

Tingkat Kesamaan Tanaman Nilam Hasil Fusi Protoplas Berdasarkan Morfologi dan Anatomi Daun

Wawan Haryudin[✉], Cheppy Syukur, & Yang Nuryani
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor

ABSTRACT

Similarity Level of Patchouli oil from Protoplast Fusion based on Morphology and Anatomy Leaves. Protoplast fusion between Aceh patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) Tapak Tuan 75 clone and java patchouli (*Pogostemon heyneanus* Benth) Girilaya clone gone genotypes variation. The aim of this experiment was to examine the similarities of morphology and anatomy of leaves. The experiment was inducted at laboratory and green house of the Indonesian Spice and Medicinal Crops Research Institute from February to July 2001. The parameters observed were the number of leaves length, leaves width and leaf thickness, the number of oil cell, stomata and trachoma index. Analysis cluster was used to analysis the data with single linkage method and Euclidean distance concept. The result showed that the leaves length, width, and thickness have close similarity with Tapak Tuan 75. The similarity level of genotype from protoplast fusion was 62.68 to 83.27, the parent Tapak Tuan 75 was 61.53 and the parent Girilaya 58.69. The highest numbers of oil cell was showed by clone 9 II 4 (10.55) and the lowest was clone (IV 14 (2.93).

Key words: *Pogostemon* sp., similarity, protoplast fusion, morphology, anatomy, leaves.

PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemon* sp.) merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang cukup penting peranannya, baik sebagai sumber devisa negara maupun sebagai pendapatan petani (Dhalimi *et al.*, 1998). Ekspor minyak nilam Indonesia menduduki urutan pertama dunia dengan negara tujuan Amerika Serikat, Eropa Barat dan Jepang. Harga minyak nilam dipasar dunia selalu berfluktuasi, tergantung pada kebutuhan, mutu dan stok. Fluktuasi harga tercatat sebesar US \$ 11,0/kg pada tahun 1989 sampai US \$ 40,5/kg pada bulan September 1997.

Sedangkan pada bulan April 1998 meningkat sampai US \$ 130,0/kg (Sumangat & Risfaheri, 1998).

Tanaman nilam telah lama dibudidayakan di Indonesia dengan daerah sentra produksi di Aceh, Sumatera Utara dan Bengkulu yang mengalami perkembangan yang cukup pesat (Wikardi, 1990). Pembudidayaan tanaman ini umumnya masih dilakukan dengan sistem perladangan berpindah-pindah (*Shifting cultivation*). Hal ini tentunya menjadi salah satu kendala pokok dalam pembudidayaan tanaman nilam. Di samping itu dampaknya tidak hanya mengganggu kelestarian lingkungan,

✉ Jl. Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111. Telp. (0251) 321-879

tetapi juga menyebabkan produktivitas tanaman tergolong rendah (Syakir *et al.*, 1994).

Pada umumnya sumber minyak atsiri dapat dihasilkan dari bagian tanaman berupa daun, bunga, biji, kulit buah, akar atau rhizoma (Ketaren, 1985). Sedangkan minyak atsiri pada tanaman nilam banyak dihasilkan dari bagian daun melalui proses penyulingan, selain itu juga minyak nilam diproses di kelenjar minyak (sel minyak) melalui proses metabolisme dalam tanaman yang terbentuk karena berbagai persenyawaan kimia dengan adanya air (Ketaren, 1985). Manfaat utama minyak nilam (*Patchouli oil*) digunakan dalam industri parfum, pembuatan sabun kosmetik, antiseptik dan insektisida (Dummond, 1960; Robin, 1982). Minyak nilam juga bersifat fiksatif (dapat mengikat minyak atsiri lainnya yang sampai sekarang belum ada produk substitusinya (Ibnusantoso, 2000).

Nilam Tapak Tuan 75 (TT 75) merupakan salah satu nilam hasil keragaman somaklonal berasal dari nilam Aceh klon Tapak Tuan (*Pogostemon cablin* Benth) (Mariska *et al.*, 1995), sedangkan Girilaya adalah nilam Jawa (*Pogostemon heyneanus*, Benth). TT 75 berkadar minyak atsiri yang tinggi namun peka terhadap nematoda, sedangkan Girilaya sebaliknya tahan terhadap nematoda tetapi kadar minyak atsirinya rendah (< 1,5%) (Mustika *et al.*, 1991; Nuryani dan Hadipoetyanti, 1994).

Salah satu alternatif untuk mendapatkan nilam berkadar minyak tinggi dan toleran terhadap nematoda adalah dengan dengan fusi protoplas antara Girilaya dengan TT 75. Fusi protoplas merupakan salah satu metode pemuliaan melalui teknik *in vitro*, metode tersebut dilakukan dengan cara menyilangkan sel-

sel somatik sehingga disebut hibridisasi somatik. Fusi protoplas sengaja digunakan oleh pemulia tanaman untuk memperoleh tanaman dengan sifat yang dikehendaki.

Dari 17 klon nilam hasil fusi protoplas antara Girilaya dan TT 75 baru dapat dilakukan, analisa kluster berdasarkan anatomi dan morfologi daun. Analisa tersebut untuk mengetahui tingkat kesamaan antara nilam hasil fusi protoplas dengan tanaman nilam tua Girilaya dan TT 75.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari sampai dengan Juli 2001 di Rumah Kaca dan Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan, Balitro, Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman tua Girilaya dan tua TT 75 serta 17 klon nilam hasil fusi protoplas yaitu 9 II 2, 9 II 3, 9 II 4, 9 II 7, 9 II 8, 9 II 10, 9 II 16, 9 II 20, 9 II 21, 9 IV 1, 9 IV 2, 9 IV 3, 9 IV 5, 9 IV 6, 9 IV 13, 9 IV 14 dan 9 IV 16. Pengamatan morfologi dari masing-masing klon di ambil 10 tanaman, parameter yang diamati meliputi panjang tangkai daun, jumlah daun, panjang daun, lebar daun dan tebal daun.

Pengamatan dilakukan tiga bulan setelah penanaman. Pengamatan anatomi meliputi jumlah sel minyak, indek stomata dan indek trikomata. Pada pengamatan sel minyak, tiap klon diambil 10 daun, daun yang diamati yaitu daun ke-5 dari pucuk, tiap daun diambil tiga contoh bagian yang berbeda yaitu dekat pangkal daun, bagian tengah daun dan bagian dekat ujung daun dengan lebar 1 cm. Irisan melintang dibuat dengan menggunakan metode beku yang dipotong dengan mikrotom gesek (*Sliding microtome*). Kemudian dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah sel

minyak di bawah mikroskop dengan pembesaran objektif 20 x dan okuler 10 x.

Pengamatan indek stomata dan indek trikomata tiap klon diambil 10 daun, tiap daun dibuat tiga sediaan (preparat) pada daerah yang berbeda yaitu dekat pangkal daun, tengah daun dan dekat ujung daun. Tiap preparat diamati lima bidang pandang dengan pembesaran 20 x 10. Pembuatan preparat dilakukan dengan mengoleskan entelan dipermukaan atas daun (adaksial) pada bagian pangkal, tengah dan ujung daun. Setelah entelan kering kemudian diangkat dengan menggunakan pinset dan diletakan diatas gelas preparat kemudian ditutup dengan *cover glass*. Penghitungan Indeks stomata dengan metode pembagian antara jumlah stomata dibagi jumlah stomata dan epidermis dikali 100 %. Demikian juga dengan indek trikomata yaitu merupakan pembagian antara jumlah trikomata dengan jumlah trikomata dan epidermis dikali 100 %.

Data kemudian dianalisa dengan menggunakan metode analisis kluster dengan metode *single linkage* dengan konsep jarak Euclidean. Analisis kluster adalah analisis kelompok untuk mengetahui tingkat kesamaan antara nilam hasil fusi protoplas dengan tetua Girilaya dan TT 75.

HASIL DAN PEMBAHASAN

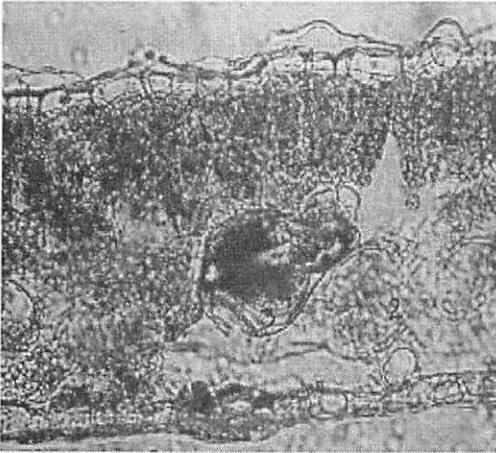
Sel minyak pada tanaman nilam tetua maupun pada tanaman hasil fusi protoplas mempunyai warna yang bervariasi (tanpa pewarnaan) yaitu berwarna kuning kecoklatan, kuning kemerahan sampai kuning mengkilat. Sel minyak merupakan salah satu sel pada tanaman nilam yang dapat menghasilkan minyak atsiri. Sel ini terletak pada bagian

daun diantara sel pelisade dan parenkima bunga karang (Gambar 1). Jumlah sel minyak lebih banyak ditemukan pada bagian sel palisade karena sel ini terletak dekat permukaan epidermis atas daun yang lebih banyak mendapatkan sinar matahari sehingga pembentukan sel minyak dari hasil metabolisme lebih sempurna. Menurut Tan (1962) dalam Nurjanah & Marwati (1998) penyulingan daun segar tidak dapat dibenarkan karena rendemen minyak terlalu rendah. Hal ini disebabkan karena sel-sel yang mengandung minyak sebagian terdapat di permukaan dan sebagian lagi dibagian dalam tengah dari daun. Sedangkan menurut Guenther (1952) seluruh bagian tanaman mengandung minyak, namun kandungan sel minyak tertinggi pada daun. Jumlah sel minyak terbanyak pada daun yang telah dewasa.

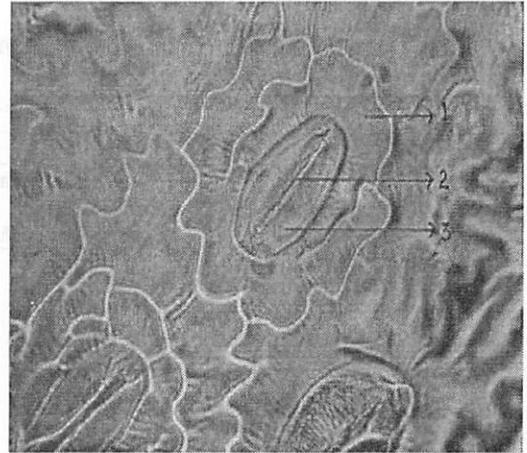
Hasil fusi antara Girilaya dengan TT 75 menghasilkan hibrida yang beragam. Perubahan sifat genotipa tersebut terekspresi antara lain pada karakter morfologi, sifat fisika-kimianya (Nuryani *et al.*, 2002).

jumlah sel minyak antara nilam tetua dengan nilam hasil fusi sangat berbeda, jumlah sel minyak pada tetua Girilaya sangat rendah sekitar 3,45 dan tetua TT 75 mempunyai jumlah yang besar sekitar 11,46. Jumlah sel minyak pada tanaman nilam hasil fusi protoplas yang tertinggi terdapat pada klon 9 II 4 sekitar 10,55 dan yang terendah terdapat pada klon 9 IV 14 sekitar 2,93 (Tabel 1).

Kadar minyak pada tanaman nilam erat kaitannya dengan jumlah sel minyak yang terdapat pada daun, Girilaya berkadar minyak rendah (< 1,5%), TT 75 berkadar minyak tinggi (4,2 %) (Mariska *et al.*, 1995). Diharapkan genotipa baru hasil fusi protoplas yang mengandung jumlah sel minyak tinggi akan berkadar minyak



Gambar 1. Penampilan sel minyak pada tanaman nilam. (1) Sel palisade, (2) Sel parenkima bunga karang, (3) Sel minyak



Gambar 2. Penampilan stomata pada tanaman nilam (1) Sel tetangga, (2) Poros, (3) Sel penutup

tinggi seperti pada klon 9 II 4 dan 9 II 2 yang jumlah sel minyaknya tidak berbeda jauh dengan jumlah sel minyak tetua TT 75 (11,46). Kadar minyak merupakan salah satu faktor penentu produksi minyak, disamping produksi terna.

Stomata pada tanaman nilam tetua Girilaya dan TT 75 maupun tanaman hasil fusi protoplas mempunyai tipe yang sama yaitu diasitik. Fungsi utama stomata pada tanaman adalah sebagai alat tranpirasi, respirasi dan sebagai alat penghubung dengan udara. Umumnya proses pembukaan stomata memerlukan waktu sekitar satu jam dan penutupan berlangsung secara bertahap. Bentuk sel penjaga (sel penutup) mempunyai bentuk yang sama seperti ginjal dengan ujung penutupnya kecil dan pada bagian tengah mengembung besar dan sejajar dengan sel epidermis seperti pada Gambar 2. Indeks stomata pada tanaman nilam tetua maupun pada tanaman nilam hasil fusi protoplas sangat berbeda, pada tanaman tetua

Girilaya sekitar 1,32 %, dan pada tetua TT 75 sekitar 7,43 % sedangkan pada nilam hasil fusi protoplas indeks terendah terdapat pada klon 9 IV 5 sekitar 3,28 dan indeks tertinggi terdapat pada klon 9 IV 2 sekitar 11,12 % seperti pada Tabel 1.

Variasi somaklonal tidak saja dapat diketahui dari karakter morfologis, tetapi juga dari karakter biokimia, fisiologis dan genetis. Chen *et al.* (1998) dengan teknik RAPD menemukan bahwa tanaman dari hasil variasi somaklonal phaeonopsis dan tanaman yang normal secara genetis tidak sama.

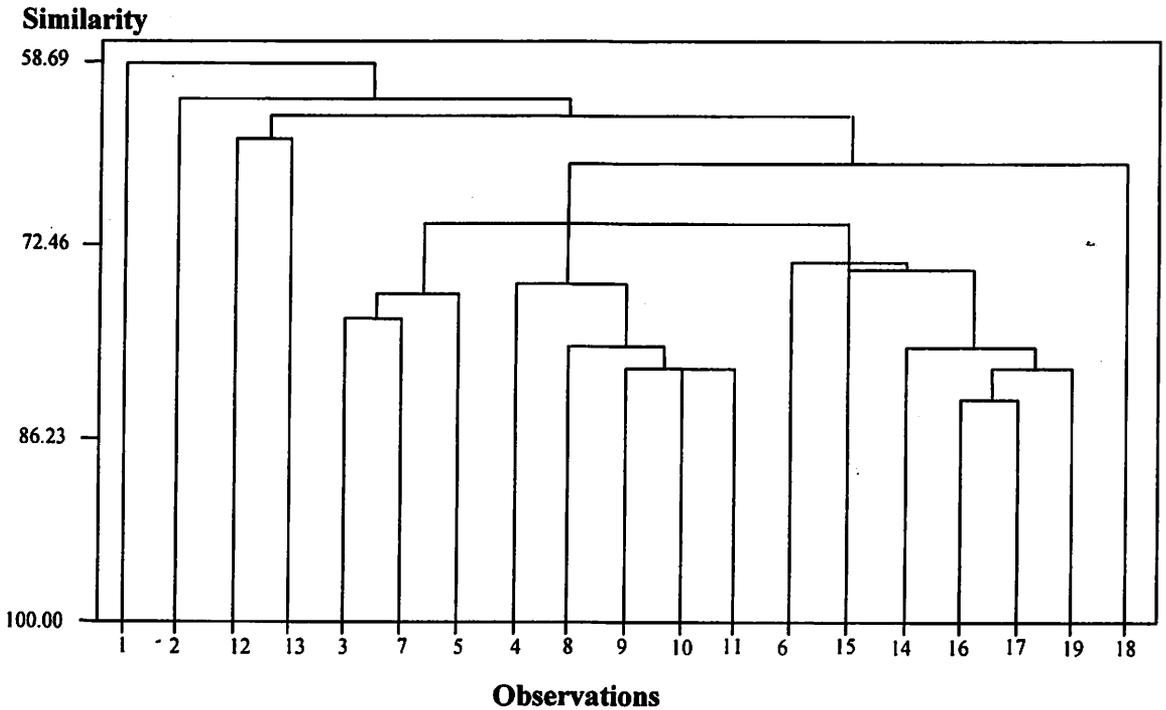
Trikomata adalah merupakan rambut (bulu-bulu) yang berada pada permukaan epidermis atas dan bawah daun, pada tanaman nilam trikomata cukup banyak ditemukan pada daun yang masih muda sedangkan pada daun tua tidak begitu banyak karena trikomatanya sudah rontok. Tipe trikomata pada tanaman nilam termasuk dalam golongan non glandular dengan bentuk trikomata seperti duri yang runcing dibagian ujungnya. Indeks

Tabel 1. Data parameter tanaman tetua dan tanaman hasil fusi protoplas secara anatomi dan morfologi.

| KLON | ANATOMI | | | | MORFOLOGI | | | |
|-------------|-------------------|---------------------|-------------------|----------------------|-------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| | Indek Stomata (%) | Indek Trikomata (%) | Jumlah Sel Minyak | Panjang Tangkai Daun | Jumlah Daun | Panjang Daun (cm) | Lebar Daun (cm) | Tebal Daun (mm) |
| 1. Girilaya | 1,32 | 1,34 | 3,45 | 2,01 | 10,72 | 9,24 | 6,63 | 0,47 |
| 2. TT 74 | 7,43 | 5,02 | 11,46 | 2,67 | 11,76 | 7,38 | 6,59 | 0,74 |
| 3. 9 II 2 | 4,27 | 2,38 | 10,52 | 2,15 | 10,08 | 5,35 | 4,44 | 0,28 |
| 4. 9 II 3 | 8,65 | 3,86 | 9,76 | 3,56 | 7,46 | 4,95 | 4,32 | 0,32 |
| 5. 9 II 4 | 4,74 | 3,42 | 10,55 | 2,83 | 7,76 | 6,69 | 5,68 | 0,22 |
| 6. 9 II 7 | 6,80 | 4,19 | 8,64 | 6,78 | 10,45 | 7,30 | 5,71 | 0,29 |
| 7. 9 II 8 | 3,90 | 4,50 | 9,48 | 3,17 | 9,71 | 5,70 | 4,92 | 0,28 |
| 8. 9 II 10 | 8,69 | 3,92 | 6,86 | 4,24 | 7,72 | 5,80 | 4,77 | 0,33 |
| 9. 9 II 16 | 7,00 | 4,72 | 6,62 | 4,75 | 9,52 | 5,24 | 4,40 | 0,28 |
| 10. 9 II 20 | 6,87 | 5,62 | 6,15 | 4,23 | 7,99 | 5,62 | 5,58 | 0,45 |
| 11. 9 II 21 | 7,05 | 4,89 | 8,02 | 3,28 | 7,78 | 5,96 | 5,50 | 0,41 |
| 12. 9 IV 1 | 10,44 | 3,13 | 3,88 | 3,52 | 12,02 | 5,15 | 4,85 | 0,43 |
| 13. 9 IV 2 | 11,12 | 5,46 | 7,04 | 2,14 | 11,00 | 5,30 | 4,86 | 0,33 |
| 14. 9 IV 3 | 5,64 | 3,56 | 6,50 | 2,38 | 12,50 | 4,95 | 4,69 | 0,31 |
| 15. 9 IV 5 | 3,28 | 3,57 | 5,84 | 4,16 | 9,40 | 7,34 | 7,05 | 0,34 |
| 16. 9 IV 6 | 4,28 | 3,95 | 6,57 | 3,26 | 11,44 | 6,28 | 5,33 | 0,28 |
| 17. 9 IV 13 | 5,14 | 2,87 | 5,72 | 3,74 | 11,63 | 7,01 | 6,10 | 0,45 |
| 18. 9 IV 14 | 7,82 | 4,17 | 2,93 | 3,39 | 8,69 | 4,99 | 4,33 | 0,35 |
| 19. 9 IV 16 | 6,35 | 4,01 | 6,36 | 3,88 | 10,48 | 7,42 | 6,86 | 0,30 |

Tabel 2. Tingkat kesamaan tanaman nilam hasil fusi protoplas antara nilam Girilaya dengan Tapak Tuan 75 (TT 75).

| NOMOR | KLON | TINGKAT KESAMAAN |
|-------|----------|------------------|
| 1 | Girilaya | 58,69 |
| 2 | TT 75 | 61,53 |
| 3 | 9 II 2 | 62,68 |
| 4 | 9 II 3 | 64,16 |
| 5 | 9 II 4 | 66,17 |
| 6 | 9 II 7 | 70,70 |
| 7 | 9 II 8 | 70,86 |
| 8 | 9 II 10 | 73,21 |
| 9 | 9 II 16 | 73,53 |
| 10 | 9 II 20 | 74,71 |
| 11 | 9 II 21 | 75,76 |
| 12 | 9 IV 1 | 77,62 |
| 13 | 9 IV 2 | 79,39 |
| 14 | 9 IV 3 | 79,49 |
| 15 | 9 IV 5 | 80,92 |
| 16 | 9 IV 6 | 81,00 |
| 17 | 9 IV 13 | 81,17 |
| 18 | 9 IV 14 | 83,27 |
| 19 | 9 IV 16 | 73,55 |



Gambar 3. Dendrogram jarak kluster berdasarkan karakter anatomi dan morfologi. (1) Girilaya, (2) TT 75, (3) 9 II 2, (4) 9 II 3, (5) 9 II 4, (6) 9 II 7, (7) 9 II 8, (8) 9 II 10, (9) 9 II 16, (10) 9 II 20, (11) 9 II 21, (12) 9 IV 1, (13) 9 IV 2, (14). 9 IV 3, (15). 9 IV 5, (16) 9 IV 6, (17) 9 IV 13, (18) 9 IV 14, (19) 9 IV 16

trikomata pada tetua Girilaya 1,34 % dan pada tetua TT 75 5,02 % sedangkan indeks trikomata pada tanaman nilam hasil fusi protoplas terendah terdapat pada klon 9 II 2 sekitar 2,38 % dan Indeks tertinggi terdapat pada klon 9 II 20 sekitar 5,63 % seperti pada Tabel 1. Untuk mempermudah melihat perbedaan sifat diantara klon-klon yang diteliti data yang diamati tersaji pada Tabel 1.

Dari dendrogram terlihat bahwa tanaman nilam hasil fusi protoplas antara nilam tetua Girilaya dengan tetua TT 75 yang dianalisis terdapat dua kelompok yaitu kelompok A terdiri dari satu nomor yaitu Girilaya dengan tingkat kesamaan 58,69. Sedangkan kelompok B terbagi menjadi dua sub kelompok yaitu sub kelompok I yang terdiri dari nilam tetua

TT 75 dengan tingkat kesamaan 61,53 dan sub kelompok II terbagi lagi menjadi dua sub-sub kelompok yaitu sub-sub kelompok I yang terdiri dari klon 9 IV 1 dengan tingkat kesamaan 77,62 dan klon 9 IV 2 dengan tingkat kesamaan 79,39. Sedangkan sub-sub kelompok II terbagi menjadi dua sub-sub yang lebih kecil yang terdiri dari klon 9 IV 14 dengan tingkat kesamaan 83,27 dan klon hasil fusi lainnya yaitu klon 9 II 2 tingkat kesamaan 62,68, klon 9 II 8 tingkat kesamaan 70,86, klon 9 II 4 tingkat kesamaan 66,17, klon 9 II 3 tingkat kesamaan 64,16, klon 9 II 10 tingkat kesamaan 73,21, klon 9 II 16 tingkat kesamaan 73,53, klon 9 II 20 tingkat kesamaan 74,71, klon 9 II 21 tingkat kesamaan 75,76, klon 9 II 7 tingkat kesamaan 70,70, klon 9 IV 5 tingkat

kesamaan 80,92, klon 9 IV 3 tingkat kesamaan 79,49, klon 9 IV 6 tingkat kesamaan 81,00, klon 9 IV 13 tingkat kesamaan 81,17 dan klon 9 IV 16 tingkat kesamaan 73,55 (Tabel 2).

Hasil penelitian menunjukkan tanaman nilam hasil fusi protoplas mempunyai tingkat kesamaan yang dekat dengan tetua TT 75. Tingkat kesamaan tanaman nilam hasil fusi protoplas berkisar antara 62,68 sampai 83,27; sedangkan tanaman tetua TT 75 tingkat kesamaan sekitar 61,53 dan Tetua Girilaya sekitar 58,69. Klon yang mempunyai tingkat kesamaan yang tinggi terdapat pada klon 9 IV 14 sekitar 83,27 (Tabel 2).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan tanaman nilam hasil fusi protoplas mempunyai tingkat kesamaan yang dekat dengan tetua Tapak Tuan 75 (TT 75). Tingkat kesamaan tanaman nilam hasil fusi protoplas berkisar antara 62,68 sampai 83,27, sedangkan tanaman tetua Tapak Tuan 75 tingkat kesamaan sekitar 61,53. Jumlah sel minyak pada tanaman nilam hasil fusi protoplas yang tertinggi terdapat pada klon 9 II 4 sekitar 10,55 yang merupakan klon terbaik. Sel minyak terendah terdapat pada klon yaitu 9 IV 14 sekitar 2,93.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, W.H., T.M. chen, Y.M. Fu, R.M. Hsieh & W.S. chen. 1998. Studies on somaclonal variation in phalaenopsis. *Plan cell Rep.* 18: 13-17.
- Dhalimi, A., Anggraeni, & Hobir. 1998. Sejarah dan perkembangan nilam di Indonesia. *Monograf Nilam.* No. 5. h.1-9. Balitro.
- Dummond, H.M. 1960. Patchouli oil. *J. Perfumery and Essential Oil III:* 552 – 574.
- Guenther, E. 1952. *The Esesntial Oil.* 2nd ed D. Van Nostrard Co. Inc. New York.
- Ibnusantosa, G., 2000. Kemandegan pengembangan minyak atsiri Indonesia. Makalah disampaikan pada seminar “Pengusaha Minyak Atsiri Hutan Indonesia: Fakultas Kehutanan IPB Darmaga Bogor, 23 Mei 2000.
- Ketaren, S, 1985. Pengantar teknologi minyak atsiri. PN Balai Pustaka, Jakarta.
- Mariska, I., E. Gati, Hobir, E. Syamsudin, & D. Seswita. 1995. Penempatan keragaman genetik nilam melalui variasi somaklonal. Laporan RUT II (tidak dipublikasi).
- Mustika, I., Y. Nuryani, & O. Rostiana, 1991. Nematoda pariant pada beberapa kultivar nilam di Jawa Barat. *Bull. Littro VI (1) :* 9-14.
- Nuryani, Y. & E. Hadipoenyanti, 1994. Koleksi, konservasi, karakterisasi dan evaluasi plasma nutfah tanaman atsiri. Review hasil dan program penelitian plasma nutfah pertanian. Badan Litbang Pertanian. Deptan. h. 209 – 219.
- Nuryani, Y., Ika Mariska, Cheppy Syukur, Ali Husni dan Sri Utami, 2002. Peningkatan keragaman genetik nilam (*Pogostemon* sp.) melalui fusi protoplas *Acta Biochemica Indonesia XXVI (1):* 122-132.
- Nurjanah, N & T. Marwati. 1998. Penanganan bahan dan penyulingan minyak nilam. *Monograf Nilam.* No.5. h.100–107. Balitro.

Tingkat Kesamaan Tanaman Nilam

- Robin, S.R.J. 1982. Selected market for the essential oils of patchouli and uctives. Tropical Product Institute Ministry of Overseas Development. *Great Britain* 167 : 17 - 20.
- Sumangat, D. & Risfaheri, 1998. Standar dan masalah mutu minyak nilam Indonesia. *Monograf Nilam*. No. 5. h.108 - 115. Balittro.
- Syakir, Hermanto, & Usman, 1994. Tanaman nilam. Penyiapan dan perbanyakan bahan tanaman rempah dan obat. *Edsus Littro X*. (1): 13-19. Balittro.
- Wikardi, E.A, A. Asman, & P. Wahid, 1990. Perkembangan Penelitian Nilam. *Edsus Littro VI* (1): 23 - 37. Balittro.