

**INDUKSI AKAR DARI EKSPLAN DAUN TIGA VARIETAS NILAM
(*Pogostemon cablin* Benth.) DALAM MEDIA MS YANG
MENGANDUNG PACLOBUTRAZOL *IN VITRO***

**ROOTS INDUCTION FROM LEAF EXPLANTS OF THREE NILAM VARIETIES
(*Pogostemon cablin* Benth.) ON MS MEDIUM CONTAINING PACLOBUTRAZOL *IN VITRO***

Ela Rosita¹⁾, Mira Ariyanti²⁾, dan Suseno Amien²⁾

Kata Kunci: Nilam, *Pogostemon cablin* Benth, akar, Paclobutrazol

Key Word : Nilam, *Pogostemon cablin* Benth, root, Paclobutrazol

Abstract

Nilam (*Pogostemon* sp.) is one of fragrant clump plants that produce patchouli oil. The aim of this experiment was to evaluate root induction from leaf explants of three nilam varieties on Murashige and Skoog (MS) medium containing paclobutrazol and to determine the best concentration of paclobutrazol for root induction. The Completely Randomized Block Design with factorial pattern was used in this experiment and replications three times two factors. The first factor was Nilam varieties (V) that consisted of three levels that i.e. Lhokseumawe (v_1), Sidikalang (v_2), and Tapak Tuan (v_3). The second factor was paclobutrazol concentration (P), that consisted of five levels i.e. 0 ppm (p_1), 0.5 ppm (p_2), 1 ppm (p_3), 1.5 ppm (p_4), 2 ppm (p_5).

The result of experiment showed that there was no interaction between nilam varieties and concentration of paclobutrazol medium for characters, time of shoot induction, number of shoot, height of shoot, time of roots induction, number of roots, number of leaves and fresh weight of plantlet. For several characters, paclobutrazol didn't give different effect to roots induction from leaf explants of three nilam

varieties. Concentration paclobutrazol 2 ppm showed connection tissue stem and roots more distinct compare with other concentration i.e.: 0 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm dan 1.5 ppm of three nilam varieties. For some characters, Lhokseumawe variety showed the best result on height of shoot and number of roots. While Tapaktuan variety showed the best result for number of shoot, number of leaves and fresh weight of plantlet. The best result for characters time of shoot and rootsinduction were showed by Sidikalang and Tapak Tuan varieties.

Sari

Nilam (*Pogostemon* sp.) merupakan salah satu tanaman perdu wangi penghasil minyak atsiri penting berupa minyak nilam (*patchouli oil*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon dan induksi akar dari eksplan daun tiga varietas nilam pada media Murashige and Skoog (MS) yang diberikan paclobutrazol. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yang diulang tiga kali. Faktor pertama adalah varietas nilam (V) yang terdiri dari tiga taraf yaitu Lhokseumawe (v_1), Sidikalang (v_2), dan Tapak Tuan (v_3). Faktor kedua adalah konsentrasi paclobutrazol (P), terdiri dari 5 taraf yaitu 0 ppm (p_1), 0,5 ppm (p_2), 1 ppm (p_3), 1,5 ppm (p_4), 2 ppm (p_5).

Hasil percobaan menunjukkan tidak terdapat interaksi antara tiga varietas

1) Asisten peneliti, Program Studi Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Unpad.

2) Staf pengajar pada Program Studi Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Unpad.

nilam (Lhoksemauwe, Sidikalang dan Tapaktuan) dengan beberapa konsentrasi paclobutrazol dalam media MS pada karakter waktu awal munculnya tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, waktu awal munculnya akar, jumlah akar, jumlah daun dan bobot basah planlet. Untuk beberapa karakter, perlakuan paclobutrazol memberikan pengaruh yang tidak berbeda terhadap induksi akar eksplan daun tiga varietas nilam. Konsentrasi paclobutrazol 2 ppm menunjukkan hubungan jaringan batang dan akar lebih jelas dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm pada ketiga varietas nilam. Untuk beberapa karakter yang diamati, varietas Lhokseumawe menunjukkan hasil tertinggi pada karakter tinggi tunas, dan jumlah akar terbanyak. Sedangkan varietas Tapak Tuan menunjukkan hasil jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak serta bobot basah planlet terberat. Untuk karakter waktu munculnya akar dan tunas waktu tercepat ditunjukkan oleh varietas Sidikalang dan Tapak Tuan.

Pendahuluan

Nilam (*Pogostemon sp.*) merupakan salah satu tanaman perdu wangi penghasil minyak atsiri penting berupa minyak nilam (*patchouli oil*). Lebih dari 50 % total ekspor minyak atsiri Indonesia diperoleh dari tanaman nilam (Nuryani dkk., 2005). Produksi minyak nilam Indonesia per tahunnya mencapai rata-rata diatas 20 juta Dolar AS. Oleh karena itu minyak nilam memiliki prospek pasar yang baik dan paling luas dibandingkan dengan minyak atsiri lainnya seperti minyak akar wangi, minyak serai wangi, dan minyak jahe (Mangun, 2005).

Minyak nilam banyak digunakan dalam industri parfum karena bersifat fixatif yaitu dapat mengikat minyak atsiri lainnya. Selain itu memiliki titik didih yang tinggi sehingga tidak mudah menguap dan harumnya dapat bertahan lama, terutama untuk aroma terapi, industri makanan dan minuman yang

sampai saat ini belum ada produk substitusinya (Nuryani dan Abdullah Puteh, 2004). Manfaat lain minyak nilam adalah untuk bahan anti septik, obat sakit kulit, membantu mengurangi peradangan, kegelisahan atau depresi, dan membantu penderita insomnia (gangguan susah tidur). Menurut Dummond (1960) daun nilam digunakan sebagai insektisida terutama untuk mengusir ngengat kain (*Thysanura*) karena didalamnya mengandung zat yang tidak disukai oleh serangga (Feri Manoi, 2006).

Kekhasan aroma, komponen, dan warna yang terkandung dalam minyak nilam asal Indonesia menjadi kelebihan tersendiri yang mampu menempatkan minyak ini sebagai primadona dalam bisnis minyak atsiri internasional. Selama ini, mutu dan produktivitas nilam itu masih belum mampu memenuhi standar yang diinginkan dan dipandang masih rendah. Penyebabnya adalah rendahnya mutu genetik tanaman, teknologi budidaya yang masih sederhana, berkembangnya berbagai penyakit, serta teknik panen dan pasca panen yang belum tepat (Nuryani dkk., 2005). Melalui uji multi lokasi diperoleh tiga varietas unggul, baik produksi tera maupun kadar dan mutu minyaknya, ketiga varietas tersebut adalah : *Tapak Tuan, Lhokseumawe, dan Sidikalang*. Penamaan ketiga varietas nilam tersebut berdasarkan nama daerah asalnya. Ketiga varietas mempunyai keunggulan masing-masing. Tapak Tuan unggul dalam produksi dan kadar *patchouli alcohol*. Lhokseumawe kadar minyaknya tinggi sedangkan Sidikalang toleran terhadap penyakit layu bakteri dan nematoda. Hasil analisis mutu minyak ketiga varietas, semuanya telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) (Nuryani, 2005).

Budidaya nilam Aceh lebih disukai petani, karena memiliki kandungan minyak tinggi dengan kualitas yang

lebih baik dari kedua jenis nilam lainnya. Sejauh ini perbanyakan yang dilakukan hanya melalui perbanyakan vegetatif (stek), sehingga keragaman genetiknya rendah. Sementara itu nilam Aceh tidak mampu menghasilkan bunga sehingga pembentukan varietas baru hasil persilangan alami tidak dapat terjadi. Akibatnya, keragaman genetiknya relatif sempit, terutama untuk kandungan minyak (Nuryani dkk., 2005). Mengatasi kondisi seperti itu maka salah satu metode pemuliaan yang dapat dilakukan sebagai teknologi alternatif untuk meningkatkan keragaman genetik adalah melalui kultur jaringan antara lain dengan keragaman somaklonal (Deliah Seswita, 1996).

Variasi fenotipik terjadi karena adanya variasi genetik yang dipengaruhi lingkungan. Salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik nilam tersebut diantaranya melalui kultur jaringan karena: 1) Laju multifikasi yang tinggi, memacu terjadinya variasi terutama akibat sub kultur berulang yang tidak terkontrol, 2) Penggunaan bahan kimia yang pada kadar tertentu dapat berfungsi sebagai mutagenik, 3) Penggunaan teknik yang tidak sesuai, sehingga memungkinkan terjadinya variasi, baik melalui mutasi gen, delesi dan duplikasi kromosom (Untung dan Fatimah, 2003).

Perakaran sangat penting untuk proses aklimatisasi. Akar pada tanaman merupakan bagian ketiga terpenting setelah batang dan daun (Gembong Tjitrosoepomo, 1996). Fungsi dari akar adalah sebagai organ tanaman yang akan mengangkut zat-zat hara dari media tumbuh tanaman untuk disebarkan ke batang, daun dan seluruh bagian tanaman.

Pembentukan akar pada eksplan dapat terjadi apabila komposisi hormon dalam media dirubah dan diatur sesuai dengan yang diharapkan (Wetherell, 1976). Media kultur jaringan tanaman

menyediakan tidak hanya unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasa didapat dari atmosfer melalui fotosintesis dan media tersebut dipadatkan dengan menggunakan agar-agar. Untuk hasil yang lebih baik beberapa vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh dapat ditambahkan kedalam media (Livy Winata Gunawan, 1992).

Zat pengatur tumbuh merupakan komponen yang sangat penting dalam media kultur jaringan. Tetapi jenis dan konsentrasinya sangat tergantung pada jenis tanaman dan tujuan kulturnya. Beberapa zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan diantaranya: Auksin, Sitokinin, Giberelin, dan Retardan (Livy Winata Gunawan, 1992). Salah satu jenis retardan yang sering digunakan adalah paclobutrazol.

Zat penghambat tumbuh paclobutrazol merupakan senyawa organik sintetik yang mempunyai pengaruh fisiologis antara lain menghambat perpanjangan sel pada meristem subapikal, memperpendek ruas tanaman, mempertebal batang, dan memperpanjang masa simpan (Dicks 1979). Zat penghambat tersebut berperan dalam menurunkan metabolisme jaringan dan menghambat pertumbuhan vegetatif serta menghambat sintesis giberelin. Paclobutrazol berperan dalam menghambat urutan reaksi oksidasi dalam pembentukan giberelat (Wattimena 1988).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Endang G. Lestari dan Ragapadmi P. (2005) pada *In Vitro* tanaman obat daun dewa masa simpan selama 3 bulan dengan beberapa perlakuan paclobutrazol, umumnya biakan mampu membentuk akar sehingga dapat langsung diaklimatisasi tanpa subkultur pada media perakaran. Menurut Cathey

dalam Mattjik dkk. (1994) retardan merupakan zat pengatur tumbuh yang telah dibuktikan dapat mempengaruhi ketegaran planlet dan menambah butir-butir klorofil (Endang G. Lestari dan Ragapadmi P. 2005).

Menurut George dan Sherington (1984) menyatakan bahwa akar dan batang menjadi kuat bila ada anti giberelin. Davies dkk. 1985 menyatakan bahwa paclobutrazol dengan konsentrasi kecil dapat meningkatkan perakaran dan kualitas planlet. Paclobutrazol merupakan inhibitor yang dapat merangsang pembentukan perakaran pada berbagai tanaman (Diani Damayanti dkk. 2007).

Dalam kegiatan kultur jaringan, proses tumbuh dan berkembangnya eksplan tanaman dapat disesuaikan dengan harapan misalnya menjadi kalus saja, organogenesis atau Embriogenesis. Pengaturan ini diyakini dengan mengatur macam, konsentrasi hormon atau zat pengatur tumbuh tertentu sehingga menghasilkan kombinasi yang tepat sesuai dengan harapan (Untung dan Fatimah, 2003).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan differensiasi. Tanpa adanya penambahan ZPT dalam medium, pertumbuhan akan terhambat bahkan mungkin tidak akan tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari ZPT. Setiap genotip mempunyai respon yang berbeda dalam penyerapan zat pengatur tumbuh dalam media dan memiliki kandungan zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda (Sri Winarsih dkk., 2002).

Penambahan ZPT eksogen mengubah level ZPT endogen sel. Level ZPT endogen merupakan faktor pemicu untuk proses-proses tumbuh dan morfogenesis. Interaksi dan perimbangan antara ZPT yang diberikan dalam medium dan yang diproduksi

oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur (Livy Winata Gunawan, 1987).

Respon eksplan daun tiga varietas nilam yaitu varietas Sidikalang, Tapak Tuan, dan Lhokseumawe terhadap perlakuan paclobutrazol pada media MS untuk induksi akar belum diteliti.

Bahan dan Metode

Percobaan dilakukan dari bulan Desember 2007 sampai bulan Mei 2008 di Laboratorium Kultur Jaringan D3, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah jaringan daun muda tiga klon tanaman nilam yaitu Lhokseumawe, Tapak Tuan, dan Sidikalang yang didapat dari koleksi Perkebunan Manoko, Lembang. Zat-zat formulasi untuk media MS, agar-agar serbuk, sukrosa, ZPT berupa paclobutrazol, fungisida Bion-M1/48wp (dengan bahan aktif asibensolar-s-metil 1% dan mankozeb 48%), alkohol 70%, Bayclin (dengan bahan aktif Natrium hipoklorit (NaClO) 5,25 % pada konsentrasi 2%/100ml), HCl 1 M, NaOH 1 M, Metanol bakar (spirtus), detergen, aquades steril.

Percobaan dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan analisis Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan masing-masing faktor terdiri dari 3 taraf dan 5 taraf yaitu: 1) tiga varietas nilam (Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan), 2) lima kombinasi media MS + beberapa konsentrasi paclobutrazol yaitu 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm.

Faktor pertama yaitu varietas nilam (V) yang terdiri dari tiga taraf:

v_1 = Lhokseumawe; v_2 = Sidikalang; v_3 = Tapak Tuan

Faktor kedua yaitu media MS + beberapa konsentrasi paclobutrazol (P) terdiri dari lima taraf, yaitu :

p_1 = Media MS + paclobutrazol 0 ppm; p_2 = Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm; p_3 = Media MS + paclobutrazol 1 ppm; p_4 = Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm; p_5 = Media MS + paclobutrazol 2 ppm

Dengan demikian akan didapat 15 kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Setiap perlakuan dibuat tiga botol. Tiap botol perlakuan berisi 1 eksplan daun.

Pengamatan dilakukan selama percobaan, yaitu 100 hari setelah tanam (hst) pada: waktu awal munculnya tunas (HST), persentase eksplan bertunas (%), tinggi tunas Per eksplan (cm), morfologi batas akar dan tunas yang diamati dibawah mikroskop jenis binokuler dengan perbesaran 100x pada 15 sampel dari ketiga variatas dengan berbagai perlakuan, Waktu awal munculnya akar (HST), Jumlah akar per eksplan, Jumlah daun per eksplan, Bobot basah planlet per eksplan (g).

Hasil dan Pembahasan

Selama percobaan berlangsung, temperatur ruang kultur menunjukkan kisaran antara 24 °C sampai 29 °C dengan rata-rata 26 °C. Kelembabannya berkisar antara 75% sampai 94% dengan rata-rata 84%. Sesuai yang diungkapkan Daisy dan Ari (1994) bahwa suhu yang dibutuhkan untuk dapat terjadi pertumbuhan yang optimum umumnya berkisar di antara 20°C sampai dengan 30°C. Kelembaban relatif (RH) lingkungan biasanya mendekati 100% dan RH sekeliling kultur mempengaruhi pola pengembangan eksplan. Sehingga, pengaturan RH pada keadaan tertentu disesuaikan dengan keadaan lingkungan ruang kultur.

Salah satu permasalahan yang menghambat keberhasilan kultur

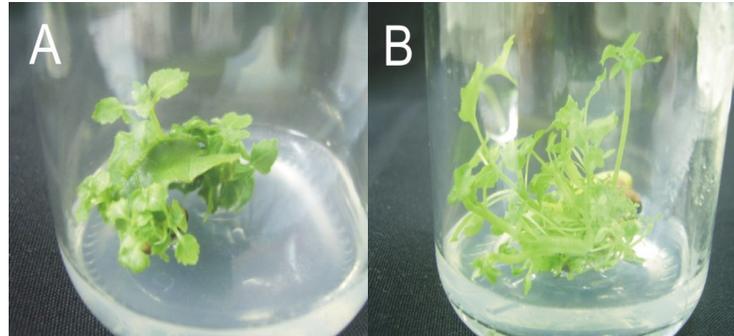
adalah adanya eksplan yang mengalami mati fisiologis. Ciri kultur mati fisiologis diawali dengan pencoklatan (*browning*). Browning merupakan suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang seringkali membuat pertumbuhan dan perkembangan eksplan terhambat dan mengakibatkan kematian pada jaringan. Pada penelitian ini persentase kultur mati fisiologis mencapai 32,28%. Hal ini terjadi diduga karena selain faktor dari eksplan itu sendiri, yaitu teroksidasinya senyawa fenol yang berasal dari eksplan. Faktor teknis pada saat penanaman sangat mempengaruhi, diantaranya scalpel dan pinset yang masih panas juga lamanya proses pengeringan eksplan yang sudah disterilisasi dari larutan sterilisasi pada saat penanaman di ruangan kultur. Sesuai dengan pendapat Untung dan Fatimah (2003) bahwa mati fisiologis dapat disebabkan oleh bahan tanaman yang tidak meristematis atau jaringan dewasa, tindakan sterilisasi yang berlebihan, media yang tidak cocok atau lingkungan yang tidak mendukung.

Jumlah persentase kultur tanaman nilam yang terkontaminasi pada penelitian ini adalah sebesar 5,92%. Kejadian ini dapat terjadi mulai sejak 1 hari setelah tanam sampai akhir pengamatan. Fenomena terjadinya kontaminasi sangat beragam. Keragaman tersebut dapat dilihat dari jenis kontaminannya, yaitu baik berupa jamur maupun bakteri. Selain itu, yang menjadi penyebab lain dari kontaminasi ini adalah karena penggunaan alat dan ruangan yang kurang steril, sehingga mengakibatkan masuknya mikroorganisme kedalam media pada saat penanaman eksplan.

Pengamatan warna pada planlet dilakukan secara visual pada eksplan yang telah terbentuk tunas, Gambar 1. menunjukkan warna planlet. Dari gambar dapat dilihat perbedaan antara kedua planlet tersebut. Warna planlet yang diberi perlakuan paclobutrazol 2

ppm menampakkan warna hijau lebih pekat dengan penampilan daun yang lebih tebal dan kuat namun terlihat lebih pendek. Sementara pada planlet dengan perlakuan tanpa paclobutrazol

menunjukkan penampilan yang sebaliknya. Yaitu warna hijau yang lebih terang, daun terlihat lebih tipis dan lemah namun memiliki ukuran tunas yang tinggi.



Gambar 1. Perbedaan Warna Eksplan; (A) planlet yang tumbuh pada edia yang Mengandung paclobutrazol 2 ppm; dan (B) planlet yang tumbuh pada media tanpa paclobutrazol.

Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat menurut Cathey (1975) dan Dick (1979), bahwa paclobutrazol mempunyai pengaruh fisiologis, antara lain sebagai anti giberelat yang berperan menghambat perpanjangan sel pada meristem subapikal sehingga memperpendek ruas tanaman. Dalam hal ini, makin tinggi konsentrasi paclobutrazol makin pendek ruas yang dihasilkan. Selain itu dapat menyebabkan perubahan karakteristik daun seperti penurunan ukuran sel, ruang interseluler, dan meningkatkan

kandungan klorofil, jumlah sel parenkim palisade dan menahan pembukaan stomata (Wattimena, 1988).

Data pada penelitian ini berdasarkan pada hasil analisis statistik menunjukkan tidak adanya interaksi pada semua karakter yang diamati, antara ketiga varietas (tiga varietas nilam; Lhokseumawe, Sidikalang, dan Tapak Tuan) dengan lima konsentrasi perlakuan paclobutrazol yang berbeda (0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm) pada media MS (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai uji-F pada Karakter-karakter Pengamatan Utama

Karakter	Waktu Awal Terbentuk Tunas	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas	Waktu Awal Terbentuk Akar	Jumlah Akar	Jumlah Daun	Bobot Basah Planlet
Ulangan	0.39 ^{ns}	1.80 ^{ns}	0.87 ^{ns}	0.66 ^{ns}	3.31 ^{ns}	0.95 ^{ns}	4.76 ^s
Perlakuan	1.45 ^{ns}	2.09 ^s	2.01 ^{ns}	1.44 ^{ns}	1.20 ^{ns}	4.54 ^s	2.33 ^s
Genotip	1.04 ^{ns}	11.39 ^s	5.84 ^s	5.57 ^{ns}	6.72 ^s	24.64 ^s	16.05 ^s
Konsentrasi	1.77 ^{ns}	0.27 ^{ns}	2.81 ^s	1.15 ^{ns}	0.39 ^{ns}	0.47 ^{ns}	0.09 ^{ns}
Interaksi	1.40 ^{ns}	0.68 ^{ns}	0.66 ^{ns}	0.56 ^{ns}	0.23 ^{ns}	1.55 ^{ns}	0.01 ^{ns}

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata
S = Berbeda nyata pada taraf 5 %

Waktu awal terbentuknya tunas

Pembentukan tunas terjadi hampir pada setiap media perlakuan dengan beberapa konsentrasi paclobutrazol atau

tanpa pemberian paclobutrazol. Hasil analisis data pada Tabel 2 menunjukkan pengaruh paclobutrazol pada tiga varietas eksplan daun nilam terhadap waktu awal terbentuknya tunas.

Tabel 2. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Waktu Awal Terbentuk Tunas.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Waktu Awal Terbentuk Tunas (HST)
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	36.3 b
(v ₂) Sidikalang	31.7 a
(v ₃) Tapak Tuan	31.8 a
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	44.7 a
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	39.1 a
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	30.1 a
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	23.7 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	28.7 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Data hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan, bahwa tidak terdapat interaksi antara ketiga varietas nilam dengan pemberian beberapa konsentrasi paclobutrazol terhadap waktu awal terbentuknya tunas. Berdasarkan hasil uji efek mandiri pada Tabel 2 untuk faktor varietas nilam, dari ketiga varietas tersebut varietas Sidikalang dan Tapak Tuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan varietas Lhokseumawe. Ini menunjukkan bahwa dari ketiga varietas nilam, varietas Sidikalang dan Tapak Tuan menunjukkan waktu tercepat pada rata-rata waktu awal terbentuknya tunas yaitu pada hari ke-31 dibandingkan dengan varietas Lhokseumawe. Pada penelitian ini faktor eksplan (varietas) sangat berpengaruh terhadap waktu awal terbentuknya tunas. Sesuai dengan pendapat Mante dan Tepper (1983) dikutip Nisa dan Rodinah (2005) bahwa saat tumbuh tunas dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu faktor eksplan (varietas), media dan lingkungan.

Hasil uji efek mandiri untuk faktor media menunjukkan bahwa, penambahan beberapa konsentrasi paclobutrazol pada media MS tidak terdapat perberbedaan yang nyata atau memberikan pengaruh yang tidak berbeda terhadap waktu awal terbentuknya tunas. Perlakuan tanpa penambahan paclobutrazol mampu memberikan respon yang sama dengan perlakuan yang diberi penambahan paclobutrazol pada pembentukan tunas. Ini sesuai dengan penelitian Priyono dkk.(2000) yang dikutip Nisa dan Rodinah (2005) pada kultur jaringan bakal buah pisang, bakal buah mampu beregenerasi tanpa tambahan hormon dari luar. Diduga dalam eksplan daun nilam telah terkandung hormon endogen yang cukup untuk mobilisasi sel-selnya guna membentuk bakal individu-individu baru (Suseno dkk., 2007).

Jumlah tunas

Dari hasil analisis data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara ketiga varietas nilam dengan penambahan beberapa konsentrasi paclobutrazol terhadap jumlah tunas pada 100 HST. Berdasarkan hasil uji efek mandiri pada Tabel 3 untuk faktor varietas nilam, dari

ketiga varietas tersebut, varietas Tapak Tuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibanding varietas Lhokseumawe dan Sidikalang. Ini menunjukkan bahwa dari ketiga varietas nilam, Tapak Tuan menunjukkan jumlah tunas terbanyak pada karakter jumlah tunas yaitu 13,8 tunas . Pada penelitian ini faktor eksplan (varietas) sangat berpengaruh terhadap jumlah tunas.

Tabel 3. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Jumlah Tunas 100 HST.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Jumlah Tunas 100 HST
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	4.9 a
(v ₂) Sidikalang	2.1 a
(v ₃) Tapak Tuan	13.8 b
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	6.8 a
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	6.6 a
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	5.7 a
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	9.1 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	6.6 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Hasil uji efek mandiri untuk faktor media menunjukkan bahwa, penambahan beberapa konsentrasi paclobutrazol pada media MS tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap karakter jumlah tunas. Ini menunjukkan bahwa pemberian paclobutrazol pada media MS dari 0,5-2 ppm tidak berbeda dengan tanpa paclobutrazol terhadap karakter jumlah tunas. Namun jika dilihat dari nilai rata-ratanya jumlah tunas terbanyak ditunjukkan pada perlakuan paclobutrazol 1,5 ppm yang memberikan hasil terbaik dari keempat perlakuan lainnya.

Tinggi tunas

Data hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara tiga varietas nilam dengan penambahan beberapa konsentrasi paclobutrazol terhadap karakter tinggi tunas. Berdasarkan hasil uji efek mandiri pada Tabel 4. untuk faktor varietas nilam, dari ketiga varietas tersebut, varietas Lhokseumawe menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan varietas Sidikalang dan Tapak Tuan. Ini menunjukkan bahwa dari ketiga varietas nilam, Lhokseumawe menunjukkan pertumbuhan tunas tertinggi pada rata-rata karakter tinggi tunas.

Tabel 4. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Tinggi Tunas 100 HST.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Tinggi Tunas 100 HST
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	1.25 b
(v ₂) Sidikalang	0.94 a
(v ₃) Tapak Tuan	1.19 a
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	2.44 b
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	1.49 a
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	1.49 a
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	1.26 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	0.63 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

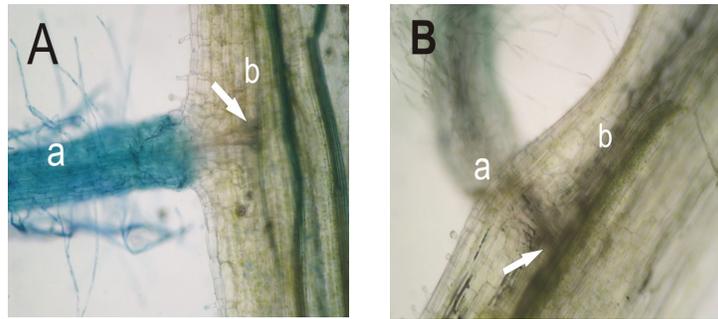
Pada taraf media tanam, hasil uji efek mandiri menunjukkan bahwa media yang diberi perlakuan paclobutrazol 0 ppm atau tanpa penambahan paclobutrazol (p₁) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan media yang diberi penambahan konsentrasi paclobutrazol 0,5 ppm (p₂), 1 ppm (p₃), 1,5 ppm (p₄) dan 2 ppm (p₅). Dari keempat perlakuan tersebut media yang diberi perlakuan paclobutrazol pada konsentrasi terendah menunjukkan hasil terbaik dibandingkan dengan media yang diberi penambahan paclobutrazol pada konsentrasi tinggi yaitu 2 ppm. Pada penelitian ini pemberian paclobutrazol pada beberapa taraf konsentrasi memberikan pengaruh yang tidak berbeda terhadap karakter tinggi tunas.

Dari data pengamatan varietas Lhokseumawe menunjukkan karakter tinggi tunas terbaik yaitu memiliki penampilan tunas tertinggi. Sedangkan pada tingkat media, media tanpa penambahan paclobutrazol menunjukkan karakter tinggi tunas tertinggi. Sesuai dengan pendapat Deneke dan Keever (1992), dikutip

Indah Parwati, (2003) membuktikan pula bahwa penyiraman paclobutrazol ke media dapat mengurangi tinggi bunga tulip (*Tulipa sp.*) pada saat bunga mekar penuh dengan pemberian paclobutrazol sebesar 1,0 mg/pot bila dibandingkan dengan kontrol (0 mg/pot paclobutrazol). Pendapat ini juga sejalan dengan Menurut Cathey (1975) dan Dick (1979), paclobutrazol mempunyai pengaruh fisiologis, antara lain sebagai anti gibberelat yang berperan menghambat perpanjangan sel pada meristem subapikal sehingga memperpendek ruas tanaman. Dalam hal ini, makin tinggi konsentrasi paclobutrazol makin pendek ruas yang dihasilkan.

Morfologi batas akar dan tunas

Morfologi batas akar dan tunas diamati dibawah mikroskop. Pengamatan dilakukan secara random pada 3 varietas nilam dengan 5 perlakuan. Sampel yang diamati terdiri dari 15 unit merupakan tunas nilam yang telah berakar atau telah membentuk tanaman yang lengkap (planlet). Gambar 2. menunjukkan morfologi batas akar dan tunas nilam.



Keterangan:

A = Morfologi tunas dan akar nilam pada media MS + Paclobutrazol 0 ppm

B = Morfologi tunas dan akar nilam pada media MS + Paclobutrazol 2 ppm

a = akar

b = batang tunas

Tanda panah menunjukkan ketersambungan antara akar dan batang tunas

Gambar 2. Morfologi Batas Tunas dan Akar Nilam Diamati Dibawah Mikroskop pada Perbesaran 100

Dari Gambar 2. A dan B tidak terdapat perbedaan yang signifikan untuk ketersambungan atau batasan antara akar dan tunas nilam, baik yang diberi perlakuan paclobutrazol maupun tanpa perlakuan paclobutrazol. Tetapi dari gambar dapat dilihat jaringan pengangkut pada eksplan yang diberi perlakuan paclobutrazol terlihat lebih kuat dibanding tanpa perlakuan paclobutrazol. Sesuai dengan pendapat Chaney (2004), bahwa penambahan paclobutrazol pada tanaman berkayu yang disiramkan pada media tanah disekeliling pohon dapat menambah diameter batang pohon.

Penggunaan paclobutrazol pada penelitian induksi akar ini menjadikan penampilan batang dan akar tanaman lebih besar, kaku dan lebih tegar dibandingkan tanaman kontrol. Sehingga penampilan foto dari batas akar dan tunas nilam dengan penambahan paclobutrazol yaitu pada Gambar 2. B terlihat lebih jelas. Sesuai dengan pendapat Ika Mariska dan Endang G. Lestari, 2003 bahwa penggunaan paclobutrazol menghasilkan tanaman dengan warna daun yang lebih hijau, batang dan daun yang lebih besar, kaku dan lebih tegar dibandingkan tanaman kontrol. Dari gambar dapat dilihat pula pada semua perlakuan beberapa konsentrasi

paclobutrazol ataupun tanpa pemberian paclobutrazol unsur hara yang terdapat dalam media telah mampu menginduksi akar dan tunas dari eksplan daun nilam, membentuk organ tanaman lengkap dengan sistem organ yang saling berhubungan.

Pembentukan akar pada perbanyakkan kultur jaringan dapat dibentuk dengan penambahan ZPT eksogen. Penambahan ZPT ini dapat diberikan pada media kultur jaringan ataupun pada media selain kultur jaringan (media tanah). Dalam penelitian ini penambahan paclobutrazol pada media kultur jaringan (media MS) sangat berpengaruh yaitu terutama pada penampilan planlet secara visual maupun penampilan jaringan akar dan tunas hasil induksi yang diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 100 kali.

Waktu awal terbentuknya akar

Pembentukan akar terjadi hampir pada setiap media perlakuan dengan beberapa konsentrasi paclobutrazol. Pada Tabel 5 dapat dilihat data mengenai waktu pembentukkan akar. Berdasarkan hasil uji efek mandiri untuk faktor varietas nilam. Dari ketiga varietas tersebut, varietas Sidikalang dan Tapak Tuan menunjukkan hasil

yang berbeda nyata dibandingkan dengan varietas Lhokseumawe. Ini menunjukkan bahwa dari ketiga varietas nilam, varietas Sidikalang dan Tapak Tuan menunjukkan waktu tercepat pada rata-rata waktu awal terbentuknya

akar dibandingkan dengan varietas Lhokseumawe. Tetapi berdasarkan nilai rata-rata waktu terbentuk akar tercepat ditunjukkan oleh varietas Sidikalang yaitu pada hari ke 16.

Tabel 5. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Waktu Awal Terbentuknya Akar.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Waktu Awal Terbentuknya Akar (HST)
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	30.1 b
(v ₂) Sidikalang	16.1 a
(v ₃) Tapak Tuan	30.5 a
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	28.7 a
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	21.2 a
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	33.5 a
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	23 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	21.3 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Pada Tabel 5 media MS dengan penambahan 1 ppm paclobutrazol (p₃) menunjukkan rata-rata waktu terbaik untuk awal pembentukan akar. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Seswita, 1996 bahwa paclobutrazol saat ini banyak digunakan pada kultur jaringan untuk meningkatkan perakaran. Penggunaan paclobutrazol dapat memberikan hasil yang lebih baik dalam menginduksi perakaran.

Hasil uji efek mandiri untuk perlakuan media yang digunakan pada Tabel 5 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada kelima perlakuan yang digunakan ini artinya baik media yang diberi penambahan paclobutrazol maupun media yang tanpa diberi perlakuan paclobutrazol memberikan pengaruh yang sama pada karakter waktu terbentuknya akar atau memberikan pengaruh yang tidak

berbeda pada beberapa perlakuan yang berbeda.

Menurut Pierik (1987) saat tumbuhnya akar juga dipengaruhi pertumbuhan tunas, tunas tumbuh dengan baik memacu pertumbuhan akar, apabila pertumbuhan tunas terhambat maka pertumbuhan akar pun terhambat. Pada waktu awal pembentukannya akar ada yang terbentuk sebelum tunas muncul dan ada yang terbentuk setelah tunas muncul (terbentuk). Hal ini terjadi dapat dipengaruhi oleh rangsangan zat pengatur tumbuh terhadap jaringan berbeda-beda. Faktor lain yang mungkin terjadi adalah pada setiap eksplan telah terdapat hormon endogen yang berbeda-beda sehingga masing-masing eksplan menunjukkan pembentukan yang berbeda baik kearah tunas, akar atau keduanya secara bersamaan. Penomena ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Waktu Awal Terbentuk Akar (A) Sidikalang, (B) Tapak Tuan, dan (C) Lhokseumawe

Jumlah akar

Data hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara pemberian paclobutrazol dengan ketiga varietas nilam yang digunakan. Pada Tabel 6 hasil uji efek mandiri untuk ketiga varietas nilam menunjukkan hasil

yang berbeda nyata. Nilam varietas Lhoukseumawe (v_1) menunjukkan hasil terbaik dibandingkan dengan varietas Sidikalang (v_2) dan Tapak Tuan (v_3). Pada penelitian ini faktor eksplan (varietas) sangat berpengaruh terhadap karakter jumlah akar.

Tabel 6. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Jumlah Akar 100 HST.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Jumlah Akar 100 HST
Varietas	
(v_1) Lhokseumawe	3.9 c
(v_2) Sidikalang	0.6 a
(v_3) Tapak Tuan	3.5 b
Medium	
(p_1) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	1.5 a
(p_2) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	3.8 a
(p_3) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	2.8 a
(p_4) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	2.1 a
(p_5) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	3.0 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Nilai hasil uji efek mandiri dari setiap perlakuan media menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian beberapa konsentrasi paclobutrazol terhadap pertumbuhan jumlah akar eksplan tiga varietas nilam memberikan pengaruh yang tidak berbeda. Tetapi dari data Tabel 6 media yang paling baik untuk karakter jumlah akar adalah

pada media MS dengan penambahan paclobutrazol sebanyak 0,5 ppm yaitu 3.8.

Jumlah daun

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara ketiga varietas nilam dengan penambahan beberapa konsentrasi paclobutrazol pada media MS terhadap karakter jumlah daun.

Tabel 7. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Jumlah Daun 100 HST.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Jumlah Daun 100 HST
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	28.3 b
(v ₂) Sidikalang	10.9 a
(v ₃) Tapak Tuan	67.4 c
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	34.3 b
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	34.8 b
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	33.4 b
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	44.6 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	30.5 b

Keterangan: Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Pada Tabel 7 hasil uji efek mandiri tiga varietas nilam terhadap karakter jumlah daun diperoleh bahwa dari ketiga varietas tersebut menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata. Varietas Tapak Tuan (v₃) menunjukkan nilai rata-rata jumlah daun terbanyak 67.4 dibandingkan dengan varietas Lhokseumawe 28.3 dan Sidikalang 10.9. Pada penelitian ini faktor varietas memberikan pengaruh terhadap karakter jumlah daun.

Varietas Tapak Tuan memiliki nilai rata-rata jumlah daun terbaik, Hal ini sebanding dengan banyaknya tunas yang tumbuh, karakter nilai rata-rata jumlah tunas pada varietas Tapak Tuan memiliki nilai paling tinggi. tetapi rata-rata nilai jumlah akar dari Tapak Tuan lebih sedikit atau tidak jauh berbeda dibanding varietas Lhokseumawe yang memiliki rata-rata nilai jumlah akar paling baik. Sedangkan varietas sidikalang memiliki rata-rata nilai jumlah akar, tunas dan daun paling kecil dibanding kedua varietas lainnya karena eksplannya banyak mengalami mati fisiologis.

Untuk faktor media berdasarkan hasil uji efek mandiri terhadap karakter jumlah daun hasil analisis menunjukkan

bahwa media dengan penambahan paclobutrazol 1,5 ppm (p₄) nilainya berbeda nyata dengan media yang diberi penambahan paclobutrazol pada konsentrasi 2 ppm, 1 ppm, 0,5 ppm dan 0 ppm (media tanpa penambahan paclobutrazol) yang menunjukkan jumlah daun terbanyak yaitu sebanyak 44,6 daun. Nilai dari keempat perlakuan lainnya satu sama lain tidak berbeda nyata pada nilai rata-rata untuk karakter jumlah daun. Untuk media MS tanpa penambahan paclobutrazol atau pada perlakuan paclobutrazol 0 ppm, menunjukkan rata-rata nilai paling tinggi dibandingkan dengan beberapa perlakuan yang diberi paclobutrazol. Ini berarti dari nilai hasil analisis uji efek mandiri untuk media dengan pemberian beberapa konsentrasi paclobutrazol dan media tanpa paclobutrazol memberikan pengaruh yang tidak berbeda terhadap karakter jumlah daun.

Bobot basah planlet

Eksplan yang ditimbang adalah eksplan yang tumbuh sehat dan eksplan yang memiliki kalus coklat namun memiliki kemungkinan hidup jika dipindah pada medim baru dengan formulasi yang disesuaikan.

Tabel 8. Pengaruh Paclobutrazol Pada Eksplan Daun Nilam Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan Terhadap Bobot Basah Planlet.

Perlakuan	Nilai Rata-rata Bobot Basah Planlet (gram)
Varietas	
(v ₁) Lhokseumawe	0.18 a
(v ₂) Sidikalang	0.16 a
(v ₃) Tapak Tuan	0.46 b
Medium	
(p ₁) Media MS + paclobutrazol 0 ppm	0.29 a
(p ₂) Media MS + paclobutrazol 0,5 ppm	0.28 a
(p ₃) Media MS + paclobutrazol 1 ppm	0.26 a
(p ₄) Media MS + paclobutrazol 1,5 ppm	0.25 a
(p ₅) Media MS + paclobutrazol 2 ppm	0.24 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis pengaruh paclobutrazol pada tiga varietas nilam terhadap karakter bobot basah planlet menunjukkan tidak terjadinya interaksi. Pada Hasil uji efek mandiri pada Tabel 8. Varietas Tapak Tuan memiliki nilai yang berbeda nyata dengan kedua varietas nilam Sidikalang dan Lhokseumawe. Rata-rata nilai untuk bobot basah planlet varietas Tapak Tuan memiliki nilai terberat dibanding kedua varietas lainnya. Hal ini sebanding dengan tingginya nilai rata-rata jumlah tunas dan jumlah daun diantara kedua varietas lainnya mengakibatkan besarnya nilai rata-rata bobot basah menjadi lebih besar. Sedangkan untuk varietas Sidikalang pada karakter bobot basah nilainya tidak berbeda nyata dengan varietas Lhoukseumawe, ini terjadi karena banyaknya tumbuh kalus yang berwarna coklat, jumlah akar dan daun lebih sedikit pada keduanya.

Pada pengukuran karakter bobot basah planlet kelima taraf media yang digunakan memiliki nilai yang tidak berbera nyata antara media yang satu dengan media lainnya. Namun dari kelima media tersebut media MS tanpa penambahan paclobutrazol atau 0 ppm dan media MS ditambah paclobutrazol

0,5 ppm, memiliki nilai rata-rata bobot basah planlet paling tinggi yaitu 0,29 gram. Dibandingkan media MS ditambah paclobutrazol 1,5 ppm dan media MS ditambah paclobutrazol 2 ppm memiliki nilai rata-rata bobot basah paling rendah yaitu 0,24 gram. Hal ini membuktikan fungsi paclobutrazol Menurut Cathey (1975) dan Dick (1979), bahwa paclobutrazol mempunyai pengaruh fisiologis, antara lain sebagai anti giberelat yang berperan menghambat perpanjangan sel pada meristem subapikal sehingga memperpendek ruas tanaman. Dalam hal ini, makin tinggi konsentrasi paclobutrazol makin pendek ruas yang dihasilkan. Sehingga sesuai dengan fungsinya makin rendah atau tanpa penambahan paclobutrazol pada media makin tinggi berat bobot basah planlet. Sebaliknya semakin tinggi penambahan konsentrasi paclobutrazol pada media maka makin rendah berat bobot basah planlet.

Kesimpulan dan Saran

Tidak terdapat interaksi antara tiga varietas nilam (Lhoksemauwe, Sidikalang dan Tapaktuan) dengan beberapa konsentrasi Paclobutrazol

dalam media MS pada semua karakter yaitu waktu awal munculnya tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, waktu awal munculnya akar, jumlah akar, jumlah daun dan bobot basah planlet.

Konsentrasi paclobutrazol 2 ppm menunjukkan hubungan jaringan batang dan akar lebih jelas dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm pada ketiga varietas nilam.

Varietas Lhokseumawe menunjukkan hasil tertinggi pada karakter tinggi tunas, dan jumlah akar terbanyak. Sedangkan varietas Tapak Tuan menunjukkan hasil jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak serta bobot basah planlet terberat. Untuk karakter waktu munculnya akar dan tunas waktu tercepat ditunjukkan oleh varietas Sidikalang dan Tapak Tuan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk induksi perakaran eksplan daun tiga varietas nilam dengan menggunakan paclobutrazol dengan jarak konsentrasi yang lebih jauh.

Ucapan Terima Kasih

Tim peneliti menyampaikan ucapan terima kasih pada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui skema IMHERE Unpad tahun anggaran 2007- 2008 yang diberikan pada Mira Ariyanti.

Daftar Pustaka

- Abdullah Puteh. 2004. Potensi dan Kebijakan Perkembangan Nilam Di Provinsi Nangroe Aceh Darussalam. Gubernur Provinsi Nangroe Aceh Darussalam. Teknologi TRO VOL. XVI, No. 2. www.dbripteck.lipi.go.id
- Catney. H.M. 1964. Physiology of Growth Retarding Chemical. *Annu.Rev. Plant Physiol.* 15:271-302
- Chaney. W.R. (2004). Paclobutrazol:More Than Just a Growth Retardant. Department of Forestry and natural Resources Purdue University, West Lafayette, IN 47907.
- Daisy, P. S. dan Ari Wijayani. 2005. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius.Yogyakarta.
- Deliah seswita, Ika Mariska, dan Endang Gati.(1996) Mikropropagasi Nilam Penampakan Khimera Hasil Radiasi Pada Kalus. Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat.Bogor
- Diani Damayanti, Sudarsono, Ika Mariska dan M. Herman. 2007. Regenerasi Pepaya melalui Kultur *In Vitro*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, BB-Biogen. *Jurnal AgroBiogen* 3(2):49-54
- Endang G. Lestari dan Ragapadmi Purnamaningsih.2005 Penyimpanan *In Vitro* Tanaman Obat Daun Dewa melalui Pertumbuhan Minimal.Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, BB-Biogen *Jurnal AgroBiogen* 1(2):68-72
- Feri Manoi. 2006. Penggunaan Minyak Nilam Serta Pemanfaatan Limbahnya. Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat. www.balittro.litbang.deptan.go.id . (diakses tanggal 26 juni 2008)
- Gembong Tjitrosoepomo.1996. Morfologi Tumbuhan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Ika Mariska dan Endang G. Lestari.2003. Pemanfaatan kultur *in vitro* untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman nilam. *Jurnal litbang pertanian*, 22(2)
- Indah Parwati. 2003. Pengaruh Kombinasi Dan Frekuensi Pemberian Zat Penghambat Tumbuh

- Paclobutracol Terhadap Pertumbuhan Dan Penampilan Bunga Amaryllis (*Hippeastrum hybridum* Herb.) Pot. Fakultas pertanian Universitas Padjadjaran (tidak dipublikasikan)
- Livy Winata Gunawan.1987. Teknik Kultur Jaringan . Laboratorium Jaringan Tanaman . Pusat Antar Universitas Bioteknologi Bogor. Bogor.
- Livy Winata Gunawan.1992. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Depdikbud.Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Mangun. 2005. Nilam . Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nisa C. dan Rodinah. 2005. Kultur jaringan beberapa kultivar buah pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dengan pemberian campuran NAA dan Kinetin. Bioscientiae Volume 2, Nomor 2, Halaman 3-36. www.bioscientiae.tripod.com
- Nuryani, Emmyzar dan Wiratno.2005.Budidaya Tanaman Nilam. Badan penelitian dan pengembangan Pertanian, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika.Bogor. Sirkuler no. 12 www.balittro.go.id. (diakses 1 Maret 2007)
- Nuryani. 2004. Karakteristik minyak nilam hasil fusi protoplas antara nilam Aceh dengan nilam Jawa. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan obat. BuletinTRO xv No. 2
- Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands.
- Sri Winarsih, Djoko Santoso, dan Tatik Wardiyati. 2002. Embriogenesis Somatik dan Regenerasi dari Eksplan Embrio Zigotik Kakao (*Theobroma cacao* L.). www.pempropsu.go.id.
- Suseno Amien, Mira Ariyanti, Mohamad Arief, dan Dani Kurniawan. 2007. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Tiga Varietas Nilam (*Pogostemon Cablin* Benth.) dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D secara *In Vitro*. Zuriat. Indonesian Journal of Breeding. Vol.18 (2):179-192
- Untung S. dan Fatimah N. 2003.Kultur Jaringan Tanaman.UMM Press.Malang
- Wattimena . G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman Lab Kultur Jaringan. PAU Bioteknologi IPB.Bogor. 145 hal.
- Wetherell. D.F. 1976. Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro seri Kultur Jaringan Tanaman. University of Conecticut. Avery Publishing Group Inc.