

PENGARUH BERBAGAI KOMPOSISI MEDIA TERHADAP INDUKSI TUNAS TANAMAN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth)

Eliza Mayura

IPPTP Laing Solok Sumatera Barat

Korespondensi: elizamayura@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman Nilam merupakan salah satu penghasil minyak atsiri potensial yang ada di Indonesia. Rendahnya produktivitas nilam karena mutu genetik yang rendah, teknik budidaya yang sederhana. Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu genetik nilam dengan mengumpulkan plasma nutfah nilam bersifat lokal, baik daerah sentra produksi maupun daerah lainnya. Metode alternatif perbanyak bibit unggul dalam waktu relatif singkat dapat dilakukan melalui kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berbagai komposisi media yang efektif untuk pembentukan kalus dan beregenerasi menjadi planlet pada tanaman nilam. Penelitian dilaksanakan sejak Mei sampai Agustus 2020 di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika Solok. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Langkap dengan 2 faktor perlakuan Media dan Aksesori yang terdiri dari 9 perlakuan dengan 3 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan terdapatnya interaksi antara Pemberian BAP 0,5 ppm dan Aksesori rimbo Binuang menghasilkan yang terbaik pada Jumlah Tunas Per eksplan (17,33 buah) namun tidak terdapat interaksi pada variabel lain tetapi kedua faktor tunggal memperlihatkan perbedaan yang nyata pada perlakuan 0,5 ppm menghasilkan persentase eksplan hidup (82,22%), Persentase Eksplan Berkalus (77,78 %), Persentase Eksplan membentuk tunas (77,78 %) , Jumlah Tunas Per Eksplan (17,33 buah), Jumlah Daun Per Tunas (5,33 helai) dan pada Aksesori yang terbaik terdapat pada aksesori rimbo binuang yaitu persentase eksplan hidup (82,22%), Persentase Eksplan Berkalus (77,78 %), Persentase Eksplan membentuk tunas (77,78 %) , Jumlah Tunas Per Eksplan (17,33 buah), dan Jumlah Daun Per Tunas (5,33 helai).

Kata kunci: ZPT, Minyak Atsiri, Organogenesis, In Vitro

PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemoncablin* Benth) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang dapat dipergunakan untuk kepentingan farmasi terutama untuk industri parfum dan aroma terapi (Wahyudi dan Ermiami, 2012). Produktivitas tanaman nilam di Indonesia masih relatif rendah dan sangat beragam antar sentra produksinya. Hal ini antara lain disebabkan oleh mutu genetik tanaman, budidaya yang masih tradisional, pengendalian penyakit, dan pengelolaan panen dan pascapanen. Sehingga untuk meminimalisir permasalahan tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan benih atau bibit dari varietas unggul. Genotipe lokal sangat memiliki peranan penting sebagai sumber plasma nutfah karena varietas ini tergolong tipe yang telah beradaptasi luas dan spesifik pada lokasi setempat. Genotipe lokal memiliki keragaman genetik yang masih alami. Salah satu sumber

gen yang dijadikan untuk perbaikan tanaman adalah mencarinya pada keragaman genetik alami yang masih tersisa.

Tanaman nilam juga salah satu penyumbang devisa terbesar diantara tanaman atsiri lainnya. Indonesia adalah sebagai pemasok 90% kebutuhan minyak nilam dunia. Pada awalnya sentra produksi minyak nilam Indonesia adalah di Jawa dan Sumatera. Beberapa tahun belakangan ini Sulawesi telah mendominasi yaitu 80% dari produksi nasional. Akan tetapi, standar minimum kualitas minyak nilam Sumatra lebih tinggi berdasarkan kadar *patchouli alcohol* adalah antara 30-34%, dibandingkan Sulawesi antara 26-30%, dan pada kualitas yang sama (30%), minyak nilam Sumatra dihargai 6 USD per kilogram lebih tinggi dibanding asal Sulawesi (Sumatera 56 USD/kg dan Sulawesi 50 USD/kg) [(Caiger, 2016)

Sumatra Barat merupakan salah satu sentra penanaman nilam yang ditandai dengan masih luasnya areal budidaya nilam oleh masyarakat yaitu mencapai 2.765 Ha dan total produksi mencapai 196 Ton pada tahun 2015 yang terdiri sentra produksi utama di Kabupaten Pasaman Barat dengan luas 1.496 Ha, Kepulauan Mentawai 783 Ha, Pasaman 237 Ha dan Sijunjung 147 Ha. Selain 4 daerah terbut masih ada beberapa daerah lain di Sumatra Barat yang juga mengembangkan budidaya tanaman nilam (Ditjenbun, 2016).

Tanaman nilam adalah tanaman perdu wangi yang memiliki ciri-ciri: berakar serabut, bentuk daun bervariasi dari bulat hingga lonjong dan batangnya berkayu dengan diameter berkisar antara 10-20 mm, serta sebagian besar daun yang melekat pada ranting hampir selalu berpasangan satu sama lain. Jumlah cabang yang banyak dan bertingkat mengelilingi batang sekitar 3-5 cabang per tingkat. Setelah tanaman berumur 6 bulan, tinggi dapat mencapai 1 meter dengan radius cabang selebar lebih kurang 60 cm (Daniel, 2012).

Peningkatan produktivitas dan mutu minyak dapat dilihat dari 3 aspek yaitu aspek genetik, budidaya dan pascapanen. Peningkatan produktivitas dan mutu melalui perbaikan genetik memerlukan keragaman yang tinggi dalam sifat-sifat yang dibutuhkan. Tanaman nilam pada umumnya tidak berbunga dan diperbanyak secara vegetatif. Dengan sifat yang demikian keragaman genetik secara alamiahnya diharapkan dari mutasi alami yang frekuensinya biasanya rendah (Nuryani et al., 2003)

Dalam rangka memperoleh varietas unggul tanaman nilam diawali dengan eksplorasi dan koleksi plasma nutfah yang ada disetiap sentra produksi nilam. Mutu minyak sangat ditentukan oleh komponen utama yang terkandung pada tanaman nilam yaitu *patchouli alcohol* (PA), senyawa kelompok seskiterpen dengan rumus molekul $C_{15}H_{20}O_6$. Kadar PA yang tinggi dalam minyak nilam dapat diartikan bahwa semakin baik kualitas minyak tersebut (Idris, et al., 2014)

Kabupaten Pasaman Barat terdapat tujuh lokasi dimana masyarakatnya sudah sejak lama dan turun temurun mengenal dan sampai sekarang masih mempunyai minat yang tinggi terhadap usaha budidaya dan penyulingan nilam, pertama kali tanaman tersebut digunakan sebagai tanaman sela di perkebunan kopi di kaki gunung Pasaman, Sumatera Barat. Jenis tanaman nilam lokal yang dibudidayakan di daerah itu cukup beragam, tetapi petani tidak mampu menjelaskan varietas nilam apa yang mereka budi dayakan (Mayerni, et al., 2018). Karakteristik mutu tanaman disimpulkan bahwa Aksesori Rimbo Binuang dan aksesori Situak dapat dijadikan klon harapan tanaman nilam di Pasaman Barat, karena diperoleh rendemen minyak tertinggi pada aksesori Rimbo Binuang dan kadar *patchouli alcohol* tertinggi terdapat pada aksesori Situak (Febriyenti., 2018)

Metode alternatif untuk memperbanyak bibit unggul dalam waktu yang relatif singkat dapat dilakukan melalui kultur jaringan. Salah satu usaha yang dilakukan untuk memperbanyak bibit nilam adalah dengan teknik kultur jaringan. Keuntungan penyediaan benih melalui kultur jaringan diantaranya dapat mengeliminir penyakit (bebas dari mikroba/virus) dalam jumlah besar dan seragam (Hadipoentiy., 2010). Keberhasilan dalam memperbanyak secara ditentukan oleh banyak faktor diantaranya jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh (Swamy, et al., 2010)

Pemilihan media yang tepat dengan pemberian zat pengatur tumbuh merupakan faktor penentu dalam menginduksi senyawa metabolit sekunder. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan untuk inisiasi kalus dan meningkatkan produksi metabolit sekunder (*organogenesis*) adalah auksin dan sitokinin. Auksin biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium. Konsentrasi auksin yang relatif tinggi akan mengacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen (fitohormon) di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Hal ini dapat dibuktikan pada penelitian Palupi (2004) menunjukkan bahwa kombinasi 1,0 mg/L 2,4-D dan 1,0 mg/L BAP memberikan pengaruh secara optimum terhadap kandungan minyak nilam yang berasal dari kalus nilam. Diperkuat dengan penelitian Budiarti (2017) bahwa konsentrasi terbaik pada induksi kalus nilam terdapat pada konsentrasi 2,0 mg/l 2,4-D dan dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l dan 2,0 mg/l BAP. Hal ini terjadi karena 2,4-D berperan dalam pembesaran dan pemanjangan sel (peningkatan ukuran sel) dan BAP yang berperan dalam pembelahan sel (peningkatan jumlah sel). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi media yang terbaik untuk induksi tunas Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth).

METODE PENELITIAN

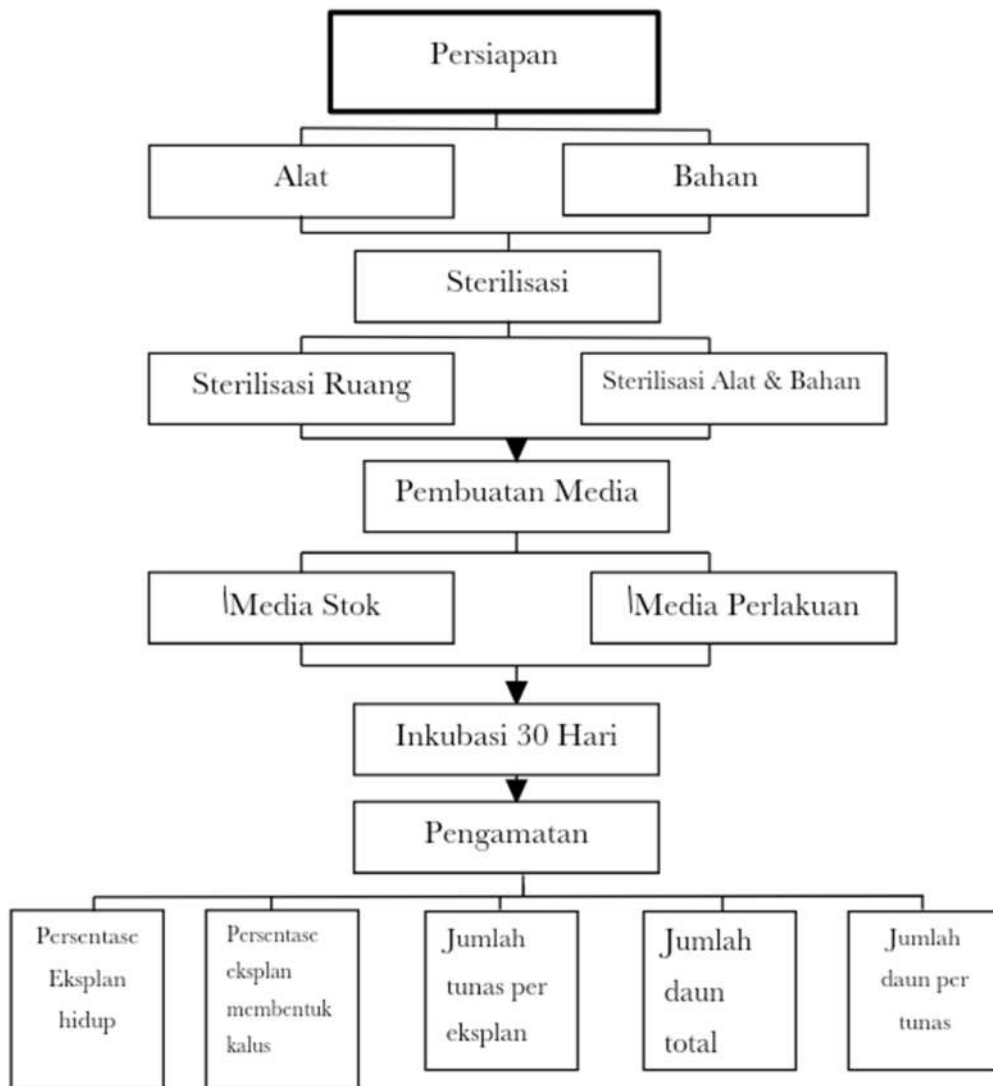
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika Solok, pada bulan Mei hingga Agustus 2020.

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah tanaman Nilam Aksesori Situak (Kecamatan Lembah Melintang), Rimbo Binuang (Kecamatan pasaman), Tombang (Kec. Tamalau), BAP (*Benzil Amino Purine*), 2,4 D, Casein Hidrolisa, Glutamin, media MS (Murashige and Skoog), agar (*Pure agar*) 8 g/L, Tween 80, aquades steril, alkohol 70% dan 96%, sukrosa 3%, HCL 1 mol/L, NaOH 1 mol/L, pH meter digital, plastik, karet gelang, plasticwrap, tissue, spritus, selotip (lakban bening), aluminium foil, tipmikropipet, dan kertas label.

Alat yang digunakan pada percobaan ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), autoklaf, timbangan analitik, *hot plate magnetic stirrer*, oven, pisau *scalpell*, pinset, erlenmeyer 1000 mL, gelas piala 50 mL, botol kultur, bunsen, petridisk, gelas ukur 10 mL, botol kaca, rak kultur, mikropipet, handsprayer alat tulis, kamera

Penelitian ini dilakukan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah pemberian konsentrasi BAP dengan 3 taraf perlakuan 1) MS0, 0,1 ppm BAP, 3 ppm 2,4D, 3 g/l Casein Hidrolisa, 100 ppm Glutamin 2) MS0, 0,3 ppm BAP, 3 ppm 2,4D, 3 g/l Casein Hidrolisa, 100 ppm Glutamin 3) MS0, 0,5 ppm BAP dan faktor kedua adalah Aksesori nilam dengan 3 taraf perlakuan (Situak, Rimbo Binuang dan Tombang). Dengan demikian diperoleh 9 perlakuan dengan kode yaitu : M1K1, M1K2, M1K3, M2K1, M2K2, M2K3, M3K1, M3K2, M3K3. Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ulangan dan setiap satuan percobaan terdiri

dari 10 botol sehingga terdapat 270 satuan percobaan. Pada masing-masing botol kultur ditanam 1 eksplan dan semua populasi diamati, variabel yang diamati yaitu Persentase Eksplan hidup (%), Persentase eksplan membentuk kalus (%), Persentase eksplan membentuk tunas (%), Jumlah tunas per eksplan (buah), Jumlah daun per tunas (helai). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf 5%, apabila F hitung lebih besar dari F tabel maka analisis dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.



Gambar 1 : Skema Alur Penelitian

Pelaksanaan

1. Isolasi Bahan Eksplan

Isolasi tanaman induk yang akan digunakan sebagai sumber eksplan dalam proses kultur jaringan merupakan tahap awal proses kultur jaringan yang bertujuan untuk mempersiapkan eksplan sehat dan bebas dari jamur ataupun bakteri, sehingga dapat menurunkan tingkat kontaminasi yang terjadi.

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan tanaman nilam yaitu daun muda. Jaringan meristem pada daun muda merupakan bagian yang cepat melakukan diferensiasi dan diharapkan mampu membentuk kalus nilam. Pada masa isolasi tanaman nilam tidak mengalami serangan hama dan penyakit, ini karena tanaman

diberikan perlakuan larutan bakterisida dan fungisida. Sehingga umur 6 bulan tanaman, daun nilam bisa digunakan sebagai eksplan untuk pembentukan kalus.

2. Sterilisasi Lingkungan kerja

Sterilisasi lingkungan kerja dengan menggunakan kain pel yang dibasahi dengan alkohol 70%. Sterilisasi ini mutlak dilakukan menjelang ruang inokulasi akan digunakan. Lampu ultraviolet dapat digunakan untuk sterilisasi iruang, dan biasanya selalu dinyalakan apabila ruang inokulasi tidak digunakan, serta dimatikan saat masuk dalam ruang ini (Sandra, 2013). Alat tanam seperti botol kultur, pisau scallpel, pinset dicuci dengan detergen dan bilas dengan air mengalir dan dikering anginkan, selanjutnya diautoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (pound per squareinch = besarnya tekanan pada bidang seluas satu inci) selama 20 menit kemudian pemanasan dalam oven pada 180 C minimal selama 3 jam.

3. Pembuatan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah media MS (Murashige and Skoog). Langkah pertama dalam pembuatan media adalah masukkan larutan stok (stok makro, stok mikro, stok besi, stok vitamin) ke dalam erlenmeyer yang telah berisi ± 50 mL aquades steril. Selanjutnya tambahkan 30 g/L sukrosa dan 100 mg/L Mio-inositol, cukupkan aquedes sebanyak 1000 mL. Campuran tersebut diaduk menggunakan magnetic stirer hingga merata. Bagi ke dalam 3 (Tiga) erlenmeyer masing-masing 333,3 ml. Berikan konsentrasi BAP, 2,4 D, Casein Hidrolisa, Glutamin sesuai perlakuan. ukur pH dengan menggunakan pH meter hingga mencapai 5,8. Apabila pH masam tambahkan KOH dan bila pH basa tambahkan HCL.

Selanjutnya tambahkan agar dan aduk dengan menggunakan hot platemagnetic stirer hingga mendidih. Setelah larut dengan baik dan mendidih campuran dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak ± 20 mL/ botol. Lalu botol ditutup menggunakan plastik dan karet.

Media selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (pound per squareinch = besarnya tekanan pada bidang seluas satu inci) selama 15 menit. Selanjutnya media disimpan di ruang inkubasi.

4. Sterilisasi bahan dan Penanaman

Sterilisasi bahan eksplan/bahan tanam dengan cara mencuci daun (eksplan) di air mengalir setelah itu dicuci dengan menggunakan deterjen dan bilas kembali hingga bersih, selanjutnya lakukan pembilasan dengan aquades steril sebanyak 3-4 kali, kemudian rendam menggunakan Tween 80 selama 5 menit. Untuk kegiatan selanjutnya dilakukan pada kondisi aseptik dengan menggunakan LAFC (*Laminar Air Flow Cabine*). Eksplan direndam dengan alkohol 70% selama 30 detik, kemudian eksplan dibilas dengan aquades steril setelah itu Eksplan direndam dalam larutan klorox 50% selama 5 menit. Eksplan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3-4 kali untuk menghilangkan senyawa kimia yang masih menempel. Kemudian direndam dengan antibiotik selama 30 detik. Perendaman eksplan pada senyawa menggunakan botol kaca yang telah "disterilisasi.

Kemudian eksplan dipotong menggunakan pisau scallpel dan bantuan pinset dengan ukuran (1x1) cm. Pemotongan dilakukan di atas petridisk. Selanjutnya eksplan dilayangkan di atas bunsen dengan tujuan eksplan kering dari sisa air perendaman. Penanaman dilakukan dengan meletakkan potongan daun eksplan secara melintang keatas (posisi abaxial) dan menyentuh media pada permukaan bawahnya. Setelah penanaman eksplan selesai botol kultur ditutup menggunakan plastik dan diikat dengan karet gelang mengdan dibalut dengan plastik wrap. Botol yang telah berisi eksplan diberi label sesuai dengan perlakuan botol ditempatkan dalam ruang kultur pada suhu 23°C serta diamati setiap hari selama 4 minggu.

5. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan menjaga kebersihan ruang kultur. Untuk pemeliharaan kesterilan botol kultur dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% setiap hari. Apabila terdapat eksplan yang terkontaminasi segera dikeluarkan dari ruangan untuk meminimalisir penularan kontaminasi pada botol kultur lain.

6. Pengamatan Induksi Kalus

1. Persentase (%) Eksplan Hidup

Pengamatan ini bertujuan untuk melihat kemampuan eksplan untuk hidup, eksplan hidup dicirikan dengan eksplan yang tidak berubah warna (tidak coklat) serta tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme. Pengamatan ini dimulai pada hari ke-1 sampai hari ke-30 setelah tanam, dengan perhitungan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Eksplan Hidup} = \frac{\sum \text{Eksplan Hidup}}{\text{Total}} \times 100\%$$

$$\sum \text{Eksplan Total}$$

2. Persentase (%) Eksplan Membentuk Kalus

Pengamatan ini bertujuan untuk melihat kemampuan eksplan membentuk kalus. Pengamatan dilakukan mulai dari setelah penanaman hingga akhir masa pengamatan.

$$\% \text{ Eksplan Hidup Berkalus} = \frac{\sum \text{Eksplan Berkalus}}{\sum \text{Eksplan Total}} \times 100\%$$

\sum Eksplan Total

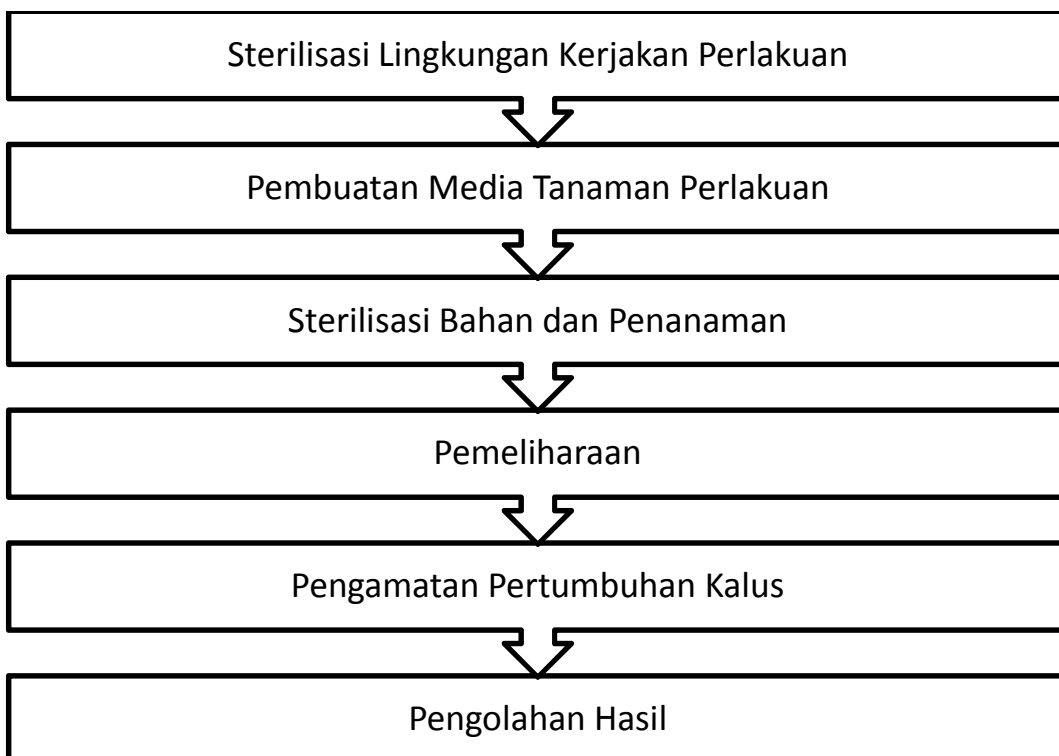
“3. 3.

3. Persentase Eksplan Membentuk Tunas

Pengamatan persentase eksplan membentuk kalus dilaksanakan pada 30 HST dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Eksplan Hidup Bertunas} = \frac{\sum \text{Eksplan Bertunas}}{\sum \text{Eksplan Total}} \times 100\%$$

Adapun tahapan pelaksanaan induksi kalus sebagai berikut:



Gambar 2. Tahapan Induksi kalus

4. Jumlah Tunas Per Eksplan (buah)

Pengamatan ini bertujuan untuk melihat kemampuan kalus membentuk eksplan. Pengamatan ini dilakukan mulai saat tunas muncul sampai dengan akhir pengamatan.

5. Jumlah daun Per Tunas

Pengamatan ini bertujuan untuk melihat jumlah daun yang terdapat pada setiap tunas. Pengamatan ini dilakukan pada akhir pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian kombinasi media pada aksesori nilam yang digunakan memperlihatkan terdapatnya interaksi antara Pemberian BAP 0,5 ppm pada Aksesori rimbo Binuang menghasilkan yang terbaik pada jumlah tunas Per eksplan namun tidak terdapat interaksi pada variabel lain namun kedua faktor tunggal memperlihatkan perbedaan yang nyata dan berbeda nyata pada pemberian media 0,1 mg/l BAP, 3 ml/l 2,4D, 3 g/l Casein Hidrolisa, 100 ml/l Glutamin dan 0,3 mg/l BAP, 3 ml/l 2,4D, 3 g/l Casein Hidrolisa, 100 ml/l Glutamin

1. Persentase Eksplan Hidup (%)

Persentase eksplan hidup merupakan kemampuan suatu eksplan untuk tumbuh dan berkembang dalam kultur in vitro. Persentase eksplan hidup dapat dipengaruhi oleh persentase eksplan kontaminasi dan Browning, tujuan pengamatan persentase eksplan hidup adalah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh sterilisasi eksplan yang digunakan dalam penelitian.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara komposisi media dengan aksesori tanaman nilam terhadap persentase eksplan hidup, Namun kedua faktor tunggal memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase eksplan hidup Tabel 1.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa tidak terdapat interaksi antara Komposisi media dan aksesori tanaman nilam namun kedua faktor tunggal memberikan pengaruh yang nyata terhadap Persentase eksplan hidup. Perlakuan komposisi media terlihat bahwa pemberian 0,5 ppm BAP menghasilkan rata-rata persentase Eksplan Hidup paling banyak yaitu 82,22% dimana berbeda nyata dengan 0,1 ppm BAP (26,27%) dan 0,3

BAP (22,22 %). Pada Perlakuan aksesi yang terbaik terlihat pada Aksesi Rimbo binuang menunjukkan rata – rata persentase eksplan hidup 51,11% dan berbeda nyata dengan aksesi situak (42,22%) dan Tombang (37,22%).

Tabel 1. Persentase Eksplan Hidup dengan berbagai komposisi media dari tiga aksesi Nilam

Aksesi	Komposisi Media			Rata – Rata Aksesi Nilam
	0,1 ppm	0,3 ppm	0,5 ppm	
Situak	26,66	20,00	80,00	42,22 B
Rimbo Binuang	33,33	26,66	93,33	51,11 A
Tombang	20,00	20,00	73,33	37,22 B
Rata- Rata	26,27 b	22,22 b	82,22 a	

Konsentrasi ZPT

Angka – angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan huruf besar yang sama pada baris berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Penggunaan zat pengatur tumbuh juga dapat mempengaruhi persentase hidup. Hal ini didukung hasil penelitian Triwari et al., (2002) penggunaan BAP terhadap persentase hidup eksplan Jati dengan perlakuan BAP 22,2 µm mencapai 76,8 %. Tingginya persentase eksplan hidup juga disebabkan oleh komposisi zat dalam medium telah cocok untuk menyokong kehidupan eksplan. Abidin (1993) menyatakan bahwa kemampuan hidup eksplan pada kultur in vitro sangat tergantung dari eksplan itu sendiri, jenis dan komposisi medium sangat mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup pada medium tersebut

Menurut Mahadi *et al.* (2016) perbedaan dalam hasil pertumbuhan juga dipengaruhi oleh faktor genetis, jenis tumbuhan, lingkungan dan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dalam media kultur.

2. Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)

Munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih bening seperti titik-titik air/lendir pada bekas irisan eksplan dan sayatan di permukaan eksplan yang kemudian berkembang menjadi bulatan-bulatan kecil yang jelas dan agregat kalus

Keberhasilan eksplan dalam merespon komposisi media untuk menginisiasi kalus juga tergantung pada kondisi eksplan. Bakti (2005) menyatakan bahwa musim ketika eksplan diambil, kualitas tanaman keseluruhan, kondisi aseptik media dan eksplan, ukuran eksplan dan umur fisiologis tanaman mempengaruhi keberhasilan

kultur. Keberhasilan untuk menginduksi kalus lebih besar bila eksplan yang digunakan bersifat meristematik (aktif membelah).

Pada Tabel 2 terlihat bahwa tidak terdapatnya interaksi antara komposisi media dengan ke tiga aksesi nilam terhadap persentase eksplan membentuk kalus, Namun Kedua faktor tunggal memperlihatkan perbedaan yang nyata pada pemberian 0,5 ppm BAP menghasilkan rata – rata persentase eksplan membentuk kalus terbaik yaitu (77,78 %) namun berbeda nyata dengan pemberian 0,1 ppm BAP dan 0,3 ppm BAP. Pada perlakuan aksesi menghasilkan rata-rata persentase membentuk kalus terbaik pada aksesi rimbo binuang yaitu (48, 89 %) dan tidak berbeda nyata dengan aksesi Situak (42,22%) namun berbeda nyata dengan aksesi Tombang (35,56 %).

Tabel 2. Persentase Eksplan membentuk kalus dengan berbagai komposisi media dari tiga aksesi Nilam

Aksesi	Konsentrasi ZPT			Rata – Rata Aksesi Nilam
	0,1 ppm	0,3 ppm	0,5 ppm	
Situak	26,22	20,00	80,00	42,22 AB
Rimbo Binuang	33,33	26,66	86,66	48,89 A
Tombang	20,00	20,00	66,66	35,56 B
Rata- Rata	26,67 b	22,22 b	77,78 a	
Konsentrasi ZPT				

Angka – angka yang di ikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan huruf besar yang sama pada baris berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Menurut Yelnititis dan Komar (2010) melaporkan bahwa proses induksi kalus diawali dengan terjadinya penebalan pada bagian tulang daun dan daerah yang telah dilukai. Astutik (2007) mengatakan bahwa tanaman ketika dilukai akan terbentuk kalus yang diakibatkan karena sel mengalami kerusakan dan terjadi autolisis, sehingga sel-sel pada eksplan akan melakukan perbaikan pada sel yang rusak yang diawali dengan pembengkakan.

Menurut Indah (2013) tekstur kalus kompak merupakan kalus yang baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. Pemberian Sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam mimicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan Kalus.

3. Persentase Eksplan Membentuk tunas (%)

Pembentukan tunas merupakan salah satu faktor penting di dalam perbanyak tanaman dengan metode kultur in vitro. Penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau cerah. Kalus dengan warna yang hijau tidak hanya dimungkinkan mengandung banyak pigmen klorofil akan tetapi, kalus yang terbentuk juga memiliki ukuran cukup besar yang menandakan bahwa kalus beregenerasi dengan baik dan sel-selnya masih aktif membelah dan memiliki kemampuan untuk membentuk tunas (Lizawati 2012).

Pada Tabel 3 terlihat bahwa tidak terdapat interaksi antara komposisi media dengan aksesori nilam yang digunakan namun kedua faktor tunggal memberikan pengaruh yang nyata terhadap Persentase eksplan membentuk tunas. Perlakuan 0,5 ppm BAP menghasilkan rata-rata persentase membentuk tunas paling baik yaitu 77,78 % dimana berbeda nyata dengan 0,1 ppm BAP (26,67%) dan 0,3 ppm BAP (22,22 %). Pada perlakuan aksesori yang terbaik terdapat pada aksesori Rimbo binuang menunjukkan rata-rata persentase membentuk tunas (48,89 %) dan tidak berbeda nyata dengan aksesori situak (42,22%) namun berbeda nyata dengan tombang (35,56 %).

Mashluhah (2018) juga melaporkan bahwa dengan pemberian BAP 0.5 ppm mampu menghasilkan tunas yang lebih tinggi yaitu tinggi 5.3 cm dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi dengan 1 ppm BAP yang menghasilkan tinggi tunas 3.6 cm pada tanaman jambalang (*Syzygium cumini* L.)

Tabel 3. Persentase Eksplan membentuk tunas dengan berbagai komposisi media dari tiga aksesori Nilam





Aksesori	Konsentrasi ZPT			Rata – Rata Aksesori Nilam
	0,1 ppm	0,3 ppm	0,5 ppm	
Situak	26,66	20,00	80,00	42,22 AB
Rimbo Binuang	33,33	26,66	86,66	48,89 A
Tombang	20	20	66,66	35,56 B
Rata- Rata	26,67 b	22,22 b	77,78 a	

Angka – angka yang di ikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan huruf besar yang sama pada baris berbeda tidak nyata menurut uji DNMR pada taraf 5%.

Penambahan zat pengatur tumbuh dalam media merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Pada umumnya media perbanyak secara in vitro menggunakan zat pengatur tumbuh dari golongan

sitokinin yang banyak digunakan untuk memacu pembentukan tunas dengan daya aktivitas yang kuat mendorong proses pembelahan sel (George dan Sherington, 1984).

Tabel 4. Perkembangan Kalus Nilam sampai planlet pada perlakuan media pada Aksesii Tanaman Nilam yang terbaik.

Perlakuan	Umur	
	25 HST	30 HST
0,5 ppm BAP pada Aksesii Rimbo Binuang		
		

Sitokinin yang sering digunakan dalam kultur in vitro adalah BAP (Benzyl Amino Purine). BAP adalah sitokinin yang sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya. Mekanisme kerja sitokinin dipengaruhi oleh konsentrasi auksin. Sitokinin berperan dalam menghambat pertumbuhan akar melalui peningkatan konsentrasi etilen, sitokinin dapat menghambat pembentukan akar lateral melalui sel periskel dan memblokir program pengembangan pembentukan akar lateral sehingga mendorong pembentukan tunas (Santoso dan Nursandi, 2003)

4. Jumlah Tunas Per Eksplan (buah)

Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur jaringan. Semakin banyak tunas yang terbentuk maka dapat dilakukan multiplikasi kultur untuk mendapatkan tunas-tunas baru dalam jumlah yang semakin banyak. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara berbagai komposisi media dan aksesi nilam yang digunakan pada jumlah tunas per eksplan yang mana pemberian 0,5 ppm BAP pada aksesi Rimbo Binuang memperlihatkan jumlah tunas per eksplan yang terbanyak.

Tabel 5. Jumlah Tunas Per Eksplan dengan berbagai komposisi media dari tiga aksesi Nilam.

Aksesi	Konsentrasi ZPT		
	0,1 ppm	0,3 ppm	0,5 ppm
Situak	2,66 Ab	2,66 Ab	15,67 Ba
Rimbo Binuang	2,33Ab	3,00 Ab	17,33 Aa
Tombang	2,33 Ab	2,00 Ab	13,00 Ca

Angka – angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan huruf besar yang sama pada baris berbeda tidak nyata menurut uji DNMR pada taraf 5%. Pada Tabel 5 dapat terlihat bahwa terdapatnya interaksi antara komposisi media dan aksesi nilam yang mana pada pemberian 0,5 ppm BAP pada Aksesi rimbo binuang memperlihatkan jumlah tunas per eksplan yang terbanyak yaitu (17,33 buah) dan berbeda nyata dengan pemberian 0,1 ppm BAP (2,33 buah) dan 0,3 ppm BAP (3,00 buah). Pada Perlakuan aksesi nilam rimbo binuang memperlihatkan tidak berbeda nyata pada ke tiga komposisi media yang digunakan.

Menurut Zulkarnain (2011), pertumbuhan tunas dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu eksplan, media, dan lingkungan. Dalam kultur jaringan kebanyakan tanaman membutuhkan sitokinin untuk memperbanyak tunas dan daun, hal ini sesuai jika dibandingkan pada perlakuan tanpa menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin, dimana tunas muncul pada umur 30,63 HST

Menurut Mendi *et al.*, (2009), pemberian konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dikombinasikan dengan auksin lebih efektif untuk regenerasi tunas *Begonia Begonia elatior cv. Toran* dari pada sitokinin digunakan sendiri. Pada media yang hanya mengandung sitokinin atau auksin saja tidak terjadi regenerasi pada eksplan.

Kebutuhan jenis dan konsentrasi ZPT yang diperlukan untuk regenerasi kalus, tunas, atau akan *in vitro* ini telah dilaporkan oleh banyak peneliti pada beragam tanaman yang berbeda (Yusnita, 2015).

Menurut Mahadi *et al.*, (2016) perbedaan dalam hasil pertumbuhan juga dipengaruhi oleh faktor genetik, jenis tumbuhan, lingkungan dan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dalam media kultur.

Sesuai dengan pendapat Lestari, (2011); Fadilah *et al.*, (2014) Proses morfogenesis langsung dengan menggunakan eksplan tunas pucuk dan buku dapat terjadi dengan baik dengan pemberian zat pengatur tumbuh yang dapat merangsang pertumbuhan tunas, merangsang pembelahan sel, dan mengatur morfogenesis.

5. Jumlah Daun per tunas

Daun muncul pada semua kombinasi perlakuan. Jumlah daun dipengaruhi oleh adanya penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Daun yang diamati pada penelitian ini adalah daun yang telah membuka sempurna. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara kombinasi media dengan aksesori yang digunakan terhadap jumlah daun per tunas.

Angka – angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan huruf besar yang sama pada baris berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%. Pada Tabel 6 terlihat rata-rata kombinasi perlakuan pemberian 0,5 ppm BAP memperlihatkan jumlah daun per tunas yang terbanyak yaitu (5,33 helai) dan berbeda nyata dengan pemberian 0,3 ppm BAP Yaitu (2,89 helai) dan 0,1 ppm BAP (2,00 helai). Pada perlakuan aksesori terlihat rata-rata jumlah daun per tunas yang terbanyak terdapat pada aksesori situak (3,56 helai) diikuti oleh aksesori rimbo binuang (3,33 heli) dan tombang (3,33 helai).

Tabel 6. Jumlah daun per tunas dengan berbagai komposisi media dari tiga aksesori Nilam.

Aksesori	Konsentrasi ZPT			Rata – Rata Aksesori Nilam
	0,1 ppm	0,3 ppm	0,5 ppm	
Situak	2,00	2,67	6,00	3,56
Rimbo Binuang	2,00	2,67	5,33	3,33
Tombang	2,00	3,33	4,67	3,33
Rata- Rata Konsentrasi ZPT	2,00 c	2,89 b	5,33 a	

Hasil penelitian Rahayu et al (2013) pada eksplan biji jarak pagar menghasilkan daun sebanyak 3,89 yang ditanam pada media MS dengan kombinasi 5 mg/l BAP dan 0,5 mg/l IAA. Menurut Haeria (2012) Daun merupakan organ vegetatif yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media. Aprilia (2011) juga melaporkan bahwa daun digunakan sebagai indikator pertumbuhan dan data penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi pada eksplan. Semua perlakuan dapat memacu terbentuknya daun walaupun belum terbuka sempurna pada 35 hari setelah tanam.

Santoso dan Nursandi (2002) juga melaporkan bahwa sitokinin diketahui berperan dalam menunda senescence daun dengan jalan menghambat penguraian protein. Semakin banyak jumlah daun yang bisa dipertahankan tentu akan meningkatkan aktivitas fotosintesis yang pada akhirnya akan meningkatkan hasil tanaman pule pandak. Pada umur 180 HST, adanya perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah daun. Tidak terdapat interaksi antara kedua faktor perlakuan terhadap jumlah daun.

Sitokinin sebagai salah satu zat pengatur pertumbuhan berpengaruh sangat luas pada proses-proses fisiologis tumbuhan, dengan aktivitas utama mendorong pembelahan sel. Sesuai dengan pernyataan Manurung *et al.* dalam Suryaningsih (2004) bahwa pemberian zat pengatur tumbuh akan efektif bila digunakan pada fase pertumbuhan tertentu, dengan kondisi yang tepat dan pada kondisi lingkungan tertentu.

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumaria *et al.* (2012) pada *B. rubroveniavar. meisneri* bahwa peningkatan multiplikasi tunas sejalan dengan peningkatan jumlah daun.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi pemberian konsentrasi BAP (*Benzil amino purine*) dan Aksesori Rimbo Binuang, situak dan Tombang terhadap Jumlah tunas per eksplan namun pada variabel lainnya tidak terdapat interaksi namun kedua faktor tunggal memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap persentase eksplan hidup, persentase eksplan membentuk kalus, persentase eksplan membentuk tunas dan jumlah daun per eksplan.

Pemberian BAP 0,5 ppm pada Aksesori rimbo Binuang menghasilkan Jumlah Tunas Per eksplan (17,33 buah), persentase eksplan hidup (82,22%), Persentase Eksplan Berkalus (77,78 %), Persentase Eksplan membentuk tunas (77,78 %) , Jumlah Daun Per Tunas (5,33 helai) dan pada Aksesori yang terbaik terdapat pada aksesori rimbo binuang yaitu persentase eksplan hidup (51,11%), Persentase Eksplan Berkalus (48,89 %), Persentase Eksplan membentuk tunas (48,89 %) dan Jumlah Daun Per Tunas (3,33 helai).

Saran

Untuk induksi tunas pada tanaman nilam sebaiknya menggunakan zat pengatur tumbuh BAP (*Benzil amino purine*) dengan konsentrasi 0,5 ppm karena dengan hanya memberikan BAP tunggal tanpa di kombinasikan dengan Zpt lainnya sudah mampu menghasilkan tunas dan planlet pada ketiga aksesori tanaman nilam.

REFERENSI

- Abidin, Z 1983. Dasar – dasar pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh. Bandung: Angkasa.
- Aprilia, K. 2011. Pembentukan Tunas Lengkeng Dataran Rendah (*DimorcarpuslonganLour*) pada Berbagai Konsentrasi IBA dan Kinetin Secara in Vitro. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Astuti dan Andayani. 2007. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum morifolium*, Ram.) . *Jurnal Kultur Jaringan Biota*,X(3): 31-35
- Bakti, C. 2005. Embriogenesis Somatik Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Pada Berbagai Zat Pengatur Tumbuh. Tesis. Pascasarjana IPB. Bogor.
- Budiarti, C. 2017. Pengaruh Teknik Sterilisasi Dan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (*2,4-Diklorofenoksiasetat*), BAP (*Benzil Amino Purin*) Terhadap Induksi Kalus Nilam (*Pogostemoncablinbenth*) Secara In Vitro. [Skripsi]. Bandung. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati.
- Caiger, S. 2016. Essential Oil and Oleoresins, MarketInsider April 2016 Report. http://www.intracen.org/uploadedFiles/intracenorg/Content/Exporters/Market_Data_and_Information/Market_information/Market_Insider/Essential_Oils/Monthly%20Report%20April%20%202016.pdf. [viewed 28th October 2016].
- Daniel, A. 2012. Prospek Bertanam Nilam. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2016. Nilam (Patchouli). Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Nilam* 2015-2017. Jakarta. Kementerian Pertanian.