

250 /
1071002
7

Buletin

ISSN 1410-4377

Plasma Nutfah

Volume 7 Nomor 2 Tahun 2001



**Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian**

Buletin

Plasma Nutfah

Volume 7 Nomor 2 Tahun 2001

Daftar Isi

Penanggung Jawab
Ketua Komisi Nasional Plasma Nutfah

Kusuma Diwyanto

Dewan Redaksi
Sugiono Moeljopawiro

Surahmat Kusumo

Maharani Hasanah

Subandriyo

Redaksi Pelaksana

Husni Kasim

Hermanto

Alamat Redaksi

Sekretariat Komisi Nasional

Plasma Nutfah

Jalan Merdeka 147 Bogor 16111

Telp/Faks. (0251) 327031

E-mail: genres@indo.net.id

Buletin ilmiah *Plasma Nutfah* diterbitkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian secara berkala, dua kali setahun, memuat tulisan hasil penelitian dan tinjauan ilmiah tentang eksplorasi, konservasi, karakterisasi, evaluasi, dan utilisasi plasma nutfah tanaman, ternak, ikan, dan mikroba yang belum pernah dipublikasi di media lain.

Karakter Morfologis Beberapa Nomor Plasma Nutfah Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.) pada Fase Bibit	1
..... <i>Sukarman, D. Rusmin, dan Maharani Hasanah</i>	
Penyimpanan Ubi Kayu secara <i>In Vitro</i> dengan Pertumbuhan Minimal	7
..... <i>Novianti Sunarlim dan Nani Zuraida</i>	
Sifat Fisik dan Komponen Kimia Minyak <u>Atsiri</u> Bunga Sedap Malam Berbunga Tunggal	13
..... <i>Murtiningsih dan Suyanti</i>	
Flowering, Botanical Seed Production, and Growth Status of Sweetpotato Germplasm at Two Different Agroclimatic Conditions	17
..... <i>Muhamad Djazuli</i>	
Karakteristik Beberapa Bahan Tanaman Obat Keluarga Zingiberaceae	25
..... <i>Mono Rahardjo</i>	
Penyimpanan <i>In Vitro</i> Tunas Nilam dengan Cara Menghambat Pertumbuhan	31
..... <i>Endang Gati L., Ika Mariska, Said Harran, dan Rita Megia</i>	
Karakterisasi Beberapa Sifat Genotipe Plasma Nutfah Pisang	39
..... <i>A. Sutanto, C. Hermanto, dan D. Harahap</i>	

Gambar sampul:
Jambu mete *Anacardium occidentale* L.



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian

Penyimpanan *In Vitro* Tunas Nilam dengan Cara Menghambat Pertumbuhan

Endang Gati L.¹, Ika Mariska¹, Said Harran², dan Rita Megia²

¹Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

²Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) is essential oil producing plant significant in the perfume industry. The maintenance of prime seed numbers requires high cost due to the necessity of monthly renewal. To cope with the problem, *in vitro* preservation would be the best alternative. Therefore, two number of plants (No. TT and 2A) resulted from somaclonal variation have been preserved *in vitro*. The explant used is the lateral shoot sized ± 3 mm. The experiment consisted of two kinds, the first measured treatment was: basic media (MS and MS 0.5), growth inhibitor paclobutrazol or ancymidol (0, 1, 2, 3, 4, and 5 mg/l) and shoot resulted from somaclonal variation (2A and TT (mother plant as control). Factorial experiment sampling with complete random environmental sampling was applied. While, the second experiment was paclobutrazol and ancymidol 5 mg/l + manitol (0, 3, and 4%) at the MS media 0.5. The first experiment of nilam TT or 2A preservation at the media MS (1.0 and 0.5) added with paclobutrazol 5 mg/l was able to keep the shoot until the second week without any abnormal growth. The second experiment showed that paclobutrazol combined with 3% manitol and the basic media MS 0.5 was the experiment with the optimum result. Until the 24th week, the shoots with this treatment still remain green and fresh. After six month preservation, the shoot grown at MS media added with BA 0.1 mg/l was capable of proliferating in the normal performance.

Key words: *Pogostemon cablin*, preservation, *in vitro*, growth inhibitor.

ABSTRAK

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang penting dalam industri parfum. Pemeliharaan nomor-nomor tanaman nilam hasil variasi somaklonal atau koleksi pemulia tanaman di kebun koleksi memerlukan biaya yang tinggi karena setiap beberapa bulan tanaman harus diperbaharui. Untuk mengatasi hal ini dapat dilakukan penyimpanan melalui *in vitro*. Telah dilakukan penyimpanan dua nomor tanaman (No. TT dan 2A) yang merupakan hasil variasi somaklonal. Eksplan yang digunakan adalah tunas lateral berukuran ± 3 mm. Percobaan terdiri dua macam. Pada percobaan pertama, perlakuan yang diuji adalah media dasar (MS dan MS 0,5), zat penghambat tumbuh paclobutrazol atau ancymidol (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/l) dan tunas hasil variasi somaklonal (2A) dan TT (tanaman induk

sebagai kontrol). Rancangan percobaan adalah faktorial dalam lingkungan acak lengkap. Pada percobaan kedua, perlakuan yang diuji adalah paclobutrazol dan ancymidol 5 mg/l + manitol (0, 3, dan 4%) pada media MS 0,5. Pada percobaan pertama, penyimpanan tunas nilam TT atau 2A pada media MS (1,0 dan 0,5) yang diberi paclobutrazol 5 mg/l dapat menyimpan tunas sampai minggu ke-2 tanpa menyebabkan pertumbuhan abnormal. Hasil percobaan kedua menunjukkan bahwa paclobutrazol 5 mg/l yang dikombinasikan dengan manitol 3% dan media dasar MS 0,5 merupakan perlakuan yang optimal. Sampai minggu ke-24, tunas pada perlakuan tersebut masih berwarna hijau dan tegar. Setelah disimpan selama enam bulan, tunas yang ditumbuhkan pada media MS yang diberi BA 0,1 mg/l tetap mampu berproliferasi dan tampak normal.

Kata kunci: *Pogostemon cablin*, penyimpanan, *in vitro*, zat penghambat tumbuh.

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang potensial dikembangkan sebagai komoditas ekspor. Indonesia adalah pemasok utama nilam di pasar dunia. Selain untuk bahan pewangi, minyak nilam juga dapat digunakan sebagai bahan campuran minyak pewangi.

Keragaman nilam sangat sempit karena tanaman tidak berbunga, sehingga dengan persilangan konvensional sulit dihasilkan varietas baru dengan sifat-sifat yang diinginkan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik nilam adalah melalui kultur *in vitro*, antara lain dengan cara keragaman somaklonal.

Klon-klon hasil eksplorasi dan nomor-nomor harapan hasil variasi somaklonal harus dipelihara supaya dapat digunakan sewaktu-waktu. Upaya pelestarian plasma nutfah melalui kultur *in vitro* sudah lama diterapkan di negara-negara maju mengingat pentingnya plasma nutfah di masa mendatang, terutama untuk spesies yang bijinya bersifat rekalsitran dan untuk tanaman yang perbanyakannya hanya secara vegetatif (Grout, 1995).

Penyimpanan biakan secara *in vitro* dihadapkan pada beberapa kendala, antara lain memerlukan biaya cukup tinggi, tenaga yang terampil, dan perlu analisis kestabilan genetik pada materi yang disimpan dalam periode tertentu (Ashmore, 1997). Selain itu, kegiatan ini dihadapkan pada risiko kematian atau kehilangan genotipe yang disebabkan oleh gangguan tenaga listrik, kerusakan alat, dan kendala lainnya. Oleh sebab itu, kebun koleksi plasma nutfah masih tetap diperlukan, terutama untuk tanaman tahunan (Mariska *et al.*, 1996).

Salah satu cara penyimpanan nilam secara *in vitro* adalah melalui pertumbuhan minimal (pertumbuhan lambat). Dengan cara ini, biakan dikulturkan pada kondisi suboptimal dan diupayakan biakan tetap hidup, tetapi proses pembelahan selnya sangat lambat (Reed, 1989). Dengan menekan pertumbuhan dapat dicegah perubahan DNA atau endomitosis, karena salah satu penyebab terjadinya mutasi adalah pembelahan sel secara terus-menerus.

Untuk penyimpanan pertumbuhan lambat dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain:

1. Mengurangi atau menghilangkan beberapa faktor esensial untuk pertumbuhan normal seperti pengenceran media dasar dan mengurangi konsentrasi zat pengatur tumbuh (Lloyd dan Jackson, 1986; Oka dan Niino, 1997; Desbrunais *et al.*, 1992).
2. Memberikan tekanan osmotik dengan menambahkan bahan seperti manitol atau sukrosa untuk menghambat pembelahan sel. Dengan adanya bahan osmotik maka potensial osmotik media menjadi lebih tinggi dan menyebabkan penyerapan unsur hara menjadi lambat.
3. Menambahkan inhibitor absisic acid dan zat penghambat tumbuh (retardan) ancymidol, cycocel atau paclobutrazol untuk menghambat pembelahan sel dan pemanjangan sel (Withers, 1983; Lloyd dan Jackson, 1986; Oka dan Niino, 1997; Setia *et al.*, 1996).

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan metode penyimpanan pertumbuhan minimal klon harapan hasil variasi somaklonal dan nomor TT nilam Aceh untuk jangka waktu relatif lama. Jika metode penyimpanan secara *in vitro* telah diperoleh maka dapat diaplikasikan untuk penyimpanan berbagai klon-klon nilam lainnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kelti Reproduksi dan Pertumbuhan Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor, mulai Januari hingga Juni 1999. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah klon-klon harapan (nomor 2A hasil variasi somaklonal) dan nomor TT nilam Aceh yang digunakan sebagai pohon induk pada penelitian variasi somaklonal (Mariska *et al.*, 1996). Klon-klon tersebut telah dikulturkan secara *in vitro* pada media MS diberi BA 0,1 mg/l. Percobaan terdiri dua tahap.

Percobaan Pertama

Percobaan bertujuan untuk mengetahui pengaruh media dasar yang dikombinasikan dengan zat penghambat tumbuh paclobutrazol atau ancymidol terhadap pertumbuhan tunas. Sebagai perlakuan adalah: (1) media dasar (MS dan MS 0,5), MS 0,5 berarti kandungan garam makronya diencerkan 0,5 dari konsentrasi baku, (2) zat penghambat tumbuh paclobutrazol atau ancymidol (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/l), dan (3) tanaman hasil variasi somaklonal (2A) dan TT.

Percobaan menggunakan rancangan faktorial dalam acak lengkap. Masing-masing perlakuan terdiri atas lima botol, pada setiap botol ditanam dua eksplan. Eksplan yang digunakan adalah tunas lateral berukuran 1-3 mm, diisolasi secara aseptik dari tunas *in vitro*. Eksplan ditanam pada botol kultur kecil berdiameter 3,5 dan tinggi 8,5 cm.

Percobaan Kedua

Percobaan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian paclobutrazol atau ancymidol yang dikombinasikan dengan manitol terhadap pertumbuhan tunas. Perlakuan yang diuji adalah paclobutrazol dan ancymidol 5 mg/l ditambah manitol (0, 3, dan 4%) pada media dasar MS 0,5. Percobaan ditata dengan rancangan acak lengkap, masing-masing perlakuan terdiri atas lima botol, pada setiap botol ditanam dua eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan Pertama

Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan berupa tunas lateral berukuran 3 mm yang ditanam pada media perlakuan sudah mulai tumbuh dan menghasilkan tunas baru pada minggu ke-2 setelah tanam. Dari kedua zat penghambat tumbuh yang digunakan, perlakuan ancymidol (ancym) lebih nyata menghambat pertumbuhan tunas dibandingkan dengan perlakuan paclobutrazol (paclo).

Analisis pada kultur yang berumur 12 minggu menunjukkan adanya pengaruh interaksi dari nomor tanaman (2A dan TT), media dasar (MS 1 dan ½), dan zat penghambat tumbuh (paclo dan ancym) terhadap pertumbuhan tunas (Tabel 1). Dari ketiga faktor tersebut, terutama untuk nomor 2A, antara paclo dengan media dasar MS maupun MS 0,5 umumnya menghasilkan tunas yang lebih banyak dibanding pengaruh interaksi antara ancymidol dengan No TT atau 2A dan media MS atau MS ½.

Sampai minggu ke-12, penghambatan multiplikasi tunas yang nyata terutama didapatkan dari perlakuan ancym 3, 4, dan 5 mg/l. Hingga konsentrasi 5 mg/l, ancym belum mampu menghambat

multiplikasi tunas, kecuali untuk tinggi tunas. Untuk menghambat tunas nilam diperlukan paclobutrazol dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibanding ancymidol. Hal ini kemungkinan karena translokasi ancymidol lebih cepat dibanding paclobutrazol sehingga pada konsentrasi yang rendah sudah mampu menghambat pertumbuhan.

Pengaruh ancymidol dalam pembentukan tunas nilam dapat disebabkan oleh terhambatnya sintesis giberelin dalam tanaman yang berperan dalam merangsang perpanjangan tunas, pembelahan sel, dan menghilangkan dormansi pada tunas. Dengan terhambatnya sintesis giberelin maka tunas menjadi dorman dan pembelahan serta pemanjangan sel menjadi terhambat. Dampak selanjutnya adalah terhambatnya pembentukan tunas baru.

Sampai minggu ke-16, tunas sudah memenuhi botol, sehingga untuk menghitung jumlahnya tidak dapat dilakukan dari luar botol. Oleh karena itu, dilakukan penimbangan bahan tanaman segar dari setiap botol. Cara pengamatan yang sama dilakukan oleh Teng (1997) pada regenerasi tunas *Anthurium*. Pada penelitian ini tidak dilakukan penimbangan pada bobot kering tanaman karena tunas masih diperlukan untuk uji kemampuan regenerasinya.

Tabel 1. Rata-rata jumlah tunas nilam pengaruh interaksi antara nomor tanaman, media dasar, dan zat penghambat tumbuh, pada minggu ke-12.

Perlakuan (mg/l)	No. TT		No. 2A	
	MS 0,5	MS	MS 0,5	MS
Paclobutrazol				
0	1,94 lmnop	2,86 efghij	3,03 bcdefgh	3,28 abcdef
1	2,62 ghijk	3,51 ab	3,69 a	3,47 abc
2	2,59 ghijk	3,46 abc	3,46 abc	3,41 abcd
3	2,73 efghij	3,36 abcde	2,87 efghi	3,08 bcdefg
4	1,98 lmnop	2,92 cdefgh	2,64 ghijk	1,93 lmnop
5	2,45 hijkl	2,88 defghi	2,33 ijklm	3,07 bcdefg
Ancymidol				
0	1,54 opqrs	1,77 mnopqr	1,40 pqrs	1,83 mnopqr
1	2,29 jklmn	1,99 lmnopqr	1,31 rs	2,90 defghi
2	2,10 klmno	1,75 mnopqr	1,58 opqrs	1,92 lmnopq
3	1,75 mnopqr	1,68 opqr	1,58 opqrs	1,06 s
4	1,33 qrs	1,59 opqrs	1,73 nopwrs	1,42 pqrs
5	1,72 nopqr	1,59 opqrs	1,91 lmnopqr	1,31 rs

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,01 DMRT.

Analisis terhadap berat tunas menunjukkan adanya pengaruh interaksi yang nyata antara perlakuan media dasar dengan zat penghambat tumbuh, sedangkan antara nomor tanaman (TT dan 2A) dengan zat penghambat tumbuh tidak berbeda nyata, demikian pula pada ketiga perlakuan yang diuji.

Pada perlakuan pengaruh interaksi antara MS 0,5 ancymidol dengan konsentrasi 1, 2, dan 3 mg/l, biakan lebih ringan dibanding pengaruh interaksi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pengenceran media dasar dan diberi retardan ancymidol dapat memperlambat pertumbuhan tunas (Tabel 2).

Pengaruh interaksi zat penghambat tumbuh paclo dengan media dasar MS maupun MS 0,5 pada umumnya menghasilkan biakan lebih berat dibanding perlakuan media dasar MS dengan ancym, terutama pada konsentrasi rendah. Hal ini menunjukkan bahwa ancym memberikan penghambatan yang lebih kuat dibanding paclo. Secara visual terlihat bahwa pada perlakuan MS + ancym 4 mg/l menghasilkan tunas yang sangat pendek dan akar yang tebal (Gambar 1), sehingga biakan yang dihasilkan menjadi lebih berat.

Pertumbuhan tunas pada kultur yang berumur 12 minggu dipengaruhi oleh interaksi ketiga faktor dan dengan adanya zat penghambat tumbuh menyebabkan tunas yang dihasilkan lebih pendek dibanding kontrol. Penghambatan tinggi tunas paling nyata didapatkan dari interaksi antara ancym 5 mg/l dengan media dasar MS 0,5 pada nomor TT.

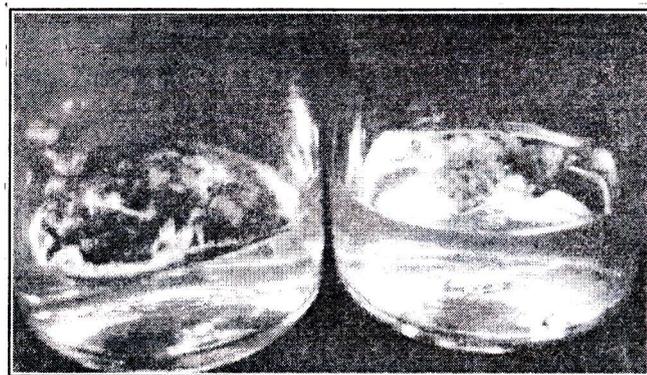
Pemberian ancym, terutama dengan konsentrasi tinggi (3, 4, dan 5 mg/l) umumnya nyata menghambat tinggi tunas dibanding paclo. Pada beberapa tanaman, perlakuan ancym lebih nyata menghambat tinggi tunas (Tabel 3). Pada penyimpanan pule pandak, tunas terpendek didapatkan dari pemberian ancym 1 mg/l yang dikombinasi dengan media dasar 0,5 Monnier, yaitu 0,80 cm (Purnamaningsih dan Gati, 1997). Pada tanaman pulasari, pemakaian ancym 0,5 mg/l dapat menghambat pertumbuhan dan pemanjangan tunas. Demikian pula pada penelitian Reuveni dan Golubowicz (1993) dalam penyimpanan tanaman pisang menggunakan paclo dan ancym dengan konsentrasi yang sama. Dengan demikian, ancym lebih kuat dalam menghambat tinggi tunas.

Pengamatan secara visual menunjukkan bahwa zat penghambat tumbuh menyebabkan batang nilam lebih tebal. Hal ini menunjukkan adanya tanggapan positif dari tunas terhadap zat penghambat yang diberikan. Paclo atau ancym dikenal sebagai senyawa pengerdil tanaman dan mempunyai aktivitas menghambat pemanjangan batang (Wang *et al.*, 1986).

Tabel 2. Rata-rata berat segar tunas nilam (g/botol) pada minggu ke-16, pengaruh interaksi media dasar dengan zat penghambat tumbuh.

Zat penghambat tumbuh (mg/l)	MS 0,5	MS
Paclobutrazol		
0	1,83 defg	2,89 abc
1	2,72 abcd	2,89 abc
2	3,1 ab	3,63 a
3	1,9 cdefg	3,48 ab
4	2,6 abcde	1,72 efg
5	1,3 fgh	2,66 abcde
Ancymidol		
0	1,36 fgh	1,45 fgh
1	0,62 h	3,29 ab
2	0,92 h	1,52 fgh
3	0,67 h	1,44 fgh
4	2,51 bcde	3,48 ab
5	1,9 cdef	3,48 ab

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 DMRT.



Gambar 1. Kondisi tunas pada minggu ke-8, terbentuk kalus dan akar yang tebal pada perlakuan ancym 4 mg/l.

Tabel 3. Rata-rata tinggi tunas (cm), pengaruh dan interaksi antarnomor tanaman media dasar dan zat penghambat tumbuh, umur 12 minggu.

Perlakuan (mg/l)	No. TT		No. 2A	
	MS 1/2	MS	MS 1/2	MS
Paclobutrazol				
0	2,02 a	1,97 ab	1,93 abc	1,96 ab
1	1,79 bcde	1,66 def	1,78 bcde	1,72 cdef
2	1,94 ab	1,85 abcd	1,71 cdef	1,70 def
3	1,94 ab	1,53 fg	1,30 hij	1,57 efg
4	1,21 ijkl	1,29 hij	1,44 gh	0,98 opq
5	1,05 lmnp	1,06 klmnp	0,90 opq	0,82 q
Ancymidol				
0	1,78 bcde	1,78 bcde	1,39 ghi	1,77 bcde
1	1,11 klmnp	1,04 klmnp	1,15 jklm	1,21 ijkl
2	0,99 lmnpq	1,04 klmnp	1,17 jklm	1,22 ijkl
3	0,86 pq	0,89 opq	1,05 klmnp	1,05 klmnp
4	1,44 gh	0,93 opq	1,23 ijk	1,14 jklmn
5	0,78 q	0,93 opq	0,86 pq	0,83 pq

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,01 DMRT.

Hasil tranformasi akar kuadrat dari tunas + 0,5.

Senyawa tersebut menghambat pembelahan sel pada tunas bagian terminal, tetapi sedikit sekali pengaruhnya terhadap penghambatan pembentukan daun pada pucuk yang sedang tumbuh, sehingga daun yang terbentuk tetap banyak dan menggerombol pada pucuk. Hal yang sama diperoleh pada tanaman pule pandak (Purnamaningsih dan Gati, 1997) dan kentang (Hoden, 1989). Paclo menghambat oksidasi prekursor GA, yaitu *ent kaurene* menjadi *ent kaurenoic acid*, kemudian menghambat biosintesis giberelic (GA_1) (Mehouachi *et al.*, 1996). Tanggapan yang dapat dilihat secara morfologi adalah adanya pemendekan ruas antarbuku.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa pemberian paclo dan ancym umumnya menghasilkan daun dan batang yang lebih hijau dan tunas yang lebih tegar, karena zat penghambat dapat meningkatkan kandungan klorofil pada daun (Wang *et al.*, 1986; Pinhero dan Fletcher, 1994). Hal yang sama didapatkan pada perbanyakan inggu, di mana pemberian paclo 0,1-0,5 mg/l dapat menghilangkan gejala vitrifikasi, menghasilkan tunas lebih hijau dan lebih tegar (Husni *et al.*, 1994). Pada tanaman jahe, untuk mendapatkan planlet yang tegar juga dapat digunakan paclo (Mattjik *et al.*, 1994).

Adanya zat penghambat tumbuh paclo dan ancym juga mengakibatkan diameter batang lebih besar. Penebalan diameter batang disebabkan oleh

terhambatnya perpanjangan ruas pada batang, atau adanya peningkatan volume sel parenkim di daerah korteks serta meningkatnya kandungan karbohidrat dalam kayu di daerah kambium (Wang *et al.*, 1986).

Pemberian ancym menghasilkan penghambatan yang nyata terhadap multiplikasi dan pertumbuhan tunas dibanding perlakuan paclo, tetapi tunas yang dihasilkan cepat berubah warna menjadi kuning kecoklatan. Kultur pada minggu ke-16 dari perlakuan paclo 4 mg dan 5 mg/l masih tampak hijau, walaupun beberapa daun berubah warna menjadi agak kuning. Jika dibandingkan dengan perlakuan ancym maka perlakuan ini lebih baik untuk pertumbuhan tunas.

Pada media perlakuan umumnya dihasilkan akar. Pada perlakuan paclo dan ancym dengan media MS 0,5, akar yang dihasilkan umumnya lebih banyak dibanding jika menggunakan media MS penuh. Pada perlakuan ancym atau paclo dengan konsentrasi 4 mg dan 5 mg/l yang dikombinasikan dengan MS 0,5, akar yang dihasilkan cukup banyak, berkisar antara 18-25 pada nomor TT. Pada nomor 2A, akar yang dihasilkan berkisar antara 5-21. Dengan demikian, walaupun multiplikasi dan tinggi tunas pada perlakuan tersebut terhambat, tetapi akar tetap terbentuk sehingga planlet yang dihasilkan dapat diaklimatisasi sewaktu-waktu jika diperlukan.

Pada penyimpanan biakan secara *in vitro* diharapkan adanya penghambatan terhadap multiplikasi dan pemanjangan tunas tanpa menyebabkan kematian sehingga dapat memperpanjang waktu subkultur.

Hasil percobaan pertama menunjukkan, perlakuan paclo tidak dapat menghambat multiplikasi dan pemanjangan tunas secara optimal. Penghambatan yang nyata dihasilkan dari perlakuan ancym. Namun pengamatan secara kualitatif menunjukkan bahwa tunas yang dihasilkan pada perlakuan ancym cepat berubah warna menjadi coklat. Pada pangkal tunas terbentuk kalus besar dan akar yang tebal.

Percobaan Kedua

Untuk lebih memperpanjang masa simpan, maka pada percobaan kedua dicoba kombinasi perlakuan paclo (secara visual tunas yang disimpan lebih baik) dengan manitol. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh interaksi antara nomor TT atau 2A dengan zat penghambat tumbuh. Jumlah tunas paling banyak berasal dari hasil interaksi antara nomor TT dengan manitol 40%. Perlakuan ancymidol, baik pada nomor TT maupun 2A dan yang tidak atau dikombinasikan dengan manitol, tidak dapat membentuk tunas. Pada perlakuan ini hanya terbentuk nodul-nodul calon tunas yang tidak dapat berdiferensiasi.

Perlakuan manitol atau kombinasi dengan paclo pada nomor TT tidak menghambat multiplikasi tunas. Berbeda dengan nomor 2A, kombinasi paclo dan manitol menghambat proses multiplikasi tunas. Dengan demikian nomor TT lebih kuat daya multiplikasi tunasnya dibandingkan nomor 2A.

Pada pertumbuhan tunas ke arah pemanjangan terdapat pengaruh interaksi antara nomor TT atau 2A dengan zat penghambat tumbuh. Pada perlakuan interaksi zat penghambat tumbuh dan manitol dengan nomor 2A tidak ada biakan yang membentuk tunas (Tabel 4). Pada nomor 2A, hasil interaksi antara ancym 5 mg/l dengan manitol (0, 3, dan 4%) tidak berbeda nyata dengan perlakuan interaksi nomor TT dengan ancym dan manitol (0, 3, dan 4 mg/l). Demikian pula nomor TT dengan paclo 3 mg/l + manitol 4%, terlihat adanya nodul calon tunas yang sangat lambat pertumbuhannya.

Perlakuan kombinasi paclo dan manitol pada nomor TT tidak dapat menghambat multiplikasi tunas. Penghambatan hanya untuk pertumbuhan ke arah pemanjangan. Pada nomor 2A, perlakuan kombinasi paclo 5 mg/l dan manitol 3% dapat menghambat multiplikasi dan tinggi tunas (Tabel 5).

Pada perlakuan paclo 5 mg/l + manitol 3%, tunas yang dihasilkan lebih tegar dan hijau dibanding perlakuan ancym + manitol. Dengan perlakuan tersebut, tunas yang dihasilkan cepat berubah warna menjadi coklat dan pertumbuhannya tertekan. Sampai minggu ke-24, tunas pada perlakuan paclobutrazol 5 mg/l + manitol 3% masih tampak tegar.

Dengan demikian, pada penyimpanan secara *in vitro*, penggunaan retardan atau manitol tidak hanya dapat menghambat biakan dengan daya aktivitas yang sangat kuat, tetapi dapat pula memperpanjang masa simpan tunas tanpa menyebabkan pertumbuhannya menjadi abnormal (tunas menjadi layu dan menguning).

Tabel 4. Rata-rata jumlah tunas (minggu ke-12) akibat pengaruh interaksi zat penghambat tumbuh, manitol, dan nomor tanaman.

Perlakuan pada media dasar MS 0,5	Nomor TT	Nomor 2A	Penampakan visual
Manitol 3%	9,1 b	8,8 b	Daun kecil-kecil, batang langsing
Manitol 4%	16,7 a	9,8 b	Daun kecil-kecil, batang langsing
Paclo 5 mg/l	7,0 b	6,3 b	Daun normal
Paclo + manitol 3%	8,8 b	0,2 cd	Daun agak kecil, batang tegar
Paclo + manitol 4%	6,9 b	0 d	Daun agak kecil, batang tegar (No. TT)
Ancym 5 mg/l	0 d	0 d	Terbentuk kalus berwarna coklat
Ancym + manitol 3%	0 d	0 d	Terbentuk kalus berwarna coklat
Ancym + manitol 4%	0 d	0 d	Terbentuk kalus berwarna coklat

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,01 DMRT.

Tabel 5. Rata-rata tinggi (cm) tunas (minggu ke-12) akibat pengaruh interaksi zat penghambat tumbuh, manitol, dan nomor tanaman.

Perlakuan	Nomor TT	Nomor 2 A
Manitol 3%	0,3 de	0,6 c
Manitol 4%	0,5 cd	0,5 cd
Paclo 5 mg/l	4,8 a	3,1 b
Paclo + manitol 3%	0,2 ef	0,1 fg
Paclo + manitol 4%	0,1 fg	0 g
Ancym 5 mg/l	0,1 g	0 g
Ancym + manitol 3%	0 g	0 g
Ancym + manitol 4%	0 g	0 g

Angka selanjur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,01 DMRT.

KESIMPULAN

- Tunas nilam nomor TT atau 2A yang disimpan pada media MS 0,5 (1; 0,5) yang diberi paclo 5 mg/l dapat bertahan sampai minggu ke-12 tanpa menghambat proliferasi tunas. Pada konsentrasi yang sama, ancymidol lebih menekan pertumbuhan biakan, tetapi warna tunas berubah menjadi kuning kecoklatan.
- Perlakuan ancymidol, baik tunggal maupun dikombinasikan dengan manitol pada nomor TT atau 2A, sangat kuat menekan pertumbuhan tunas, berbeda dengan paclo yang tidak menekan pertumbuhan tunas dan secara visual biakannya lebih tegar dan tetap hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashmore, S.E. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. IPGRI, Rome Italy. 67 p.
- Desbrunais, A.B., M. Noirot, and A. Charrier. 1992. Slow growth *in vitro* conservation of coffee (*Coffea* spp.). *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 31:105-110.
- Grout, B. 1995. Minimal growth storage. In B. Grout (Ed.). *Genetic Preservation of Plant Cells In Vitro*. Springer. p. 21-26.
- Hoden, S. 1989. Pengaruh paclobutrazol, jenis dan letak eksplan terhadap pertumbuhan minimal tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L) secara *in vitro*. Karya Ilmiah Jurusan Budi Daya Pertanian. IPB. Bogor. (tidak dipublikasi).
- Husni, A. E. Gati, dan I. Mariska. 1994. Perbanyakkan klonal tanaman obat langka inggu melalui kultur jaringan. *Dalam* Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi LIPI. Bogor, 6-7 September 1994.
- Lloyd, B.F and M. Jackson. 1986. *Plant genetic resources. An introduction to their conservation and use.* Dept Plant Biology Univ Birmingham. Edward Arnold. 146 p.
- Mariska, I., Suwarno, dan D.S. Damardjati. 1996. Pengembangan konservasi *in vitro* sebagai salah satu bentuk pelestarian plasma nutfah dalam bank gen. Makalah Seminar Sehari Penyusunan Konsep Pelestarian *Ex Situ* Plasma Nutfah Pertanian. Komisi Nasional Plasma Nutfah. Bogor, 18 Desember 1996.
- Mattjik, N.A., E. Prasetyo, dan J. Wiroatmodjo. 1994. Penggunaan retardan pada kultur *in vitro*. *Zingiber officinale* Rosc. untuk memperoleh ketegaran planlet. *Dalam* Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi LIPI. Bogor, 6-7 September 1994.
- Mehouachi, J. F.R. Tadeo, S. Zaragoza, E.Rrimo-Millo, and M.Taba. 1996. Effect of gibberelic acid and paclobutrazol on growth and carbohydrate accumulation in shoots and roots of citrus rootstock seedling. *Hort Sci.* 71(5):747-754.
- Oka, S. and T. Niino. 1997. Long term storage of pear (*Pyrus* spp.) shoot culture *in vitro* by minimal growth method. *Japan Agricultural Research Quarterly* (JARQ) 31:1-7.
- Pinhero, R.G. and R.A. Fletcher. 1994. Paclobutrazol and ancymidol protect corn seedling from high and low temperature stresses. *Plant Growth Reg.* 15:47-53.
- Purnamaningsih, R dan E. Gati. 1997. Penyimpanan dan regenerasi pule pandak melalui kultur *in vitro*. *Dalam* S. Moelfjopawiro *et al.* (Eds.). *Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia.* Surabaya, 12-14 Maret 1997.

- Reed, S.M. 1989. *In vitro* conservation of germplasm. In H.T. Stalker and C. Chapman (Eds.). Scientific Management of Germplasm: Characterization, Evaluation, and Enhancement. IPBGR. North Carolina State Univ.
- Reuveni, O and S. Golubowicz. 1993. Response of *in vitro* banana plantlets to plant growth retardants. In Proceedings International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology. Taiwan Banana Research Institute.
- Setia, R.C., P. Kaur, N. Setia, and Anuradha. 1996. Influence of paclobutrazol on growth and development of fruit in *Brassica juncea* (L.) Czern and Coss. Plant Growth Regulator 20:307-316.
- Teng, W.L. 1997. Regeneration of *Anthurium* adventitious shoots using liquid or raft culture. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 49:153-156.
- Wang, C.Y., G.L. Steffens, and M. Fraust. 1986. Effect of paclobutrazol on accumulation carbohydrates in Aple wood. Hort. Sci. 21(6):1414-1421.
- Withers, L.A. 1983. Cryopreservation and storage of germplasm. In R.A. Dixon (Ed.). Plant Cell Culture: A Practical Approach. IRL Press Washington D.C. p. 169-190.