi maserasi



Gambar 1. Fase mitosis meristem akar cabai rawit (*C. frutescens* L.), A. interfase, B. profase, C. metafase, D. anafase, E. telofase. Perbesaran 100x10.

menggunakan larutan HCl. Waktu perendaman yang tidak proporsional baik terlalu singkat (*under-maceration*) maupun terlalu lama (*over-maceration*) dapat mendistorsi kejelasan struktur dinding sel dan merusak integritas arsitektur kromosom (Widianti & Fasya, 2023). Penurunan integritas struktural tersebut menyebabkan sel kehilangan kemampuannya untuk menyerap zat warna aceto-orcein secara maksimal. Hal ini berdampak pada tampilan kromosom yang pucat dan pecah-pecah (terfragmentasi), serta kerap menghasilkan fenomena sel bayangan (*ghost cells*) yang ditandai dengan hilangnya materi genetik di dalam inti sel (Alege *et al.*, 2022; Eze *et al.*, 2022).

Oleh karena itu, ketepatan durasi maserasi dan teknik preparasi yang presisi merupakan prasyarat mutlak untuk memastikan kromosom dapat menyerap pewarna secara optimal dan menghasilkan kontras visual yang tajam di bawah mikroskop cahaya. Selain intervensi kimiawi tersebut, optimalisasi intensitas pencahayaan mikroskop dan sterilitas kaca preparat turut menjadi determinan utama dalam menentukan tingginya kontras dan resolusi citra yang diperoleh. Oleh karena itu, penguasaan keterampilan teknis (*technical skills*) yang presisi selama tahapan preparasi sangat krusial dalam meminimalisasi terbentuknya artefak dan menjamin perolehan hasil observasi yang representatif.



Gambar 2. Persentase fase mitosis pada meristem akar cabai dengan waktu fiksasi yang berbeda

Hasil observasi mikroskopis juga sangat bergantung pada penentuan waktu pemotongan maristem akar yang tepat, mengingat pembelahan sel meristematik dipengaruhi oleh ritme sirkadian (jam biologis) spesifik pada setiap spesies tanaman (Rocha *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil observasi diperoleh grafik persentase sebagai berikut (Gambar 2) terhadap meristem akar cabai rawit (*C. frutescens*) yang dipanen secara berkala dengan interval 30 menit dari pukul 09.00 hingga 12.00, ditemukan variasi yang signifikan terhadap kejelasan visual dan persentase fase mitosis sel.

Pada interval pemotongan awal, yakni pukul 09.00 hingga 10.30, visualisasi kromosom secara individual belum dapat diamati. Sampel yang dipanen pada pukul 09.00 menunjukkan sel berwarna merah namun buram, yang mengindikasikan bahwa sel masih berada pada fase interfase istirahat atau kromatin belum mulai menebal. Memasuki pukul 09.30 hingga 10.30, sel mulai menunjukkan aktivitas pembelahan, namun populasi sel didominasi oleh fase profase. Pada tahap ini, benang-benang kromosom belum berkondensasi secara maksimal dan belum bermigrasi ke bidang ekuator, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan penghitungan jumlah kromosom (Dewi *et al.*, 2022).

Sel yang masih berada pada tahap profase, tidak teramatinya kromosom pada interval waktu fiksasi awal (09.00–10.30) juga sangat dipengaruhi oleh penyerapan zat warna yang tidak sempurna. Keberhasilan pengamatan sitologis akar cabai rawit sangat ditentukan oleh ketajaman warna kromosom yang harus kontras terhadap sitoplasmanya. Kurangnya presisi pada tahap pra-perlakuan dan pewarnaan dalam metode squash sering menyebabkan kromosom terlihat buram dan bertumpuk, sehingga menyulitkan proses penghitungan. Dengan demikian, kalibrasi waktu perendaman dalam zat warna aceto-orcein sangat dibutuhkan, bersinergi dengan ketepatan waktu fiksasi, guna menghasilkan resolusi tampilan kromosom yang tajam (Al-Amanah *et al.*, 2023; Amanah *et al.*, 2016). Waktu pengambilan sampel yang paling optimal (*mitotic peak*) untuk analisis sitogenetika *C. frutescens* dalam penelitian ini tercatat pada interval pukul 11.00 hingga 11.30. Pada rentang waktu tersebut, pewarnaan sel menunjukkan hasil yang sangat representatif dengan populasi sel yang didominasi oleh tahap metafase. Kromosom tampak menyebar dengan baik, terkondensasi maksimum, dan dapat dihitung secara presisi. Temuan ini sejalan dengan laporan (Wahyuni *et al.*, 2017) yang menunjukkan bahwa puncak aktivitas pembelahan sel, yang ditandai dengan nilai

indeks mitosis tertinggi pada tanaman Solanaceae tropis, umumnya berlangsung pada periode menjelang tengah hari. Pada rentang waktu tersebut, peningkatan suhu lingkungan dan intensitas cahaya diduga berperan dalam mengoptimalkan aktivitas metabolisme seluler sehingga memacu proses pembelahan sel.

Pengambilan sampel pada pukul 12.00 menunjukkan penurunan kualitas visualisasi kromosom. Meskipun sel masih mampu menyerap pewarna merah secara optimal, struktur kromosom tampak kurang terdefinisi dan komposisi fase pembelahan kembali didominasi oleh profase awal. Kondisi ini mengindikasikan bahwa rentang waktu ketersediaan metafase (*time window*) relatif singkat, sehingga keterlambatan dalam proses fiksasi memungkinkan sel telah melewati fase anafase menuju telofase atau kembali memasuki fase interfase (Kryvokhyzha *et al.*, 2018). Oleh sebab itu, penentuan waktu pengambilan sampel meristem akar pada kisaran pukul 11.00–11.30 sangat direkomendasikan guna meningkatkan ketepatan analisis ploidi dan studi rekayasa kromosom pada *C. frutescens*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa metode preparasi squash efektif dalam memvisualisasikan seluruh tahapan pembelahan mitosis pada

jaringan meristem akar cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Seluruh fase utama yang meliputi interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase dapat diidentifikasi dengan jelas melalui karakteristik morfologinya. Rentang waktu paling efektif untuk mengamati aktivitas pembelahan mitosis (puncak mitosis) pada *C. frutescens* adalah antara pukul 11.00 hingga 11.30 WITA. Selain itu, hasil analisis sitogenetika mengonfirmasi bahwa jumlah kromosom cabai rawit adalah $2n = 24$. Standardisasi waktu fiksasi pada interval tersebut terbukti krusial untuk menghasilkan visualisasi kromosom yang optimal dan data sitologi yang valid.

Saran

Saran untuk menggunakan interval waktu pukul 11.00–11.30 WITA sebagai standar waktu pengambilan sampel meristem akar guna meningkatkan akurasi evaluasi tingkat ploidi dan keberhasilan analisis kariotipe. Selain itu, disarankan pula untuk melakukan pengujian serupa pada varietas atau genus *Capsicum* lainnya guna melihat apakah terdapat pergeseran ritme sirkadian pembelahan sel akibat perbedaan genotipe atau kondisi lingkungan. Hal ini akan sangat mendukung efisiensi program manipulasi kromosom dan pemuliaan tanaman di masa depan.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Amanah, H., Ashar, Z., Fitri, A., D., & Larekeng, S. H. (2023). Analisis

- kromosom tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens*) terhadap lama perendaman hidroksiquinolin. *Agrovital: Jurnal Ilmu Pertanian*, 8(2), 194–197.
- Alege, G. O., Ojo, B. H., Efenji, G. I., Kachi, J. B., Tawose, F. O., Glen, E., & Oladimeji, E. O. (2022). Cytogenetic effects of radiation from projector on meristematic cells of *Allium cepa* (onion) roots. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 26(4), 735–741.
- Amanah, H. A., Arumingtyas, E. L., & Indriyani, S. (2016). Chromosome analysis of cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) in colchicine-induced mutation. *Journal of Applied Horticulture*, 18(3), 217–220.
- Dewi, N. K., Syukur, M., & Suwarno, W. B. (2022). Analisis sitogenetika dan penentuan waktu mitosis optimal pada beberapa varietas lokal cabai (*Capsicum* spp. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 50(1), 88–95.
- Eze, F. I., Osadebe, P. O., & Okoye, F. B. C. (2024). Cytotoxic and genotoxic effects of *Zea mays* husk and *Saccharum officinarum* leaf extracts on *Allium cepa* root tip cells. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 17(1).
- Fallesen, T., Amarteifio, S., Pruessner, G., & Jensen, R. B. (2024). Intermittent cell division dynamics in regenerating *Arabidopsis* roots reveal complex long-range interactions. *Quantitative Plant Biology*, 5, 12.
- Kaduchova, K., Marchetti, C., Ovecka, M., & Komis, G. (2023). Spatial organization and dynamics of chromosomes and microtubules during barley mitosis. *The Plant Journal*, 115(4), 1023–1040.
- Kryvokhyzha, D., Salcedo, A., & Erickson, M. C. (2018). Parental legacy, demography, and admixture influenced the evolution of the two subgenomes of tetraploid *Capsella bursa-pastoris*. *PLoS Genetics*, 14(2), 1007145.
- Perilli, S., Mambro, R., & Sabatini, S. (2012). Growth and development of the root apical meristem. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(1), 17–23.
- Pradana, D. A., & Hartatik, S. (2019). Induksi mutasi pada tanaman cabai menggunakan mutagen kolkisin. *Jurnal Saintifik*, 5(1), 40–47.
- Raja, P. D., Kriswiyanti, E., & Darsini, N. N. (2015). Indeks mitosis ujung akar kecambah cabe besar (*Capsicum annuum* L.) setelah perlakuan suspensi *Trichoderma* sp. *Jurnal Biologi Udayana*, 19(2), 80–84.
- Rocha, M., Godinho, M., & Carvalho, L. (2019). Circadian clock regulation of the cell cycle in plant development. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1500.
- Setyawan, A. D., & Sutikno. (2000). Karyotipe kromosom pada *Allium cepa* L., *A. sativum* L., dan *A. ascalonicum* L. *BioSMART: Journal of Biological Science*, 2(1), 20–27.
- Wahyuni, S., Purwanto, E., & Yunus, A. (2017). Pengaruh waktu pemotongan ujung akar terhadap keberhasilan pengamatan mitosis pada beberapa tanaman famili *Solanaceae*. *Jurnal Agroteknologi Terpadu*, 5(2), 112–119.
- Widianti, T., & Fasya, A. G. (2023). Pengaruh konsentrasi HCl dan waktu maserasi terhadap kualitas preparat kromosom tumbuhan. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(1), 112–118.