

**MULTIPLIKASI TANAMAN NILAM (*Pogostemon cablin*
Benth) var. TAPAK TUAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



SITI ASIAH

3425070193

PROGRAM STUDI BIOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2014

ABSTRAK

SITI ASIYAH. Multiplikasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) var. Tapak Tuan Secara *In Vitro*. SKRIPSI. Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Jakarta. Mei 2014.

Kultur jaringan merupakan teknik yang banyak digunakan untuk memperbanyak dan memperbaiki mutu tanaman. Salah satu cara memperbanyak tanaman dapat dilakukan dengan teknik *in vitro*. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kombinasi dan konsentrasi NAA dan BAP yang tepat untuk memperbanyak tanaman nilam. Variabel terikat yaitu waktu inisiasi kalus dan tunas, tekstur kalus, warna kalus, jumlah tunas, dan jumlah akar nilam. Variabel bebasnya adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP. Metode dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Data dianalisis dengan uji Anava Dua Arah dan dilanjutkan dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan pada eksplan batang konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik untuk menginduksi kalus adalah tanpa NAA dan BAP (kontrol), NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0 ppm + BAP 0.5, Sedangkan pada eksplan daun adalah NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0.1 ppm + BAP 0.5 ppm, BAP 0.5 ppm tanpa NAA dan NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm. Jumlah tunas terbanyak didapatkan pada konsentrasi konsentrasi NAA 0 ppm dan NAA 0.01 untuk eksplan daun dan pada konsentrasi NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm dan NAA 0 ppm + BAP 0.5 ppm untuk eksplan batang. Jumlah akar terbanyak didapatkan pada konsentrasi NAA 0.01 ppm untuk eksplan daun dan pada konsentrasi NAA 0.1 ppm + BAP 0 ppm dan NAA 0.01 ppm + BAP 0.5 ppm eksplan batang. Hasil analisis secara statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata konsentrasi NAA dan BAP terhadap memperbanyak tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth).

Kata kunci : kultur jaringan, NAA, BAP, nilam (*pogostemon cablin* Benth)

ABSTRACT

SITI ASYIAH. Multiplication Of Plant Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) var. Tapak Tuan Of The Side *In Vitro*. Thesis. Biology Study Program, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences. State University of Jakarta. May 2014.

Tissue culture is a technique widely used for propagation and improvement of crop quality. One way of plant propagation can be done with in vitro techniques. The purpose of the study was to determine the combinations and concentrations of NAA and BAP are appropriate for plant propagation patchouli. Dependent variable is the time of initiation of callus and shoots, callus texture, color callus, shoot number, and the number of roots patchouli. Independent variable is the concentration of growth regulators NAA and BAP. The method in this study is the experimental method. Data were analyzed by two-way Anova test followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The results showed the stem explants concentrations of NAA and BAP best to induce callus is without NAA and BAP (control), 0.1 ppm NAA without BAP, NAA + BAP 0.5 ppm 0, while the leaf explants is there a 0.1 ppm NAA without BAP, NAA 0.1 ppm BAP + 0.5 ppm, 0.5 ppm BAP without NAA and NAA + BAP 0:01 ppm 1 ppm. Highest number of shoots obtained at a concentration of 0 ppm NAA concentration and NAA and 0.01 for leaf explants at a concentration of 0:01 ppm NAA + BAP 1 ppm and 0 ppm NAA + BAP 0.5 ppm for stem explants. Highest number of roots was found in 0:01 ppm for NAA concentration and leaf explants at a concentration of 0.1 ppm NAA + BAP and NAA 00:01 0 ppm ppm + 0.5 ppm BAP stem explants. Results of statistical analysis showed that there were significant differences of NAA and BAP concentrations on plant propagation patchouli (*Pogostemon cablin Benth*).

Keywords: tissue culture, NAA, BAP, plant nilam (*pogostemon cablin Benth*)

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi yang disusun dengan judul, "Multiplikasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) var. Tapak Tuan Secara *In Vitro*", merupakan salah satu prasyarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada program studi Biologi di Universitas Negeri Jakarta.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak,. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Christiani, MS selaku pembimbing I yang telah membimbing, mengarahkan, menasehati, serta meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
2. Ibu Tuti Lestari, M.Si, selaku pembimbing II, yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan dan arahan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si, selaku penguji I yang telah memberi masukan dan koreksi untuk penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Ernawati, M.Si, selaku penguji II yang telah memberi masukan dan koreksi untuk penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

5. Ibu Eka Azrai, M.Si, selaku ketua Program Studi Biologi FMIPA UNJ yang telah memberi banyak perhatian, motivasi, nasihat, dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Nurdin Matondang, M.Si, selaku ketua Jurusan Biologi FMIPA UNJ.
7. Bapak Hanum Isfaeni, M.Si, selaku pembimbing akademik.
8. Kedua orang tua penulis, Alm.Hj. Nurjanah dan H. Darip yang tiada henti memberikan doa dan semangat serta dukungan kepada penulis
9. Keluargaku tercinta, ibu, bapak, kakak-kakakku, keponakanku dan saudara sepupuku semua atas kasih sayang, pengertian, doa, bantuan dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Alfredo sebagai seseorang yang selalu memberikan kasih sayang, perhatian dan dukungannya.
11. Anisah Sulasih sebagai teman penelitian, terima kasih atas kerja sama, kesabaran, dan pengertiannya dalam menyelesaikan penelitian ini
12. Ibu Deselina, Bapak Isnin, Ibu Eni, dan Pak Anto yang telah membantu selama di Laboratorium Kultur Jaringan.
13. Teman-teman Biologi angkatan 2007 : Maryam, Esti, Sahar, Suci, Rezki, Novita, Friska, Astrid, Diaz, Dita, Dea, Fandi, Adin, Insan, Manda, Arini, Evi, Rodiah, Dessy, Deby, Yuda, Detty atas seluruh bantuan dan dukungan semangat yang luar biasa.

14. Adik-adik angkatan 2008, 2009, 2010 dan 2011; penulis ucapkan terima kasih atas segala keceriaan yang telah kalian berikan, semangat, motivasi, doa dan persahabatan yang selama ini terjalin selama masa studi di UNJ.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dengan segala ketulusan penulis mengucapkan terima kasih. Semoga semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis diberikan balasan oleh Allah SWT dan penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Jakarta, 21 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERPIKIR	
A. Kajian Pustaka	5
1. Nilam <i>Pogostemon cablin</i> Benth.	5
2. Kultur Jaringan	7
3. Zat Pengatur Tumbuh	8
B. Kerangka Berpikir	12
C. Perumusan Hipotesis	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tujuan Operasional	15
B. Tempat dan Waktu Penelitian	15
C. Metode Penelitian	15
D. Prosedur Penelitian	17

E. Teknik Pengumpulan Data	20
F. Hipotesis Statistik	20
G. Teknik Analisis Data	22
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian Respon Pertumbuhan Eksplan Daun dan Batang	23
B. Peranan NAA dan BAP Terhadap Kualitas Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun dan Batang...	27
C. Jumlah Tunas Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth) pada Eksplan Daun dan.....	31
D. Jumlah Akar Nilam (<i>Pogostemon calbin</i> Benth) pada Eksplan Daun dan Batang	34
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	37
B. Saran	38
 DAFTAR PUSTAKA.....	 39
LAMPIRAN.....	43
SURAT KETERANGAN PENELITIAN	
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Tanaman Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth)	5
2.	Rumus Bangun NAA (α - <i>Naphtaleneacetic acid</i>) ...	9
3.	Rumus Bangun BAP (<i>Benzil Amino Purin</i>)	11
4.	Inisiasi Kalus pada Eksplan Daun dan Inisiasi Tunas pada Eksplan Batang	25
5.	Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun Berbentuk Kompak Berwarna Putih Kehijauan dan Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Batang..	31
6.	Tunas yang Terbentuk pada Minggu Ke-5 pada Eksplan Daun pada Media N0B0,5 yang Terbentuk Kalus kemudian Tumbuh Tunas dan Tunas yang Terbentuk pada Minggu ke-5 pada Eksplan Batang pada Media N0,01B1 yang Terbentuk Secara Langsung Tumbuh Tunas.....	33

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Kombinasi Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP dalam Media MS Eksplan Daun	16
2.	Kombinasi Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP dalam Media MS Eksplan Batang	16
3.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata-rata Waktu Inisiasi Kalus Eksplan Daun	24
4.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata-rata Waktu Inisiasi Tunas Eksplan Batang	26
5.	Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun	27
6.	Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Batang	28
7.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata-rata Jumlah Tunas Eksplan Daun pada Konsetrasi NAA	32
8.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata-rata Jumlah Tunas Eksplan Batang	32

9.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata – rata Jumlah Akar Eksplan Daun pada Konsentrasi NAA	34
10.	Perhitungan <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) Rata-rata Jumlah Tunas Eksplan Batang	35

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Perhitungan Uji Anava Dua Arah Waktu Inisiasi Kalus Eksplan Daun dan Inisiasi Tunas Eksplan Batang	43
2.	Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun dan Batang	45
3.	Perhitungan Uji Anava Dua Arah Rata – rata Jumlah Tunas Eksplan Daun dan Jumlah Tunas Eksplan Batang	48
4.	Perhitungan Uji Anava Dua Arah Rata – rata Jumlah Akar Eksplan Daun dan Jumlah Akar Eksplan Batang	50
5.	Data Hasil Pengamatan Setiap Minggu Pada Eksplan Daun dan Eksplan Batang	52

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) merupakan tanaman perdu yang memiliki aroma wangi, berdaun halus dan berbatang segi empat. Daun kering tanaman ini disuling untuk mendapatkan minyak (*patchouli oil*) yang banyak digunakan dalam berbagai industri. Fungsi utama minyak nilam sebagai bahan baku pengikat (fiksatif) dari komponen kandungan utamanya, yaitu *patchouli alcohol* (PA, C₁₅H₂₆). Fungsi lainnya sebagai bahan eteris untuk parfum dan juga diperlukan dalam industri makanan, untuk aromaterapi serta berbagai kebutuhan industri lainnya.

Nilam merupakan tanaman atsiri yang cukup penting peranannya, baik sebagai sumber devisa negara, maupun sebagai sumber pendapatan petani. Ekspor minyak nilam mencapai 700–1.500 ton, dengan nilai devisa US\$ 14-30 juta. Laju peningkatan ekspor dalam 10 tahun terakhir mencapai 6% tiap tahun (Hobir, dkk., 1998). Indonesia saat ini merupakan produsen minyak terbesar di dunia dengan kontribusi 90%. Berdasarkan data BPEN (NAFED, 1993), di Indonesia terdapat 14 sentra produksi yang tersebar di empat propinsi. Daerah penghasil minyak nilam terbesar di Indonesia adalah DI Aceh, dengan kontribusi sekitar 50% terhadap produksi nasional (Denny S, *et, al.* 2006).

Nilam Aceh memiliki beberapa varietas, balai penelitian Balitro Bogor tahun 2005 telah melepas tiga varietas unggul nilam Aceh yaitu; varietas Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan (Nuryani, 2006a). Varietas Tapak Tuan, warna pangkal batangnya hijau dengan sedikit ungu, varietas Lhokseumawe lebih ungu dan varietas Sidikalang paling ungu (Nuryani, 2006b).

Namun bila tanaman ini dibudidayakan pada tempat yang berbeda fenotipe ketiga varietas tanaman nilam Aceh relatif susah dibedakan. Nilam varietas tapak tuan memiliki keunggulan dalam penghasil minyak astiri, sehingga perbanyakannya nilam jarang dilakukan dengan cara generatif karena tanaman nilam jarang bahkan tidak pernah berbunga. Keadaan seperti ini menyebabkan perbanyakan nilam lebih sering dilakukan secara vegetatif.

Perbanyakan vegetatif dapat dilakukan melalui stek batang atau cabang, dan stek pucuk. Perbanyakan vegetatif ini memiliki kelemahan, memerlukan tempat yang cukup luas, waktu yang relatif lama serta rentan terhadap hama dan penyakit. Disamping itu juga terbatasnya jumlah anakan yang di dapat dari hasil perbanyakan vegetatif. Oleh karena itu, diperlukan alternatif perbanyakan tanaman nilam yang lebih menjanjikan. Salah satu alternatif melalui teknik kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan adalah teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan yang dipelihara dalam suatu medium dan dikerjakan secara aseptik. Teknik kultur jaringan memiliki kelebihan, tidak memerlukan tempat yang luas, dapat menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya, memerlukan waktu yang relatif singkat. Perbanyakan secara kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya: media tanam, konsentrasi dan jenis zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan pada kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Auksin dan sitokinin yang digunakan adalah NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-benzyl Amino Purine*). NAA berfungsi untuk merangsang kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar dan tunas, mendorong proses embriogenesis, mempengaruhi kestabilan genetik

tanaman. Sedangkan BAP berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel, morfogenesis dan organogenesis, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung serta menghambat pembentukan akar.

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian multiplikasi tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) secara *in vitro* dengan menggunakan tanaman nilam var. tapak tuan. Diharapkan melalui penelitian ini akan diperoleh kombinasi zat pengatur tumbuh serta konsentrasi yang cocok untuk multiplikasi nilam var. tapak tuan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian konsentrasi NAA dan BAP berpengaruh terhadap perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro*.
2. Apakah kombinasi perlakuan NAA dan BAP berpengaruh terhadap perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro*.

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui konsentrasi NAA dan BAP yang tepat untuk perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh kombinasi perlakuan NAA dan BAP untuk perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro* .

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai teknik multiplikasi tanaman nilam secara *in vitro*.

BAB II
KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR,
DAN PERUMUSAN HIPOTESIS

A. KAJIAN PUSTAKA

1. Nilam

Tanaman nilam terdapat tiga jenis, yaitu nilam Aceh, nilam Jawa, nilam Lhokseumawe. Tanaman nilam adalah tanaman perdu wangi yang berakar serabut, Daunnya halus seperti beludru apabila diraba dengan tangan, bentuk daunnya agak membulat lonjong seperti jantung, warnanya merah agak pucat. Bagian bawah daun dan rantingnya berbulu halus. Batangnya berkayu dengan diameter 10-20 mm relatif hampir berbentuk segi empat. Sebagian besar daun yang melekat pada ranting hampir selalu berpasangan satu sama lain.



Gambar 1. Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) (Sumber Mangun. 2012)

Klasifikasi tanaman nilam adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Class : Dicotyledonaea
Ordo : Tubiflora
Familia : Labiatae
Genus : Pogostemon
Spesies : - *P. cablin* Benth

- *P. heyneatus* Benth

- *P. hortensis* Backer. (Rukmana, 2004)

Jumlah cabang yang banyak dan bertingkat mengelilingi batang sekitar 3-5 cabang per tingkat. Tanaman ini memiliki umur tumbuh yang cukup panjang, yaitu sekitar tiga tahun, panen perdana dapat dilakukan pada bulan ke 6-7 dan seterusnya setiap 2-3 bulan tergantung pemeliharaan dan pola tanam, kemudian dapat diremajakan kembali dari hasil tanaman melalui pesemaian atau pembibitan berupa stek (Mangun, 2002). Nilam Aceh memiliki beberapa varietas. Balitro Bogor tahun 2005 telah melepas tiga varietas unggul nilam Aceh yaitu; varietas Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan (Nuryani, 2006a).

Varietas Tapak Tuan, warna pangkal batangnya hijau dengan sedikit ungu, varietas Lhokseumawe lebih ungu dan varietas Sidikalang paling ungu (Nuryani, 2006b). Namun bila tanaman ini dibudidayakan pada tempat yang berbeda fenotipe ketiga varietas tanaman nilam Aceh relatif susah dibedakan. Ketiga varietas ini mempunyai keunggulan masing-masing. Tapak Tuan

memiliki keunggulan dalam produksi dan kadar patchouli alkohol dibandingkan varietas Lhokseumawe dan Sidikalang.

Lahan dan iklim sangat mempengaruhi produksi dan kualitas minyak nilam, terutama ketinggian tempat dan ketersediaan air. Nilam yang tumbuh di dataran rendah sampai sedang (0-700 mdpl) kadar minyaknya lebih tinggi dibandingkan nilam yang tumbuh di dataran tinggi (>700 mdpl). Nilam sangat peka terhadap kekeringan, kemarau panjang setelah panen dapat menyebabkan tanaman mati (Nuryani, 2007).

Tanaman nilam dapat tumbuh di berbagai jenis tanah (andosol, latosol, regosol, podsolik, dan grumusol) dengan tekstur lempung, liat berpasir dengan drainase yang baik dan pH tanah 5-7. Tanaman ini membutuhkan curah hujan atau ketersediaan air yang cukup dengan suhu 24-28°C. Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai curah hujan dan kelembaban yang cukup tinggi, oleh karena itu tanaman nilam dapat tumbuh baik. Penyebaran nilam di Indonesia terdapat di beberapa daerah yaitu NAD, Sumatra Barat, Sumatra Utara, Bengkulu, Jawa Tengah dan Jawa Barat (Diana dan Yulfi, 2011).

2. Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan atau organ tanaman yang dipelihara dalam suatu medium dan dikerjakan seluruhnya dalam keadaan aseptik. Potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Katuuk, 1989, Pierik, 1987). Menurut George dan Sherrington, Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* antara lain: faktor eksplan seperti ukuran, umur, sumber dan genotip eksplan, komponen medium dan lingkungan kultur ikut menentukan. Ukuran potongan yang terlalu kecil menyebabkan daya

tahan untuk hidup kurang baik dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya, eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit. Ukuran eksplan yang paling baik adalah antara 0,5-1 cm, tetapi ukuran ini dapat bervariasi tergantung bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan eksplan serta jenis tanaman (Katuuk, 1989).

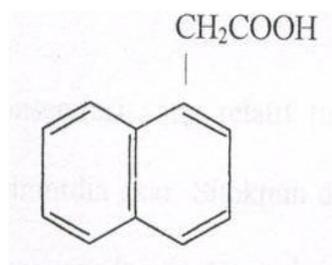
Faktor bahan tanaman yang bisa menentukan keberhasilan kultur jaringan antara lain genotipe tanaman, status fisiologi dan sumber eksplan (Pierik, 1987). Pada tanaman herba, eksplan diambil baik dari pucuk apikal maupun lateral. Bagian ini yang diambil jaringan meristematik namun sering kali digunakan mata tunas yang diharapkan akan berkembang membentuk daun dan batang sempurna. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas lateral atau terminal yang panjangnya kurang lebih 20 mm. Pengaruh dominansi apikal dapat dihilangkan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh (terutama sitokinin) kedalam medium. Sebagai hasilnya adalah tunas dengan jumlah cabang yang banyak (Wattimena, 1992).

3. Zat Pengatur Tumbuh

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur (Gunawan, 1988).

Auksin digunakan dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. konsentrasi auksin dalam eksplan, tergantung dari

bagian tanaman yang diambil dan jenis tanamannya. Auksin alami dikenal sebagai *Indole Acetic Acid (IAA)* sedangkan auksin sintetik terdiri dari NAA, IBA (*Indole-3-Butyric acid*), 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) (Gunawan, 1988). NAA memiliki kemampuan untuk menginduksi akar, kalus, dan tunas. NAA juga memiliki sifat yang lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan oleh tanaman atau pemanasan dalam proses sterilisasi medium (Sriyanti & wijayani, 1994).



Gambar 2. Rumus Bangun NAA (*α-Naphtaleneacetic acid*)

(George dan Sherrington, 1984)

Auksin membantu meningkatkan pertumbuhan akar dikarenakan dapat menginduksi sekresi ion H⁺ keluar melalui dinding sel, pengasaman dinding sel menyebabkan K⁺ diambil dan pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel. Akibatnya air masuk ke dalam sel juga mendorong enzim selulase memotong-motong ikatan selulosa pada dinding primer hingga dinding elastis dan sel membesar (Gunawan, 1988;) auksin juga digunakan untuk merangsang kalus, suspensi sel dan organ, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar dan tunas, mendorong proses embriogenesis, mempengaruhi kestabilan genetik tanaman. Jenis auksin sintetik yang digunakan dalam kultur jaringan, yaitu IAA (*Indole Acetic Acid*), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), NAA (*Naphtalene Acetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*), Dicamba (3,6-Dichloro

Anisic Acid), dan Picloram (*4-Amino-3,5,6,-Trichloro Picolinic Acid*) (Santoso dan Nursandi, 2004 dalam Sobardini, 2007).

Menurut George dan Sherington (1984), pada kultur jaringan, auksin berfungsi sebagai :

1. Menginduksi Kalus

Auksin yang ditambahkan pada media bernutrisi pada kultur jaringan dapat digunakan untuk induksi kalus yang berasal dari eksplan. Auksin yang banyak digunakan untuk menginisiasi pertanaman kalus adalah 2,4-D, tetapi sebagai sel dari kultur kalus yang dipertahankan oleh 2,4-D secara khusus dapat merubah variabilitas genetik.

2. Pembentukan Akar dan Tunas

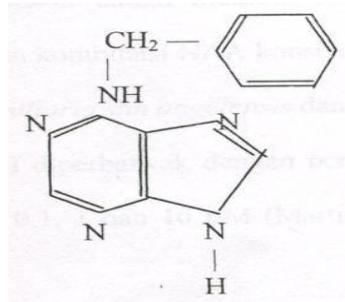
Dengan konsentrasi sitokinin yang tinggi daripada auksin dapat digunakan untuk induksi langsung tunas pada eksplan.

3. Embriogenesis

Proses dari embriogenesis somatik dapat diinisiasi pada media yang mengandung auksin dalam konsentrasi tinggi, tetapi embrio tidak dapat dibentuk hingga konsentrasi auksin dikurangi.

4. Kultur Organ

Auksin sebagian besar dibutuhkan untuk menghasilkan pertanaman meristem dan tunas pada eksplan. Konsentrasi yang terkadang digunakan rendah dari auksin berkonjugasi dengan konsentrasi sitokinin yang tinggi, khususnya pada multiplikasi tunas. Sitokinin yang sering digunakan di antaranya adalah BAP/BA (*6-Benzylamino purin/6-Benzyladenin*)



Gambar 3. Rumus Bangun BAP (*Benzil Amino Purin*)

(George dan Sherrington, 1984)

Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel. Sedang peran auksin adalah merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk dan menyebabkan pertumbuhan pucuk baru, serta merangsang pembentukan akar (Wetherell, 1982). Sitokinin bersama-sama dengan auksin akan memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan dalam kultur jaringan tanaman (Hendaryono, 1994).

B. Kerangka Berpikir

Nilam merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Nilam jarang dilakukan perbanyakan secara generatif karena nilam jarang bahkan tidak pernah berbunga, sehingga sering dilakukan perbanyakan secara vegetatif yaitu dengan stek batang dan stek pucuk. Tetapi perbanyakan secara vegetatif memerlukan lahan yang cukup luas dan waktu yang cukup lama. Oleh karena itu, perlu diupayakan perbanyakan dengan cara yang cepat. Salah satu alternatif untuk perbanyakan tanaman nilam ini dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan.

Melalui teknik kultur jaringan bisa didapatkan tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat dan tanaman yang dihasilkan seragam. Penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media kultur jaringan berfungsi untuk merangsang pertumbuhan tunas dan akar selanjutnya terjadi multiplikasi. Zat pengatur tumbuh yang akan ditambahkan ke dalam medium kultur jaringan adalah NAA dan BAP.

Diharapkan penelitian yang akan dilakukan ini dapat menghasilkan kombinasi dan konsentrasi NAA dan BAP yang cocok bagi multiplikasi nilam var. tapak tuan.

C. Perumusan Hipotesis

Hipotesis penelitian dirumuskan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro*.
2. Terdapat pengaruh kombinasi perlakuan NAA dan BAP terhadap perbanyakan tanaman nilam var. tapak tuan secara *in vitro*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tujuan Operasional Penelitian

Tujuan operasional dari penelitian ini adalah mendapatkan konsentrasi dan kombinasi NAA dan BAP yang terbaik untuk perbanyak tanaman nilam dengan melihat waktu inisiasi kalus, waktu inisiasi tunas, tekstur kalus, warna kalus, jumlah tunas dan jumlah akar.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta dan telah dilaksanakan pada bulan Maret-Juli 2013.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dan eksperimen. Variabel terikat yaitu hari pertama muncul kalus, tekstur kalus, warna kalus jumlah akar dan jumlah tunas. Variabel bebasnya adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP. Percobaan disusun dalam Rancangan Faktorial dengan 9 perlakuan, masing-masing 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi NAA dan faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang digunakan dalam penelitian untuk multiplikasi tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) var. Tapak tuan.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP dalam Media MS.eksplan Daun

BAP			
NAA	0	0,5	1
0	N_0B_0	$N_0B_{0,5}$	N_0B_1
0,01	$N_{0,01}B_0$	$N_{0,01}B_{0,5}$	$N_{0,01}B_1$
0,1	$N_{0,1}B_0$	$N_{0,1}B_{0,5}$	$N_{0,1}B_1$

Keterangan :

N_0B_0 = tanpa perlakuan (kontrol)

$N_0B_{0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 0,5ppm

N_0B_1 = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 1ppm

$N_{0,01}B_0$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0ppm

$N_{0,01}B_{0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0,5ppm

$N_{0,01}B_1$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 1ppm

$N_{0,1}B_0$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0ppm

$N_{0,1}B_{0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0,5ppm

$N_{0,1}B_1$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 1ppm

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP dalam Media MS eksolan Batang.

BAP			
NAA	0	0,5	1
0	N_0B_0	$N_0B_{0,5}$	N_0B_1
0,01	$N_{0,01}B_0$	$N_{0,01}B_{0,5}$	$N_{0,01}B_1$

0,1

N_{0.1}B₀N_{0.1}B_{0.5}N_{0.1}B₁

Keterangan :

N₀B₀ = tanpa perlakuan (kontrol)

N₀B_{0,5} = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 0,5ppm

N₀B₁ = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 1ppm

N_{0,01}B₀ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0ppm

N_{0,01}B_{0,5} = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0,5ppm

N_{0,01}B₁ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 1ppm

N_{0,1}B₀ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0ppm

N_{0,1}B_{0,5} = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0,5ppm

N_{0,1}B₁ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 1ppm

Setiap perlakuan, digunakan 3 kali pengulangan sehingga diperlukan 3 x 9 = 27 sampel eksplan daun dan 3 x 9 = 27 eksplan batang. Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 botol media dan tiap botol media ditanam 3 eksplan.

D. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *laminar air flow*, hot plate, pH meter, *magnetic-stirrer*, autoklaf, timbangan analitik, rak kultur, alat tanam (pinset, skapel, gunting) dan cawan petri.

Bahan yang digunakan adalah eksplan berupa daun, bagian yang di ambil dari daun adalah bagian tengah dengan potongan persegi dan batang terminal tanaman nilam (*Pogestemon cablin*) var. tapak tuan yang berasal dari BALITRO, media dasar MS (Murashige-Skoog), larutan stok NAA (0 ; 0,01 ; 0,1 ppm), larutan stok BAP (0 ; 0,5 ; 1 ppm), deterjen, alkohol 70%, clorox 30% dan aquades steril.

2. Cara Kerja

a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat meliputi pencucian alat tanam, cawan petri, dan botol kultur dengan detergent, kemudian dibilas dengan bersih. Setelah kering, alat-alat tersebut disterilisasi dengan menggunakan oven pada suhu 121°C selama 2 jam.

b. Sterilisasi Bahan Tanaman/Eksplan

Eksplan (daun dan batang) dicuci dengan deterjen kemudian dibilas dengan air mengalir. Kemudian eksplan direndam kembali dengan alkohol 70% selama 5 menit sambil dikocok, bilas dengan aquades steril. Setelah itu, direndam dengan clorox 30% selama 12 menit sambil dikocok, bilas dengan aquades. Terakhir eksplan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali dalam selang waktu 5 menit. Kegiatan ini dilakukan di dalam *Laminar air flow*.

c. Pembuatan Media

Media MS dibuat dengan mencampur masing-masing larutan stok hara makro, hara mikro, Fe, myo-inositol dan vitamin yang diambil menggunakan pipet dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer berukuran 1000 ml. Pada media dengan perlakuan NAA dan BAP ditambahkan NAA 1 ppm dan BAP 0,5 ppm. media ditambahkan gula 30 gram kemudian menambahkan aquadest dan dihomogenkan dengan menggunakan *motor plate* dan *magnetic stirrer* serta mengukur pH dengan menggunakan pH meter. pH untuk media MS adalah 5,8, jika pH kurang dari 5,8 maka ditambahkan NaOH sedangkan bila lebih dari 5,8 maka ditambahkan HCl. Setelah itu media ditambahkan dengan aquadest

sampai tepat 1000 ml kedalam Erlenmeyer yang ditambahkan agar 7 gr/l kemudian dimasak diatas kompor sambil diaduk sampai mendidih.

Tahap selanjutnya adalah menuang media MS tersebut kedalam botol kultur yang steril. Kemudian botol ditutup dengan plastik bening dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. selanjutnya botol kultur disimpan pada rak penyimpanan media.

d. Penanaman Eksplan

Eksplan yang digunakan merupakan jaringan meristem dari daun dan batang terminal nilam. Proses penanaman dilakukan secara aseptis dengan menggunakan alat steril. Bagian meristem (eksplan) yang telah dipotong tersebut diletakkan pada media kultur yang telah disiapkan. Setiap botol ditanami 3 eksplan. Selanjutnya botol-botol yang telah ditanami diletakkan dalam ruang kultur dengan suhu 25°C, dengan penerangan lampu. Dan dilakukan pengamatan terhadap tumbuhnya kalus pada eksplan daun selama 10 minggu. Parameter yang diamati berupa minggu pertama kalus terinduksi, warna kalus, dan struktur kalus.

E. Teknik Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan membandingkan media kontrol dengan media penambahan NAA dan BAP terhadap induksi kalus daun dan tunas pada batang. Parameter kualitatif yang diamati adalah hari pertama muncul kalus, struktur kalus, dan warna kalus diamati pada minggu ke-5, sedangkan parameter kuantitatif adalah jumlah tunas dan jumlah akar tiap minggunya selama 10 minggu.

F. Hipotesis Statistik

1. Hipotesis untuk waktu kalus terinduksi

$$H_0 : W\mu_{N_0B_0} = W\mu_{N_0B_0,5} = W\mu_{N_0B_1} = W\mu_{N_0,01B_0} = W\mu_{N_0,01B_0,5} = W\mu_{N_0,01B_1} = \\ W\mu_{N_0,1B_0} = W\mu_{N_0,1B_0,5} = W\mu_{N_0,1B_1}$$

$$H_1 : W\mu_{N_0B_0} \neq W\mu_{N_0B_0,5} \neq W\mu_{N_0B_1} \neq W\mu_{N_0,01B_0} \neq W\mu_{N_0,01B_0,5} \neq W\mu_{N_0,01B_1} \neq \\ W\mu_{N_0,1B_0} \neq W\mu_{N_0,1B_0,5} \neq W\mu_{N_0,1B_1}$$

2. Hipotesis untuk jumlah akar

$$H_0 : A\mu_{N_0B_0} = A\mu_{N_0B_0,5} = A\mu_{N_0B_1} = A\mu_{N_0,01B_0} = A\mu_{N_0,01B_0,5} = A\mu_{N_0,01B_1} = A\mu_{N_0,1B_0} = \\ A\mu_{N_0,1B_0,5} = A\mu_{N_0,1B_1}$$

$$H_1 : A\mu_{N_0B_0} \neq A\mu_{N_0B_0,5} \neq A\mu_{N_0B_1} \neq A\mu_{N_0,01B_0} \neq A\mu_{N_0,01B_0,5} \neq A\mu_{N_0,01B_1} \neq A\mu_{N_0,1B_0} \neq \\ A\mu_{N_0,1B_0,5} \neq A\mu_{N_0,1B_1}$$

3. Hipotesis untuk jumlah tunas

$$H_0 : T\mu_{N_0B_0} = T\mu_{N_0B_0,5} = T\mu_{N_0B_1} = T\mu_{N_0,01B_0} = T\mu_{N_0,01B_0,5} = T\mu_{N_0,01B_1} = T\mu_{N_0,1B_0} = \\ T\mu_{N_0,1B_0,5} = T\mu_{N_0,1B_1}$$

$$H_1 : T\mu_{N_0B_0} \neq T\mu_{N_0B_0,5} \neq T\mu_{N_0B_1} \neq T\mu_{N_0,01B_0} \neq T\mu_{N_0,01B_0,5} \neq T\mu_{N_0,01B_1} \neq T\mu_{N_0,1B_0} \neq \\ T\mu_{N_0,1B_0,5} \neq T\mu_{N_0,1B_1}$$

4. Hipotesis untuk lama hari muncul tunas

$$H_0 : MT\mu_{N_0B_0} = MT\mu_{N_0B_0,5} = MT\mu_{N_0B_1} = MT\mu_{N_0,01B_0} = MT\mu_{N_0,01B_0,5} = MT\mu_{N_0,01B_1} = \\ MT\mu_{N_0,1B_0} = MT\mu_{N_0,1B_0,5} = MT\mu_{N_0,1B_1}$$

$$H_1 : MT\mu_{N_0B_0} \neq MT\mu_{N_0B_0,5} \neq MT\mu_{N_0B_1} \neq MT\mu_{N_0,01B_0} \neq MT\mu_{N_0,01B_0,5} \neq MT\mu_{N_0,01B_1} \neq MT\mu_{N_0,1B_0} \neq \\ MT\mu_{N_0,1B_0,5} \neq MT\mu_{N_0,1B_1}$$

Keterangan :

N = jenis ZPT auksin

B = jenis ZPT sitokinin

μ = rata-rata parameter yang diukur

W = waktu kalus terinduksi

A = jumlah akar

T = jumlah tunas

MT = lama hari munculnya tunas

MA = inisiasi akar

μ_{N0B0} = tanpa perlakuan (kontrol)

$\mu_{N0B0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 0,5ppm

μ_{N0B1} = perlakuan MS+NAA 0ppm+BAP 1ppm

$\mu_{N0,01B0}$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0ppm

$\mu_{N0,01B0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 0,5ppm

$\mu_{N0,01B1}$ = perlakuan MS+NAA 0,01ppm+BAP 1ppm

$\mu_{N0,1B0}$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0ppm

$\mu_{N0,1B0,5}$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 0,5ppm

$\mu_{N0,1B1}$ = perlakuan MS+NAA 0,1ppm+BAP 1ppm

G. Teknik Analisis Data

Data kualitatif yang diamati meliputi induksi kalus, tekstur kalus dan warna kalus, data dianalisis secara deskriptif. Data kuantitatif yang diperoleh meliputi jumlah akar dan jumlah tunas akan diuji dengan menggunakan program statistika SPSS versi 16, diuji dengan menggunakan ANAVA dua arah $\alpha = 5\%$, bila nilai F sig dan diketahui terdapat pengaruh akan dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil dan Pembahasan Penelitian Respon Pertumbuhan Eksplan Daun dan Batang

A.1. Waktu Inisiasi Kalus pada Eksplan Daun

Hasil penelitian menunjukkan pada awalnya terjadi pembengkakan pada eksplan kemudian sayatan eksplan bergelombang (*swelling*) kemudian terbentuklah kalus. Pembentukan kalus dapat dilihat pada Gambar 4b. Kalus yang dihasilkan melalui kultur secara *in vitro* terbentuk karena adanya perlukaan pada jaringan dan respon terhadap hormon (ZPT). Munculnya kalus pada bagian yang terluka diduga karena adanya rangsangan dari jaringan pada eksplan untuk menutupi lukanya. Hal ini sesuai dengan pernyataan George & Sherrington (1984) mengemukakan bahwa pembelahan sel yang mengarah pada terbentuknya kalus terjadi dari adanya respon terhadap luka dan suplai hormon alamiah atau buatan dari luar ke dalam eksplan.

Hasil inisiasi kalus pada eksplan daun melalui uji statistik dengan menggunakan program SPSS versi 16. Dapat dilihat pada Lampiran 1. Dengan uji Anava Dua Arah menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan NAA dan BAP terdapat perbedaan nyata dengan nilai $F_{tabel} sig = 10.404 > 5.32$, maka tolak H_0 . Berarti terdapat pengaruh pada perlakuan NAA dan BAP terhadap rata-rata waktu inisiasi kalus eksplan daun. Karena terdapat pengaruh pada eksplan daun selanjutnya perhitungan di uji dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) yang terdapat pada Tabel 6.

Tabel .3. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Induksi Kalus pada Eksplan Daun

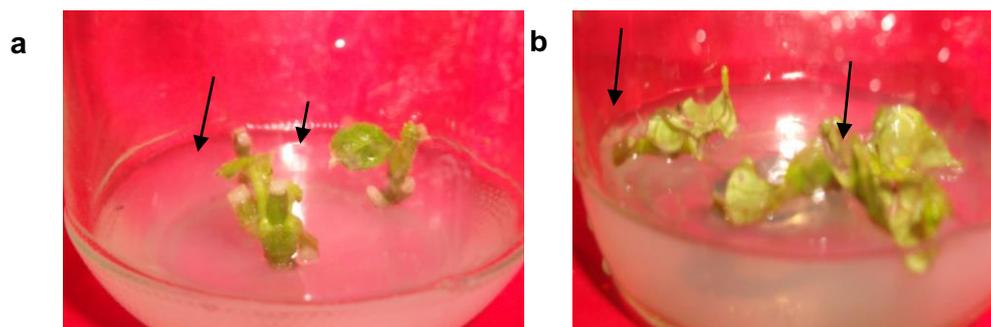
NAA	BAP		
	0	0,5	1
0	20.3 a	20.7 a	18.3 ab
0,01	18 ab	18.3 ab	20.3 a
0,1	21 a	20.7 a	17.7 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

Pada Tabel 3, menunjukkan bahwa perlakuan NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0.1 ppm + BAP 0.5 ppm, BAP 0.5 ppm tanpa NAA dan NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm mampu menginduksi kalus tercepat yaitu pada hari ke 20. Hal ini mengakibatkan proses fisiologis dalam eksplan dapat berlangsung efektif dalam memacu awal pemunculan kalus. terbukti pada penelitian syahid dan kristina 2007 pada induksi kalus dari eksplan daun keladi tikus (*Typonium flagelliforme*. Lodd.) yang ditanam pada media MS dengan penambahan BAP 0,3 ppm dan NAA 1 ppm, waktu inisiasi kalus terjadi pada minggu ke delapan setelah penanaman. NAA lebih berperan aktif dalam pembentukan kalus dibandingkan dengan BAP.

Induksi kalus terlama diperoleh pada perlakuan NAA 0.1 ppm dan BAP 1 ppm yaitu pada hari ke 17.7. penginduksian kalus yang cukup lama ini dimungkinkan, karena penambahan konsentrasi BAP pada media kurang berpengaruh dalam memacu waktu inisiasi kalus, sehingga waktu inisiasi kalus berlangsung lambat. Hal ini diduga karena kombinasi konsentrasi ZPT yang diberikan pada eksplan tidak tepat

dalam menginduksi kalus, sehingga menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan. Terhambatnya pembentukan kalus dikarenakan hormon endogen dan eksogen yang terdapat pada eksplan tidak dapat merangsang pertumbuhan kalus dengan cepat.



Gambar 4. a) Induksi tunas pada eksplan batang, b) Induksi kalus pada eksplan daun.

A.2. Waktu Inisiasi Tunas pada Eksplan Batang

Hasil inisiasi tunas pada eksplan batang melalui uji statistik dengan menggunakan program SPSS versi 16. Dapat dilihat pada lampiran 1. Dengan uji Anava Dua Arah menunjukkan bahwa perlakuan NAA terdapat perbedaan nyata yang berarti nilai $\text{sig} = 10.958 > 5.32$, maka tolak H_0 . Sedangkan perlakuan BAP juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata nilai $\text{sig}=13.307 > 5.32$, maka tolak H_0 . Berarti terdapat pengaruh pada perlakuan NAA dan perlakuan BAP terhadap rata-rata waktu inisiasi tunas eksplan batang. Karena terdapat pengaruh pada eksplan batang selanjutnya perhitungan dilanjutkan dengan uji beda dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) hasil uji beda dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil inisiasi tunas pada eksplan batang terjadi secara organogenesis. Proses organogenesis pada batang terjadi dengan dua cara yang berbeda yaitu secara langsung dan tidak langsung. secara langsung pada eksplan batang tumbuh tanpa pembentukan kalus terlebih dulu dan langsung tumbuh tunas di ketiak batang. Tunas

yang tumbuh dapat dilihat pada Gambar 4a sedangkan secara tidak langsung eksplan batang tumbuh dengan terbentuknya kalus terlebih dahulu. Induksi kalus dapat dilihat pada Gambar 4b.

Tabel .4. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Induksi Tunas pada Eksplan Batang

NAA	BAP		
	0	0,5	1
0	28 a	22.3 ab	23 b
0,01	21 b	20.3 c	20.7 c
0,1	27.7 a	20.7 c	21 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

Pada Tabel 4, menunjukkan bahwa perlakuan tanpa NAA dan BAP (kontrol), NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0 ppm + BAP 0.5 mampu menginduksi tunas tercepat yaitu pada hari 28. Sementara induksi kalus terlama diperoleh pada perlakuan NAA 0.01 ppm dan BAP 0.5 ppm yaitu 20.3. Hal ini diduga karena kombinasi konsentrasi ZPT yang diberikan pada eksplan tidak tepat dalam menginduksi tunas, sehingga menghambat pertumbuhan tunas pada eksplan.

B. Peranan NAA dan BAP Terhadap Kualitas Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun dan Batang

Pada hasil pengamatan tekstur dan warna kalus yang tampak yaitu kalus remah dan kompak dengan warna putih, putih kehijauan dan hijau. Berdasarkan Tabel 8, tekstur kalus yang didapatkan yaitu kalus remah dan kalus kompak. Kalus remah didapatkan pada perlakuan dengan NAA tunggal dan berwarna putih bening karena terdapat pengaruh komposisi medium dan zat pengatur tumbuh.

Tabel 5. Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun

Minggu ke-	Struktur Kalus			Warna Kalus		
	Remah	Kompak	Putih	Putih Kehijauan	Hijau	Cokelat
6	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5}	N ₀ B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.1} B ₀ , N _{0.1} B ₁	-	N ₀ B ₀ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.1} B ₀	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5} , N _{0.1} B ₁	-
7	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5}	N ₀ B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.1} B ₀ , N _{0.1} B ₁	N ₀ B ₀ , N _{0.1} B ₀	N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B _{0.5}	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5} , N _{0.1} B ₁	-
8	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5}	N ₀ B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.1} B ₀ , N _{0.1} B ₁	N ₀ B ₀ , N _{0.1} B ₀	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5} , N _{0.1} B ₁	-	-
9	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B ₁ , N _{0.1} B _{0.5}	N ₀ B ₀ , N _{0.01} B _{0.5} , N _{0.1} B ₀ , N _{0.1} B ₁	N ₀ B ₀ , N _{0.1} B ₀	N ₀ B _{0.5} , N ₀ B ₁ , N _{0.01} B ₀ , N _{0.01} B ₁	-	N ₀ B ₁ , N _{0.1} B ₁

			$N_{0.01}B_{0.5}$	$N_{0.1}B_{0.5}$		
				$N_{0.1}B_1$		
10	$N_0B_{0.5}, N_0B_1,$ $N_{0.01}B_0,$ $N_{0.01}B_1,$ $N_{0.1}B_{0.5}$	$N_0B_0,$ $N_{0.01}B_{0.5},$ $N_{0.1}B_0,$ $N_{0.1}B_1$	$N_0B_0,$ $N_{0.01}B_0,$ $N_{0.1}B_0,$ $N_{0.1}B_{0.5}$ $N_{0.1}B_1$	$N_0B_{0.5}, N_0B_1,$ $N_{0.01}B_1,$ $N_{0.01}B_{0.5}$	-	$N_0B_1,$ $N_{0.1}B_1$

Keterangan : warna merah menandakan bahwa terdapat perubahan warna pada kalus

Tabel 6. Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Batang

Minggu ke-	Struktur Kalus				Warna Kalus	
	Remah	Kompak	Hijau	Putih	Putih Kehijauan	Cokelat
6	$N_0B_{0.5},$ $N_{0.1}B_1$	-	$N_0B_0,$ $N_{0.1}B_1$	-	-	-
7	$N_0B_{0.5},$ $N_{0.1}B_1$	-	-	-	$N_0B_0,$ $N_{0.1}B_1$	-
8	$N_0B_{0.5},$ $N_{0.1}B_1$	-	-	$N_0B_0,$ $N_{0.1}B_1$	-	-
9	$N_0B_{0.5},$ $N_{0.1}B_1$	-	-	$N_0B_0,$ $N_{0.1}B_1$	-	-
10	$N_0B_{0.5},$ $N_{0.1}B_1$	-	-	$N_0B_0,$ $N_{0.1}B_1$	-	-

Keterangan : warna merah menandakan bahwa terdapat perubahan warna pada kalus

Kalus remah ini terjadi melalui proses pertumbuhan yang mengarah pada pembentukan sel-sel yang berukuran kecil dan berikatan longgar. Dalam hal ini, auksin memiliki peran terhadap pembentukan kalus remah. NAA menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel menjadi longgar, sehingga air dapat masuk ke dalam dinding sel dengan cara

osmosis dan sel mengalami pemanjangan. Oleh karena itu, kalus yang remah mengandung banyak air karena belum mengalami lignifikasi dinding sel, serta antara kumpulan sel yang satu dengan yang lain relatif mudah untuk dipisahkan.

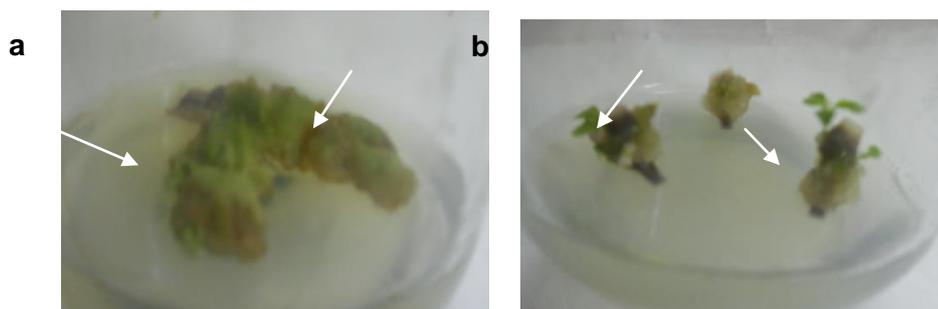
Pada perlakuan eksplan pada media dengan penambahan BAP mempunyai tekstur yang lebih kompak dan dominan berwarna putih kehijauan. Menurut (Amin, *et al*, 2007), Kalus dikatakan kompak apabila antara sel atau kumpulan sel yang lain tidak mudah dipisahkan dan bertekstur keras (Evans, *et al.*, 2003). Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Auksin akan melonggarkan serat-serat dinding sel, sehingga dinding sel lebih fleksibel dan nutrisi yang terkandung dalam medium akan masuk secara difusi. Hal ini akan terus berlangsung sampai potensial air dan potensial osmotik seimbang dan sel menjadi turgid. Sel turgid dengan adanya penambahan sitokinin akan mempengaruhi pembelahan dan pemanjangan sel sehingga pembentukan dinding sel semakin cepat dan kalus menjadi kompak. Selain perubahan tekstur, zat pengatur tumbuh juga berpengaruh terhadap perubahan warna. Warna kalus yang terbentuk diantaranya warna putih, putih kehijauan, dan hijau.

Berdasarkan data pada Tabel 5 dan 6, warna yang mendominasi kalus yaitu warna putih. Kalus berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang merupakan polisakarida simpanan pada tumbuhan. Faktor pencahayaan juga berperan dalam pembentukan kalus. Perubahan warna yang terjadi pada kalus akibat adanya pigmen dan dipengaruhi oleh nutrisi dan faktor lingkungan seperti cahaya (Evans, *et al.*, 2003). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan George & Sherrington (1993), bahwa

cahaya putih dapat merangsang pembentukan kalus dan organogenesis dalam kultur jaringan tumbuhan.

Kalus yang berwarna putih kehijauan dan hijau terbentuk pada perlakuan dengan penambahan BAP dengan konsentrasi tinggi. Warna hijau ini disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi NAA dan BAP, terutama BAP (sitokinin) yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Leupin (2000) bahwa perubahan warna kalus menjadi putih kehijauan, disebabkan karena sel kalus sudah mulai terbentuk klorofil.

Data pada Tabel 5, kalus yang terbentuk paling baik pada eksplan daun terdapat pada perlakuan NAA dengan penambahan 0.01 ppm tanpa BAP dan perlakuan tanpa NAA dengan penambahan BAP 0,5 ppm sedangkan pada eksplan batang yang terbentuk kalus paling baik pada perlakuan tanpa NAA dan BAP dan perlakuan NAA 0.1 ppm tanpa BAP (Tabel 6). Pada eksplan batang hanya dua perlakuan yang terbentuk kalus terlebih dulu sedangkan perlakuan yang lain terbentuk tunas secara langsung.



Gambar 5. (a) Kalus yang terbentuk pada eksplan daun, berbentuk kompak berwarna putih kehijauan dan (b) kalus yang terbentuk pada eksplan batang, kalus yang terbentuk remah berwarna putih dan muncul tunas.

C. Jumlah Tunas Yang Berasal dari Eksplan Daun dan Batang

Hasil jumlah tunas pada eksplan daun dan batang melalui uji statistik dengan menggunakan program SPSS versi 16. Hasil uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 1. Dari hasil uji anava dua arah pada jumlah tunas eksplan daun menunjukkan bahwa $\text{sig} = 10.635 > 5.32$, maka tolak H_0 . Berarti berpengaruh terhadap jumlah tunas pada eksplan daun sedangkan jumlah tunas pada eksplan batang menunjukkan bahwa $\text{sig} = 5.895 > 5.32$, maka tolak H_0 (Lihat lampiran halaman 42). Berarti Zat pengatur tumbuh NAA dan BAP berpengaruh terhadap jumlah tunas pada eksplan batang kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan.

Tabel 7. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Jumlah Tunas Eksplan Daun pada Konsentrasi NAA

NAA 0	NAA 0.01	NAA 0.1
18.8 a	14.3 ab	7.1 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

Pada Tabel 7, menunjukkan bahwa perlakuan yang berpengaruh terhadap rata-rata jumlah tunas pada eksplan daun hanya konsentrasi NAA saja yang berpengaruh. Konsentrasi NAA yang terbanyak pada konsentrasi NAA 0 ppm dan NAA 0.01 dengan jumlah 18.8. NAA memiliki kemampuan untuk menginduksi kalus, dan tunas. NAA juga memiliki sifat yang lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh

enzim yang dikeluarkan oleh tanaman atau pemanasan dalam proses sterilisasi medium (Gamborg & Wetter, 1975 dalam Sriyanti & wijayani, 1994).

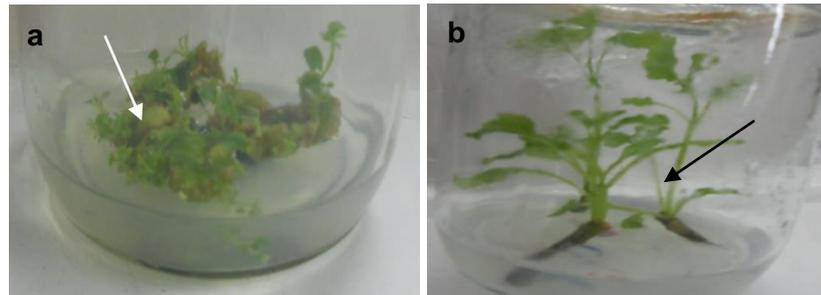
Tabel 8. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Jumlah Tunas pada Eksplan Batang.

NAA	BAP		
	0	0,5	1
0	12.3 c	21 ab	14.3 bc
0,01	16 bc	13.3 bc	28 a
0,1	15 bc	14.7 bc	13 bc

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata menurut uji berganda Duncan pada taraf 5%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari tabel uji lanjut Duncan terhadap jumlah tunas pada perlakuan NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm dan NAA 0 ppm + BAP 0.5 ppm menunjukkan hasil paling tinggi jumlah tunas pada eksplan batang. Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi auksin akan memacu multiplikasi tunas. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Klaus dan Haensch (2007), bahwa kombinasi 0 ppm 2,4-D dengan 4 ppm BAP menyebabkan regenerasi tunas. Hal ini jelas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sitokinin yaitu BAP yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase pembentukan tunas yang dihasilkan setiap minggunya sampai 10 minggu pengamatan. Terbukti menurut Denny sobardini dkk pada hasil penelitiannya bahwa

konsentrasi NAA 0.01 mg/L dengan penambahan BAP 1 mg/L dapat menghasilkan jumlah tunas tertinggi mencapai 61 buah tunas.



Gambar 6. (a). Tunas yang terbentuk pada minggu ke-5 pada eksplan daun pada media N0B0.5 yang terbentuk kalus kemudian tumbuh tunas (b). tunas yang terbentuk pada minggu ke-5 pada eksplan batang pada media N0.01B1 yang terbentuk secara langsung tumbuh tunas.

Menurut Zainal Abidin (1990), apabila dalam perbandingan konsentrasi sitokinin yang lebih besar daripada auksin, maka akan memperlihatkan stimulasi pertumbuhan tunas dan daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Davies (1987) dalam Husni *et al.* (1994) yang menyatakan bahwa aktivasi BAP lebih kuat dibandingkan NAA karena BAP mengandung gugus benzyl sehingga lebih dapat merangsang inisiasi dan pertumbuhan tunas baru melalui peningkatan pembelahan sel dibandingkan NAA. Selain itu, penambahan sitokinin BAP ke dalam media kultur dapat menstimulasi sintesis protein di dalam jaringan tanaman, sehingga mampu mendorong organogenesis kultur tunas *in vitro* (Salisbury & Ross, 1995). George dan Sherrington (1984) juga menyatakan bahwa BAP merupakan sitokinin yang banyak berperan dalam pembentukan dan pengggandaan tunas dan pengaruhnya lebih kuat dibandingkan sitokinin lainnya seperti kinetin ataupun 2-iP.

D. Jumlah Akar yang Berasal dari Eksplan Daun dan Batang

Dari hasil uji anava dua arah menunjukkan bahwa pada eksplan daun terdapat pengaruh terhadap konsentrasi NAA yaitu $\text{sig} = 24.010 > 5.32$, maka tolak H_0 (Lihat lampiran halaman 46). Sedangkan pada eksplan batang menunjukkan adanya interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP yaitu $\text{sig} = 39.589 < 5.32$, maka tolak H_0 (Lihat lampiran halaman 46). Jika ada interaksi antara NAA dan BAP maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

Tabel 9. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Jumlah akar Eksplan Daun pada Konsentrasi NAA

NAA 0	NAA 0.01	NAA 0.1
3.7 b	9 a	3.5 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Tabel 10. Perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) Rata-rata Jumlah akar pada Eksplan Batang

NAA	BAP		
	0	0,5	1
0	3.3 c	4.3 c	3.3 c
0,01	6 c	17 ab	6 c
0,1	20 a	14 b	5 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada garis yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari tabel uji lanjut Duncan terhadap jumlah akar menunjukkan bahwa perlakuan NAA 0.01 ppm menunjukkan hasil yang paling tinggi pada eksplan daun sedangkan pada perlakuan NAA 0.1 ppm + BAP 0 ppm dan NAA 0.01 ppm + BAP 0.5 ppm menunjukkan hasil paling tinggi pada eksplan batang.

Akar-akar yang terbentuk sedikit, namun tidak semua kombinasi dalam perlakuan ini tumbuh akar dengan banyak,. Hal ini berarti terdapat faktor inhibitor dengan adanya penambahan BAP. BAP disini cenderung memicu pembentukan tunas dan menghambat pembentukan akar. Lee *et al*, (2002) menyatakan bahwa keberadaan sitokinin juga menghambat kerja auksin dalam hal pemanjangan sel pada hipokotil. Son *et al* (2004) juga menyatakan bahwa respon transport auksin dihambat oleh penambahan sitokinin dalam hal pemanjangan akar pada daerah meristem apikal akar.

Menurut Khrisnamoorthy (1981) dan Wattimena (1990), pemberian auksin pada konsentrasi yang tinggi akan menghambat pertumbuhan akar dan tunas. Pemberian auksin pada konsentrasi terlalu tinggi dapat memacu produksi hormon etilen yang merupakan hormon penghambat pertumbuhan akar, daun dan bunga tergantung pada speciesnya. Respon auksin berhubungan dengan konsentrasinya. Konsentrasi yang tinggi bersifat menghambat pertumbuhan tunas (Gardner, dkk., 1991).

BAB V

KESIMPULAN, IMPLIKASI, DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. NAA dan BAP dapat menginduksi kalus pada konsentrasi adalah tanpa NAA dan BAP (kontrol), NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0 ppm + BAP 0.5 pada eksplan batang dan konsentrasi NAA 0.1 ppm tanpa BAP, NAA 0.1 ppm + BAP 0.5 ppm, BAP 0.5 ppm tanpa NAA dan NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm pada eksplan daun.
2. Kombinasi NAA dan BAP dalam media berpengaruh pada pertumbuhan tunas eksplan daun pada konsentrasi NAA 0 ppm dan NAA 0.01 menghasilkan jumlah tunas terbanyak, sedangkan pada eksplan batang dengan konsentrasi NAA 0.01 ppm + BAP 1 ppm dan NAA 0 ppm + BAP 0.5 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak.
3. Kombinasi NAA dan BAP dalam media berpengaruh terhadap pertumbuhan akar eksplan daun pada konsentrasi NAA 0.01 ppm menghasilkan jumlah akar terbanyak ,sedangkan pada eksplan batang pada konsentrasi NAA 0.1 ppm + BAP 0 ppm dan NAA 0.01 ppm + BAP 0.5 ppm menghasilkan jumlah akar terbanyak.

B. IMPLIKASI

37

Perlu pengkajian ulang dalam pemberian Zat Pengatur Tumbuh bagi penelitian selanjutnya untuk tanaman nilam dengan ZPT yang digunakan sudah cocok atau belum terhadap penggunaan ZPT yang dilakukan

C. SARAN

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk kombinasi NAA dan BAP yang tepat untuk memperbanyak tanaman nilam.

DAFTAR PUSTAKA

- Avianingtyas. 2010. *Pengaruh Jenis Dan Konsentrasi Auksin Terhadap Induksi Kalus Jambu Mete (Anacardium occidentale L) Secara IN Vitro*. Tidak dipublikasikan : 55 hlm
- Denny S. Erni, S dan Murgayanti. 2006. *Perbanyakan cepat tanaman nilam (pogostemon cablin Benth) secara kultur jaringan*. UNPAD : 28 hlm
- Diana dan Yulfi, Zetra. 2011. *Minyak Astiri dari Tanaman Nilam (Pogostemon cablin Benth.) Melalui Metode Fermentasi Dan Hidrodistilasi Serta Uji Bioaktivitasnya*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Evans, D.A., W.R. Sharp, P.V. Ammirato.. 1986.. *Handbook of plant cell culture: techniques and applications Vol. I*. Macmillan Publishing Company. New York.
- Fitria, Hikmah. 2008. *Kajian Konsentrasi BAP Dan NAA Terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia annua L*. Surakarta : 61 hlm.
- Gardner, G.J., R.B. Pearce and R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya (Terjemahan Herawati Susilo)*. UI. Press. Jakarta.
- Gunawan, L. W., 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- George, E.F. dan P.O. Sherrington. 1984. *Plant Propagation By Tissue Culture. Hand and Directory of Commercial Laboratories*. Exergetics Ltd. England : 706 hlm
- Hasanah, F.N, dan Nintya S. 2007. *Pembentukan Akar pada Stek Batang Nilam (Pogestemon cablin Benth) setelah direndam IBA (Indol Butyric Acid) pada Konsentrasi Berbeda*. Buletin Anatomi
- Hobir, Syukur C. dan Nuryani Y. 1998. *Status Pemuliaan Tanaman Nilam (Pogostemon Cablin Benth)*. *Perkemb Teknol Tan Remp Obat* 15(2): 57-67.

- Katuuk. J.R.P. 1989. *Teknik Kultur faringan Dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Departemen P dan K..
- Khrisnamoorthy, H.N. 1981. Plant growth substances. Including application in agriculture. New Delhi. Tata Mc. Graw-hill. Publishing Company. 1981
- Klaus dan T. Haensch. 2007. Influence of 2,4-D and BAP on callus growth and the subsequent regeneration of somatic embryos in long-term cultures of *Pelargonium x domesticum* cv. Madame Loyal. *Electronic Journal of Biotechnology* 10(1): 69-77.
- Lee, Dong Ju, Sung Soo Kim, Soung Soo Kim. 2002. The Regulation Of Korean Radish Cationic Peroxidase Promoter By a Low Ratio of Cytokinin To Auxin. *Plant Science* 162 (2002) 345–353.
- Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. Penerbit Akademia, Bogor : 60 hlm
- Leupin, Ruth E., Leupin Marianne, Charles Ehret, Karl H. Erismann, And Witholt Bernard. 2000. Compact Callus Induction And Plant Regeneration Of A Non-Flowering Vetiver From Java. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture* 62: 115–123. Switzerland.
- Mangun, H. M, Herdi Waluyo dan Agus P. S. 2012. *Nilam*. Penebar Swadaya. Jakarta : 108 hlm
- Mariska, I dan Endang. G. L. 2003. *Pemanfaatan Kultur In Vitro Untuk Meningkatkan Keragaman Genetika Tanaman Nilam*. Jurnal Litbang Pertanian : 22 hlm
- Nuryani Y, Emmyzar, Wahyudi A. 2007. *Teknologi Unggulan Nilam*. Bogor: Puslitbang Perkebunan.
- Nuryani, Y. 2006a. *Budidaya Tanaman Nilam (Pogostemon Cablin Benth)*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.

- Nuryani, Y. 2006b. *Karakteristik Empat Aksesori Nilam*. Buletin Plasma Nutfah. 12u(2): 45-49
- Pardal, S.J. 2002. *Perkembangan Penelitian Regenerasi dan Transformasi Tanaman Kedelai*. Buletin AgroBiogen 5:37-44
- Pierik, L.R.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Dordrecht Netherlands: Martmus NiJ'hoff Publisher.
- Rukmana, Rahmat. 2004. *Prospek Agribisnis dan Budidaya Nilam*. Kanisius. Yogyakarta.
- Salisbury FB, Ross CW. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Diah RL, Sumaryono, penerjemah. Jilid ke-1 & 3. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Plant Physiology*.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Srilestari, R. 2005. *Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah Pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa*. Ilmu Pertanian 12(1) : 43-45
- Sriyanti Hendaryono dan Ari Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Sobardini, D. Erni, S. dan Murgayanti. 2006. *Perbanyakan Cepat Tanaman Nilam (Pogestemon cablin Benth) Secara Kultur Jaringan*. Universitas Padjadjaran : 25 hlm
- Soeryowinoto, M. 1985. *Budidaya Jaringan dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Son, Ora, Hee-Yeon Choa, Kim Mi-Ran. 2004. Induction of a Homeodomain–Leucine Zipper Gene By Auxin Is Inhibited By Cytokinin In Arabidopsis Roots.

Biochemical and Biophysical Research Communications 326 (2005) 203–209.
Korea.

Street, H.E. 1976. *Tissue Culture and Plant Science*, Second Edition. London: Academic Press Inc.

Sugiharto, Bowo. Triastuti, Rahayu. dan Mukhiissul, Faatih. 2007. *Propagasi Tanaman Nilam (Pogostemon cablin Benth.) Secara In Vitro Dengan Kombinasi Sitokinin dan Auksin 2,4 D*. MIPA, Vol.17, No. 1, Januari 2007: 39 – 47

Wattimena, G. A. 1992. *Diktat Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor : 145 hlm

Wattimena, G.A. 1990. Penggunaan pengatur tumbuh – tumbuhan pada perbanyakan propagula tanaman. *Dalam* Prosiding Seminar Nasional Agrokimia. Himagro Faperta. UNPAD. Hal. 18-36.

Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secaa In Vitro*. diterjemahkan oleh Koensoemardiyah. Wayne New Jersey: Avery Publishing Group Inc.

Yuni, L.S. 2007. *Pengaruh Auksin (2,4-D) Dan Sitokinin (BAP) Dalam Kultur In Vitro Buah Makasar (Brucea Javanica[L] Merr)*. IPB. 56 hlm.

Zia, Muhammad, Riaz-ur-Rehman, and Chaudhary Muhammad Fayyaz. 2007.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Angkasa. Jakarta : 249 hlm

Lampiran 1. Perhitungan Uji Anava Dua Arah Induksi Kalus pada Eksplan Daun dan Induksi Tunas pada Eksplan Batang

Tabel 1.1. Hasil Perhitungan Induksi Kalus dengan Uji Anava 2 Arah pada Eksplan Daun

jumlah keragaman	DK	JK	RJK	Fhitung	F _{tabel} 5%
KONSENTRASINAA	2	3.573	1.787	3.063	5.32
KONSENTRASIBAP	2	5.162	2.581	4.425	
KONSENTRASINAA * KONSENTRASIBAP	4	31.275	7.819	13.404**	
error	18	10.500	.583		
total	27	10298.000			

keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA dan BAP terhadap rata-rata waktu induksi kalus daun nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 13.404 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Tabel 2.2. Hasil Perhitungan Hari Munculnya Tunas dengan Uji Anava 2 Arah pada Eksplan Batang.

Sumber keragaman	DK	JK	RJK	Fhitung	F _{tabel} 5%
KONSENTRASINAA	2	64.227	32.113	10.958**	5.32
KONSENTRASIBAP	2	77.996	38.998	13.307**	
KONSENTRASINAA * KONSENTRASIBAP	4	28.259	7.065	2.411	
error	18	52.750	2.931		
total	27	14190.000			

Keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA terhadap rata-rata waktu induksi tunas batang nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 10.958 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Pengaruh perlakuan konsentrasi BAP terhadap rata-rata waktu induksi tunas batang nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 13.307 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Sedangkan pengaruh pada kedua konsentrasi NAA dan BAP terhadap rata-rata waktu inisiasi tunas batang nilam didapat $F_{\text{hit}} < F_{\text{tab } 5\%} = 2.411 > 5.32$; maka terima H_0 artinya tidak terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji

Lampiran 2. Deskripsi Struktur dan Warna Kalus yang Terbentuk pada Eksplan Daun dan Batang

Tabel 2.1. Deskripsi Struktur dan Warna Kalus Pada Eksplan Daun dan Batang

Minggu ke-	Media	Deskripsi		
		Daun	Batang	Kontaminasi
6	N0B0	Kalus kompak. Berwarna putih kehijauan.	Kalus remah, berwarna hijau	
	N0B,5	Kalus remah, berwarna hijau	-	
	N0B1	Kalus remah, berwarna hijau	-	
	N0,01B0	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	-
	N0,01B0,5	Kalus kompak, berwarna putih kehijauan	-	-
	N0,01B1	Kalus remah, berwarna putih	-	-
	N0,1B0	Kalus kompak, berwarna putih kehijauan	-	
	N0,1B0,5	Kalus remah, berwarna hijau	-	
	N0,1B1	Kalus kompak warna hijau	Kalus remah, berwarna hijau	
7	N0B0	Kalus kompak. Berwarna putih	Kalus remah , berwarna putih kehijauan	
	N0B0.5	Kalus remah, berwarna hijau	-	

	N0B1	Kalus remah, berwarna hijau	-
	N0,01B0	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B0.5	Kalus kompak, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B1	Kalus remah, berwarna hijau	-
	N0,1B0	Kalus kompak, berwarna putih	-
	N0,1B0.5	Kalus remah, berwarna hijau	-
	N0.1B1	Kalus kompak warna hijau	Kalus remah, berwana putih kehijauan
8	N0B0	Kalus kompak. Berwarna putih	Kalus remah,berwarna putih
	N0B0.5	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0B1	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B0	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B0.5	Kalus kompak, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B1	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,1B0	Kalus kompak, berwarna putih	-
	N0,1B0.5	Kalus remah, berwarna putih	-

kehijauan				
	N0.1B1	Kalus kompak warna putih kehijauan	Kalus remah,berwarna putih	
9	N0B0	Kalus kompak. Berwarna putih	Kalus remah,berwarna putih	Eksplan daun terkontaminasi jamur
	N0B0.5	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	Eksplan batang tunas terkontaminasi jamur
	N0B1	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	Eksplan batang tunas terkontaminasi bakteri
	N0,01B0	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	-
	N0,01B0.5	Kalus kompak, berwarna putih	-	--
	N0,01B1	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	-
	N0,1B0	Kalus remah, berwarna putih	-	-
	N0,1B0.5	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-	-
	N0.1B1	Kalus kompak warna putih kehijauan	Kalus remah,berwarna putih	

10	N0B0	Kalus kompak. Berwarna putih	Kalus remah,berwarna putih
	N0B0.5	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0B1	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B0	Kalus remah, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B0.5	Kalus kompak, berwarna putih kehijauan	-
	N0,01B1	Kalus remah, berwarna putih	-
	N0,1B0	Kalus remah, berwarna putih	-
	N0,1B0.5	Kalus remah, berwarna putih	-
	N0.1B1	Kalus kompak warna putih	Kalus remah,berwarna putih

Lampiran 3. Perhitungan Uji Anava Dua Arah pada Jumlah Tunas Eksplan Daun dan Batang

Tabel 3.1. Hasil Perhitungan Jumlah Tunas dengan Uji Anava 2 arah pada Eksplan Daun Minggu ke-10.

Sumber keragaman	DK	JK	RJK	F hitung	F tabel 5%
konsentrasiNAA	2	653.852	326.926	10.635**	5.32
konsentrasiBAP	2	26.963	13.481	.439	
konsentrasiNAA * konsentrasiBAP	4	241.037	60.259	1.960	
Error	18	553.333	30.741		
Total	27	6573.000			

Keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA terhadap rata-rata jumlah tunas daun nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 10.635 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Tabel 3.2. Hasil Perhitungan Jumlah Tunas dengan Uji Anava 2 Arah pada Eksplan Batang Minggu ke-10.

Sumber keragaman	DK	JK	RJK	F hitung	Ftabel 5%
KonsentrasiNAA	2	88.389	44.194	2.672	5.32
KonsentrasiBAP	2	84.322	42.161	2.549	
KonsentrasiNAA * konsentrasiBAP	4	390.010	97.503	5.895**	
Error	17	281.167	16.539		

total	27	8071.000
-------	----	----------

Keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA dan BAP terhadap rata-rata jumlah tunas batang nilam didapat $F_{hit} > F_{tab 5\%} = 5.895 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Tabel 4.1. Hasil Perhitungan Jumlah Akar dengan Uji Anava 2 Arah pada Eksplan Daun Minggu ke-10.

Sumber keragaman	DK	JK	RJK	Fhitung	Ftabel 5%
KonsentrasiNAA	2	174.296	87.148	24.010**	5.32
KonsentrasiBAP	2	3.185	1.593	.439	
KonsentrasiNAA * konsentrasiBAP	4	25.704	6.426	1.770	
Error	18	65.333	3.630		
Total	27	1058.000			

Keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA terhadap rata-rata jumlah akar batang nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 24.010 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji.

Tabel 4.2 Hasil Perhitungan Jumlah Akar dengan Uji Anava 2 Arah pada Eksplan Daun pada Minggu ke-10.

Sumber keragaman	DK	JK	RJK	Fhitung	tabel 5%
onsentrasiNAA	2	513.185	256.593	39.589**	5.32
onsentrasiBAP	2	191.630	95.815	14.783**	
onsentrasiNAA * konsentrasiBAP	4	273.926	68.481	10.566**	
error	18	116.667	6.481		
total	27	3211.000			

Keterangan: **) sangat signifikan

1. Kriteria Pengujian

Terima H_0 jika $F_{hit} < F_{tab}$

Tolak H_0 jika $F_{hit} > F_{tab}$

2. Kesimpulan

Pengaruh perlakuan konsentrasi NAA dan BAP terhadap rata-rata jumlah akar batang

nilam didapat $F_{hit} > F_{tab\ 5\%} = 10.566 > 5.32$; maka tolak H_0 artinya terdapat perbedaan pada perlakuan yang diuji

Lampiran 5. Data Hasil Pengamatan Setiap Minggu Pada Eksplan Daun dan Eksplan Batang

Tabel 5.1. Hasil pengamatan jumlah tunas pada eksplan daun dari minggu ke-5 sampai minggu ke-10

Media	Ulangan	Jumlah tunas					
		5	6	7	8	9	10
MS0	1	4	6	6	8	10	10
	2	9	10	12	15	18	20
	3	5	6	9	12	13	13
N0B0,5	1	4	6	8	9	11	15
	2	7	15	21	28	34	38
	3	5	6	9	12	17	20
N0B1	1	5	8	13	17	21	26
	2	7	10	12	15	18	24
	3	4	5	7	8	8	10
N0,1B0	1	0	2	3	4	5	5
	2	5	6	8	11	12	13

	3	0	2	4	6	8	8
	1	0	0	1	4	5	7
N0,1B0,5	2	0	1	4	7	9	9
	3	0	0	1	3	3	4
	1	0	0	1	4	5	7
N0,1B0,5	2	0	1	4	7	9	9
	3	0	0	1	3	3	4
	1	4	5	9	13	17	19
N0,01B0	2	9	10	12	15	18	23
	3	5	7	9	13	15	18
	1	4	6	6	8	10	10
N0,01B0,5	2	9	10	12	15	18	20
	3	5	6	9	12	13	13
	1	5	5	7	12	15	16
N0,01B1	2	4	7	7	10	12	12
	3	5	6	9	12	13	15

Tabel 5..2. Hasil pengamatan jumlah tunas pada eksplan batang dari minggu ke-5 sampai minggu ke-10

Media	Jumlah	jumlah tunas					
		5	6	7	8	9	10

	1	7	8	10	11	13	15
MS0	2	4	5	7	7	9	10
	3	3	3	5	8	10	12
	1	10	11	13	16	22	24
N0B0,5	2	6	7	11	15	19	21
	3	2	5	7	10	15	18
	1	7	8	10	11	13	13
N0B1	2	4	5	7	7	9	11
	3	3	3	5	8	10	19
	1	0	0	3	5	8	11
N0,1B0	2	0	2	6	10	13	16
	3	3	5	7	11	15	18
	1	5	7	8	11	13	15
N0,1B0,5	2	0	1	4	6	9	11
	3	6	7	10	12	15	18
	1	1	3	4	7	11	13
N0,1B1	2	6	8	9	12	15	16
	3	2	5	6	9	11	14
	1	5	9	12	15	16	21
N0.01B0	2	0	1	3	4	7	10
	3	6	7	8	11	15	17
	1	1	3	5	8	12	12
N0.01B0.5	2	3	5	5	11	13	17
	3	0	1	3	7	9	11
	1	11	15	19	21	23	26

N0.01B1	2	17	22	25	27	31	35
	3	8	10	14	17	20	24

Tabel 5..3. Hasil pengamatan jumlah akar pada eksplan daun dari minggu ke-5 sampai minggu ke-10

Media	ulangan	umlah akar					
		5	6	7	8	9	10
MS0	1	0	0	2	2	4	4
	2	0	0	1	1	2	2
	3	0	0	2	3	4	4
N0B0,5	1	0	0	2	2	3	3
	2	0	1	3	4	5	6
	3	0	0	1	1	1	1
N0B1	1	1	2	2	3	5	5
	2	0	1	3	4	5	6
	3	0	0	1	1	2	2
N0,1B0	1	0	0	1	1	3	4
	2	1	1	2	3	5	7
	3	0	0	1	1	2	3
N0,1B0,5	1	1	1	2	2	3	3
	2	1	2	2	3	5	5
	3	0	0	1	2	3	3
N0,1B1	1	0	0	1	1	1	1
	2	0	0	1	1	2	2
	3	0	1	1	2	3	4

	1	3	4	5	8	10	10
N0,01B0	2	1	1	2	3	4	4
	3	2	3	5	6	8	9
	1	2	4	5	6	8	9
N0,01B0,5	2	1	3	4	4	5	7
	3	1	3	5	7	8	9
	1	2	3	5	7	9	11
N0,01B1	2	3	5	7	9	10	12
	3	1	3	5	5	6	6

Tabel 5.4. Hasil pengamatan jumlah akar pada eksplan batang dari minggu ke-5 sampai minggu ke-10

Media	Ulangan	Umlah akar					
		5	6	7	8	9	10
	1	1	2	3	3	5	5
MS0	2	0	0	1	1	2	2
	3	0	0	0	1	2	3
	1	2	2	3	5	5	6
N0B0,5	2	1	3	3	4	4	5
	3	0	0	1	1	2	2
	1	0	1	2	3	4	4
N0B1	2	0	0	1	1	2	3

	3	0	1	1	2	3	3
	1	1	2	3	5	5	6
N0,1B0	2	0	0	2	3	4	4
	3	3	4	5	7	9	10
	1	5	8	10	11	13	15
N0,1B0,5	2	6	9	11	12	14	15
	3	5	6	7	9	11	12
	1	0	1	1	2	3	3
N0,1B1	2	1	3	4	4	6	7
	3	2	3	4	4	5	5
	1	2	3	4	4	5	5
N0,01B0	2	1	2	3	5	5	6
	3	1	3	4	4	6	7
	1	9	11	13	15	18	20
N0,01B0,5	2	5	7	8	12	15	18
	3	4	5	5	9	11	13
	1	10	12	15	18	21	24
N0,01B1	2	9	11	14	16	19	21
	3	5	7	8	11	13	15

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan di bawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta:

Nama : Siti Asiyah
No. Registrasi : 3425070193
Jurusan : Biologi
Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul "**Multiplikasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) var. Tapak Tuan Secara *In Vitro***" adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian pada bulan Maret-Juli 2013.
2. Bukan merupakan duplikat skripsi yang pernah dibuat oleh orang lain atau jiplakan karya tulis orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul jika pernyataan saya ini tidak benar.

Jakarta, Juli 2014
Yang membuat pernyataan

Siti Asiyah

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Siti Asiyah, dilahirkan di Karawang tanggal 24 Mei 1988, anak ke tujuh dari 7 bersaudara pasangan H. Darip dan Hj. Nurhanah (Alm). Pendidikan formal yang telah ditempuh adalah SD Negeri 1 Rawamerta (1995-2001), Pendidikan di SMP Negeri 1 Rawamerta (2001-2004), Pendidikan SMA Negeri 5 Karawang (2004-2007). Pada tahun 2007 diterima sebagai mahasiswa Universitas Negeri Jakarta pada Jurusan Biologi melalui jalur PMDK (Penerimaan Mahasiswa Dengan Ketentuan).

Penelitian yang telah dilakukan oleh penulis antara lain: Pengembangan Pariwisata Di Desa Cidamar, Kecamatan Cidaun, Kabupaten Cianjur Selatan-Jawa Barat (Kuliah Kerja Lapangan Jurusan Biologi, 19-23 April 2010), Konservasi Ubi Jalar (*Ipomea batatas*) Secara *In Vitro* (Praktek Kerja Lapangan, Juli-Agustus 2011), Penelitian pada mata kuliah Biologi Konservasi, serta mengikuti PKM-GT pada tahun 2011 yang berjudul Isolasi dan Identifikasi Kapang (Genus *Aspergillus* sp.) Pengkontaminan pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*).

Selama menempuh perkuliahan di UNJ, penulis pernah menjadi panitia pada acara Cakrawala Biologi (CABI) tahun 2008, anggota divisi Penelitian *Nycticorax* periode 2007-2008. Selain itu, penulis sempat melakukan kegiatan Latihan Dasar Memimpin Penelitian Lapangan di Halimun TNGHS, Sukabumi pada tahun 2009. Kemudian tahun 2010 penulis mengikuti Kuliah Kerja Lapangan di Cianjur dan pada tahun yang sama mengikuti Praktek Kerja Lapangan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika (BB-Biogen) Bogor, Jawa Barat.