

Perbanyak Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Menggunakan Sistem Fotoautotrofik dengan Berbagai Konsentrasi Gula dan Jumlah Ventilasi

*Propagation of Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) Using Photoautotroph System with Various Concentrations of Sugar and Number of Ventilations*

Inda Hidayati Rachmani¹, Arifah Rahayu^{1*}, dan Sulassih²

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda Bogor
Jl. Tol Ciawi No. 1, Kota Bogor, Jawa Barat 16720, Indonesia

²Program Studi Teknologi Industri Benih, Sekolah Vokasi, Institut Pertanian Bogor (IPB University)
Jl. Kumbang No.14, Kota Bogor, Jawa Barat 16128, Indonesia

Diterima 10 Mei 2021/Disetujui 20 Agustus 2021

ABSTRACT

Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) is a plant that produces essential oils. *In vitro* propagation of patchouli has been carried out as an effort to meet market demand. Photoautotrophic conditions with appropriate sugar concentration and number of ventilations is needed to get the best seedling growth. This research was conducted from June to September 2020 using a randomized complete block design with two factors. The first factor was sugar concentration (10, 20, and 30 g L⁻¹) and the second factor was number of vents (0, 2, and 4 holes). The results showed that the interaction of sugar concentration and number of ventilation treatments affected to number of callus explants and number of leaves patchouli plant at 6 week after treatment. The best treatment for patchouli plant multiplication was 20 g L⁻¹ of sugar without ventilation which increase number of leaves by 9-61% and number of nodes by 20% at 6 WAT (weeks after treatment) as compared to other treatments. Application of two holes ventilation increased number of roots by 10-20%, number and density of stomata 28-57% at 6 WAT compared to other treatments. Increased number of roots, number and density of stomata in explants grown in photoautotrophic systems *in vitro* showed the ability to integrate environment and was thought to be more adapted to acclimatization for seedling production.

Keywords: acclimatization, *in vitro*, photosynthesis, rooting, stomata

ABSTRAK

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan tanaman perkebunan penghasil minyak atsiri. Perbanyak nilam secara *in vitro* dilakukan sebagai upaya memenuhi permintaan pasar. Penggunaan sistem fotoautotrofik pada kultur *in vitro* dilakukan melalui pengaturan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi untuk mendapatkan pertumbuhan bibit terbaik. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai September 2020. Bahan tanaman yang digunakan berupa planlet steril nilam varietas Tapak Tuan koleksi BALITTRO. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan kelompok Lengkap Teracak dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi gula (10, 20, dan 30 g L⁻¹) dan faktor kedua adalah jumlah ventilasi (0, 2, dan 4 lubang). Hasil penelitian menunjukkan interaksi antara perlakuan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi berpengaruh terhadap jumlah eksplan berkalus dan jumlah daun tanaman nilam. Hasil terbaik dalam multiplikasi tanaman nilam menggunakan media penambahan 20 g L⁻¹ gula tanpa ventilasi yang meningkatkan jumlah daun sebanyak 9-61% dan jumlah buku sebanyak 20% pada 6 MSP (minggu setelah perlakuan) dibandingkan perlakuan lainnya. Pemberian ventilasi 2 lubang meningkatkan jumlah akar 10-20%, jumlah dan kerapatan stomata 28-57% pada 6 MSP dibandingkan perlakuan lainnya. Peningkatan jumlah akar, jumlah dan kerapatan stomata pada eksplan yang tumbuh dalam sistem fotoautotrofik secara *in vitro* menunjukkan kemampuan untuk mengintegrasikan lingkungan dan diduga lebih mampu bertahan pada aklimatisasi untuk produksi bibit.

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: arifah.rahayu@unida.ac.id

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan tanaman perkebunan penghasil minyak atsiri. Produksi nilam mencapai rata-rata 2,100 ton pada tahun 2015-2019 (BPS, 2019), sehingga Indonesia mampu memenuhi 80-90% kebutuhan pasar dunia (Rosiana *et al.*, 2017). Upaya memenuhi permintaan pasar, memerlukan ketersediaan bibit nilam. Perbanyak bibit nilam selama ini diperoleh dari hasil perbanyak benih secara setek. Hal ini membuat bibit nilam mudah terinfeksi patogen dan membutuhkan waktu yang relatif lama untuk diperbanyak (Amalia dan Hadipoentiyanti, 2018). Perbanyak melalui teknik kultur jaringan (*in vitro*) menjadi alternatif untuk memperoleh bibit nilam dalam jumlah massal yang sehat, efektif dan efisien (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2012). Kultur jaringan dapat menjamin pasokan bibit nilam yang stabil untuk industri wewangian dan farmasi (Inampudi *et al.*, 2017).

Perbanyak secara *in vitro* merupakan kondisi heterotrofik yaitu planlet belum mampu berfotosintesis secara optimal, jaringan pembuluh antara akar dan pucuk, dan lapisan kutikula belum berkembang, serta stomata yang belum berfungsi dengan baik. Kondisi tersebut menyebabkan rendahnya persentase hidup setelah dilakukan aklimatisasi pada lingkungan *ex vitro* atau kondisi autotrofik (Suminar *et al.*, 2016). Sistem fotoautotrofik dengan menggunakan gula berkonsentrasi rendah dan ventilasi dapat diterapkan untuk mengurangi rendahnya persentase daya hidup planlet setelah aklimatisasi (Rahayu, 2015). Penggunaan ventilasi dapat mengurangi RH yang tinggi di dalam botol kultur (95-100%), kondisi RH yang tinggi menyebabkan hiperhidrisitas pada tanaman. Hiperhidrisitas merupakan gejala kelainan fisiologi dan morfologi pada tanaman yang menghambat proses regenerasi planlet. Hiperhidrisitas juga mengakibatkan rendahnya kadar klorofil pada planlet, tingginya kadar air di planlet, dan kelainan anatomi tubuh struktur daun (Zen *et al.*, 2016).

Hasil penelitian pada planlet *Solanum tuberosum*, penggunaan gula berkonsentrasi rendah dan ventilasi dapat meningkatkan jumlah kloroplas, kerapatan stomata, dan penyempitan diameter stomata pada daun. Hal ini mampu meningkatkan persentase daya hidup planlet pada saat tahap aklimatisasi (Rai *et al.*, 2015). Hasil penelitian pada planlet *Carica papaya* juga menunjukkan bahwa pada hari ke-17, kombinasi konsentrasi gula rendah dan IBA pada media dengan pemberian ventilasi mampu meningkatkan pembentukan akar dibandingkan perlakuan lainnya pada tahap *in vitro* (Perez *et al.*, 2015). Perbanyak tanaman nilam dalam lingkungan fotoautotrofik secara *in vitro* perlu dilakukan untuk menekan rendahnya persentase daya hidup di lingkungan *ex vitro* dalam produksi bibit secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh sistem fotoautotrofik pada teknik kultur *in vitro* dengan pengaruh kadar gula dan jumlah ventilasi terhadap pertumbuhan tanaman nilam.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-September 2020, di Laboratorium Kultur Jaringan, Sekolah Vokasi IPB, Jl. Kumbang No. 14 Bogor dan Laboratorium Bioteknologi Universitas Djuanda Bogor, Jl. Ciawi No. 1 Bogor. Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah planlet steril tanaman nilam varietas Tapak Tuan koleksi Unit Pengelolaan Benih Unggul Pertanian Bogor, BALITTRO.

Pembuatan media dan Penanaman Eksplan

Pembuatan media Murashige and Skoog (Gunawan, 1992) menggunakan larutan stok yang terdiri atas hara makro, mikro A, mikro B, vitamin, Ca, Fe dan myo inositol sesuai dengan komposisi media ditambah dengan gula sesuai masing-masing perlakuan, yaitu 10, 20, dan 30 g L⁻¹ dan agar jenis agarose 8 g L⁻¹. Sebanyak 4 eksplan buku tunggal dengan mata tunas aksilar berumur 9 minggu ditanam di dalam botol kultur pada media MS0 dengan berbagai konsentrasi gula sesuai dengan perlakuan yaitu 10, 20 atau 30 g L⁻¹. Botol ditutup dengan plastik yang sudah diberi lubang menggunakan pelubang kertas dengan ukuran diameter lubang 7 mm. Jumlah lubang pada plastik sesuai dengan perlakuan yaitu 0, 2 atau 4 lubang. Botol yang sudah ditutup dengan plastik diberi *micropore tape* pada lubang tersebut dan disimpan dalam ruang inkubasi.

Metode penelitian yang digunakan adalah rancangan kelompok lengkap teracak (RKLK), dengan dua faktor, yaitu konsentrasi gula dan jumlah ventilasi yang dikelompokkan berdasarkan waktu penanaman. Faktor konsentrasi gula terdiri atas tiga taraf yaitu G0 = 10 g L⁻¹, G2 = 20 g L⁻¹ dan G3 = 30 g L⁻¹ sedangkan jumlah ventilasi terdiri atas tiga taraf yaitu V0 = 0 lubang, V2 = 2 lubang dan V4 = 4 lubang, sehingga terdapat 9 kombinasi perlakuan. Percobaan menggunakan bahan tanam buku tunggal dengan 10 ulangan. Jumlah satuan percobaan adalah 90 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri atas 4 eksplan sebagai satuan amatan pada kondisi *in vitro*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance* (ANOVA). Perlakuan yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda dari Duncan (DMRT) pada taraf α 5%.

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan kuantitatif serta uji morfologi stomata pada tahap *in vitro*. Peubah yang diamati adalah jumlah eksplan berkalus, jumlah daun, jumlah buku, jumlah akar, waktu munculnya tunas dan akar yang dihitung saat eksplan berumur 1-6 MSP (minggu setelah perlakuan). Persentase kontaminasi dan persentase eksplan hidup diamati setiap hari selama 6 minggu. Panjang akar, tinggi tanaman dan uji morfologi stomata dilakukan pada eksplan berumur 6 MSP. Analisis morfologi stomata dimulai dengan mengambil daun bagian epidermis bawah dan epidermis atas tanaman yang sudah diolesi kuteks kemudian meletakkannya pada selotip. Tahap selanjutnya hanya tersisa lapisan tipis daun, lalu diamati di

bawah mikroskop. Foto dibuat di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x40. Stomata diamati sebanyak tiga ulangan. Jumlah stomata diamati melalui tiga bidang pandang. Diameter stomata diukur dari sisi terlebar dengan jumlah sebanyak tiga stomata untuk tiga ulangan pada setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keadaan Umum Kultur In Vitro

Kondisi tanaman nilam dengan sistem fotoautotrofik secara *in vitro* dipengaruhi oleh suhu, RH dan intensitas cahaya. Suhu ruang diatur dalam suhu rendah (18-20 °C). Suhu ruangan kultur berkisar 23.7-24.8 °C dengan RH berkisar 46-53%, suhu di dalam rak kultur berkisar 25-25.9 °C dengan RH berkisar 42-47% setiap harinya. Rak kultur dilengkapi dengan lampu LED dengan intensitas penyinaran 900-1,500 lux dan lama penyinaran selama 24 jam. Perbedaan suhu di dalam dan di luar kultur terjadi akibat adanya lampu penerangan di dalam rak kultur.

Pertumbuhan Tanaman Nilam Fotoautotrofik In Vitro

Pertumbuhan tanaman nilam fotoautotrofik *in vitro* pada hasil analisis uji sidik ragam menunjukkan interaksi antara perlakuan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi berpengaruh nyata terhadap jumlah eksplan berkalus dan jumlah daun (Tabel 1 dan 2). Konsentrasi gula berpengaruh nyata terhadap jumlah buku dan tinggi tanaman. Jumlah ventilasi berpengaruh nyata terhadap eksplan hidup, jumlah buku, jumlah akar, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah dan kerapatan stomata (Tabel 3 dan 4).

Eksplan berkalus

Eksplan berkalus terjadi pada media perlakuan gula 10 g L⁻¹ dengan berbagai jumlah ventilasi (Tabel 1). Pembentukan kalus dapat dipengaruhi oleh genotipe maupun media induksi yang digunakan (Saepudin *et al.*, 2016).

Pemberian 2 lubang dan 4 lubang ventilasi pada gula rendah 10 g L⁻¹ dapat menurunkan pembentukan kalus pada eksplan sebanyak 50-75%. Ventilasi diduga dapat

Tabel 1. Jumlah eksplan berkalus tanaman nilam sistem fotoautotrofik pada 6 minggu setelah perlakuan pada berbagai konsentrasi gula dan ventilasi

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah ventilasi		
	0	2	4
10	1.6a	0.4b	0.8ab
20	0.0b	0.0b	0.0b
30	0.0b	0.0b	0.0b

Keterangan: Semua data ditransformasi ke $\sqrt{(x+0.5)}$. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada keseluruhan tabel tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

mengurangi terbentuknya kalus pada pemberian gula rendah karena sirkulasi CO₂ yang baik (Rahayu, 2015).

Kalus yang terbentuk pada perlakuan gula 10 g L⁻¹ dengan berbagai jumlah ventilasi berubah menjadi kecoklatan pada minggu ke-3. Pada hasil penelitian ini diduga pemberian gula yang rendah menyebabkan tanaman kekurangan nutrisi sehingga kalus berubah warna menjadi kecoklatan. Kalus yang berubah warna menjadi kecoklatan dapat disebabkan proses senesensi/penuaan dini akibat kekurangan nutrisi organik dari media (Amalia dan Hadipoentyanti, 2018).

Jumlah Daun

Jumlah daun kultur fotoautotrofik dipengaruhi interaksi konsentrasi gula dan jumlah ventilasi. Perlakuan terbaik terdapat pada planlet yang tidak diberi ventilasi dengan penambahan konsentrasi gula 20 g L⁻¹, walaupun tidak berbeda nyata dengan yang ditambah gula 30 g L⁻¹. Perlakuan ini pada 6 MSP, menghasilkan peningkatan jumlah daun 9-61% dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 2). Hal ini tidak sejalan dengan penelitian pada planlet *Chrysanthemum indicum* L., bahwa jumlah daun hanya dipengaruhi oleh konsentrasi gula sedangkan tingkat permeabilitas tutup botol kultur dan interaksi keduanya tidak berpengaruh terhadap jumlah daun (Triyastuti *et al.*, 2018). Perbedaan tersebut mungkin terjadi karena adanya perbedaan intensitas cahaya pada ruang kultur. Pada penelitian planlet *Chrysanthemum indicum* L. tersebut, intensitas cahaya yang digunakan pada ruang kultur adalah 1,300 lux. Pada penelitian ini, intensitas cahaya dapat mencapai 1,500 lux. Intensitas cahaya yang tinggi pada pemberian ventilasi mempercepat peningkatan laju transpirasi sehingga kondisi tersebut dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman seperti penurunan jumlah daun (Oseni *et al.*, 2018).

Waktu Muncul Tunas dan Akar

Hasil analisis data menunjukkan waktu munculnya tunas aksilar dan akar dengan pemberian konsentrasi gula dan jumlah ventilasi tidak berbeda nyata. Pada penelitian ini, tunas dan akar muncul pada 3 MSP (Tabel 4). Hal ini sejalan dengan penelitian pada planlet *Solanum tuberosum* yang menunjukkan bahwa interaksi gula dan ventilasi tidak mempengaruhi munculnya akar (Rai *et al.*, 2015).

Eksplan Hidup

Hasil analisis data menunjukkan jumlah eksplan hidup hanya dipengaruhi oleh jumlah ventilasi. Pada umur 6 MSP, perlakuan tanpa ventilasi dan 2 lubang ventilasi menunjukkan daya hidup 100%, tetapi pada pemberian perlakuan 4 lubang ventilasi mengalami penurunan persentase eksplan hidup menjadi 83% (Tabel 4). Pada minggu ke-5, beberapa daun berubah berwarna kekuningan hingga kecoklatan dan gugur, karena media menipis dan terjadi penguapan berlebih yang diakibatkan banyaknya lubang ventilasi. Banyaknya lubang ventilasi mempengaruhi pertukaran gas di dalam dan

Tabel 2. Jumlah daun tanaman nilam sistem fotoautotrofik pada berbagai konsentrasi gula dan ventilasi

Jumlah ventilasi	Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah daun			
		3 MSP	4 MSP	5 MSP	6 MSP
0	10	4.0b	6.3bc	7.9b	9.0b
	20	8.1a	10.9a	12.0a	13.3a
	30	5.1b	8.4b	10.5a	12.1a
2	10	5.3b	6.9bc	8.0b	9.0b
	20	5.4b	6.8bc	7.5bc	8.1bc
	30	4.5b	6.3bc	7.2bc	7.6bcd
4	10	4.0b	4.9c	5.1c	5.2d
	20	5.4b	6.4bc	8.2b	8.7b
	30	4.6b	5.6c	5.8bc	5.9cd
KK (%)		16.79	14.27	14.4	14.27

Keterangan: Semua data ditransformasi ke $\sqrt{(x+0.5)}$. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada keseluruhan tabel tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%. KK: Koefisien keragaman

di luar botol, sehingga menyebabkan perubahan tekanan, suhu, kecepatan arus dan pola pergerakan udara (Xiao *et al.*, 2011). Banyaknya lubang ventilasi juga mengakibatkan cekaman air. Hal ini mempengaruhi beberapa karakter fisiologis tanaman nilam, sehingga membuat tanaman mengeluarkan respon meminimalkan air yang keluar dengan menutup stomata, menggulung daun, menggugurkan daun, mengurangi pertumbuhan dan mempertahankan suplai air dengan penyesuaian osmotik (Setiawan *et al.*, 2013). Tingkat kelangsungan hidup dikaitkan dengan ketersediaan sumber energi untuk mempertahankan pertumbuhan tanaman (Mangesha *et al.*, 2013). Media yang menipis mengurangi ketersediaan sumber energi.

Jumlah Buku

Jumlah buku dipengaruhi konsentrasi gula maupun jumlah ventilasi. Perlakuan gula 20 g L⁻¹ mampu meningkatkan jumlah buku hingga 20%. Hal tersebut diduga karena konsentrasi gula 20 g L⁻¹ mampu menstabilkan tekanan osmotik pada tanaman nilam. Gula berperan sebagai sumber energi bagi tumbuhan, pemberian gula mempengaruhi multiplikasi tanaman. Pada tingkat pemberian konsentrasi gula yang rendah, pertumbuhan tanaman akan menurun akibat kurangnya pasokan energi. Pada tingkat konsentrasi gula yang tinggi, pertumbuhan dan pembentukan organ tanaman terhenti sebagai hasil penghentian pengambilan air akibat dari tekanan osmotik media. Hal ini mengakibatkan jumlah tunas, jumlah buku, panjang ruas, dan tinggi tanaman akan menjadi rendah (Kailola, 2015).

Jumlah Akar

Hasil analisis data menunjukkan jumlah akar hanya dipengaruhi oleh jumlah ventilasi. Pemberian jumlah ventilasi 2 lubang meningkatkan jumlah akar 10-20%

dibandingkan pemberian perlakuan tanpa ventilasi dan ventilasi 4 lubang (Tabel 3). Ventilasi dapat meningkatkan ketersediaan CO₂ sehingga merangsang pembentukan akar dan meningkatkan keberhasilan aklimatisasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan aklimatisasi tanaman diantaranya kondisi planlet (ukuran bibit, perakaran), kondisi lingkungan (kesesuaian media tumbuh, suhu dan RH lingkungan), ketepatan perlakuan sebelum dan sesudah transplantasi dari media *in vitro* ke media aklimatisasi, dan sanitasi lingkungan (Suminar *et al.*, 2016).

Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi gula maupun jumlah ventilasi. Tanaman tertinggi terdapat pada perlakuan pemberian 10 g L⁻¹ gula, tetapi tidak berbeda nyata dengan pemberian 20 g L⁻¹ gula. Gula pada *kultur in vitro* bertindak sebagai energi untuk pertumbuhan dan proses biosintesis (Martins *et al.*, 2015). Perlakuan konsentrasi gula yang tinggi pada media dapat menyebabkan eksplan memperoleh sumber karbon sebagai sumber energi yang lebih banyak, sehingga mempercepat pertumbuhan eksplan. Namun demikian, sukrosa juga berperan sebagai regulator osmotik. Penambahan sukrosa dengan konsentrasi tinggi dalam media kultur dapat menyebabkan penghambatan terhadap pertumbuhan kultur (Triyastuti *et al.*, 2018).

Pemberian jumlah ventilasi berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman. Planlet nilam pada perlakuan tanpa ventilasi memiliki tanaman tertinggi dibandingkan planlet nilam yang diberi perlakuan 2 dan 4 ventilasi. Penggunaan ventilasi dengan jumlah yang banyak menyebabkan terhambatnya tinggi tanaman akibat cekaman lingkungan. Tanaman yang mengalami cekaman kekeringan umumnya mengalami pertumbuhan yang tidak normal seperti tumbuh kerdil dan mempengaruhi laju fotosintesis (Maslukah *et al.*, 2019).

Tabel 3. Jumlah buku dan jumlah akar tanaman nilam sistem fotoautotrofik pada 3-6 MSP

Perlakuan	Jumlah buku				Jumlah akar			
	3 MSP	4 MSP	5 MSP	6 MSP	3 MSP	4 MSP	5 MSP	6 MSP
Konsentrasi gula (g L ⁻¹)								
10	1.2b	2.1b	2.5b	2.8b	1.6	1.6	1.8	2.1
20	2.1a	2.7a	3.3a	3.5a	1.4	1.7	1.9	2.0
30	1.5b	2.4ab	2.7b	2.9b	1.3	1.8	1.9	2.0
Uji F	**	*	**	**	tn	tn	tn	tn
Jumlah ventilasi								
0	2.3a	3.3a	3.7a	4.2a	1.8	1.8	1.9	2.0ab
2	1.5b	2.3b	2.6b	2.8b	1.7	1.7	2.0	2.2a
4	1.0c	1.5c	2.2c	2.2c	1.6	1.6	1.8	1.8b
Uji F	**	**	**	**	tn	tn	tn	*
GxV	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	23.80	18.30	11.20	10.93	16.53	13.26	12.59	11.18

Keterangan: * = berpengaruh nyata pada taraf 5%; ** = berpengaruh nyata pada taraf 1%; tn = tidak berpengaruh nyata. Semua data ditransformasi ke $\sqrt{(x+0.5)}$. Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5%. KK = koefisien keragaman.

Panjang Akar

Panjang akar planlet nilam hanya dipengaruhi oleh jumlah lubang ventilasi. Perlakuan tanpa ventilasi meningkatkan panjang akar 51% lebih panjang dibandingkan perlakuan menggunakan ventilasi (Tabel 4). Sistem perbanyak fotoautotrofik memiliki keterbatasan, sehingga perlu memahami lingkungan *in vitro* dan kontrol lingkungan yang mendorong fotosintesis, transpirasi dan

penyerapan nutrisi (Krisantini dan Wiendi, 2018). Keadaan lingkungan dengan suhu dan intensitas cahaya yang tinggi di dalam rak kultur diindikasikan menyebabkan pertumbuhan fisiologi perpanjangan akar tanaman terhambat.

Jumlah dan Kerapatan Stomata

Hasil analisis data menunjukkan jumlah ventilasi berpengaruh terhadap jumlah dan kerapatan stomata.

Tabel 4. Waktu muncul akar dan tunas, jumlah eksplan hidup, tinggi tanaman, panjang akar, jumlah dan kerapatan stomata tanaman nilam sistem fotoautotrofik pada 6 minggu setelah perlakuan

Perlakuan	Waktu muncul akar (hari)	Waktu muncul tunas (hari)	Eksplan hidup	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah stomata	Kerapatan stomata (/mm ²)
Konsentrasi gula (g L ⁻¹)							
10	18.8	20.0	4.0	2.97a	0.64	33.8	187.7
20	17.5	21.4	3.6	2.74ab	0.52	30.3	168.5
30	17.4	18.4	3.7	2.27b	0.46	26.0	145.1
Uji F	tn	tn	tn	*	tn	tn	tn
Jumlah ventilasi							
0	18.2	20.0	4.0a	4.66a	0.84a	18.0c	101.2c
2	18.0	20.1	4.0a	1.82b	0.41b	30.0b	167.3b
4	17.1	19.0	3.3b	1.50b	0.37b	42.0a	232.7a
Uji F	tn	tn	*	**	**	**	**
GxV	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	16.30	11.20	13.66	11.10	11.31	12.18	12.13

Keterangan: * = berpengaruh nyata pada taraf 5%; ** = berpengaruh nyata pada taraf 1%, tn = tidak berpengaruh nyata. Semua data ditransformasi ke $\sqrt{(x+0.5)}$. Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf 5%. KK = koefisien keragaman.

Perlakuan ventilasi 4 lubang meningkatkan jumlah stomata dan kerapatan stomata bawah 28-57% dibandingkan perlakuan 0 dan 2 ventilasi (Tabel 4).

Pemberian ventilasi dapat meningkatkan kerapatan stomata terutama stomata bagian bawah daun. Perbedaan kerapatan stomata dapat memengaruhi dua proses penting pada tanaman, yaitu fotosintesis dan transpirasi. Stomata yang rapat dapat meningkatkan evaporasi pendinginan daun dan mempercepat asimilasi CO₂. Bagian atas daun memiliki jumlah stomata lebih sedikit, karena letaknya yang berada paling luar dari lapisan epidermis berfungsi untuk mengurangi transpirasi. Pada bagian bawah epidermis daun terdapat mesofil yang merupakan tempat terjadinya proses fotosintesis, karena sel-sel di jaringan ini banyak mengandung klorofil (Juairiyah, 2014). Sejalan dengan temuan tersebut, Rai *et al.* (2015) melaporkan bahwa pengurangan gula pada media yang dikombinasikan dengan ventilasi akan menyebabkan tanaman kentang mengalami peningkatan fotosintesis yang dapat dilihat melalui jumlah dan kerapatan stomata yang tinggi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan interaksi antara perlakuan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi pada kultur fotoautotrofik berpengaruh terhadap jumlah eksplan berkalus dan jumlah daun tanaman nilam varietas Tapak Tuan pada pengamatan. Hasil terbaik dalam multiplikasi tanaman nilam menggunakan media penambahan 20 g L⁻¹ gula tanpa ventilasi yang meningkatkan jumlah daun sebanyak 9-61% dan jumlah buku sebanyak 20% pada 6 MSP dibandingkan perlakuan lainnya. Pemberian ventilasi 2 lubang meningkatkan jumlah akar 10-20%, jumlah dan kerapatan stomata 28-57% pada 6 MSP dalam kondisi *in vitro* dibandingkan perlakuan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, Hadipoentyanti. 2018. Perbanyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) menggunakan media dasar alternatif secara *in vitro*. J. Perspektif. 17:39-149.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2019. Produktivitas nilam menurut provinsi di Indonesia 2015-2019. <https://www.pertanian.go.id> [27 Oktober 2019].
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2012. Inovasi Teknologi Perkebunan Indonesia. IAARD Press, Jakarta, ID.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor, ID.
- Inampudi, S., L. Bhosale, A. Rohinikar, I. A. Shaker, C. G. Komal, A. Gangavane. 2017. Evaluation study of micropropagation stages of patchouli plant. Int. J. Plant. Sci. 12:149-155.
- Juairiah, L. 2014. Studi Karakteristik stomata beberapa jenis tanaman revegetasi di lahan pasca penambangan timah di Bangka. Widyariset. 17:213-218.
- Kailola, J.J.G. 2015. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan sukrosa terhadap produksi umbi mikro kentang kultivar granola. J. Budidaya Pertanian 11:12-21.
- Krisantini, N.M.A Wiendi. 2018. Photoautotrophic system: a review and potential applications in plant micro propagation. J. Trop. Crop. Sci. 3:73-77.
- Mangesha, A., B. Ayenew, T. Tadesse. 2013. Energy sources affect *in vitro* propagation and subsequent acclimatization of *Ananas comosus*, var. smooth cayenne plants. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 2:2372-2376.
- Martins, J.P., M. Pasqual, A. D. Martins, S. F. Ribeira. 2015. Effects of salts and sucrose concentrations on *in vitro* propagation of *Billbergia zebrina* (herbert) lindley (bromeliaceae). Aust. J. Crop. Sci. 9:85-91.
- Maslukah R., F. Yulianti, M. Roviq, M. D. Maghfoer. 2019. Pengaruh polyethylene glycol (PEG) terhadap hardening planlet apel (*Malus sp.*) akibat hiperhidrisitas secara *in vitro*. Plant. J. Agri. Sci. 4:30-38.
- Oseni, O.M., V. Pande, T. K. Nailwal. 2018. A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7:3778-3786.
- Perez, L. P., Y. P. Montesinos. J. G. Olmedo, R. R. Sanchez, O. N. Montenegro, R. B. Rodriguez, O.H. Ribalt, R. C. R. Escriba, D. Daniels, R. G. Kosky. 2015. Effects of different culture conditions (photoautotrophic, photomixotropic) and the auxin indole-butyric acid on the *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L. Var. Red Maradol) plants using zeolite as support. Afr. J. Biotechnol. 35:2622-2635.
- Rahayu, E.S. 2015. Kultur Fotoautotrofik: Solusi Mikropropagasi Tumbuhan Berkayu. Swadaya Manunggal, Semarang, ID.
- Rai, S.P., N.M.A. Wiendi, Krisantini. 2015. Optimasi produksi bibit tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) kultivar granola dengan teknik fotoautotrofik. Bul. Agrohorti. 3:28-38.

- Rosiana, N., Feryanto, V. R. Sinaga. 2017. Posisi daya saing dan tingkat persaingan minyak atsiri Indonesia di pasar global. *Agricore. J. Agribisnis dan Sosial Ekonomi Pertanian.* 2:205-290.
- Saepudin, A., N. Khumaida, D. Sopandie, S. W. Ardie. 2016. Induksi dan proliferasi embriogenesis somatik in vitro pada lima genotipe kedelai. *J. Agron. Indonesia.* 44:261-270.
- Setiawan, Tohari, D. Shiddieq. 2013. Pengaruh cekaman kurang air terhadap beberapa karakter fisiologis tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth.*). *J. Littri.* 19:108-116.
- Suminar, E., D.S. Sobarna, A. Nuraini, S. Mubarak, P. Suryatmana, Y. Sihombing, C. Angel. 2016. Regenerasi ekplan nilam klon Sidikalang dan aplikasi azotobacter pada tahap aklimatisasi. *J. Agrikultura* 27:72-82.
- Triyastuti, N, E.S Rahayu, T. Widiatningrum. 2018. Optimasi pertumbuhan plantlet krisan melalui peningkatan permeabilitas tutup botol dan penurunan sukrosa. *Indones. J. Math. Sci.* 41:20-26.
- Xiao, Y., T. Kozai, G. Niu. 2011. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 105:149-158.
- Zen, A.R., W. Widoretno, S. Indriyani. 2016. Water and chlorophyll content and leaf anatomy of patchouli plantlet (*Pogostemon cablin Benth.*) resulted by shoot-tip culture experience hyperhydricity after treatment of modification ammonium nitrate or macro salt concentration on MS medium (murashige skoog). *J. Exp. Life Sci.* 6:38-44.