

**RESPONS PERTUMBUHAN EKSPLAN DAUN TANAMAN NILAM
(*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI
2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID SECARA IN VITRO**

ANDI FATMAWATI

G011 18 1438



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

SKRIPSI

**RESPONS PERTUMBUHAN EKSPLAN DAUN TANAMAN NILAM
(*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI
2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh:

ANDI FATMAWATI

G011 18 1438



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

**RESPONS PERTUMBUHAN EKSPLAN DAUN TANAMAN NILAM
(*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI
2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID SECARA IN VITRO**

**ANDI FATMAWATI
G0111 18 1438**

**Skripsi Sarjana Lengkap
Disusun sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar sarjana**

pada

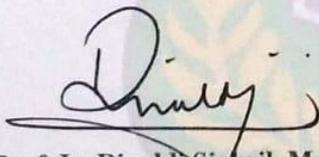
**Departemen Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar**

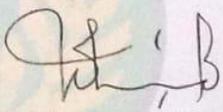
Makassar, Februari 2023

Menyetujui,

Pembimbing Utama

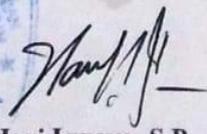
Pembimbing Pendamping


Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D.
NIP. 19660925 199412 1 001


Dr. Ir. Asmiaty Sahur, M.P.
NIP. 19691010 199303 2 001

**Mengetahui,
Ketua Departemen Budidaya Pertanian**




Dr. Hari Iswoyo, S.P., M.A.
NIP. 1970508 200501 1 003

LEMBAR PENGESAHAN

**RESPONS PERTUMBUHAN EKSPAN DAUN TANAMAN NILAM
(*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI
2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh :

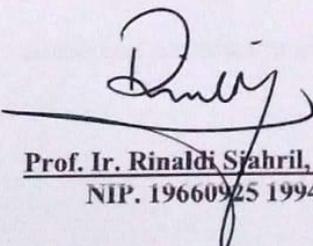
**ANDI FATMAWATI
G0111 18 1438**

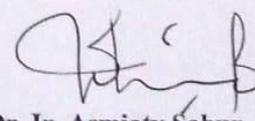
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Masa Studi Program Sarjana, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin pada tanggal 20 Januari 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan.

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Prof. Ir. Rinaldi Sahril, M.Agr., Ph.D.
NIP. 19660925 199412 1 001


Dr. Ir. Asmiaty Sahur, M.P.
NIP. 19691010 199303 2 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Agroteknologi



Dr. Ir. Abdul Harris B., M.Si.
NIP. 19670811 199403 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Andi Fatmawati

NIM : G011181438

Program Studi : Agroteknologi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa tulisan saya yang berjudul :

**“Respons Pertumbuhan Eksplan Daun Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin*
Benth.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid
Secara *In Vitro*”**

adalah karya tulisan saya sendiri dan benar bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain. Skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya tulis saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2023


METERAI
TEMPEL
SAF 1AAKX105205573

Andi Fatmawati

ABSTRAK

ANDI FATMAWATI (G011181438), Respons Pertumbuhan Eksplan Daun Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Secara *In Vitro*. Dibimbing oleh **RINALDI SJAHRIL** dan **ASMIATY SAHUR**.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari respons pertumbuhan eksplan daun tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) pada beberapa konsentrasi 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan dari bulan Januari hingga Juli 2022. Penelitian ini dilaksanakan dalam bentuk percobaan yang disusun berdasarkan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 taraf perlakuan 2,4-D, yaitu 0 mg L⁻¹, 0,5 mg L⁻¹, 1,0 mg L⁻¹, 1,5 mg L⁻¹, dan 2,0 mg L⁻¹. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D pada eksplan tanaman nilam memberikan pengaruh nyata terhadap parameter yang diamati. Pemberian 2,4-D 1,0 mg L⁻¹ memberikan pengaruh terbaik terhadap waktu muncul kalus (8,00 hari) dan berat kalus (2,01 g) dengan warna kalus putih kekuningan dan tekstur kalus remah yang bersifat embriogenik.

Kata kunci : 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), eksplan, kalus, nilam.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, yang telah memberikan kesehatan dan kesempatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul penelitian “**Respons Pertumbuhan Eksplan Daun Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-dichlorophenoxyacetic acid Secara In Vitro**”. Penulisan skripsi ini ditujukan sebagai syarat untuk menyelesaikan studi di Departemen Budidaya Pertanian, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam mengerjakan penelitian skripsi ini mengalami banyak hambatan dan kesulitan. Akan tetapi berkat adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga dengan adanya skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan. Sebagai bentuk rasa syukur penulis kepada semua pihak yang ikut serta membantu dan memberikan dorongan serta motivasi, dengan rasa hormat yang mendalam penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orangtua penulis Ayahanda M. Bakri S. dan Ibunda A. Norma serta kelima saudara dan saudara ipar, Diana, A. Ardiansyah, Ali Akbar, Ecce S. dan A. Hajrah yang telah memberikan doa, nasihat serta dukungan baik secara moril maupun material selama penyelesaian skripsi ini.
2. Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D. selaku pembimbing utama sekaligus dosen pembimbing akademik, dan Dr. Ir. Asmiaty Sahur, M.P. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu memberikan

bimbingan, saran serta masukan kepada penulis sejak awal penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

3. Prof. Dr. Ir. H. Nasaruddin, MS., Dr. Ir. Muh. Riadi, M.P. dan Dr. Ifayanti Ridwan Saleh, S.P. M.P. selaku dosen penguji yang telah berkenan memberikan saran serta masukan sejak awal penelitian hingga selesainya skripsi ini.
4. Para dosen, staf dan pegawai akademik Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, serta khususnya Ibu Astina Tambung yang telah memberikan bantuan secara teknis dalam penyelesaian skripsi.
5. Keluarga Aprianti, S.P. yang telah meluangkan waktu untuk menemani penulis dalam mencari dan mengirim tanaman nilam hingga penulis bisa menyelesaikan penelitian.
6. Ibu Isriani, S.P. selaku laboran di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Reproduksi Tanaman yang sangat membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.
7. Kakak dan teman sesama peneliti di bidang kultur jaringan Dita Dindasari, S.P, Fitriandewi Pasang, S.P., Nur Anna, S.P., Khusnul Khatima, S.P., Gavri, Nilam Sedayu, S.P., Nun Ainun, S.P., Kamsinar Nasir dan Febry Zulqoidah yang telah memberikan masukan dan dukungannya selama ini.
8. Teman-teman seperjuangan yang selalu bersama, membantu dan saling mendukung, Mega Juliani, Rahmania, Nuur Amalia Suanto, Nirmalasari, S.P., Aprianti, S.P., Nurul Alami, A. Maya Masyita, Reski Rahmayanti, Dzahra Amalia Bogra, Dewanti Nur, dan Nurul Rahmawati.

9. Sahabat penulis Selandia Clarista yang selalu memberikan semangat dan dukungan dari awal penulis menjalani kehidupan perkuliahan.
10. Teman-teman Agroteknologi 2018, MKU E 2018, Bioteknologi 2018, serta KKNT 106 Universitas Hasanuddin posko Kec. Mandai.
11. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dari awal hingga penulis menyelesaikan masa perkuliahan.

Makassar, Februari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Hipotesis	5
1.3 Tujuan dan Kegunaan	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Nilam	6
2.2 Kandungan dan Manfaat Tanaman Nilam	8
2.3 Kultur Jaringan Tanaman	10
2.4 Pengkalusan	14
2.5 <i>2,4-Dichlorophenoxyacetat Acid</i>	15
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Tempat dan Waktu.....	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.3 Metode Penelitian	19
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.5 Parameter Pengamatan.....	22
3.6 Analisis Data.....	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil.....	24
4.2 Pembahasan	28
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Deskripsi jenis tanaman nilam.....	8
2.	Rata-rata waktu muncul kalus (hari) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	24
3.	Warna dan tekstur kalus tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	26
4.	Rata-rata berat kalus (g) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	27

Lampiran

1a.	Waktu muncul kalus (hari) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	42
1b.	Sidik ragam waktu muncul kalus (hari) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D.....	42
2a.	Berat kalus (g) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	43
2b.	Sidik ragam berat kalus (g) tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	43
3.	Persentase warna kalus tanaman nilam pada media MS dan berbagai konsentrasi 2,4-D	44
4.	Formulasi media MS (Murashige dan Skoog) dalam 1 liter media.....	45

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Rumus kimia 2,4-dichlorophenoxyacetic acid	16
2.	Grafik orthogonal polynomial berat kalus pada beberapa konsentrasi 2,4-D	28

Lampiran

1.	Denah rancangan percobaan (RAL)	46
2.	Kondisi penelitian di ruang inkubasi	47
3a.	Eksplan pada saat penanaman	47
3b.	Eksplan membentuk kalus	47
4a.	Kalus pada fase embriogenik	47
4b.	Kalus pada fase penuaan (<i>senescence</i>)	47
5.	Warna kalus pada berbagai konsentrasi 2,4-D	48
6.	Tekstur dan warna kalus pada berbagai konsentrasi 2,4-D	48

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri (Husein *et al.*, 2019). Minyak atsiri yang dihasilkan oleh tanaman nilam dikenal dengan nama minyak nilam (*patchouly oil*). Minyak ini memiliki mutu terbaik dalam pasar *essential oil*. Indonesia masih menjadi salah satu pemasok minyak nilam dan menguasai pasar perdagangan minyak nilam dunia (Rosiana *et al.*, 2017). Sekitar 90% dari produksi global saat ini, 1.200-1.300 ton minyak nilam berasal dari Indonesia (Beek dan Daniel, 2017).

Minyak atsiri yang dihasilkan tanaman nilam digunakan sebagai bahan baku industri yaitu sebagai bahan pencampur dan *fixative* atau pengikat wangi-wangian. Kandungan utama (*active ingredient*) minyak atsiri nilam adalah *patchouly alcohol* ($C_{15}H_{26}O$) yakni sekitar 40-50%, sehingga memiliki kualitas minyak atsiri yang baik (Ermaya *et al.*, 2019). Sifat minyak nilam yang fiksatif atau mampu mengikat alkohol sehingga banyak digunakan dalam mempertahankan wangi (Ginting *et al.*, 2021). Hingga saat ini penggunaan minyak nilam cenderung mengalami peningkatan seiring berkembangnya industri parfum dunia karena belum ada produk alami atau sintetis yang dapat menggantikan minyak nilam sebagai bahan pengikat atau fiksatif (Saidi, 2017).

Minyak nilam sebagai salah satu jenis minyak atsiri memiliki peranan yang cukup penting, baik sebagai sumber pendapatan petani maupun sebagai sumber devisa negara (Saidi, 2017). Sebagai komoditas ekspor, minyak atsiri yang

dihasilkan tanaman nilam menjadi andalan karena dapat menyumbang devisa sekitar 60% dari total ekspor minyak atsiri nasional (Ginting *et al.*, 2021). Menurut data dari Direktorat Jenderal Perkebunan (2022) nilai rata-rata produksi tanaman nilam di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 15.813 ton dengan nilai ekspor sekitar 85-90%.

Permintaan pasar minyak atsiri beserta turunannya terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Menurut Saidi (2017), laju peningkatan minyak atsiri dapat mencapai 60% atau sekitar 700-1.500 ton setiap tahunnya. Minyak atsiri asal nilam ini terus meningkat dipicu karena peningkatan konsumsi dunia untuk kebutuhan berbagai industri. Produktivitas nilam nasional saat ini mengalami penurunan sekitar 45% total areal tanam di Indonesia dengan produktivitas <150 kg/ha. Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan produktivitas adalah berkembangnya penyakit yang menyerang pertanaman nilam, seperti penyakit layu yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* (Zuyasna, 2009).

Umumnya nilam diperbanyak secara vegetatif (menggunakan bagian-bagian tanaman seperti batang, cabang, pucuk) dan tidak atau sangat kecil diperbanyak secara generatif, karena nilam Aceh jarang atau hampir tidak pernah berbunga (Santoso, 2007). Namun perbanyakan secara vegetatif memerlukan areal tanam yang luas. Berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Perkebunan (2022) bahwa luas areal tanam tanaman nilam di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 15.000 ha. Selain areal tanam yang dibutuhkan sangat luas, bahan tanam (bibit) yang dibutuhkan dalam perbanyakan secara vegetatif juga dibutuhkan dalam jumlah

yang banyak. Dalam 1 ha dengan jarak tanam 1 x 0,5 m² bahkan membutuhkan jumlah bahan tanam sebanyak 20.000 tanaman.

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah perbanyakan menggunakan teknik kultur jaringan tanaman. Teknik kultur jaringan tanaman merupakan perbanyakan tanaman nilam untuk menghasilkan bibit dalam kuantitas yang banyak dan berkualitas (Rahmawati *et al.*, 2021). Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi (mengambil) bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ secara steril dan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik (bebas hama dan penyakit) di dalam botol kultur yang berisi media dan zat pengatur tumbuh (Widyastuti dan Jessica, 2018). Teknik kultur jaringan tanaman dilakukan untuk mendapatkan bibit atau bahan tanam yang bebas patogen dalam jumlah yang banyak. Selain itu, teknik kultur jaringan tanaman juga menghasilkan bibit tanaman yang banyak, tidak tergantung iklim dan cuaca, serta dapat memperbanyak tanaman tertentu apabila sulit diperbanyak secara konvensional (Ziraluo, 2021).

Jenis dan komposisi hara media adalah satu dari beberapa faktor penentu dalam perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Pemilihan media yang tepat dan dengan adanya kombinasi dari zat pengatur tumbuh (ZPT) dapat menginduksi pertumbuhan eksplan yang ditanam. Zat pengatur tumbuh yang umumnya digunakan dalam kultur jaringan adalah jenis auksin dan sitokinin. Setiap golongan ZPT memiliki peranan dalam mempengaruhi pertumbuhan tanaman, namun tak jarang kedua jenis ZPT tersebut dibutuhkan secara bersama dengan ratio tertentu (Amalia dan Endang, 2018).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) merupakan jenis auksin yang banyak digunakan dalam inisiasi dan pertumbuhan kalus dan sering pula dikombinasikan dengan sitokinin. Jenis auksin memiliki peran yang sangat signifikan terhadap proses pembentukan kalus, terkait dengan diferensiasi maupun peningkatan kompetensi sel yang terbentuk (Setiawati *et al.*, 2020).

Penelitian penggunaan ZPT dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* dilakukan oleh Fitriani (2019) menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus nilam dengan konsentrasi 0,5 sampai 1,0 mg L⁻¹ 2,4-D dapat mempercepat pertumbuhan kalus 8-10 hari setelah tanam. Mayerni *et al.* (2020) menunjukkan bahwa ZPT 2,4-D yang dikombinasikan dengan BAP pada konsentrasi 1,0 mg L⁻¹ 2,4-D dan 1,0 mg L⁻¹ BAP dapat menumbuhkan kalus nilam dari eksplan awal dengan persentase kalus tumbuh 100% serta waktu muncul kalus 8,2 hari setelah tanam. Penelitian terkait penggunaan 2,4-D pada tanaman lain yang dilakukan Khoirunnisa dan Ixora (2022) memberikan hasil bahwa penggunaan 1,0 mg L⁻¹ dapat mempercepat pertumbuhan kalus porang dengan rata-rata waktu muncul kalus 12,40 hari dan persentase tumbuh 53,40%.

Beberapa penelitian lain juga menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D dapat menumbuhkan kalus pada konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan tanaman. Penggunaan ZPT dengan konsentrasi yang sesuai akan mempercepat terbentuknya kalus pada eksplan yang ditanam. Namun pada tanaman tertentu ZPT akan bersifat toksik apabila diberikan pada konsentrasi yang tidak sesuai dengan kebutuhan eksplan.

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan maka dilakukan penelitian terkait penggunaan zat pengatur tumbuh 2,4-D untuk mengetahui pengaruh terhadap pertumbuhan kalus tanaman nilam.

1.2 Hipotesis

Penelitian ini mencoba menguraikan hipotesis-hipotesis berikut :

1. Terdapat pengaruh peningkatan 2,4-D terhadap pertumbuhan kalus pada eksplan tanaman nilam.
2. Terdapat satu taraf konsentrasi 2,4-D yang dapat menghasilkan pengkalusan terbaik.

1.3 Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D tertentu yang dapat memberikan pengkalusan terbaik pada eksplan tanaman nilam.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai konsentrasi 2,4-D yang baik dalam pembentukan kalus secara cepat dan banyak serta sebagai bahan acuan dalam penelitian perbanyakan tanaman nilam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Nilam

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman perdu yang mempunyai aroma yang khas. Tanaman yang termasuk dalam famili Lamiaceae dapat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia, Filipina, Malaysia dan India (Swamy dan Sinniah, 2015). Dalam sistem taksonomi tumbuhan, tanaman nilam diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Kelas : *Dicotyledonae*
Ordo : *Lamiales*
Famili : *Lamiaceae*
Genus : *Pogostemon*
Spesies : *Pogostemon cablin* Benth.

Morfologi tanaman nilam terdiri atas beberapa bagian, yaitu akar, batang, daun dan bunga. Tanaman nilam merupakan tanaman dikotil sehingga memiliki perakaran tunggang. Menurut Santoso (2007), perbanyakan tanaman ini umumnya dilakukan secara vegetatif (stek) sehingga memiliki sistem perakaran serabut. Akar-akar sekunder yang telah dewasa menjalar di bawah permukaan tanah dengan panjang akar sekitar 20-40 cm (Mangun *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan Mohamad *et al.* (2018) menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki perakaran yang

dangkal sehingga peka terhadap defisit kelembaban tanah dan kurang tahan kekeringan.

Tinggi tanaman nilam dapat mencapai 0,5 sampai 1 meter. Menurut Akbar (2018) tanaman nilam memiliki batang berkayu dengan panjang sekitar 20-40 cm dan diameter batang 1-2 cm. Batang tanaman relatif berbentuk segi empat dengan percabangan 3-5 cabang. Daun tanaman nilam berbentuk bulat lonjong dengan panjang daun bisa mencapai 10 cm dan lebar mencapai 8 cm dengan tepi daun bergerigi dan ujung daun yang tumpul. Daun yang berwarna hijau dan tangkai daun sekitar 4 cm dengan warna hijau kemerahan terletak saling berhadapan pada kedudukan ranting (Kusumaningrum *et al.*, 2016).

Tidak semua tanaman nilam memiliki bunga, hanya pada jenis tertentu. Pada jenis nilam yang berbunga, bunga tanaman ini memiliki warna ungu kemerahan yang tumbuh di ujung tangkai dan bergerombol. Tangkai bunga memiliki panjang antara 2-8 cm dengan diameter antara 1-1,5 cm. Mahkota bunga berukuran 8 mm (Untung, 2009).

Terdapat tiga jenis tanaman nilam yang banyak dibudidayakan di Indonesia, yaitu Nilam Aceh (*P. cablin* Benth.), Nilam Jawa (*P. hortensis* Backer.), dan Nilam Sabun (*P. heyneanus* Benth.) (Rozaliana *et al.*, 2013). Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) adalah jenis yang paling banyak dibudidayakan karena kadar dan kualitas minyaknya lebih tinggi dari varietas lain. Nilam Aceh memiliki kadar minyak tinggi (>2,5%) sedangkan Nilam Jawa dan Nilam Hutan hanya memiliki kadar minyak 0,5-1,5% dari berat daun kering (Dinas Perkebunan, 2013).

Tabel 1. Deskripsi jenis tanaman nilam

No.	Uraian	Nilam Aceh	Nilam Jawa	Nilam Sabun
1.	Nama latin	<i>P. cablin</i> Benth.	<i>P. hortensis</i> Becker	<i>P. heyneanus</i> Benth.
2.	Bunga	Tidak atau hampir jarang berbunga	Berbunga	Tidak berbunga
3.	Bentuk daun	Agak membulat seperti jantung, bagian bawah daun terdapat bulu-bulu rambut	Daun lebih tipis daripada Nilam Aceh dengan ujung daun agak runcing	Daun tipis dengan ujung daun agak runcing
4.	Kadar minyak	2,5-5%	0,5-1,55%	0,5-1,5%
5.	Komposisi minyak	Tinggi	Rendah	Rendah

Sumber : *Dinas Perkebunan, 2013*

2.2 Kandungan dan Manfaat Tanaman Nilam

Tanaman nilam merupakan salah satu tanaman yang dapat menghasilkan minyak atsiri (Fitriani *et al.*, 2019). Menurut Ermaya *et al.* (2019), minyak atsiri merupakan hasil dari metabolisme dalam tanaman yang terbentuk akibat reaksi persenyawaan kimia dengan air. Selain itu juga merupakan zat yang memiliki komponen volatil dengan karakteristik tertentu serta memiliki aroma tertentu tergantung dari sumbernya. Minyak atsiri banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari misalnya sebagai bahan pengharum atau wangi-wangian dan obat-obatan.

Minyak atsiri yang dihasilkan tanaman nilam lebih dikenal dengan nama minyak nilam (*patchouly oil*). Minyak nilam ini diperoleh dari hasil penyulingan baik itu daun, batang atau ranting tanaman. Tanaman nilam mengandung *Patchouly Alcohol* (PA) sebagai komponen utama yaitu senyawa kelompok seskuiterpen yang

memiliki rumus molekul $C_{15}H_{26}O$ (Kusumaningrum *et al.*, 2016). Menurut Santos *et al.* (2022), terdapat 29 senyawa volatil yang teridentifikasi pada tanaman nilam dengan senyawa utama yaitu *Patchouly alcohol* (33,25%), *Seysshellene* (6,12%), *α -bulnesene* (4,11%), *Pogostol* (6,33%), dan *Norpatchoulanol* (5,72%). Beberapa penelitian lain juga menemukan bahwa pada tanaman nilam terdapat 23 senyawa dengan konstituen utamanya adalah *Patchouly alcohol* (41,31%), *Pogostone* (18,06%), *Alpha-bulnesene* (6,56%), *Caryophyllene* (5,96%), dan *Sequelene* (4,32%).

Patchouly alcohol yang banyak terkandung dalam minyak nilam ini berfungsi sebagai bahan pengikat (fiksatif). Aroma herba yang hangat dan manis dihasilkan minyak nilam inilah yang banyak digunakan dalam industri sabun, kosmetik, parfum, aromaterapi maupun obat-obatan (Idris *et al.*, 2014). Komponen yang dimiliki minyak nilam memiliki titik didih tinggi sehingga sangat baik digunakan sebagai zat pengikat. Zat pengikat merupakan persenyawaan yang mempunyai daya menguap lebih rendah dibandingkan zat pewangi, sehingga kecepatan penguapan zat pewangi dapat dikurangi atau dihambat (Kataren 1985 dalam Mahmud *et al.*, 2018).

Menurut Mangun *et al.* (2012), minyak nilam memiliki fungsi sebagai bahan baku pengikat (fiksatif) dan sebagai bahan eteris untuk parfum agar aroma lebih tahan lama. Hal ini karena minyak nilam lebih lambat mengalami penguapan dibandingkan minyak atsiri lainnya. Selain fungsi tersebut, minyak nilam juga banyak digunakan sebagai bahan campuran kosmetik, industri farmasi, industri makanan, dan kebutuhan aromaterapi.

2.3 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu teknik atau metode yang digunakan dalam perbanyakan tanaman secara vegetatif. Teknik kultur jaringan dilakukan dengan mengambil atau mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti sel, jaringan maupun organ tanaman dalam keadaan steril untuk ditumbuhkan di dalam media dan lingkungan buatan yang sesuai sehingga dapat memperbanyak dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap dan utuh (Nasution dan Irda, 2022). Sel tanaman yang telah berdiferensiasi akan kembali menunjukkan totipotensinya dengan mengalami dediferensiasi atau perubahan sel dewasa menjadi sel muda dan aktif membelah, yang kemudian akan mengalami rediferensiasi atau membentuk organ atau tanaman yang utuh (Mastuti, 2017).

Perbanyakan tanaman nilam secara kultur jaringan adalah upaya yang dilakukan untuk menghasilkan bibit dalam kuantitas banyak dan berkualitas. Regenerasi kultur *in vitro* merupakan media alternatif dari metode konvensional yang dapat menghasilkan bahan tanam bebas penyakit dalam waktu singkat (Tuwo *et al.*, 2021). Menurut Rahmawati *et al.* (2021), pengembangan teknik ini ditujukan antara lain untuk menyediakan benih klonal dalam jumlah besar yang diperlukan untuk memenuhi kebutuhan bibit tanaman nilam yang terus meningkat.

Penelitian yang dilakukan Mayura (2020), perbanyakan tanaman nilam menggunakan kultur jaringan tanaman mampu menghasilkan tunas tanaman nilam sebanyak 17,33 buah per eksplan yang ditanam. Penelitian lainnya pada tanaman cabai yang dilakukan Soelaiman dan Andri (2013) menunjukkan bahwa

penggunaan metode kultur jaringan dapat menghasilkan rata-rata jumlah tunas per eksplan sebanyak 5 buah dengan penambahan zat pengatur tumbuh.

2.3.1 Eksplan

Salah satu faktor keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro* adalah pemilihan bahan tanam atau eksplan. Eksplan adalah bagian tanaman yang akan digunakan dalam kultur jaringan. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang aktif membelah karena memiliki daya regenerasi yang tinggi dan sel-selnya aktif membelah. Menurut Dwiyani (2015), eksplan dapat berupa sel (kultur sel), protoplas (kultur protoplas), epidermis, empelur, meristem apikal dan lateral, serta irisan akar, batang dan daun (kultur organ).

Meskipun setiap sel tanaman memiliki kemampuan totipotensi, tetapi masing-masing jaringan juga memiliki kemampuan untuk tumbuh dan beregenerasi yang berbeda-beda. Menurut Anitasari *et al.* (2018), eksplan sebagai bahan tanam dalam kultur jaringan juga dipengaruhi oleh jenis eksplan, umur, ukuran serta fase fisiologis jaringan tanaman. Jenis eksplan yang akan digunakan bergantung pada tujuan pengkulturannya. Umur eksplan juga berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur. Jaringan tanaman yang masih muda umumnya paling banyak digunakan sebab memiliki kemampuan untuk tumbuh dan beregenerasi lebih mudah dibandingkan jaringan tanaman yang tua. Jaringan muda masih aktif membelah diri sehingga dinding sel yang belum kompleks dapat dimodifikasi dalam kultur *in vitro*. Ukuran eksplan juga mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Ukuran eksplan disesuaikan dari jenis tanaman, teknik dan tujuan pengkulturannya. Ukuran

eksplan yang relatif besar akan menyulitkan ketika dilakukan sterilisasi karena kemungkinan besar banyak membawa patogen serta membutuhkan lebih banyak ruang dan media dalam tahapan kultur.

Eksplan yang ditanam akan membentuk bentukan baru sebelum menjadi planlet. Propagul adalah bentukan baru yang terbentuk setelah eksplan di tanam pada media kultur yang dapat berupa kalus, organ (tunas, akar) ataupun embrio somatik (Dwiyani, 2015). Propagul yang terbentuk menyesuaikan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam medium. Konsentrasi auksin tepat akan terjadi pembelahan sel yang mengarah pada pembentukan propagul berupa kalus. Jika konsentrasi sitokinin dalam medium yang tepat akan mengarah pada pembentukan tunas. Selain itu juga terdapat perbandingan antara auksin dan sitokinin pada medium. Apabila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin akan menghasilkan propagul yang menginduksi akar. Apabila konsentrasi sitokinin lebih tinggi daripada auksin akan membentuk propagul berupa tunas. Sedangkan jika konsentrasi auksin dan sitokinin pada medium seimbang maka eksplan akan membentuk kalus (Wirdasari *et al.*, 2022).

2.3.2 Media Kultur

Salah satu faktor yang mendukung perbanyakan tanaman *in vitro* adalah media kultur. Media dengan kandungan unsur hara yang lengkap dan sesuai akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikulturkan (Nasution *et al.*, 2021). Komposisi media yang digunakan tergantung jenis tanaman yang akan diperbanyak. Menurut Amalia dan Endang (2018), media kultur *in vitro*

mengandung lima komponen utama, yaitu senyawa organik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh dan suplemen organik.

Media dasar dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* memiliki komposisi yang optimal untuk pertumbuhannya sangat bervariasi tergantung dengan jenis tanaman. Ada beberapa jenis media dasar yang biasanya digunakan dalam kultur jaringan tanaman, yaitu media MS (Murashige dan Skoog) untuk menginduksi regenerasi tanaman, media WPM (*Wood Plant Medium*) untuk kultur tanaman yang berkayu, media NN (Nitsch dan Nitsch) yang ditujukan untuk inisiasi kultur haploid (polen), media DKW (Driver dan Kuniyaki Walnut) yang memiliki kandungan kalsium yang tinggi. Selain itu juga ada media dasar lain seperti media B5 (Gamborg), media White, media N6 serta media Vacin dan Went (Rudiyanto *et al.*, 2021).

Media dasar kultur *in vitro* yang umumnya digunakan untuk perbanyakan tanaman nilam adalah media MS (Murashige dan Skoog) (Amalia dan Endang, 2018). Media MS merupakan media yang umumnya menggunakan bahan-bahan dengan tingkat kemurnian yang tinggi (pro analisis). Menurut Murashige dan Skoog 1962 dalam Shintiavira *et al.* 2012 bahwa media MS mengandung hara makro dan mikro yang lengkap seperti NH_4NO_3 ; KNO_3 ; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; KH_2PO_4 ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; Na_2EDTA ; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; H_3BO_3 ; KI ; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, dan $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Lampiran Tabel 4).

2.4 Pengkalusan

Kultur kalus adalah salah satu jenis dalam kultur *in vitro* yang banyak digunakan untuk menghasilkan bibit tanaman bebas penyakit. Kalus adalah istilah yang digunakan pada massa sel yang belum terdiferensiasi. Kalus diperoleh dari eksplan yang dikulturkan pada media yang sesuai. Kultur kalus meliputi pertumbuhan kalus (sel yang berdiferensiasi) yang kemudian diikuti dengan tahapan yang menginduksi diferensiasi organ (Baday, 2018).

Secara umum semua bagian tanaman yang sel-selnya masih hidup dapat membentuk kalus secara *in vitro*. Menurut Dwiyani (2015), jaringan tanaman yang masih muda (belum mengalami lignifikasi pada dinding selnya) atau jaringan muda yang bersifat meristematik akan menghasilkan kalus yang lebih baik. Secara *in vitro*, kalus akan terbentuk pada bagian irisan/luka dari organ yang dikulturkan. Kalus akan terbentuk jika eksplan yang ditanam pada media kultur mengandung auksin dan sitokinin dalam rasio yang tepat. Hasil penelitian yang dilakukan Wahyuni *et al.* (2020) menunjukkan bahwa pemberian NAA dan BAP pada konsentrasi $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ dan $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ menghasilkan eksplan membentuk kalus sebesar 100 %, sedangkan pemberian ZPT yang sama dengan konsentrasi $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ NAA dan $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP menghasilkan eksplan yang membentuk kalus hanya sebesar 50%.

Menurut Sitorus *et al.* (2011), pembentukan kalus terjadi karena adanya pelukaan yang diberikan pada eksplan, sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak tersebut. Pada awalnya terjadi pembentangan dinding sel dan penyerapan air, sehingga sel akan membengkak selanjutnya terjadi pembelahan sel. Sel dapat melakukan aktivitas metabolik dengan membutuhkan

energi. Sukrosa yang ditambahkan dalam media akan menjadi sumber energi sel-sel eksplan sehingga sel dapat mengalami pembentangan dan pembelahan sel selanjutnya akan membentuk kalus. Pada penelitian yang dilakukan Aulia *et al.* (2020) bahwa kemunculan kalus terbentuk akibat adanya pelukaan/sayatan yang diberikan pada permukaan eksplan yang kemudian terjadi pembentukan jaringan penutup luka yang dirangsang dengan pemberian auksin.

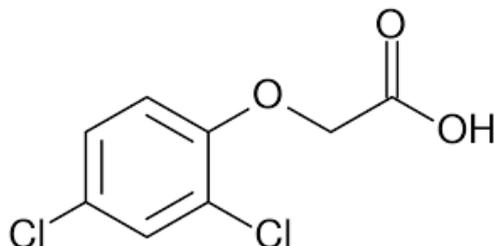
2.5 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan nutrisi tanaman yang dapat mengendalikan pertumbuhan tanaman. ZPT aktif dalam jumlah rendah dan dapat membantu atau menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rajiman, 2018). Peranan ZPT secara umum untuk mengatur kecepatan pertumbuhan dari jaringan tanaman dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut untuk menghasilkan sebuah tanaman. Aktivitas ZPT ini tergantung dari jenis, konsentrasi, struktur kimia, genotipe tanaman maupun fase fisiologi tanaman. Menurut Lestari (2011), terdapat lima jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu auksin, sitokinin, giberilen, etilen dan asam absisat.

Auksin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan. ZPT jenis ini secara luas digunakan untuk mempercepat pertumbuhan tanaman dengan merangsang pembelahan dan pembesaran sel (Harahap *et al.*, 2019). Selain untuk merangsang pemanjangan dan pembelahan sel, auksin juga biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, suspensi kultur dan akar (Mayerni *et al.*, 2020). Auksin dapat dihasilkan dari suatu tanaman maupun secara sintesis. Auksin yang berasal dari tanaman misalnya

dari ekstrak air kelapa dan bawang merah. Sedangkan auksin sintesis antara lain *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), *naphthalene acetic acid* (NAA), dan *indole acetic acid* (IAA).

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan ZPT yang paling sering digunakan pada kultur kalus karena aktivitasnya yang kuat dalam memacu proses diferensiasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus. Menurut Kumianjani *et al.* (2015), aktivitas 2,4-D yang kuat dan optimal ini disebabkan karena gugus karboksil yang dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen. Dibandingkan jenis auksin lainnya seperti IAA, NAA, auksin sintetik 2,4-D ini sering digunakan dalam kultur jaringan karena berperan terhadap pelonggaran dinding sel dengan melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat pada dinding sel.



Gambar 1. Rumus kimia *2,4-dichlorophenoxyacetic acid*

Penggunaan 2,4-D untuk menginduksi munculnya kalus dari eksplan telah dilakukan pada banyak penelitian. Pada penelitian Wardani (2020) menunjukkan bahwa penambahan $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ 2,4-D dan $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP pada media MS dapat menginduksi kalus nilam dengan cepat yaitu 9,8 HST dengan persentase eksplan hidup dan membentuk kalus 100%. Selain pada tanaman nilam, penelitian yang dilakukan Rasud dan Bustaman (2020) menunjukkan bahwa konsentrasi auksin jenis 2,4-D pada konsentrasi $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ merupakan konsentrasi terbaik untuk induksi kalus daun cengkeh dengan persentase pembentukan kalus 100% pada 8

MST. Penelitian oleh Kumianjani *et al.* (2015) menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D sangat berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus tanaman kedelai. Penelitian lainnya, Illahi *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa penggunaan ZPT 2,4-D pada konsentrasi 4 mg L⁻¹ memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan kalus *Diospyros discolor* dengan morfologi kalus berwarna putih dengan tekstur kompak.