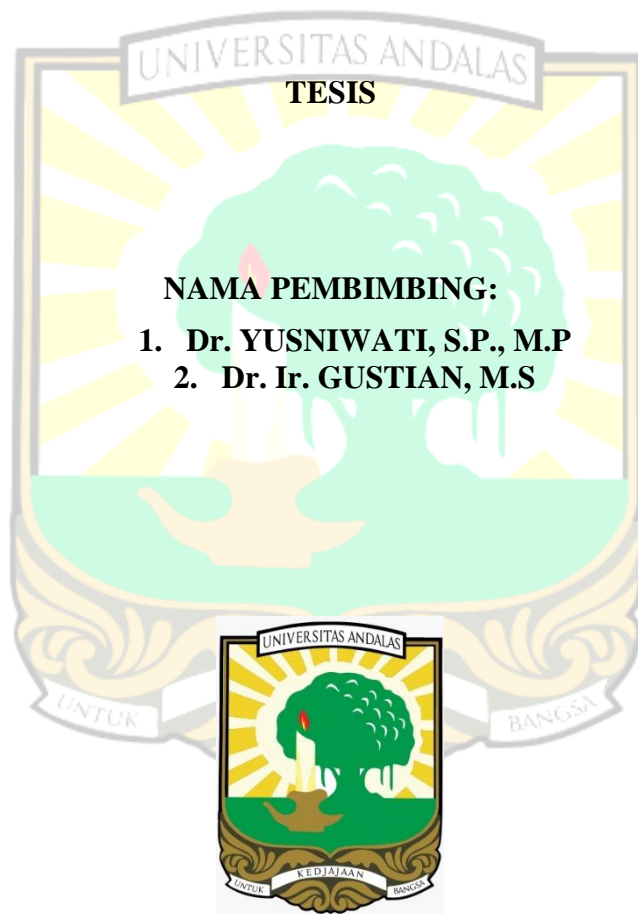


**IRADIASI SINAR ULTRAVIOLET-C UNTUK PENINGKATAN
KELENJAR MINYAK DAN KETAHANAN PENYAKIT LAYU
BAKTERI PADA NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.)**

**SINDI HARYANTI
NIM. 2320241010**



NAMA PEMBIMBING:

- 1. Dr. YUSNIWATI, S.P., M.P**
- 2. Dr. Ir. GUSTIAN, M.S**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2024**

PERNYATAAN

Dengan ini saya Sindi Haryanti yang beralamat di Jalan Kurma, Lingkungan VII, Kelurahan Sentang, Kecamatan Kota Kisaran Timur, Kabupaten Asahan, Sumatera Utara (21224) menyatakan bahwa dalam tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah dan disebutkan dalam daftar kepustakaan.



Padang, Juli 2024

Sindi Haryanti

RINGKASAN

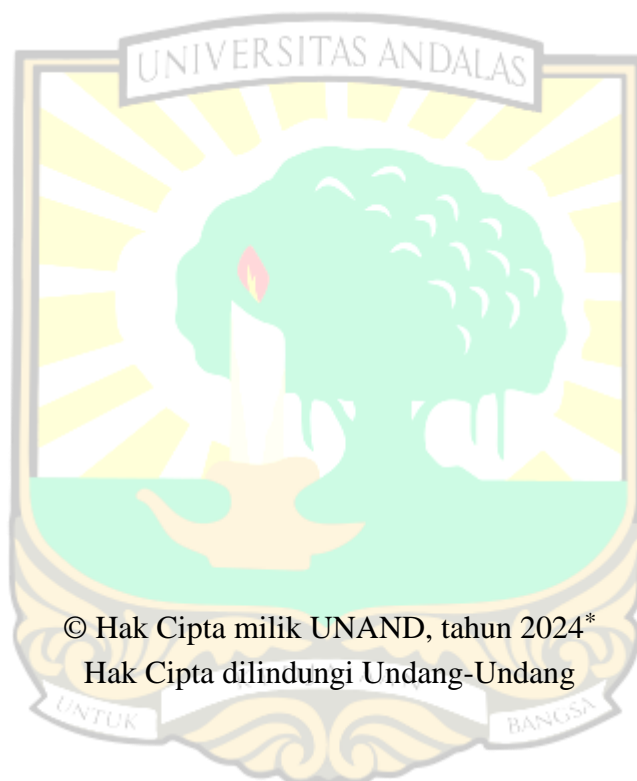
Sindi Haryanti. Iradiasi Sinar Ultraviolet-C untuk Peningkatan Kelenjar Minyak dan Ketahanan Penyakit Layu Bakteri pada Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Dibimbing oleh Yusniwati dan Gustian.

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri teratas yang diperjualbelikan di pasar dunia. Nilam memiliki keragaman yang sempit karena sifatnya yang jarang berbunga dan menghasilkan biji, sehingga varietas baru tidak dapat diperoleh melalui persilangan. Oleh karena itu, diperlukan penerapan teknik mutasi menggunakan iradiasi UV-C untuk mendapatkan karakter unggul nilam yang baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui LD₂₀ dan LD₅₀ penyinaran UV-C, memperoleh putatif mutan nilam yang memiliki hasil minyak tinggi, dan tahan terhadap penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*. Penelitian ini dilaksanakan dari Januari – Mei 2024 di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, serta Laboratorium Sentral Universitas Andalas, Padang. Percobaan ini memiliki 10 taraf perlakuan dan 3 kelompok. Perlakuan berupa durasi paparan UV-C, yaitu 0 (*wild type*), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, dan 270 menit dengan jarak 30 cm. Percobaan ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu induksi mutasi planlet nilam, induksi tunas dan akar secara *in vitro*, aklimatisasi, dan seleksi menggunakan 20 ml suspensi bakteri dengan kepadatan 10⁶ sel/ml. Data masing-masing nilam per variabel pengamatan disajikan dalam bentuk nilai rata-rata, ragam, dan standar deviasi serta dianalisis menggunakan *unpaired t-test*. Hasil penelitian tidak menemukan nilai LD₂₀ dan LD₅₀ diantara paparan UV-C selama 0 – 270 menit. Namun, melalui persamaan regresi $y = -0.0002x^2 + 0.082x + 1.7332$ juga tidak dapat diperkirakan waktu paparan yang diperlukan untuk mencapai LD₂₀ dan LD₅₀ karena tidak ada nilai x yang memenuhi syarat LD₂₀ dan LD₅₀. Paparan UV-C selama 90 menit menghasilkan putatif mutan nilam dengan 38.00 kelenjar minyak, menunjukkan peningkatan kandungan minyak dibandingkan dengan *wild type* yang hanya memiliki 14.00 kelenjar minyak. Selain itu, paparan UV-C selama 30 menit memiliki peluang sebesar 6.67% untuk menghasilkan putatif mutan nilam yang tahan terhadap penyakit layu bakteri. Paparan sinar UV-C juga berdampak pada beberapa karakter morfologi nilam, seperti durasi 120 menit paling banyak mengalami klorosis dan waktu muncul tunas paling lambat, 210 menit meningkatkan jumlah tunas dan daun, serta 240 menit meningkatkan pertumbuhan tunas tertinggi.

SUMMARY

Sindi Haryanti. Ultraviolet-C Radiation for Increasing Oil Gland Production and Resistance to Bacterial Wilt in Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.). Supervised by Yusniwati and Gustian.

Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) is one of the top essential oil-producing plants traded on the world market. Patchouli has limited diversity due to its rare flowering and seed production, making it difficult to obtain new varieties through crossing. Therefore, the application of mutation techniques using UV-C irradiation is needed to obtain new superior patchouli characteristics. This research aims to determine the LD₂₀ and LD₅₀ of UV-C irradiation, obtain putative patchouli mutants with high oil yields, and resistance to bacterial wilt disease *Ralstonia solanacearum*. This research was conducted from January to May 2024 at the Tissue Culture Laboratory and Microbiology Laboratory of the Faculty of Agriculture, the Anatomical Pathology Laboratory of the Faculty of Medicine, and the Central Laboratory of Andalas University, Padang. The experiment had 10 treatment levels and 3 groups. The treatment was the duration of UV-C exposure, namely 0 (wild type), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, and 270 minutes at a distance of 30 cm. The experiment consisted of several stages, namely mutation induction of patchouli plantlets, induction of shoots and roots in vitro, acclimatization, and selection using 20 ml of bacterial suspension with a density of 10⁶ cells/ml. Data for each patchouli plant per observation variable were presented in the form of mean values, variances, and standard deviations and analyzed using an unpaired t-test. The research results did not find LD₂₀ and LD₅₀ values among UV-C exposure durations of 0 – 270 minutes. However, through the regression equation $y = -0.0002x^2 + 0.082x + 1.7332$, the exposure time required to reach LD₂₀ and LD₅₀ could not be estimated because no x values met the LD₂₀ and LD₅₀ criteria. UV-C exposure for 90 minutes resulted in putative patchouli mutants with 38.00 oil glands, showing an increase in oil content compared to the wild type, which had only 14.00 oil glands. Additionally, UV-C exposure for 30 minutes had a 6.67% chance of producing putative patchouli mutants resistant to bacterial wilt disease. UV-C exposure also affected several morphological characteristics of patchouli, such as 120 minutes exposure causing the most chlorosis and the slowest shoot emergence time, 210 minutes increasing the number of shoots and leaves, and 240 minutes increasing the highest shoot growth.



© Hak Cipta milik UNAND, tahun 2024*
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan UNAND.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin UNAND.

*Pelimpahan hak cipta atas karya tulis dari penelitian kerja sama dengan pihak luar UNAND harus didasarkan pada perjanjian kerja sama yang terkait

**IRADIASI SINAR ULTRAVIOLET-C UNTUK PENINGKATAN
KELENJAR MINYAK DAN KETAHANAN PENYAKIT LAYU
BAKTERI PADA NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.)**

**SINDI HARYANTI
NIM. 2320241010**



**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Pertanian pada
Program Studi Agronomi
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2024**



Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. Ir. Auzar Syarif, M.S
2. Prof. Dr. Ir. Warnita, M.P
3. Dr. Ir. Benni Satria, M.P
4. Dr. Yusniwati, S.P., M.P
5. Dr. Ir. Gustian, M.S

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Tesis : IRADIASI SINAR ULTRAVIOLET-C UNTUK
PENINGKATAN KELENJAR MINYAK DAN
KETAHANAN PENYAKIT LAYU BAKTERI
PADA NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.)

Nama Mahasiswa : SINDI HARYANTI

Nomor Induk Mahasiswa : 2320241010

Program Studi : AGRONOMI

Tesis telah diuji dan dipertahankan di depan sidang panitia ujian akhir Master Pertanian pada Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas dan dinyatakan lulus pada Juli 2024.

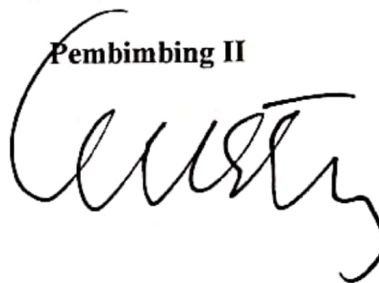
Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. Yusniwati, S.P., M.P
NIP. 197012172000122001

Pembimbing II



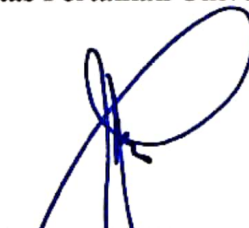
Dr. Ir. Gustian, M.S
NIP. 196008251986031003

**Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



Dr. Ir. Indra Dwipa, M.S
NIP. 196502201989031003

**Koordinator Program Studi Agronomi
Fakultas Pertanian Universitas Andalas**



Dr. Aprizal Zainal, S.P., M.Si
NIP. 197004091997021001

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat (pahala) dari (kebajikan) yang dikerjakannya dan dia mendapat (siksa) dari (kejahatan) yang diperbuatnya (Mereka berdoa), “Ya Tuhan kami, janganlah Engkau hukum kami jika kami lupa atau kami melakukan kesalahan. Ya Tuhan kami, janganlah Engkau bebani kami dengan beban berat sebagaimana Engkau bebani orang-orang sebelum kami. Ya Tuhan kami, janganlah Engkau pikulkan kepada kami apa yang tidak sanggup kami memikulnya. Maafkanlah kami, ampunilah kami, dan rahmatilah kami. Engkaulah pelindung kami, maka tolonglah kami menghadapi orang-orang kafir.”

(Q.S Al-Baqarah: 286)

Alhamdulillahirabbil'alamin.....

Segala puji bagi Allah SWT. Sembah sujud syukur hamba persembahkan kepada-Nya atas limpahan segala rahmat, nikmat, rezeki, kesehatan, dan kebahagiaan yang telah Engkau berikan kepada hamba, sehingga hamba dapat menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian, Universitas Andalas.

Terima kasih sebesar-besarnya saya ucapkan kepada kedua orang tua, yaitu Bapak Sagimin dan Ibu Supiyah, serta saudara-saudara saya yang telah memberikan doa serta dukungan baik materil dan immateril, sehingga saya menyelesaikan tesis ini dan memperoleh gelar Master Pertanian.

Terima kasih saya ucapkan kepada Ibu Dr. Yusniwati, S.P, M.P selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Ir. Gustian, M.S selaku pembimbing II yang telah sabar mengarahkan, membimbing, dan memberikan motivasi, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini. Semoga Bapak dan Ibu selalu diberi kesehatan dan dalam lindungan Allah SWT.

Ucapan terima kasih juga kepada Bapak Ryan Budi Setiawan, S.P, M.Si, Bunda Aisyah, dan teman-teman Lab Kuljar Family yang telah membantu dan bersedia saya ajak diskusi terkait penelitian dan tesis saya di Laboratorium Kultur jaringan tercinta.

Tak lupa, saya ucapkan terima kasih kepada Adi Purnama, S.P yang selama ini sudah bersedia saya ajak diskusi, menemani, dan memotivasi saya untuk segera

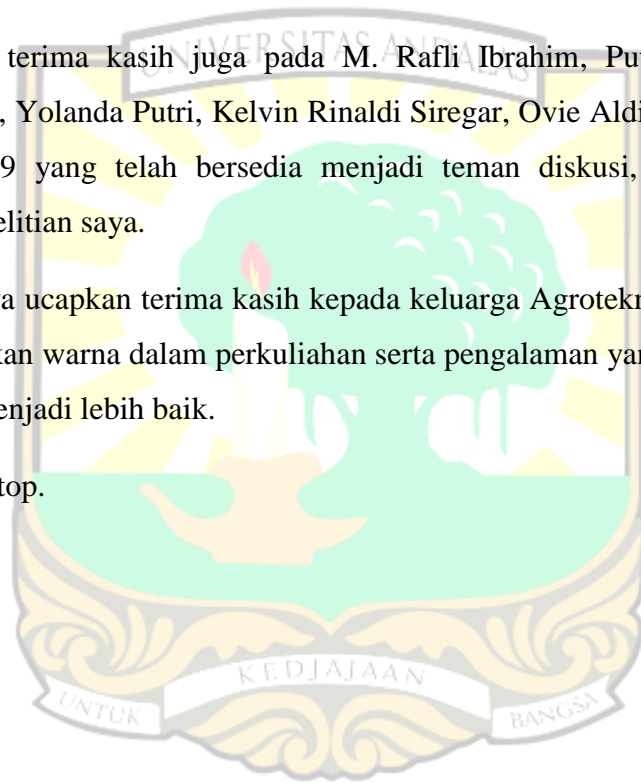
menyelesaikan studi. Dukungan dan dorongan yang selalu diberikan sangat berarti bagi saya, memberikan kekuatan dan semangat untuk terus maju mencapai tujuan.

Terima kasih kepada teman-teman “Kost Bu Yen/Pak Imam,” yaitu Siti Rahmah, S.P., Annisa Afiratussabila, S.P., Lidya Aminova, S.P., Novia Suryani, S.P., Cinta Ramadhani Putri, Adian Oem Lailatul, Radhwa, dan Lail Fitri yang sudah mendoakan, mendukung, membantu, dan mengisi keseharian saya. Tanpa kalian, perjalanan ini tentu akan terasa lebih berat. Kebersamaan dan perhatian kalian memberikan saya kekuatan tambahan untuk terus semangat menjalani dan menyelesaikan studi.

Saya ucapkan terima kasih juga pada M. Rafli Ibrahim, Putri Salsa Afifah, Andhini Fahira, Yolanda Putri, Kelvin Rinaldi Siregar, Ovie Aldilla, teman-teman *fast track* 2019 yang telah bersedia menjadi teman diskusi, menemani, dan membantu penelitian saya.

Akhir kata, saya ucapkan terima kasih kepada keluarga Agroteknologi 2019 yang telah memberikan warna dalam perkuliahan serta pengalaman yang membuat saya berkembang menjadi lebih baik.

Let's reach the top.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunianya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik. Sholawat beriringkan salam, senantiasa tercurahkan kepada Nabi junjungan alam, yakni Rasulullah Muhammad SAW sebagai suri tauladan dalam kehidupan. Tesis yang berjudul “Iradiasi Sinar Ultraviolet-C untuk Peningkatan Kelenjar Minyak dan Ketahanan Penyakit Layu Bakteri pada Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)” ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Pertanian di Fakultas Pertanian, Universitas Andalas.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu Dr. Yusniwati, S.P., M.P sebagai Pembimbing I dan Bapak Dr. Ir. Gustian, M.S sebagai Pembimbing II yang telah membimbing, memberikan arahan, motivasi dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua atas dukungan serta doanya, kepada seluruh dosen, serta teman-teman seperjuangan yang telah memberi motivasi dan membantu penulis. Penulis menyadari bahwa tesis ini jauh dari sempurna sehingga berharap adanya masukan dan saran untuk kesempurnaan tesis ini. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis dan dapat menambah informasi bagi kita semua. Akhir kata, penulis ucapkan terima kasih.

Padang, Juli 2024

Sindi Haryanti

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Nilam	5
2.2 Kultur Jaringan Nilam	6
2.3 Pemuliaan Mutasi	7
2.4 Teknik Mutasi Fisik.....	8
BAB III METODE PENELITIAN.....	9
3.1 Waktu dan Tempat.....	9
3.2 Peralatan	9
3.3 Bahan	9
3.4 Rancangan.....	9
3.5 Pelaksanaan.....	10
3.6 Pengamatan.....	15
3.7 Analisis Data.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Intensitas Klorosis	20
4.2 Penentuan Nilai Radiosensitivitas	23
4.3 Waktu Muncul Tunas	24
4.4 Persentase Eksplan Bertunas	26
4.5 Jumlah Tunas	28
4.6 Jumlah Daun	30
4.7 Tunas Tertinggi.....	32
4.8 Stomata	35
4.9 Jumlah Kelenjar Minyak.....	37
	xii

4.10 Persentase Kejadian Penyakit	39
4.11 Analisis Korelasi.....	42
BAB V PENUTUP.....	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran	45
LAMPIRAN.....	59



DAFTAR TABEL

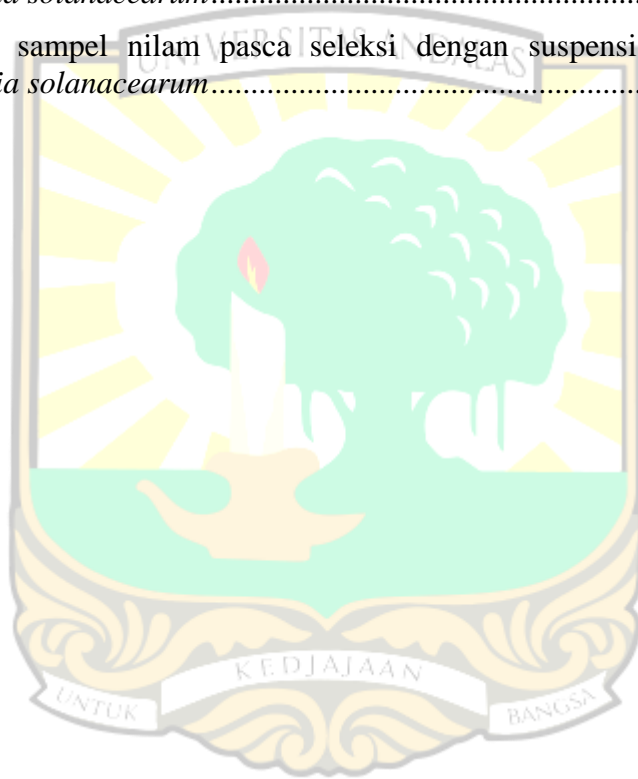
Tabel	Halaman
1. Tingkat Ketahanan Mutan Nilam terhadap Serangan Bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i>	18
2. Perubahan eksplan nilam yang mengalami klorosis 2 – 8 MST	21
3. Rata-rata waktu muncul tunas nilam pada beberapa durasi penyinaran UV-C	24
4. Rata-rata persentase eksplan nilam bertunas pada beberapa durasi penyinaran UV-C	26
5. Rata-rata Jumlah Tunas Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C	28
6. Rata-rata Jumlah Daun Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C	30
7. Rata-rata Jumlah Daun Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C	33
8. Jumlah Stomata pada Daun Nilam dengan Beberapa Durasi Penyinaran UV-C	36
9. Jumlah Kelenjar Minyak Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C	38
10. Rata-rata Persentase Kejadian Penyakit pada Nilam Pasca-Seleksi dengan Pemberian Suspensi Bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i>	40
11. Hasil analisis korelasi taraf 5% persentase bertunas, jumlah tunas, jumlah daun, tunas tertinggi, jumlah, panjang, dan lebar stomata, jumlah kelenjar minyak, serta kejadian penyakit pada beberapa durasi penyinaran UV-C.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pengujian gram bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i> ; (a) terjadinya penggumpalan setelah KOH 3% dan satu koloni tunggal bakteri dihomogenkan di atas kaca objek; (b) munculnya lendir ketika jarum ose diangkat.	13
2. Gejala nekrotik daun tembakau yang disebabkan bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i> ; (a) tampak bawah; (b) tampak atas.	13
3. Nilam <i>wild type</i> mati akibat terserang penyakit layu bakteri pada hari ke-11 setelah inokulasi; (a) sebelum inokulasi suspensi bakteri; (b) setelah inokulasi suspensi bakteri.	14
4. Penampang melintang daun nilam; (a) penampilan kelenjar minyak (Haryudin, 2002).....	17
5. Persentase kejadian klorosis eksplan nilam pada 2 MST. Skor 0: 0 bagian mengalami klorosis; 1: 1/4 bagian mengalami klorosis; 2: 1/2 bagian mengalami klorosis; 3: 3/4 bagian mengalami klorosis; 4: semua bagian mengalami klorosis	20
6. Penentuan tingkat sensitivitas nilam yang terpapar beberapa durasi penyinaran UV-C	23
7. Awal kemunculan tunas nilam dari; (a) permukaan daun; (b) tulang daun.....	24
8. Tunas tertinggi eksplan nilam pada beberapa durasi penyinaran UV-C; a) <i>wild type</i> ; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit.....	32
9. Hasil pengamatan stomata pada daun nilam dengan perbesaran mikroskop 40 x 10; a) <i>wild type</i> ; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit	35
10. Penampang melintang daun nilam pada perbesaran mikroskop 20 x 10; a) <i>wild type</i> ; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit; lingkaran merah menunjukkan kelenjar minyak nilam	38
11. Kondisi nilam; (a) sebelum inokulasi; (b) mati pasca-inokulasi; lingkaran merah menunjukkan batang dan akar nilam membusuk serta menghitam	40

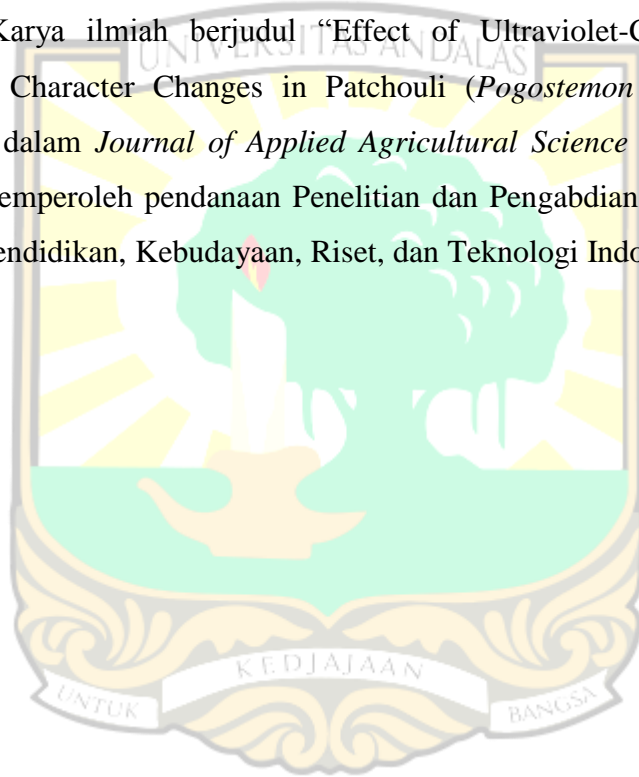
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Jadwal kegiatan penelitian dari bulan Januari – Mei 2024	59
2. Komposisi media Murashige and Skoog (MS)	60
3. Denah penempatan Botol kultur di laboratorium berdasarkan RAK	61
4. Hasil Uji t Taraf 5% Masing-masing Durasi Iradiasi UV-C pada Semua Variabel Pengamatan	63
5. Seluruh sampel nilam pasca seleksi dengan suspensi bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i>	64
6. Kondisi sampel nilam pasca seleksi dengan suspensi bakteri <i>Ralstonia solanacearum</i>	65



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kelurahan Sentang, Kecamatan Kota Kisaran Timur, Kabupaten Asahan, Sumatra Utara pada tanggal 21 November 2002 sebagai anak kelima dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Sagimin dan Ibu Supiyah. Pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas dan lulus pada tahun 2023. Kemudian, penulis diterima sebagai mahasiswa program magister (S-2) di Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas melalui jalur *fast track* dan menamatkannya pada tahun 2024. Karya ilmiah berjudul “Effect of Ultraviolet-C Irradiation on Morphological Character Changes in Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.)” dipublikasikan dalam *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*. Penulis juga memperoleh pendanaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat dari Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Indonesia pada tahun 2024.



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu komoditas perkebunan penghasil atsiri (*patchouli oil*) yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan pangsa pasar yang luas di dalam dan luar negeri, dibandingkan tanaman atsiri lainnya (Duryatmo, 2018). Kebutuhan minyak nilam dunia saat ini mencapai 2000 ton per tahun. Indonesia merupakan negara yang menguasai pasokan minyak nilam dunia, yaitu sekitar 90% (Mangun *et al.*, 2012; Rosiana *et al.*, 2017; Dewan Atsiri Indonesia, 2021). Indonesia kerap melakukan ekspor ke negara-negara industri seperti Amerika Serikat, Spanyol, Singapura, Inggris, Switzerland, dan Prancis. Saat ini sentra produksi minyak nilam di Indonesia terdapat di Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Gorontalo, Aceh, Sumatra Utara, dan Sumatra Barat (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020).

Minyak nilam dihasilkan dari penyulingan batang, daun, dan cabang yang mengandung *patchouli alcohol*, δ -guaiana, α -guaiana, seychellena, α -patchoulena, saponin, dan flavonoid. Indikator kualitas minyak nilam ditentukan oleh kandungan *patchouli alcohol*. Semakin tinggi kandungan *patchouli alcohol*, maka kualitas minyak nilam semakin baik (Aisyah *et al.*, 2010; Idris *et al.*, 2014; Harli, 2016; Ouyang *et al.*, 2016). Minyak nilam memiliki sifat dapat larut dalam alkohol, sukar tercuci dan menguap, serta mampu mengikat aroma lainnya (fiksatif), sehingga harumnya mampu bertahan lama dan membentuk bau yang harmonis jika dicampurkan (Kadir, 2011; Harusnyah, 2011; Sukarman 2012). Minyak nilam memiliki prospek yang baik di masa depan dalam hal pemenuhan kebutuhan industri parfum, kosmetika, antiseptik, insektisida, dan aromaterapi (Harli, 2016; Manubelu, 2017). Hal ini sejalan dengan berkembangnya *trend mode* yang membuat permintaan parfum dan kosmetik meningkat.

Produktivitas minyak nilam di Indonesia pada tahun 2020 sebesar 187.73 kg/ha mengalami penurunan menjadi 139.43 kg/ha pada tahun 2021, kemudian naik menjadi 185.15 kg/ha pada tahun 2022 (Badan Pusat Statistik, 2023). Ketidakstabilan produktivitas minyak nilam di Indonesia dapat terjadi karena rendahnya mutu genetik, proses hulu ke hilir nilam yang masih sederhana

(Effendy *et al.*, 2019), dan tingginya serangan penyakit layu bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* Penyakit ini menimbulkan tingkat kerugian hasil mencapai 60-80%, yang gejalanya dapat membuat tanaman layu dalam waktu singkat, bahkan kematian (Nasrun *et al.*, 2016). Gejala awal serangan layu bakteri, yaitu pucuk layu diikuti dengan daun bagian bawah. Jika serangan berlanjut dan intensitas mencapai 50%, maka nilam akan mati dalam waktu 7-25 hari. Jaringan akar dan batang nilam akan membusuk dan berwarna agak hitam serta terdapat irisan kehitaman sepanjang jaringan cabang yang layu (Dinas Perkebunan Jawa Timur, 2020).

Perbanyakan nilam umumnya dilakukan dengan stek cabang dan batang, namun cara ini dinilai memiliki perkembangan yang lambat (Trimanto *et al.*, 2019), menurunkan daya hasil dan kualitas minyak nilam, tidak mumpuni untuk budidaya dalam skala besar, serta memungkinkan terjadinya penurunan variasi genetik (Damayanti, 2021). Peningkatan keragaman genetik nilam tidak dapat dilakukan melalui persilangan. Hal ini karena nilam tidak berbunga dan menghasilkan biji, sehingga diperlukan teknik mutasi, kultur jaringan, dan kegiatan seleksi untuk perbaikan karakter nilam, seperti hasil minyak tinggi dan tahan terhadap penyakit layu bakteri.

Mutasi merupakan serangkaian tahapan terbentuknya varian baru melalui terbentuknya alel dan susunan gen yang baru. Hal ini disebabkan adanya rekombinasi alel dari kromosom yang homolog, sehingga memberikan kesempatan untuk mendapatkan karakter baru yang diharapkan. (Jabben dan Mirza, 2004; Suprasanna *et al.*, 2015). Keberhasilan iradiasi dalam meningkatkan keragaman ditentukan oleh tingkat sensitivitas tanaman yang terpapar yang dapat dievaluasi melalui pengukuran nilai *lethal dose*, yaitu jumlah dosis yang menyebabkan kematian 20% (LD_{20}) dan 50% (LD_{50}) pada populasi tanaman. Selain itu, teknik kultur jaringan memiliki peranan dalam perbanyakan awal bahan mutasi dan mutan yang didapatkan, sementara kegiatan seleksi juga merupakan tahapan penting dalam mendapatkan karakter yang diharapkan. Hal ini karena perubahan gen akibat mutasi terjadi secara acak (Schum, 2003; Lestari, 2012; Manzoor *et al.*, 2019; Wulandari, 2022).

Mutasi dapat terjadi secara alami dan melalui induksi. Induksi mutasi dapat dilakukan menggunakan mutagen kimia dan fisik. Mutagen kimia adalah pemicu mutasi yang terdiri dari zat-zat kimia, seperti kolkisin, digitonin, EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*), dan sebagainya. Mutagen kimia menyebabkan perubahan gen atau urutan basa nitrogen pada DNA yang mengakibatkan perubahan pada fenotipe. Mutagen fisik adalah pemicu mutasi berupa berbagai macam radiasi, seperti sinar *fast* neutron, elektron beam, ion beam, alpha, beta, gamma, *ultraviolet* (UV). Radiasi ion menyebabkan perombakan dan pemecahan rantai kimia pada molekul DNA, delesi, dan substitusi ikatan nukleotida (Soeranto, 2003; Acquaah, 2007; Lestari, 2012; Asadi, 2013; Suprasanna *et al.*, 2015).

Sinar UV memiliki panjang gelombang berkisar 100 – 400 nm, yaitu antara spektrum elektromagnetik sinar X dan cahaya tampak. Sinar UV tidak bersifat pengion yang artinya tidak mengeluarkan elektron. Teknik iradiasi menggunakan sinar UV merupakan cara yang efektif untuk melakukan mutasi karena basa nitrogen DNA akan menyerapnya. Berdasarkan panjang gelombang, sinar UV dibedakan menjadi tiga, yaitu UV-A (315 – 400 nm), UV-B (280 – 315), dan UV-C (100 – 280 nm). UV-C merupakan yang paling energik dan merusak secara biologis. Tipe ini tidak sampai ke bumi dan tertahan oleh lapisan atmosfer. UV-C memiliki kemampuan sebagai mutagen karena akan menghasilkan dimer pirimidin untuk membentuk lesi yang mengganggu transkripsi dan replikasi DNA, menyebabkan mutasi, penyusunan ulang dan kematian kromosom (Novak dan Brunner, 1992; Parekh *et al.*, 2000).

Radiasi UV-C pada *Juncus effusus* meningkatkan enzim antioksidan SOD (*superoxide dismutase*), POD (*peroxidase*), dan APX (*ascorbate peroxidase*) (Najeeb *et al.*, 2011). Paparan lebih dari 60 menit meningkatkan ukuran buah dan produksi tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) (Abdulkareem *et al.*, 2015), sementara paparan selama 30 dan 60 menit pada jarak 30 cm juga mempengaruhi vigor benih dan total produksi *Pisum sativum* L. (Khan *et al.*, 2018). Peningkatan keragaman nilam melalui teknik mutasi telah dilakukan oleh Sari *et al.* (2009) dan Khaerina (2018) menggunakan sinar gamma, sementara Anne dan Wiendi (2012), Afifah (2020), dan Zuyasna *et al.* (2021) menggunakan kolkisin untuk duplikasi kromosom. Penggunaan UV-C sebagai mutagen belum dilakukan pada tanaman

nilam. Berdasarkan uraian tersebut, maka penulis melaksanakan penelitian dengan judul “Iradiasi Sinar Ultraviolet-C dan Seleksi Ketahanan Penyakit Layu Bakteri Pada Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)”

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah LD₂₀ dan LD₅₀ penyinaran UV-C terhadap planlet nilam melalui kultur *in vitro*?
2. Adakah putatif mutan nilam yang memiliki hasil minyak lebih tinggi dibandingkan *wild type*?
3. Adakah putatif mutan nilam yang tahan terhadap penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui LD₂₀ dan LD₅₀ penyinaran UV-C terhadap planlet nilam melalui kultur *in vitro*.
2. Memperoleh putatif mutan nilam yang memiliki hasil minyak tinggi dibandingkan *wild type*.
3. Memperoleh putatif mutan nilam yang tahan terhadap penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi seorang peneliti, menjadi acuan dan sumber referensi yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya terkait pengembangan dan pembentukan varietas baru nilam.
2. Bidang pemuliaan tanaman, memberikan informasi terkait LD₂₀ dan LD₅₀ penyinaran UV-C terhadap planlet nilam melalui kultur *in vitro*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nilam

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu dari 200 spesies tanaman penghasil atsiri yang berasal dari Filipina dan banyak dikembangkan di Indonesia dan India (Swamy dan Sinniah, 2015). Indonesia mulanya menanam nilam di Jawa pada tahun 1895 dan Aceh pada tahun 1909 (Kardinan *et al.*, 2004; Irawan dan Jos, 2010). Nilam termasuk ke dalam famili Labiatae (Puspitosari *et al.*, 2015). Kedudukan nilam dalam sistematik taksonomi tumbuhan, yaitu Kingdom: Plantae; Divisi: Spermatophyta; Divisi: Angiospermae; Kelas: Dicotyledonae; Ordo: Labiales; Famili: Labiatae; Genus: Pogostemon; Spesies: *Pogostemon cablin* Benth (Murugan dan Livingstone, 2010).

Nilam merupakan tanaman herba yang tumbuh tegak dengan ketinggian lebih dari 1 meter. Nilam memiliki akar serabut, lunak, dan berbuku-buku. Nilam memiliki daun berbentuk bulat telur atau lonjong, melebar di tengah, meruncing ke ujung, tepinya bergerigi, dan melekat berpasangan satu sama lain pada ranting (Daniel, 2012). Daunnya seperti beludru jika diraba dengan tangan dan bagian bawah serta rantingnya halus. Batangnya berdiameter 10-20 mm, berbentuk segi empat. Batang nilam berwarna hijau kecokelatan dan memiliki buku batang yang mengembang serta berair. Nilam memiliki jumlah cabang yang banyak dan bertingkat, sekitar 3-5 cabang per tingkat mengelilingi batang. Tulang daunnya bercabang ke segala penjuru. Bunganya berwarna putih dan tersusun di tangkai, namun nilam jarang berbunga (Balai Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2016).

Nilam tumbuh baik pada dataran rendah sekitar 10 – 400 m dpl dan akan berproduksi tinggi. Tanaman ini menyukai tanah yang subur dan mengandung humus serta bahan organik yang cukup. Nilam memerlukan penyinaran matahari berkisar antara 75 – 100% (Zuyasna, 2021). Jika nilam tumbuh pada tempat-tempat ternaungi, nilam memiliki daun lebih lebar, tipis, dan hijau, tetapi kadar minyaknya akan lebih rendah (Balai Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2016). Curah hujan 2500 – 3500 mm/tahun, dan temperatur udara 24

– 28 °C (Zuyasna, 2021). Nilam sangat peka terhadap kekeringan, kemarau panjang setelah panen akan menyebabkan tanaman mati (Nuryani *et al.*, 2007).

Nilam memiliki umur tumbuh yang cukup panjang, yaitu sekitar 3 tahun dan dapat lebih. Panen pertama nilam biasanya dilakukan pada bulan ke-6-7 dan seterusnya setiap 2-3 bulan, namun juga tergantung pemeliharaan dan pola panennya. Nilam dapat diremajakan kembali dari hasil tanaman melalui penyemaian atau pembibitan berupa stek. Hasil panen nilam berupa daun basah yang dipanen, selanjutnya dilayukan atau dikeringkan dan diolah lebih lanjut melalui proses penyulingan agar diperoleh suatu produk yang dinamakan minyak nilam. Bagian lain seperti ranting, batang, dan akar memiliki kandungan minyak yang lebih sedikit (Mangun *et al.*, 2012).

Nilam di Indonesia terdiri dari 3 jenis, yaitu nilam Aceh, Jawa, dan sabun. Nilam Aceh merupakan tanaman yang paling banyak kandungan minyaknya, dibandingkan dengan jenis lainnya berkisar 2.5-5%. Saat ini hampir seluruh wilayah Indonesia mengembangkan nilam Aceh. Nilam Jawa merupakan tanaman yang memiliki kandungan minyak berkisar 0.5-1.5%. Kandungan minyak nilam Jawa sama seperti nilam sabun, sehingga keduanya tidak direkomendasikan sebagai tanaman komersil (Duryatmo, 2018).

2.2 Kultur Jaringan Nilam

Nilam pada umumnya tidak berbunga dan diperbanyak secara vegetatif. Hal tersebut membuat peningkatan keragaman genetik hanya diharapkan secara alamiah dari mutasi alami yang frekuensinya sangat rendah. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk memperbanyak nilam adalah kultur jaringan (Hadipoentyanti, 2015). Kultur jaringan merupakan salah satu teknik menumbuhkan organ-organ tanaman di dalam wadah atau botol yang berisi media dalam keadaan steril (aseptik) (Yuniardi, 2019). Penelitian kultur jaringan nilam telah banyak dilakukan di Indonesia, seperti Suminar *et al.*, (2015) melakukan penelitian terkait pertumbuhan dan perkembangan tunas nilam var. Lhokseumawe dari jenis eksplan dengan sitokinin (BAP) yang berbeda secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan eksplan mata tunas dengan pemberian BAP (*Benzyl Amino Purine*) 0.5 ppm menghasilkan jumlah tunas, jumlah daun, dan bobot segar terbaik. Pangesti dan Sulityowati (2015) melakukan penelitian

terkait pemberian ekstrak taugé dan air kelapa terhadap pertumbuhan tunas nilam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak taugé 3% dan air kelapa 10% memberikan hasil terbaik pada berat tunas dan tinggi tanaman.

Mayura (2020) juga melakukan penelitian kultur jaringan dengan menguji berbagai komposisi media terhadap induksi tunas nilam. Penelitian terdiri dari dua faktor, yaitu konsentrasi BAP dan aksesi nilam. Hasil penelitian menunjukkan adanya interaksi antara pemberian BAP 0.5 ppm dan aksesi Rimbo Binuang menghasilkan jumlah tunas per eksplan terbaik sebanyak 17.33, namun tidak terdapat interaksi pada variabel lain. Yusniwati *et al.*, (2020) juga melakukan organogenesis langsung pada nilam. Penelitian terdiri dari dua faktor, yaitu jenis eksplan (daun dan nodus) dan konsentrasi BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan dan media yang digunakan mampu menginduksi tunas hingga 100%, namun eksplan nodus membentuk tunas lebih cepat. Penambahan BAP 0.1 ppm menghasilkan rata-rata jumlah tunas terbanyak, yaitu 17.9 pada kedua eksplan. Rezaldi *et al.*, (2022) melakukan multiplikasi tunas dan induksi perakaran dengan dua faktor, yaitu konsentrasi BAP dan NAA (*Naftalene Acetat Acid*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi NAA 0 ppm dan BAP 2 ppm merupakan perlakuan terbaik dalam menghasilkan tunas nilam, yaitu sebanyak 11 tunas.

2.3 Pemuliaan Mutasi

Peningkatan keragaman suatu tanaman dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan teknik mutasi. Mutasi merupakan perubahan materi genetik yang bisa diwariskan bukan dikarenakan oleh rekombinasi dan segregasi. Mutasi yang terjadi pada bahan genetik (DNA maupun RNA), baik pada tingkat gen (disebut mutasi titik) maupun tingkat kromosom. Mutasi pada tingkat kromosomal biasanya disebut aberasi. Mutasi pada gen dapat mengarah pada munculnya alel baru dan menjadi dasar bagi kalangan pendukung evolusi mengenai munculnya variasi-variasi baru pada spesies. Berdasarkan tipe perubahannya, mutasi dapat diklasifikasikan menjadi: (a) mutasi genomik, menyebabkan perubahan jumlah kromosom (poliploid, haploid, aneuploid); (b) mutasi kromosom, terjadinya perubahan struktur kromosom (defisiensi, inversi, duplikasi, dan translokasi kromosom); (c) mutasi gen, perubahan pada urutan basa

nukleotida karena terjadi delesi atau substitusi; (d) mutasi di luar inti sel, terjadi pada *cytoplasmic genom* (Acquaah, 2007; Forster dan Shu, 2012; Warmadewi, 2017).

Perubahan karakter yang tampak (fenotipik) dapat terjadi akibat mutasi, namun tidak menutup peluang perubahan karakter pada tingkat gen (genotipik) juga dapat menunjukkan sedikit perubahan dalam fenotipik yang dapat diketahui melalui teknik molekuler (Warmadewi, 2017). Peristiwa terjadinya mutasi disebut mutagenesis, sedangkan organisme yang mengalami disebut mutan. Mutasi dapat terjadi spontan di alam, fisik iradiasi, dan kimia. Mutasi spontan dapat disebabkan oleh sinar kosmos, bantuan radioaktif, dan sinar UV matahari. Fisik iradiasi disebabkan sinar alpha, beta, gamma, *fast* neutron, elektron beam, dan ion beam, sedangkan kimia disebabkan adanya pemberian *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS), *Nitrosomethyl Urea* (NMU), *Nitrosoguanidine* (NTG), dan sebagainya. Kemungkinan terjadi mutasi secara alami sangat kecil, yaitu sekitar 10^{-8} - 10^{-5} (Aisyah, 2013).

2.4 Teknik Mutasi Fisik

Teknik mutasi fisik dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satu diantaranya adalah dengan paparan sinar *ultraviolet*. Radiasi *ultraviolet* pertama kali diperkenalkan oleh Johann Wilhelm Ritter pada tahun 1801 adalah energi cahaya yang memancarkan panjang gelombang 100 – 400 nm. Radiasi UV merupakan energi yang relatif rendah dibandingkan dengan sinar X dan lainnya. Radiasi *ultraviolet* dibagi menjadi 3, yaitu UV-A (315 – 400 nm), UV-B (280 – 315 nm), dan UV-C (100 – 280 nm). UV-A memiliki efek buruk karena menciptakan oksigen radikal yang secara tidak langsung dapat merusak DNA. UV-B adalah mutagenik utama yang sering digunakan, sedangkan UV-C adalah yang paling kuat, energik, merusak secara biologis, dan cahayanya tidak sampai ke bumi. Efek mutagenik dari sinar UV muncul karena dapat bereaksi dengan DNA dan molekul lainnya. Hal ini disebabkan panjang gelombang dapat diserap oleh molekul DNA dan asam amino. UV-B dan UV-C menghasilkan dimer pirimidin penyebab lesi yang mengganggu transkripsi dan replikasi DNA, serta mutasi kromosom (Novak dan Brunner, 1992; Parekh *et al.*, 2000).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dengan metode percobaan telah dilaksanakan dari bulan Januari – Mei 2024 (Lampiran 1) berlokasi di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, serta Laboratorium Sentral Universitas Andalas, Padang.

3.2 Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini ialah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), mikroskop, botol kultur berukuran 100 ml, lampu sinar UV-C 38 watt 254 nm, autoklaf, oven, *hot plate*, timbangan analitik, *shaker*, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, batang pengaduk, botol schott, tabung reaksi, kaca objek, *petridish*, *scalpel*, pinset, gunting, pipet tetes, batang pengaduk, jarum ose, *magnetic stirrer*, kertas pH, gunting, ember, *sprayer*, rak kultur, bunsen, korek api, spritus, kamera, *tray* aklimatisasi, dan alat tulis.

3.3 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini ialah planlet nilam koleksi Laboratorium Kultur Jaringan, isolat *Ralstonia solanacearum* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Institut Pertanian Bogor, media Murashige and Skoog (MS), media spesifik *triphenil tetrazolium chloride* (TZC), media Nutrient and Broth (NB), *peptone*, *dextrose*, *casammino acid*, BAP, sukrosa 30 g L⁻¹, bacto agar 8 g L⁻¹, NaOH 0.1 N, HCl 0,1 N, KOH 3%, alkohol 70 dan 96%, larutan *McFarland*, formalin 10%, paraffin cair, pewarna Hematoxylin Eosin (HE), tanaman tembakau, akuades steril, air kelapa, *polyvinylpyrrolidone* (PVP), *natrium hipoklorit* (Bayclin®), kuteks bening, *syringe*, kertas pH, plastik *wrap*, plastik bening, karet gelang, *detergen* cair, *aluminium foil*, tisu, kertas label, lakban, kertas, dan sekam.

3.4 Rancangan

Percobaan ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor, meliputi 10 taraf perlakuan dan 3 kelompok, sehingga terdapat 30 satuan

percobaan. Setiap satu satuan percobaan terdiri dari 10 botol kultur, sehingga terdapat 300 botol kultur yang digunakan dan diamati seluruhnya. Perlakuan dalam percobaan ini terdiri dari beberapa waktu penyinaran. Aplikasi induksi mutasi dilakukan dengan iradiasi terbagi, yaitu penembakan sinar UV-C yang seharusnya diberikan satu kali, namun diberikan dua kali dalam setengah dosis. Adapun perlakuan yang diberikan dalam percobaan ini, yaitu 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, dan 270 menit.

3.5 Pelaksanaan

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Lingkungan Kerja

Botol kultur dan alat-alat tanam seperti pinset, petridish, *petridish*, dan *scalpel*, dicuci menggunakan *detergen* serta dibilas dengan air mengalir hingga bersih sebelum digunakan. Kemudian, apabila pada botol kultur terdapat jejak atau kerak-kerak media yang sulit dihilangkan, maka direndam pada larutan Bayclin 20% (*natrium hipoklorit* 1.05%) selama 24 jam, selanjutnya dibilas bersih menggunakan air mengalir, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 Mpa (*mega pascal*) 20 menit.

Alat-alat tanam dibungkus menggunakan kertas padi, dimasukkan ke dalam plastik kaca, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Autoklaf dibersihkan dengan mengganti air setiap sebelum digunakan dan alat tanam yang telah disterilisasi disimpan dalam oven suhu 60 °C sampai waktu digunakan. Sterilisasi LAFC dilakukan menggunakan sinar UV selama 24 jam atau setidaknya 1 jam sebelum penanaman dan alkohol 70% disemprotkan sebelum dan setelah penanaman.

3.5.2 Pembuatan Media Tanam

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Murashige dan Skoog (MS) dan penambahan BAP 1 ppm (Sugiharto *et al.*, 2007). Komposisi media MS dapat dilihat pada Lampiran 2. Pembuatan media MS untuk volume 1 L, yaitu akuades steril sebanyak 800 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 1 L serta ditambahkan stok makro, mikro, vitamin, zat besi, dan MgSO₄ yang disesuaikan dengan volume masing-masing larutan baku media. Selanjutnya, ditambahkan sukrosa sebanyak 30 g L⁻¹ dan *myo-inositol* sebanyak 100 mg L⁻¹. Kemudian,

ditambahkan PVP 250 mg L⁻¹, BAP 1 ppm, dan bacto agar sebanyak 8 g L⁻¹, serta dihomogenkan. Volume larutan dicukupkan hingga 1 L dan derajat keasaman larutan yang diukur menggunakan kertas pH berkisar 5.6 – 5.8. Jika pH larutan kurang dari 5.6 maka ditambahkan NaOH 0.1 N dan jika pH larutan lebih dari 5.8 maka ditambahkan HCl 0,1 N menggunakan pipet tetes. Media dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mendidih. Media dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 10 ml/botol. Botol kultur ditutup menggunakan plastik bening dan diikat dengan karet gelang. Selanjutnya, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 0.1 MPa selama 15 menit. Media disimpan dalam rak kultur sebelum digunakan.

3.5.3 Penanaman dan Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan dan penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC yang disinari lampu UV selama 24 jam atau setidaknya 1 jam sebelum penanaman. Alat dan bahan seperti media kultur, bunsen, 100 ml alkohol 96%, pinset, *scalpel*, *petridish*, *aquadest* steril, tisu, dan karet gelang dimasukkan ke dalam LAFC.

Planlet nilam yang digunakan merupakan koleksi dari Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian. Sebelum ditanam, planlet diberi perlakuan sinar UV-C berjarak 30 cm sesuai dengan waktu yang telah ditentukan di dalam LAFC. Bagian planlet yang digunakan sebagai eksplan adalah daunnya. Eksplan dipotong dengan bantuan gunting steril dan pinset. Sebelum digunakan, gunting dan pinset dimasukkan ke dalam alkohol 96%, dibakar menggunakan api bunsen, dan didinginkan sesaat.

Sebelum ditanam, daun dipotong dengan ukuran 0.5 x 0.5 cm. Eksplan nilam yang siap tanam dimasukkan ke dalam botol kultur. Setiap botol kultur ditanam 1 eksplan. Kemudian, botol kultur ditutup menggunakan plastik bening, diikat menggunakan karet gelang, dan dibalut menggunakan plastik *wrap*. Setelah itu, botol diberi label kode perlakuan dan disusun sesuai dengan denah yang telah dibuat (Lampiran 3) dan ditempatkan pada rak kultur di ruangan inkubasi bersuhu 23 – 25 °C dalam kondisi terang selama ± 8 minggu

3.5.4 Pemeliharaan

Eksplan yang diletakkan di ruangan inkubasi dipelihara dengan menjaga kebersihan dan suhu ruangan. Botol yang berisi eksplan disemprot menggunakan alkohol 70% setiap hari. Apabila terdapat eksplan dan media yang terkontaminasi oleh mikroorganisme, maka harus segera dikeluarkan dari rak kultur sebagai upaya pencegahan penularan pada botol kultur lain

3.5.5 Sub-Kultur dan Induksi Akar

Eksplan nilam yang telah berumur ± 8 MST memunculkan banyak tunas, sehingga diperlukan pemisahan tunas-tunas ke dalam media MS tanpa penambahan ZPT selama ± 4 minggu. Hal ini dilakukan agar tunas nilam dapat tumbuh besar dengan batang yang kokoh. Selanjutnya, tunas-tunas tersebut dipindahkan ke media dengan penambahan 1 ppm IBA (*indole butyric acid*) untuk diinduksi akar selama ± 4 minggu (Putra, 2024).

3.5.6 Aklimatisasi

Nilam yang diaklimatisasi adalah eksplan yang telah berkembang menjadi planlet (memiliki daun, batang, dan akar). Planlet nilam ditanam menggunakan arang sekam steril pada *tray* aklimatisasi. Kemudian, *tray* ditutup Hal ini bertujuan untuk adaptasi planlet terhadap lingkungan baru. Planlet diperhatikan secara intensif dan setiap harinya disemprot. Sungkup dibuka secara berangsur sebelum dibuka total. Planlet diaklimatisasi selama ± 5 minggu.

3.5.7 Identifikasi Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Isolat bakteri yang ada diremajakan menggunakan media yang komposisinya terdiri dari TZC 0.001%, *peptone* 10 g L⁻¹, *dextrose* 10 g L⁻¹, dan *casammino acid* 1 g L⁻¹. Kemudian, bakteri digores dengan jarum ose menggunakan metode kuadran pada *petridish* yang berisi media. Bakteri yang berhasil diremajakan, membentuk koloni berwarna merah. Selanjutnya dilakukan pengujian gram, hipersensitivitas, dan patogenesisitas.

3.5.7.1 Uji Gram

Uji gram dilakukan untuk mengetahui bakteri bersifat gram positif atau negatif. Setetes larutan KOH 3% dan satu koloni tunggal bakteri diambil dan

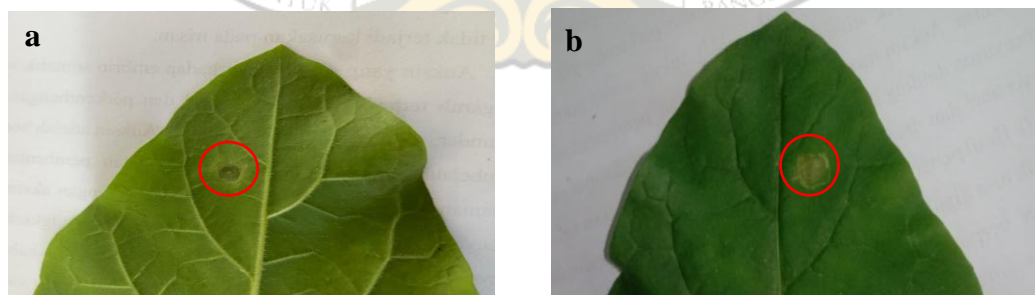
dihomogenkan di atas kaca objek. Ketika jarum ose diangkat dan terjadi penggumpalan maka bakteri bersifat gram negatif, sedangkan jika tidak terjadi penggumpalan maka bakteri bersifat gram positif (Schaad *et al.*, 2001). Hasil uji gram menunjukkan adanya lendir dan penggumpalan, artinya bakteri bersifat gram negatif (Gambar 1).



Gambar 1. Pengujian gram bakteri *Ralstonia solanacearum*; (a) terjadinya penggumpalan setelah KOH 3% dan satu koloni tunggal bakteri dihomogenkan di atas kaca objek; (b) munculnya lendir ketika jarum ose diangkat.

3.5.7.2 Uji Hipersensitivitas

Uji hipersensitivitas dilakukan dengan melakukan infiltrasi suspensi dengan kerapatan 10^8 sel/ml pada jaringan permukaan bawah daun tembakau menggunakan *syringe* dan dibiarkan 2 x 24 jam (Klement *et al.*, 1990). Jika bagian daun yang difiltrasi menunjukkan gejala nekrotik, artinya bakteri bersifat patogen, sedangkan jika tidak terjadi bakteri bersifat non-patogen. Hasil uji hipersensitivitas menunjukkan gejala nekrotik (Gambar 2).

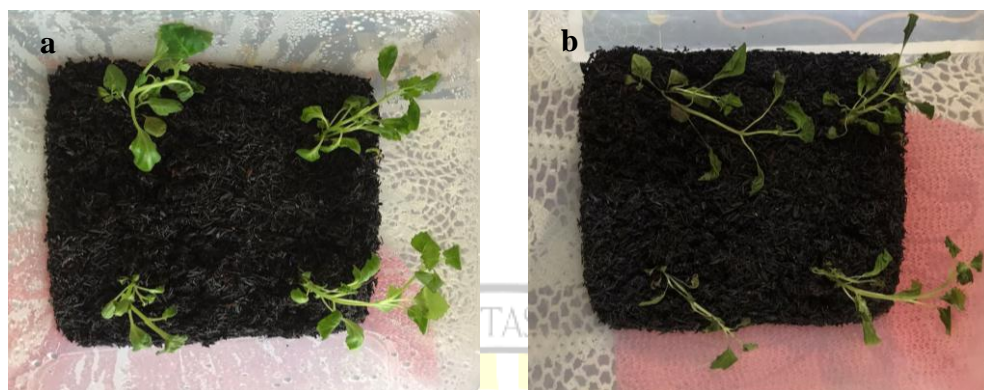


Gambar 2. Gejala nekrotik daun tembakau yang disebabkan bakteri *Ralstonia solanacearum*; (a) tampak bawah; (b) tampak atas.

3.5.7.3 Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan dengan melukai akardan penyiraman 20 ml suspensi bakteri *Ralstonia solanacearum* dengan kerapatan 10^8 sel/ml di sekitar

akar planlet nilam \pm 3 minggu setelah diaklimatisasi. Tanaman diamati setiap hari hingga muncul gejala layu bakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa nilam mati akibat terserang penyakit layu bakteri pada hari ke-11 setelah inokulasi (Gambar 3).



Gambar 3. Nilam *wild type* mati akibat terserang penyakit layu bakteri pada hari ke-11 setelah inokulasi; (a) sebelum inokulasi suspensi bakteri; (b) setelah inokulasi suspensi bakteri.

3.5.8 Perbanyakan Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Satu ose biakan murni dalam *petridish* dimasukkan ke dalam 25 ml media NB, dishaker selama 2 x 24 jam, dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan McFarland skala 6. Jika kekeruhannya serupa, maka kepadatan populasi diperkirakan 10^6 sel/ml. Selanjutnya, bakteri *Ralstonia solanacearum* diperbanyak menggunakan air kelapa. Setiap 1 ml bakteri dalam media NB dimasukkan ke dalam 50 ml air kelapa, sehingga untuk 6 L dibutuhkan 120 ml bakteri dalam media NB.

3.5.9 Seleksi

Seleksi dilakukan saat eksplan telah diaklimatisasi selama \pm 5 minggu dan sudah beradaptasi dengan lingkungan. Bakteri *Ralstonia solanacearum* diberikan pada 300 tanaman nilam dengan dosis 20 ml per tanaman. Teknik inokulasi suspensi bakteri yang digunakan adalah penyiraman dengan pelukaan akar (PLA). Metode PLA dilakukan dengan menyiramkan inokulum bakteri pada tanah di sekitar perakaran nilam sebanyak 100 ml per tanaman, namun sebagian akar pada kedua sisi batang di potong dengan pisau sebelum diinokulasi (Hartati dan Karyani, 2014). Nilam yang telah diberi agen seleksi dibiarkan \pm 2 minggu dan

diamati setiap hari hingga timbul gejala awal, seperti daun mulai layu dan mengalami klorosis.

3.6 Pengamatan

3.6.1 Morfologi

3.6.1.1 Intensitas Klorosis

Klorosis merupakan kondisi jaringan pada daun yang mengalami perubahan warna menjadi kuning atau pucat. Intensitas klorosis diamati dari eksplan mulai ditanam hingga muncul gejalanya klorosis. Skor intensitas klorosis adalah 0, 1, 2, 3, dan 4 yang secara berturut-turut mengindikasikan 0, 1/4, 1/2, 3/4, dan semua bagian eksplan mengalami klorosis. Rata-rata persentase intensitas klorosis digunakan untuk menentukan nilai radiosensitivitas (LD_{20} dan LD_{50}) yang dilakukan dengan mencari persamaan regresi menggunakan microsoft excel.

3.6.1.2 Waktu Muncul Tunas

Waktu muncul tunas (HST) diamati setiap hari hingga waktu terbentuknya tunas pada eksplan. Tanda kemunculan tunas, yaitu adanya tonjolan berwarna putih kehijauan pada permukaan eksplan.

3.6.1.3 Persentase Eksplan Bertunas

Persentase eksplan bertunas diamati untuk melihat kemampuan eksplan untuk tumbuh. Adapun ciri-ciri eksplan bertunas, yaitu adanya tonjolan putih kehijauan pada permukaan eksplan yang dilukai, kemudian berkembang menjadi tunas. Pengamatan dilakukan pada 8 MST. Persentase eksplan bertunas dihitung dengan cara:

$$\% \text{ Eksplan Bertunas} = \frac{\sum \text{Eksplan bertunas}}{\sum \text{Populasi tiap perlakuan}} \times 100\%$$

3.6.1.4 Jumlah Tunas

Penghitungan jumlah tunas diamati 8 MST. Pengamatan dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah tunas yang telah terbentuk pada eksplan, setidaknya memiliki tinggi ± 1 cm.

3.6.1.5 Tunas Tertinggi

Tunas yang diukur adalah yang tertinggi pada eksplan. Panjang tunas (cm) diukur dari pangkal hingga ke ujung tunas. menggunakan aplikasi ImageJ pada 8 MST.

3.6.1.6 Jumlah Daun

Penghitungan jumlah daun (helai) diamati pada 8 MST. Pengamatan dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah daun yang telah terbentuk dan membuka sempurna pada setiap tunas eksplan.

3.6.2 Fisiologi

3.6.2.1 Stomata

Pengamatan jumlah, panjang, dan lebar stomata dilakukan setelah tanaman diaklimatisasi. Daun yang digunakan adalah helaian ketiga setelah pucuk. Teknik pembuatan preparat stomata menggunakan metode replika. Cat kuku transparan diberikan pada lapisan epidermis bawah dan setelah kering, dilepas dengan selotip. Cat kuku transparan berfungsi sebagai agen pencetak epidermal daun (Fauziah dan Izzah, 2019). Kemudian, selotip diletakkan pada gelas objek dan preparat diamati di bawah mikroskop 40 x 10. Setiap perlakuan terdiri atas tiga preparat, dan setiap preparat diamati dengan tiga bidang pandang. Semua stomata dihitung, sementara banyak stomata yang diukur panjang dan lebarnya, ditentukan menggunakan rumus Slovin. Penghitungan dilakukan menggunakan *software ImageJ*.

$$n = \frac{N}{1+N(d^2)}$$

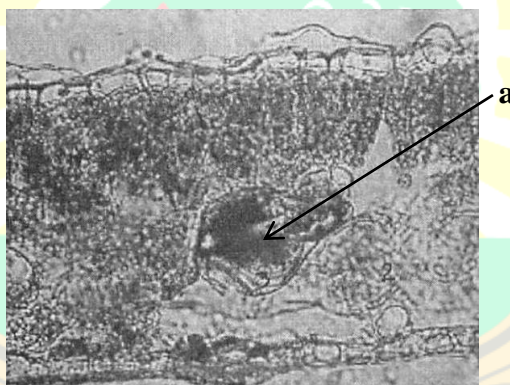
Keterangan:

- n = Ukuran sampel
- N = Ukuran populasi
- d = Tingkat error

3.6.2.2 Jumlah Kelenjar Minyak

Pengamatan jumlah kelenjar minyak dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu: (1) Daun dipotong melintang untuk dijadikan spesimen. (2) Spesimen

direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam untuk mematikan sel dan mencegah perubahan struktur sel akibat autolisis, dengan mengganti larutan setiap 6 jam untuk memastikan fiksasi yang optimal. (3) Spesimen dibilas dengan air mengalir, dikeringkan dengan tisu, dan direndam dalam alkohol selama 15 menit untuk menghilangkan air dari dalam sel. (4) Spesimen direndam dalam parafin cair bersuhu sekitar 60 °C selama 15 menit agar menjadi keras dan mudah dipotong tipis (5 mikrometer) menggunakan mikrotom. (5) Spesimen kemudian direndam dalam pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), dimulai dengan merendam dalam Hematoksin selama 5 menit, lalu dalam Eosin selama 2 menit. (6) Spesimen ditutup dengan lem khusus untuk melindungi irisan dari kerusakan dan kontaminasi, dan akhirnya diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10. Pengamatan dilakukan dengan satu ulangan per perlakuan, sehingga data disajikan tanpa diolah.



Gambar 4. Penampang melintang daun nilam; (a) penampilan kelenjar minyak (Haryudin, 2002)

3.6.3 Seleksi Resistensi Cekaman Biotik

3.6.3.1 Persentase Kejadian Penyakit

Persentase kejadian penyakit diamati dari hari pertama nilam diinokulasi hingga munculnya gejala. Kejadian penyakit diamati untuk mengetahui ketahanan masing-masing mutan yang diuji. Nilai persentase kejadian penyakit dikonversikan ke derajat ketahanan menurut cara Thaveechai *et al.*, (1989).

$$\text{Persentase kejadian penyakit} = \frac{\sum \text{Tanaman layu}}{\sum \text{Tanaman yang diamati}} \times 100\%$$

Tabel 1. Tingkat Ketahanan Mutan Nilam terhadap Serangan Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Persentase Kejadian Penyakit	Tingkat Ketahanan
0 – 20	Tahan (T)
21 – 40	Agak Tahan (AT)
41 – 60	Agak Rentan (AR)
61 – 100	Rentan (R)

3.7 Analisis Data

Data masing-masing nilam per variabel pengamatan disajikan dalam bentuk nilai rata-rata, ragam, dan standar deviasi menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rata-rata: } \bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Ragam: } \sigma^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

$$\text{Standar Deviasi: } SD = \sqrt{\sigma^2}$$

Data dianalisis dengan uji *t* tidak berpasangan (*unpaired t-test*) menggunakan aplikasi *Statistical Tool for Agricultural Research* (STAR). Uji ini digunakan untuk membandingkan nilam mutan dengan *wild type* menggunakan rumus berikut:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \times \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Keterangan:

- \bar{X} = Nilai rata-rata masing-masing variabel
- n = Jumlah tanaman
- σ^2 = Ragam
- x_1 = Nilai kontrol ke-*i*
- $\sum x$ = Jumlah data kontrol
- SD = Standar deviasi
- \bar{X}_1 = Rata-rata kontrol
- \bar{X}_2 = Rata-rata mutan
- S_1 = Ragam kontrol
- S_2 = Ragam mutan
- n_1 = Jumlah tanaman kontrol

n_1 = Jumlah tanaman mutan

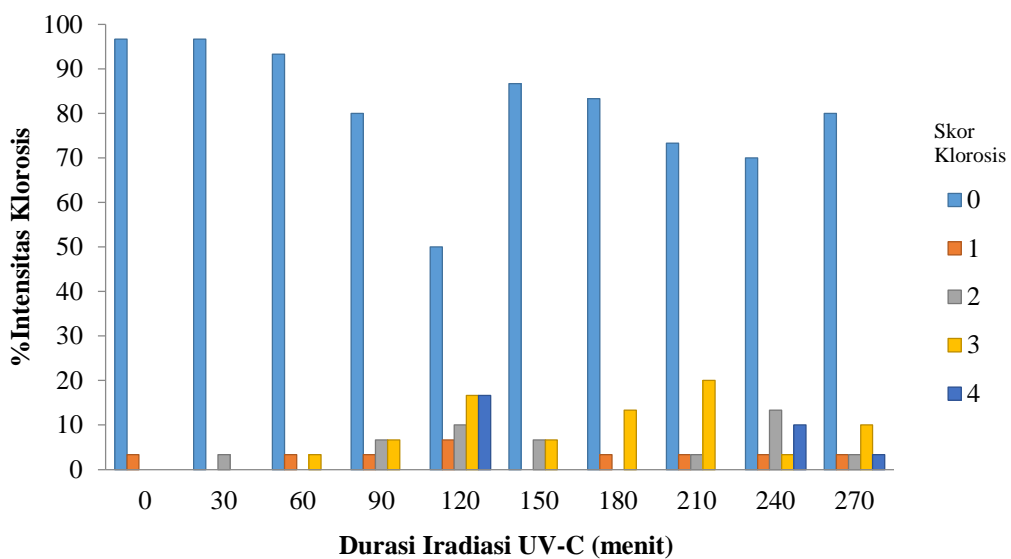
Analisis korelasi Pearson pada taraf 5% dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan antar-variabel pengamatan.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Intensitas Klorosis

Eksplan nilam mengalami klorosis pada 2 Minggu Setelah Tanam (MST). Eksplan menguning ataupun menjadi pucat keputihan merupakan gejala yang paling terlihat akibat paparan sinar UV-C. Hal ini mengindikasikan adanya kerusakan kloroplas. Persentase kejadian klorosis pada eksplan disajikan pada Gambar 5.

















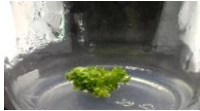





Gambar 5. Persentase kejadian klorosis eksplan nilam pada 2 MST. Skor 0: 0 bagian mengalami klorosis; 1: 1/4 bagian mengalami klorosis; 2: 1/2 bagian mengalami klorosis; 3: 3/4 bagian mengalami klorosis; 4: semua bagian mengalami klorosis

Kerusakan kloroplas diduga menyebabkan berkurangnya kadar klorofil atau kegagalan pembentukan klorofil pada 2 MST. Eksplan yang paling banyak mengalami klorosis pada durasi paparan UV-C selama 120 menit. Hasilnya menunjukkan bahwa 50% tidak mengalami klorosis, 6,67% mengalami klorosis pada 1/4 bagian, 16,67% mengalami klorosis pada 1/2 bagian, dan 16,67% mengalami klorosis pada seluruh bagian. Sarghein *et al.* (2011) menyebutkan bahwa paparan UV-C menyebabkan sel-sel mesofil yang banyak mengandung kloroplas kehilangan struktur dan fungsinya. Pola teratur dari grana dan stroma hilang, dan beberapa tilakoid tampak sedikit melebar. Selain itu, Urban *et al.* (2019) menyebutkan hal yang sama bahwa sinar UV-C mampu menembus lapisan

epidermis dan mencapai mesofil yang mengandung sekitar setengah juta kloroplas per mm^2 . Hal ini menyebabkan stres, kerusakan membran DNA, disfungsi kloroplas, dan penurunan ekspresi gen terkait fotosintesis, dan berbagai kerusakan struktur tanaman lainnya.

Daya penetrasi UV-C lebih lemah jika dibandingkan dengan sinar gamma yang mampu menembus sel. Hal ini menjadikan UV-C memiliki efek biologis yang kuat pada permukaan sel, mempengaruhi struktur plastida, terutama membran tilakoid, fotosintesis, dan morfologi tanaman. Paparan UV-C pada membran tilakoid menyebabkan kerusakan pada struktur dan fungsi protein di pusat reaksi fotosistem II, sehingga terjadi degradasi pigmen (Cechin dan Natalia, 2008; Sarinaningsih, 2016) dan kematian sel (Rusaczonok *et al.*, 2020). Selain itu, UV-C menghambat sintesis Mg^{2+} yang berperan penting dalam pembentukan klorofil (Yang *et al.*, 2023). Paparan UV-C menyebabkan penuaan dan penguningan pada daun tomat (Castranuovo *et al.*, 2014), menurunkan kadar klorofil, jumlah tunas aksiler, dan panjang ruas batang *Dianthus caryophyllus* L. (Afza dan Iriawati, 2015). *Arabidopsis thaliana* mengalami kerusakan kloroplas dan perubahan morfologi (Wituszynska *et al.*, 2015), sementara pada *Bixa orellana* L. mempengaruhi kandungan pigmen, aktivitas antioksidan, dan tingkat ekspresi gen (Sankari *et al.*, 2017).

Tabel 2. Perubahan eksplan nilam yang mengalami klorosis 2 – 8 MST

Skor	Eksplan Mengalami Klorosis (MST)			
	2	4	6	8
0				
1				
2				
3				
4				

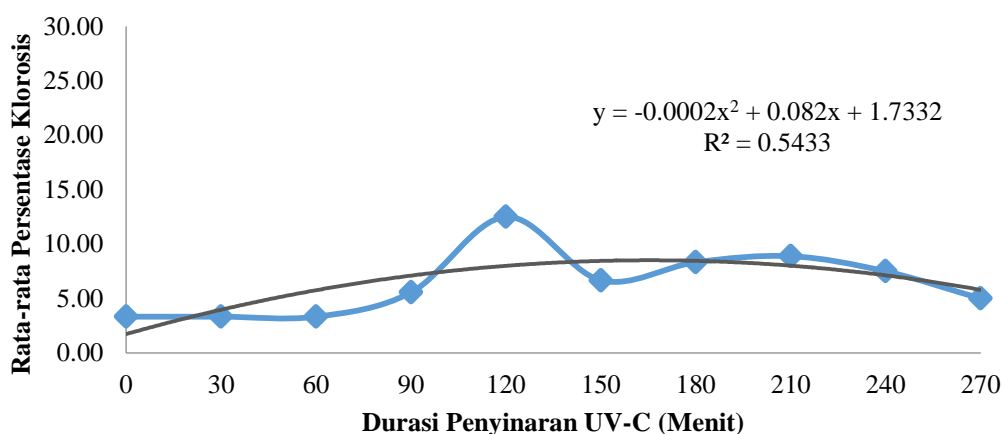
Warna eksplan tampak kekuningan atau pucat keputihan saat 2 MST. Namun, pada 3 – 8 MST tunas-tunas baru yang berwarna hijau mulai tumbuh (Tabel 2). Fenomena ini menandakan bahwa nilam dalam setiap perlakuan dapat pulih atau memperbaiki diri secara alami. Wulan (2007) menyebutkan bahwa hal tersebut kemungkinan menyebabkan penampilan putatif mutan terlihat menyerupai tanaman normal. Sel-sel memiliki kemampuan untuk bertahan hidup, sehingga karakteristik awal dapat pulih. Namun, jika sel mutan tetap bertahan, sel-sel normal akan tergantikan. Clancy (2008) menyebutkan bahwa sel telah mengembangkan berbagai mekanisme untuk mendeteksi dan memperbaiki jenis-jenis kerusakan yang dapat terjadi pada DNA, baik kerusakan oleh lingkungan maupun oleh kesalahan replikasi. DNA memainkan peran aktif dan penting dalam pembelahan sel, dan kendali perbaikan DNA terkait erat dengan pengaturan siklus sel. Sel melalui siklus yang mencakup fase Gap1 (G1), Sintesis (S), Gap2 (G2), dan Mitosis (M), dengan replikasi DNA terjadi pada fase S dan mitosis pada fase M. Selama siklus sel, terdapat mekanisme pemeriksaan yang memastikan bahwa DNA sel utuh sebelum terjadinya replikasi DNA dan pembelahan sel. Selain itu, Bidabadi dan Jain (2020) menyatakan bahwa tanaman memiliki kemampuan untuk regenerasi (memperbaiki diri) karena sifat plastisitas perkembangannya, sehingga memungkinkan untuk beradaptasi dan bertahan dalam berbagai kondisi. Villum Research Center for Plant Plasticity (2024) juga menambahkan bahwa tanaman akan melakukan serangkaian proses biosintesis untuk menghasilkan senyawa alami kompleks yang memiliki peran untuk mengatasi cekaman lingkungan (pemicu stres).

Sel-sel tanaman akan menjaga integritas DNA dengan mengembangkan beberapa mekanisme perbaikan kerusakan, yaitu fotoreaktivasi (perbaikan ringan). Proses ini terlibat dalam penghapusan pasangan nukleotida yang salah dan fotolesi yang dipicu oleh radiasi UV dari genom tanaman tingkat tinggi. Fotoreaktivasi sangat spesifik untuk kerusakan tertentu, namun mekanisme lainnya seperti jalur eksisi dan rekombinasi dapat menangani berbagai lesi, termasuk lesi DNA berukuran besar (Rastogi *et al.*, 2010; Lario *et al.*, 2011). Radiasi UV menyebabkan dua kelas lesi DNA, yaitu *cyclobutane pyrimidine dimers* (CPDs) dan *6-4 photoproducts* (6-4 PPs). Kedua lesi ini mendistorsi struktur DNA, menimbulkan lengkungan atau kekusutan sehingga menghambat transkripsi dan replikasi. Selain itu, molekul kedua yang disebut kromofor mengubah energi

cahaya menjadi energi kimia yang diperlukan untuk mengembalikan area DNA yang terkena dampak ke bentuk semula (Jembere dan Jakubowski, 2024).

4.2 Penentuan Nilai Radiosensitivitas

Nilai radiosensitivitas tanaman nilam dapat diketahui dengan menentukan nilai LD_{20} dan LD_{50} berdasarkan rata-rata persentase kejadian klorosis. Hasil penentuan tingkat sensitivitas eksplan nilam disajikan pada Gambar 6.



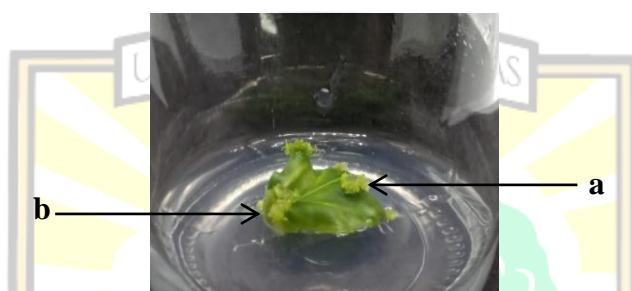
Gambar 6. Penentuan tingkat sensitivitas nilam yang terpapar beberapa durasi penyinaran UV-C

Tingkat sensitivitas nilam yang terpapar beberapa durasi penyinaran UV-C disajikan dalam grafik *polynomial fit* dengan nilai $R^2 = 0.5433$. Jika nilai R^2 semakin mendekati 1, maka semakin tepat model grafik yang digunakan. Hasil penelitian ini tidak menemukan waktu paparan UV-C yang menyebabkan kematian eksplan 20% atau 50% dalam rentang 0 – 270 menit, sementara melalui persamaan regresi $y = -0.0002x^2 + 0.082x + 1.7332$ juga tidak dapat diperkirakan waktu paparan yang diperlukan untuk mencapai LD_{20} dan LD_{50} . Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada nilai x yang memenuhi syarat LD_{20} dan LD_{50} . Hal ini karena eksplan yang terpapar UV-C hanya mengalami klorosis dan tidak mengalami kematian. Eksplan menunjukkan kemampuan untuk pulih dengan menumbuhkan tunas-tunas baru dari 2 – 8 MST seperti yang disajikan pada Tabel 2. Meskipun telah terjadi kerusakan, eksplan masih memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dan regenerasi yang baik. Selain itu, data rata-rata persentase klorosis mengalami fluktuasi. Perbedaan fisiologis antar-eksplan karena diambil dari tanaman berbeda atau bagian berbeda dari tanaman yang sama dapat memicu

adanya variabilitas. Astuti *et al.* (2022) menyebutkan bahwa banyak faktor yang mempengaruhi sensitivitas tanaman, seperti jenis radiasi, genotipe, stadia perkembangan sel, kondisi fisiologis, dan lingkungan tumbuh tanaman.

4.3 Waktu Muncul Tunas

Tunas mulai muncul dengan adanya pembengkakan dan tonjolan-tonjolan kecil pada bagian eksplan yang terluka. Tanda-tanda awal kemunculan tunas nilam terlihat dari permukaan daun dan tulang daun, yang dapat diamati pada Gambar 7.



Gambar 7. Awal kemunculan tunas nilam dari; (a) permukaan daun; (b) tulang daun

Hasil uji *t* menunjukkan bahwa durasi penyinaran 120 menit UV-C memiliki nilai rata-rata muncul tunas signifikan lebih lama (22.57 HST) dibandingkan *wild type* (18.43 HST), sedangkan perlakuan lainnya (17.50 – 21.78 HST) tidak berbeda signifikan dengan *wild type*. Rata-rata waktu muncul tunas nilam disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 3. Rata-rata waktu muncul tunas nilam pada beberapa durasi penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Waktu Muncul Tunas (HST) ($\mu \pm SD$)
30	17.80 \pm 1.50 ^{tn}
60	18.33 \pm 2.31 ^{tn}
90	18.67 \pm 1.78 ^{tn}
120	22.57 \pm 3.00*
150	17.50 \pm 1.88 ^{tn}
180	21.78 \pm 5.88 ^{tn}
210	19.23 \pm 2.61 ^{tn}
240	19.20 \pm 3.32 ^{tn}
270	18.57 \pm 1.91 ^{tn}
<i>Wild type</i>	18.43 \pm 1.23

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

Eksplan nilam dengan perlakuan paparan UV-C memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar, dibandingkan dengan *wild type*. Nilai standar deviasi yang besar menunjukkan suatu karakter pada perlakuan tersebut belum seragam. Hal ini berarti seluruh sampel tanaman pada masing-masing perlakuan memiliki waktu muncul tunas yang lebih beragam, dibandingkan *wild type* yang seragam. Meskipun demikian, kemunculan tunas semua perlakuan terjadi saat ± 3 MST, sehingga belum dapat dipastikan bahwa perbedaan pada waktu muncul tunas memang dipengaruhi durasi penyinaran UV-C. Mayerni *et al.* (2020) dalam penelitiannya melaporkan bahwa nilam mampu memunculkan tunas pada 18 HST. Rachmani *et al.* (2021) juga mengungkapkan bahwa nilam mampu memunculkan tunas pada 3 MST, sementara Phanomchai *et al.* (2021) mencatat bahwa paparan UV-C tidak mempengaruhi waktu kemunculan tunas violet persia, karena semua durasi paparan menghasilkan tunas pada 2–3 MST.

Secara teoritis, stres umumnya dianggap sebagai faktor penghambat pertumbuhan dan perkembangan, namun tidak menutup kemungkinan bahwa tanaman akan memberikan respons yang berkebalikan. Tanaman akan dianggap stres apabila kondisi lingkungan tumbuhnya tidak ideal. Zhang *et al.* (2020) menyebutkan bahwa tanaman melakukan penekanan pertumbuhan secara aktif adalah strategi yang tepat dalam menghadapi cekaman lingkungan. Tindakan ini bermanfaat bagi kelangsungan hidup, namun menurunkan produktivitas tanaman. Chang (2020) dan Kovalchuk (2023) juga mengungkapkan bahwa setiap tanaman telah membentuk mekanisme untuk beradaptasi ketika menghadapi berbagai situasi dan tekanan dari lingkungan. Tanaman dapat merespons dengan cara yang lebih efektif dan tepat, seperti mengurangi jumlah energi, memasuki fase generatif lebih cepat untuk tetap tumbuh dan berkembang, serta beregenerasi. Respons-respons ini diatur oleh gen dan dipengaruhi oleh perubahan epigenetik. Nguyen (2022) menjelaskan ketika kondisi lingkungan menjadi sangat berbeda dari biasanya, tanaman akan menggunakan berbagai mekanisme, termasuk epigenetik, untuk meneruskan tekanan yang dihadapi kepada keturunannya.

Konsep ini juga sejalan dengan ungkapan Waterworth *et al.* (2011); Rasool *et al.* (2013); Shabala *et al.* (2016) bahwa tanaman cenderung menghambat proses pertumbuhan dan perkembangan ketika mengalami stres.

Meskipun demikian, tanaman juga telah mengembangkan kemampuan bertahan, menghindari, atau beradaptasi sehingga dapat melindungi diri dari stres. Reaksi yang ditimbulkan dapat berdampak pada keadaan fisiologis tanaman, mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan, produksi benih dan perkecambahan, penurunan serapan unsur hara dan air, peningkatan kerentanan terhadap hama dan penyakit, serta kematian.

Pembungaan adalah salah satu respons adaptif tertinggi tanaman terhadap stress karena menjamin kelangsungan hidup suatu spesies (Wada dan Takeno, 2010). Berbagai faktor stres dapat menginduksi, mempercepat, menghambat, atau menunda pembungaan pada berbagai spesies tanaman (Takeno, 2016). Suatu spesies dapat dikatakan hidup, jika dapat menghasilkan bunga dan biji bahkan dalam keadaan tercekam (Kazan dan Lyons, 2016). Tanaman yang mengalami stres dapat menghasilkan generasi berikutnya sebagai respons darurat untuk melanjutkan keturunan meskipun kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Takeno, 2016). Prinsip ini juga relevan pada kondisi eksplan yang mengalami mutasi. Eksplan dapat saja merespons dengan memunculkan tunas lebih cepat ataupun lambat.

4.4 Persentase Eksplan Bertunas

Persentase eksplan bertunas diamati untuk melihat kemampuan eksplan memunculkan tunas pasca iradiasi UV-C. Hasil menunjukkan bahwa berbagai durasi penyinaran UV-C mampu menginduksi tunas 90-100%. Rata-rata persentase eksplan bertunas disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata persentase eksplan nilam bertunas pada beberapa durasi penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Eksplan Bertunas (%) ($\mu \pm SD$)
30	100 \pm 0.00
60	100 \pm 0.00
90	100 \pm 0.00
120	90 \pm 4.83
150	100 \pm 0.00
180	97 \pm 5.77
210	100 \pm 0.00
240	100 \pm 0.00
270	97 \pm 5.77
<i>Wild type</i>	100 \pm 0.00

Beberapa eksplan pada paparan UV-C selama 120, 180, dan 270 menit tidak memunculkan tunas. Eksplan tersebut mengalami perubahan warna menjadi keputihan dan kecokelatan di seluruh permukaan. Warna keputihan diduga karena eksplan telah mengalami degradasi klorofil secara total yang mengakibatkan sel-sel mati. Laukkanen *et al.* (2000) menyebutkan bahwa pencoklatan terjadi karena oksidasi fenol setelah degradasi membran sel atau disorganisasi sel yang diikuti oleh degradasi klorofil. Proses ini merupakan indikator terbentuknya kuinon akibat aktivitas enzim. Lebih lanjut, He *et al.* (2009) menjelaskan bahwa kuinon yang terbentuk melalui reaksi enzimatik dapat membentuk ikatan silang dengan protein atau dapat berpolimerisasi dalam jaringan melalui serangkaian reaksi biokimia yang kompleks, seperti dehidrasi dan polimerisasi, menghasilkan senyawa melanin berwarna gelap, mengganggu metabolisme jaringan, menghambat pertumbuhan, hingga menyebabkan pencoklatan dan kematian eksplan. Sementara itu, Lisdyayanti *et al.* (2019) berpendapat bahwa pencoklatan eksplan akibat radiasi disebabkan oleh degradasi enzim yang menghasilkan warna coklat pada eksplan. Helena *et al.* (2022) juga menyebutkan bahwa pencokelatan terjadi karena interaksi senyawa fenolik dengan enzim polifenol oksidase (PPO), peroksidase (POD), fenilalanin amonia-lyase (PAL).

Perubahan warna menjadi coklat bisa muncul karena tingginya konsentrasi senyawa fenol pada eksplan. Beckmann (2000) menyebutkan bahwa senyawa fenolik umumnya terdapat dalam jaringan tanaman sehat dan dapat terakumulasi dalam jenis sel tertentu, namun senyawa tersebut dapat diproduksi menjadi lebih besar atau dilepaskan sebagai respons pertahanan, terutama setelah jaringan terluka atau stress. Sejalan dengan ungkapan Hutami (2008); Ahmad *et al.* (2013) bahwa perubahan warna menjadi coklat bisa muncul karena tingginya konsentrasi senyawa fenol pada eksplan. Pencokelatan pada jaringan tersebut merupakan respons mekanis tanaman yang berfungsi melindungi dari stres.

Paparan UV-C memiliki peran dalam produksi metabolit sekunder pada tanaman. UV-C akan merangsang ekspresi gen biosintetik senyawa fenolik dan mengakibatkan terjadinya akumulasi senyawa metabolit sekunder (Pinto *et al.*, 2016). Iradiasi sinar UV meningkatkan kandungan total senyawa fenolik pada

Echinacea purpurea (Manaf *et al.*, 2016), *Prunella vulgaris* (Zhang *et al.*, 2017), *Echium orientale* (Yildirim, 2020), dan *Sideroxylon capiri* (Silvestre *et al.*, 2022).

4.5 Jumlah Tunas

Jumlah tunas diamati untuk mengetahui efek radiasi terhadap banyaknya tunas yang muncul. Semakin banyak tunas yang muncul, semakin banyak daun yang terbentuk, dan area fotosintesis semakin luas, yang diduga akan meningkatkan hasil minyak. Hasil uji t menunjukkan bahwa durasi penyinaran 30, 60, 210, dan 270 menit berbeda signifikan terhadap jumlah tunas. Paparan UV-C selama 210 menit menghasilkan tunas paling banyak (43.67) dan 270 menit paling sedikit (21.33), dibandingkan dengan *wild type* (30.33). Rata-rata jumlah tunas nilam disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Tunas Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Jumlah Tunas ($\mu \pm SD$)
30	36.33 \pm 2.08*
60	36.00 \pm 2.65*
90	28.33 \pm 3.06 ^{tn}
120	25.00 \pm 2.00 ^{tn}
150	28.67 \pm 2.08 ^{tn}
180	32.67 \pm 1.53 ^{tn}
210	43.67 \pm 4.16*
240	35.33 \pm 1.53 ^{tn}
270	21.33 \pm 2.08*
<i>Wild type</i>	30.33 \pm 2.52

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

Eksplan nilam dengan perlakuan paparan UV-C selama 30, 90, 120, 150, 180, 240 dan 270 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil, sementara 90 dan 210 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar, dibandingkan dengan *wild type*. Hal ini berarti seluruh sampel tanaman pada 30, 90, 120, 150, 180, 240 dan 270 menit memiliki jumlah tunas yang lebih seragam, sementara seluruh sampel tanaman pada 90 dan 210 menit memiliki jumlah tunas yang lebih beragam, dibandingkan *wild type*.

Hasil yang didapatkan juga cenderung fluktuatif dan tidak teratur. Hal ini dapat saja disebabkan oleh sifat acak dari radiasi mutasi, yang pada suatu waktu dapat mengakibatkan kematian atau peningkatan keragaman tanaman. Oktavina (2011)

dan Wulandari *et al.* (2022) menyebutkan bahwa radiasi mutasi tidak dapat dikendalikan untuk mengarah ke target tertentu, sehingga memberikan variasi yang tidak terduga dalam populasi tanaman. Efek gangguannya dapat bersifat positif atau negatif, tergantung pada dosisnya. Astutik (2009) menjelaskan bahwa radiasi akan mengganggu jalannya proses metabolisme, termasuk sintesis hormon endogen di dalam jaringan tanaman. Nepal *et al.* (2014) juga berpendapat serupa bahwa iradiasi membuat tanaman peka dengan mengurangi jumlah zat pengatur tumbuh endogen, terutama hormon sitokinin.

Sitokinin adalah hormon yang berperan penting dalam pembelahan sel dan pembentukan tunas. Eksplan yang disinari UV-C selama 270 menit diduga mengalami penurunan kadar sitokinin yang mengakibatkan terjadinya penghambatan pembelahan sel yang pada akhirnya menurunkan jumlah tunas. Lyu *et al.* (2020) menyebutkan bahwa radiasi UV-B dan UV-C yang tinggi menyebabkan stres pada tanaman, seperti kerusakan DNA, protein, membran plasma, akumulasi spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS), terhentinya siklus sel, degradasi klorofil, serta penghambatan fotosintesis. Doupis *et al.* (2020) menyebutkan bahwa ROS dan RNS sering disebut sebagai radikal bebas, produksinya yang berlebih akan menyebabkan penurunan produksi hormon. Akumulasi ROS dan RNS menyebabkan stres oksidatif yang menginduksi sitokinin *dehydrogenase* (CKXs). CKXs yang merupakan enzim kunci dalam degradasi atau pemecahan hormon sitokinin. Peningkatan ekspresi gen CKXs oleh radiasi UV membuat sitokinin lebih banyak yang dipecah. Hal ini dapat mengurangi kadar sitokinin endogen dan menghambat pertumbuhan tunas, begitu juga sebaliknya.

Banyak penelitian menunjukkan bahwa ROS dapat bertindak sebagai faktor pemberi sinyal yang mengatur beragam proses. ROS sering dikaitkan dengan beberapa proses pada tanaman seperti perkecambahan dan perkembangan akar, tunas, bunga, dan biji (Mhamdi dan Breusegem, 2018). ROS mempengaruhi siklus sel dengan mengaktifkan atau menghambat *cyclin-dependent kinases* (CDKs). Tingkat ROS yang rendah dapat merangsang aktivitas CDKs dan mendorong perkembangan siklus sel, sedangkan tingkat ROS yang tinggi akan menghambat aktivitas CDKs dan menyebabkan penundaan fase G1 dalam siklus

sel (Guo, 2023). Hal ini akan mengurangi laju pembelahan sel dan menghambat pembentukan tunas. Lu dan Holmgren (2014) dalam penelitiannya memberikan glutathione (GSH), antioksidan endogen utama yang bertanggung jawab atas penurunan kadar ROS dan menemukan bahwa terjadi peningkatan tumbuh tunas pada *Arabidopsis thaliana*.

4.6 Jumlah Daun

Jumlah tunas diamati untuk mengetahui efek mutasi terhadap banyaknya daun yang terbentuk pada eksplan. Mutasi dapat mempengaruhi berbagai aspek fisiologis dan morfologis tanaman, termasuk pembentukan daun. Hasil uji t menunjukkan bahwa durasi penyinaran 120, 210, dan 270 menit berbeda signifikan terhadap jumlah daun. Paparan UV-C selama 210 menit menghasilkan daun paling banyak (230.70) dan 270 menit paling sedikit (114.00), diikuti 120 menit (122.00), dibandingkan dengan *wild type* (165.30). Rata-rata jumlah daun nilam disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata Jumlah Daun Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Jumlah Daun ($\mu \pm SD$)
30	192.30 \pm 12.00 ^{tn}
60	187.70 \pm 11.70 ^{tn}
90	151.30 \pm 13.20 ^{tn}
120	122.00 \pm 6.56 [*]
150	141.30 \pm 13.80 ^{tn}
180	157.70 \pm 11.10 ^{tn}
210	230.70 \pm 18.60 [*]
240	181.33 \pm 7.37 ^{tn}
270	114.00 \pm 10.60 [*]
<i>Wild type</i>	165.30 \pm 11.70

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

Eksplan nilam dengan perlakuan paparan UV-C selama 120, 180, 240, dan 270 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil, sementara 30, 90, 150, dan 210 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar, dibandingkan dengan *wild type*. Selain itu, perlakuan 60 menit memiliki standar deviasi yang sama dengan *wild type*. Hal ini berarti seluruh sampel tanaman pada 120, 180, 240, dan 270 menit memiliki jumlah daun yang lebih seragam, sedangkan sampel tanaman pada 30, 90, 150, dan 210 menit memiliki jumlah daun yang lebih

beragam, dibandingkan *wild type*. Sementara itu, perlakuan 60 menit menunjukkan keragaman yang sama dengan *wild type*.

Respon eksplan terhadap jumlah daun akibat radiasi UV-C terlihat sangat beragam. Namun, data menunjukkan adanya hubungan antara jumlah daun dan jumlah tunas. Semakin banyak tunas dihasilkan, maka meningkatkan jumlah daun yang terbentuk, dan sebaliknya. Perlakuan dengan iradiasi selama 210 menit menghasilkan jumlah daun terbanyak, dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Temuan ini menunjukkan bahwa mutan yang mengalami iradiasi selama 210 menit memiliki potensi untuk menghasilkan jumlah minyak yang lebih tinggi. Minyak nilam mengandung banyak komponen metabolit sekunder. Lebih banyak daun membuat area fotosintesis lebih luas. Kabera *et al.* (2014) menyebutkan bahwa fotosintesis menghasilkan energi dan prekursor metabolit sekunder, seperti asetil koenzim-A, asam sikimat, asam mevalonat dan metileritritol fosfat, sehingga dikenal adanya jalur asetat malonat, jalur sikimat, jalur mevalonat dan jalur metileritritol fosfat. Oleh karena itu, lebih banyak daun dapat meningkatkan kapasitas tanaman untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder.

Kejadian ketidakmerataan pertumbuhan dan perkembangan memang seringkali muncul pada penelitian mutasi. Radiasi yang bekerja secara acak menciptakan beragam respons pada tanaman, peningkatan maupun penurunan (Aisyah, 2013; Rahman dan Aisyah, 2018). Kumari *et al.* (2022) juga menyebutkan bahwa respons tanaman terhadap mutagen fisik dipengaruhi oleh sejumlah faktor lingkungan, termasuk oksigen, kandungan air, penyimpanan setelah radiasi, dan suhu, serta faktor-faktor biologis seperti genetik, varietas, dan volume inti sel.

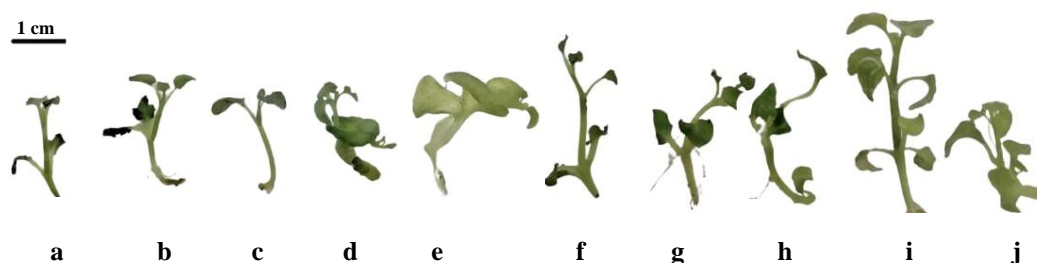
Eksplan yang disinari UV-C selama 270 menit merupakan perlakuan dengan jumlah daun paling sedikit. Correa *et al.* (2023) menyebutkan bahwa radiasi UV berperan penting dalam perkembangan tanaman, namun paparan ekstrim dapat merugikan dan menyebabkan berbagai kerusakan DNA. Tanaman harus mampu menyeimbangkan sebagian besar efek positif dan negatif radiasi melalui mekanisme intraseluler.

Protein seperti ATM (*ataxia telangiectasia mutated*) dan ATR (ATM dan Rad3-related) dapat mendeteksi kerusakan DNA yang terjadi dan mengaktifkan

jalur respons perbaikan. ATM diaktifkan sebagai respons terhadap pemutusan DNA untai ganda, sedangkan ATR diaktifkan setelah kerusakan seperti dimer dan modifikasi basa (Helt *et al.*, 2005; Marechal *et al.*, 2013). ATM dan ATR mengaktifkan kaskade fosforilasi yang melibatkan protein Chk1 dan Chk2. Keduanya adalah serin/treonin kinase yang berperan penting dalam menghentikan siklus sel untuk memberikan waktu perbaikan saat terjadi kerusakan DNA. Pensinyalan Chk1 dilakukan oleh ATR kinase dan aktif selama fase S dan G2 dari siklus sel, terutama saat ada putusnya untai tunggal atau terhentinya replikasi. Sementara itu, pensinyalan Chk2 dimulai oleh ATM kinase dan diekspresikan sepanjang siklus sel, tetapi hanya diaktifkan ketika ada putusnya untai ganda (Beggs dan Yang, 2019). Sel yang mengalami kerusakan DNA dan tidak dapat diperbaiki diarahkan pada *programmed cell death* (PCD). Peristiwa ini akan menghambat laju dari siklus sel, sehingga sel yang rusak tidak akan digandakan dan mengalami kematian. Hal ini dilakukan untuk memelihara populasi sel agar tidak mengganggu fungsi sel lain, dan sebagai bentuk pertahanan tanaman terhadap stres yang ada (Reaped dan McCabe, 2008; Puteri dan Meizarini, 2020).

4.7 Tunas Tertinggi

Tunas tertinggi diamati untuk mengetahui seberapa baik eksplan dapat bertahan dan tumbuh setelah diberi radiasi UV-C. Hasil uji t menunjukkan bahwa durasi penyinaran 30, 60, 90, 120, 150, 180, dan 240 menit berbeda signifikan terhadap tunas tertinggi. Paparan UV-C selama 240 menit menghasilkan tunas tertinggi (3.77), sedangkan 90 menit menghasilkan tunas terpendek (1.75), dibandingkan dengan *wild type* (2.15). Perbedaan tinggi tanaman antar-perlakuan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Tunas tertinggi eksplan nilam pada beberapa durasi penyinaran UV-C; a) *wild type*; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit

Hasil uji t menunjukkan bahwa durasi penyinaran 30, 60, 90, 120, 150, 180, dan 240 menit berbeda signifikan terhadap tunas tertinggi. Paparan UV-C selama 240 menit menghasilkan tunas tertinggi (3.77), sedangkan 90 menit menghasilkan tunas terpendek (1.75), dibandingkan dengan *wild type* (2.15). Rata-rata tunas tertinggi nilam disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata Tunas Tertinggi Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Tunas Tertinggi (cm) ($\mu \pm SD$)
30	2.33 \pm 0.06*
60	1.97 \pm 0.06*
90	1.75 \pm 0.07*
120	1.88 \pm 0.04*
150	2.85 \pm 0.11*
180	2.95 \pm 0.10*
210	2.19 \pm 0.12 ^{tn}
240	3.77 \pm 0.12*
270	2.17 \pm 0.07 ^{tn}
<i>Wild type</i>	2.15 \pm 0.06

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

Eksplan nilam yang diberi perlakuan paparan UV-C selama 120 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil, sementara perlakuan selama 90, 150, 180, 210, 240, dan 270 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar dibandingkan dengan *wild type*. Selain itu, perlakuan selama 30 dan 60 menit memiliki nilai standar deviasi yang sama dengan *wild type*. Hal ini berarti bahwa seluruh sampel tanaman pada perlakuan 120 menit memiliki tunas tertinggi yang lebih seragam, sedangkan sampel tanaman pada perlakuan 90, 150, 180, 210, 240, dan 270 menit menunjukkan variasi jumlah daun yang lebih besar dibandingkan dengan *wild type*. Sementara itu, perlakuan 30 dan 60 menit menunjukkan keragaman yang sama dengan *wild type*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin sebentar durasi, tidak selalu membuat tunas terus bertambah panjang atau pun pendek secara konsisten, demikian sebaliknya. Hal ini semakin mengindikasikan bahwa mutasi iradiasi bekerja secara acak. Meliala *et al.* (2016) menyatakan bahwa perubahan genetik akibat mutasi bersifat acak, sehingga setiap dosis perlakuan dapat menghasilkan keragaman genetik yang berbeda. Sejalan dengan itu, Masykuroh (2016)

menyebutkan bahwa meskipun masih pada tahapan planlet, adanya keragaman fenotipik yang diamati pada berbagai karakter dapat mengindikasikan terjadinya mutasi. Namun, diperlukan evaluasi lebih lanjut untuk memastikannya. Harsanti dan Yulidar (2015) dalam penelitiannya melaporkan bahwa perlakuan dosis iradiasi sinar gamma menurunkan tinggi kedelai pada semua perlakuan (0 – 800 gy), sementara Warid *et al.* (2017) melaporkan bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 350 gy meningkatkan tinggi kedelai dibandingkan perlakuan lainnya.

Adanya perbedaan tinggi tanaman antar-perlakuan juga dapat disebabkan kerusakan proses pembelahan dan pemanjangan sel yang terjadi setelah pemberian mutagen. Tanaman memperlambat pertumbuhannya untuk beradaptasi dengan mengembangkan strategi yang efektif untuk mengurangi tekanan abiotik (Nguyen *et al.*, 2018). Tanaman mengalihkan energi untuk pertumbuhan normal untuk mengatasi stres. Selain itu, tanaman juga dapat menurunkan atau meningkatkan ukuran organ tertentu sebagai upaya beradaptasi saat mengalami tekanan (Akmalia, 2021).

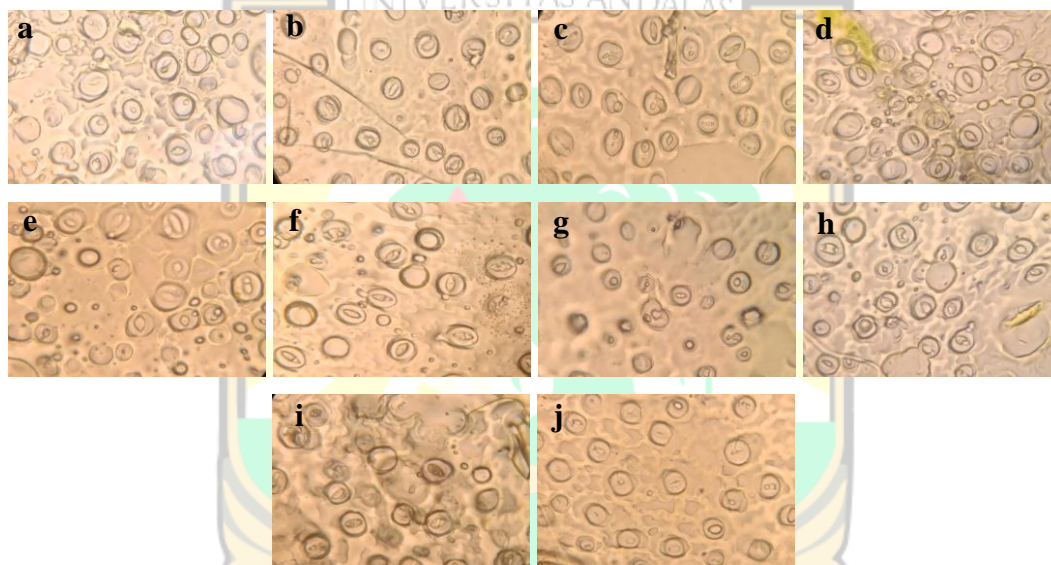
Dosis iradiasi sinar UV-C yang tepat diduga dapat menstimulasi pertumbuhan tinggi tanaman sehingga menghasilkan tanaman yang cenderung lebih tinggi dibandingkan *wild type*. Siddiqui *et al.* (2019) menyebutkan bahwa pasca terpapar tekanan abiotik, tanaman dapat meningkatkan laju fotosintesis untuk memulihkan energi dan menghasilkan lebih banyak glukosa endogen yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman. Balfas *et al.* (2022) menyebutkan bahwa glukosa berperan penting dalam pertumbuhan vegetatif tanaman termasuk perkembangan akar, daun, dan batang. Selama proses pembelahan sel, tanaman memerlukan sejumlah karbohidrat untuk membangun dinding sel yang mengandung protoplasma dan selulosa.

Selain itu, berbagai penelitian juga menyebutkan bahwa radiasi UV mempengaruhi produksi hormon auksin, sehingga adanya perbedaan tinggi antar-perlakuan diduga dipengaruhi tinggi rendahnya hormon auksin endogen pada tanaman. Majda dan Robert (2018) menyatakan hormon auksin memiliki peran sebagai stimulator dalam pemanjangan sel karena meningkatkan ekstensibilitas dinding sel. Hormon auksin yang optimum membuat proses pemanjangan sel

menjadi lebih maksimal. Naqvi (1976) melaporkan dalam penelitiannya bahwa radiasi UV meningkatkan serapan auksin pada *Zea mays* L. Teramura (1983) juga turut menyebutkan bahwa radiasi UV meningkatkan produksi hormon auksin, sedangkan Escobar *et al.*, (2017) menemukan efek yang sama saat melakukan penelitian pada tanaman *Vaccinium corymbosum*.

4.8 Stomata

Jumlah, panjang, dan lebar stomata diamati untuk mengetahui bentuk adaptasi yang dilakukan nilam pasca iradiasi UV-C. Perbedaan kondisi stomata antar-perlakuan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil pengamatan stomata pada daun nilam dengan perbesaran mikroskop 40 x 10; a) *wild type*; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit

Hasil uji t menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi UV-C tidak mengubah jumlah, panjang, dan lebar stomata secara signifikan dibandingkan dengan *wild type* (Tabel 8). Eksplan nilam dengan perlakuan paparan UV-C memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil, dibandingkan dengan *wild type*. Hal ini berarti bahwa seluruh sampel tanaman pada semua perlakuan memiliki jumlah stomata yang lebih seragam, dibandingkan dengan *wild type*. Sementara itu pada panjang stomata, eksplan nilam dengan perlakuan paparan UV-C memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar, dibandingkan dengan *wild type*. Hal ini berarti bahwa

seluruh sampel tanaman pada semua perlakuan memiliki jumlah stomata yang lebih beragam, dibandingkan dengan *wild type*. Lebar stomata, eksplan nilam yang diberi perlakuan paparan UV-C selama 150, 210, dan 270 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil, sementara perlakuan selama 30, 60, 90, 120, 180, dan 270 menit memiliki nilai standar deviasi yang lebih besar dibandingkan dengan *wild type*. Hal ini berarti bahwa seluruh sampel tanaman pada perlakuan 150, 210, dan 270 menit memiliki lebar stomata yang lebih seragam, sedangkan sampel tanaman pada perlakuan 30, 60, 90, 120, 180, dan 270 menit menunjukkan variasi lebar stomata yang lebih beragam dibandingkan dengan *wild type*.

Tabel 8. Jumlah Stomata pada Daun Nilam dengan Beberapa Durasi Penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Jumlah Stomata ($\mu \pm SD$)	Panjang Stomata (μm) ($\mu \pm SD$)	Lebar Stomata (μm) ($\mu \pm SD$)
30	52.30 \pm 14.90 ^{tn}	41.30 \pm 7.46 ^{tn}	33.31 \pm 4.87 ^{tn}
60	41.67 \pm 2.47 ^{tn}	41.59 \pm 5.86 ^{tn}	35.96 \pm 2.80 ^{tn}
90	53.33 \pm 3.06 ^{tn}	41.68 \pm 7.75 ^{tn}	34.56 \pm 4.96 ^{tn}
120	47.50 \pm 9.58 ^{tn}	39.53 \pm 2.65 ^{tn}	34.63 \pm 2.83 ^{tn}
150	45.00 \pm 10.50 ^{tn}	42.78 \pm 3.68 ^{tn}	34.89 \pm 1.66 ^{tn}
180	40.83 \pm 9.57 ^{tn}	35.30 \pm 3.03 ^{tn}	32.01 \pm 1.83 ^{tn}
210	41.67 \pm 5.75 ^{tn}	38.81 \pm 1.88 ^{tn}	34.79 \pm 0.82 ^{tn}
240	41.33 \pm 10.10 ^{tn}	40.29 \pm 3.46 ^{tn}	34.66 \pm 2.24 ^{tn}
270	44.83 \pm 7.15 ^{tn}	38.32 \pm 2.29 ^{tn}	35.58 \pm 0.61 ^{tn}
<i>Wild type</i>	46.83 \pm 21.50	38.08 \pm 1.21	31.39 \pm 1.75

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa eksplan sudah memiliki kemampuan beradaptasi untuk mengatasi stres akibat radiasi UV-C, sehingga jumlah, panjang, dan lebar stomata tetap stabil. Tanaman diduga menghasilkan senyawa yang melindungi sel-sel stomata dari kerusakan oksidatif akibat radiasi UV-C. Cuypers *et al.* (2016) menyatakan bahwa stres oksidatif ditandai dengan peningkatan ROS. Najeeb *et al.* (2011) dalam penelitiannya melaporkan bahwa radiasi UV-C pada *Juncus effusus* meningkatkan enzim antioksidan SOD, POD, dan APX. Sharma *et al.* (2012); Jena *et al.* (2023) berpendapat bahwa peningkatan aktivitas enzim ini dapat membantu mengurangi ROS dan melindungi sel-sel stomata dari kerusakan. Enzim-enzim ini berperan dalam

menguraikan ROS menjadi molekul yang kurang reaktif, sehingga mencegah kerusakan oksidatif.

Selain itu, tanaman memiliki sistem pertahanan untuk mencegah kerusakan oksidatif yang terdiri dari senyawa metabolit sekunder, seperti polifenol, flavonoid, dan terpenoid yang berperan dalam detoksifikasi ROS saat tanaman berada di bawah tekanan sinar UV (Petruk *et al.*, 2018; Nadarajah *et al.*, 2020). Flavonoid merupakan komponen paling penting dalam sistem pertahanan tanaman terhadap UV. Flavonoid dan asam fenolik terkait (misalnya turunan asam hidroksisinamat) berperan untuk menyaring radiasi UV dalam jaringan tanaman (Barnes *et al.*, 2017; Bidel *et al.*, 2020). Lebih lanjut oleh Song *et al.* (2022) bahwa terdapat ekspresi gen seperti PA11, 4CL2, VcFLS, VcUFGT, dan VcLAR pada biosintesis flavonoid yang diinduksi oleh radiasi UV, sehingga terjadi peningkatan produksi flavonoid sebagai respons pertahanan dalam melindungi jaringan tanaman dari radiasi UV dengan menyerap radiasi dan mengurangi kerusakan oksidatif.

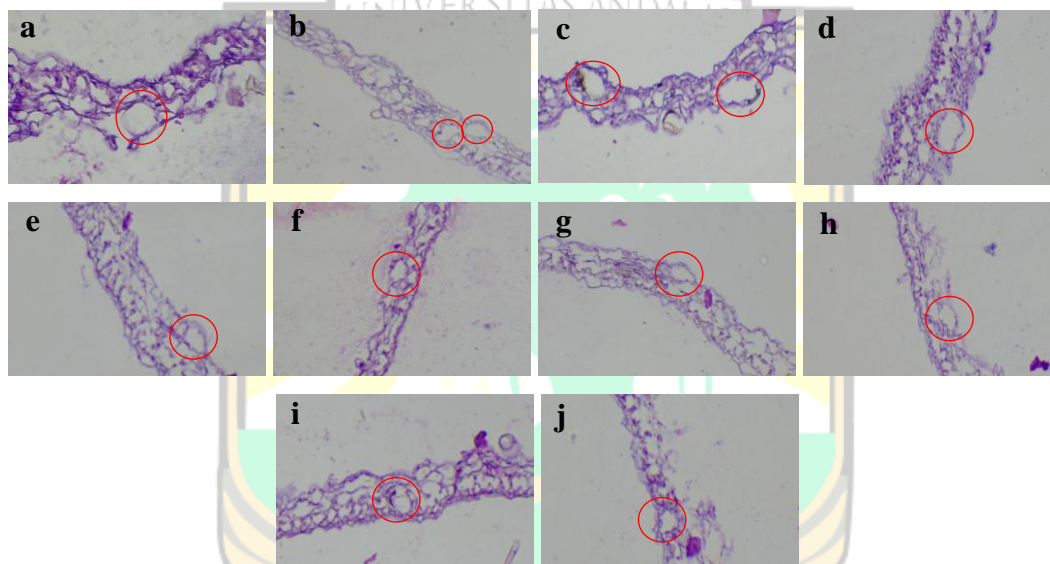
Tidak semua jenis radiasi UV memiliki efek yang sama. UV-C, dengan panjang gelombang yang lebih pendek, cenderung lebih merusak daripada UV-A dan UV-B (Tchonkouang *et al.*, 2023). Namun dalam studi ini, tidak adanya perubahan signifikan pada jumlah, panjang, dan lebar stomata menunjukkan bahwa durasi atau intensitas paparan UV-C yang digunakan tidak cukup untuk memicu respons yang terlihat pada tingkat stomata. Durasi radiasi UV-C yang digunakan dalam penelitian ini mungkin berada dalam batas toleransi fisiologis nilam.

4.9 Jumlah Kelenjar Minyak

Kelenjar minyak memiliki bentuk yang mirip seperti jaringan parenkima. Hasil pengamatan menunjukkan durasi 90 menit menghasilkan kelenjar minyak paling banyak (38.00), diikuti dengan 60 menit (34.00). Meskipun begitu, semua tanaman dengan paparan UV-C memiliki jumlah kelenjar minyak yang lebih banyak, dibandingkan *wild type*. Data jumlah kelenjar minyak disajikan pada Tabel 9, sementara penampilannya dapat dilihat pada Gambar 10.

Tabel 9. Jumlah Kelenjar Minyak Nilam pada Beberapa Durasi Penyinaran UV-C

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Jumlah Kelenjar Minyak
30	18.00
60	34.00
90	38.00
120	21.00
150	18.00
180	25.00
210	19.00
240	29.00
270	20.00
<i>Wild type</i>	14.00



Gambar 10. Penampang melintang daun nilam pada perbesaran mikroskop 20 x 10; a) *wild type*; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit; lingkaran merah menunjukkan kelenjar minyak nilam

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa radiasi UV-C mampu meningkatkan produksi minyak nilam yang ditunjukkan dengan pertambahan jumlah kelenjar minyak pada putatif mutan. Radiasi UV-C diduga mampu meningkatkan jumlah kelenjar minyak karena menyebabkan stres pada tanaman, sehingga memicu mekanisme pertahanan. Respon pertahanan dapat berupa produksi metabolit sekunder, termasuk minyak esensial, yang disimpan dalam kelenjar minyak. Barbehenn *et al.* (2011), Murkovic *et al.* (2016), dan Ponte *et al.* (2019) menyebutkan bahwa tanaman telah mengembangkan berbagai strategi fisiologis dan biokimia untuk bertahan, seperti memproduksi senyawa fenolik,

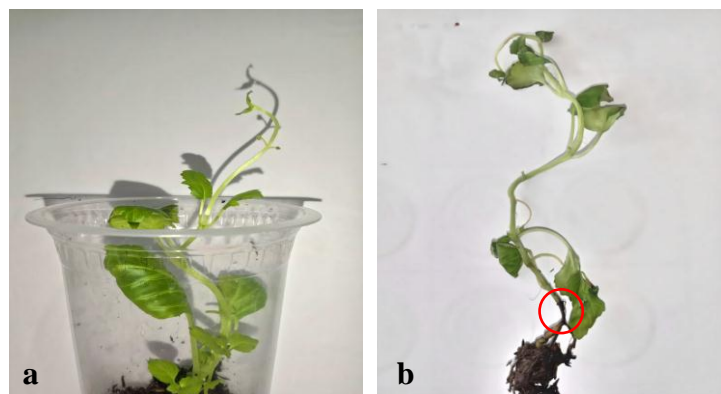
termasuk asam fenolik, kumarin, polifenol, dan flavonoid. Metabolit sekunder ini membantu melindungi tanaman dari paparan UV dan menetralkan radikal bebas. Yin *et al.* (2016) juga menyebutkan bahwa stres yang ditimbulkan oleh sinar UV mengaktifkan sistem pertahanan pada tanaman serta memproduksi fitoaleksin. Produksi senyawa-senyawa ini meningkatkan respons tanaman terhadap pertahanan termasuk enzim antioksidan, metabolit sekunder, dan modifikasi dinding sel dalam mengatasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh sinar UV.

Hikosaka *et al.* (2010) melaporkan bahwa paparan UV-A dan UV-B meningkatkan konsentrasi *l-menthol* dan *limonene* pada *Mentha arvensis*. Sun *et al.* (2012) juga mendapatkan hasil serupa bahwa kandungan minyak atsiri pada *Glycyrrhiza uralensis*, seperti *asam glisirrhizic*, *liquiritin*, *liquiritigenin*, dan *isoliquiritigenin* lebih tinggi pada perlakuan UV-A dan UV-B, dibandingkan kontrol. Begitu pun, Nocchi (2020) menemukan dalam penelitiannya bahwa radiasi UV meningkatkan fotosintesis, aktivitas antioksidan, dan produksi flavonoid pada *Nymphoides humboldtiana*.

Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan adanya potensi sinar UV sebagai elisitor. Klein *et al.* (2018) dalam penelitiannya menggunakan Sinar UV-B sebagai agen elisitor untuk meningkatkan produksi betalain, flavonoid, serta aktivitas antioksidan dari *Alternanthera sessilis*, *Alternanthera brasiliana*, *Alternanthera tenella*, dan *Alternanthera philoxeroides*. Zamora *et al.* (2021) juga menggunakan UV-B sebagai abiotik elisitor untuk meningkatkan senyawa fenolik, karotenoid, dan perkecambahannya pada *Brassica olearacea*, sementara Hashim *et al.* (2021) menggunakan UV-A, UV-B, dan UV-C sebagai elisitor untuk meningkatkan metabolit sekunder pada kultur *in vitro* dan menemukan bahwa radiasi UV-C merupakan yang paling efektif untuk merangsang peningkatan metabolit sekunder, dibandingkan UV-A dan UV-B.

4.10 Persentase Kejadian Penyakit

Persentase kejadian penyakit diamati untuk mengetahui tingkat ketahanan putatif mutan nilam terhadap serangan bakteri *Ralstonia solanacearum*. Kondisi nilam sebelum dan pasca-seleksi dapat dilihat pada Gambar 11 dan Lampiran 6.



Gambar 11. Kondisi nilam; (a) sebelum inokulasi; (b) mati pasca-inokulasi; lingkaran merah menunjukkan batang dan akar nilam membusuk serta menghitam

Hasil menunjukkan bahwa persentase kejadian penyakit layu bakteri nilam berada pada kisaran 93 – 100% (mengalami kematian pada hari ke-11 dan 12 setelah inokulasi). Rata-rata persentase kejadian penyakit pada nilam pasca-seleksi disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata Persentase Kejadian Penyakit pada Nilam Pasca-Seleksi dengan Pemberian Suspensi Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Kejadian Penyakit (%) ($\mu \pm SD$)	Tingkat Ketahanan
30	93.33 \pm 4.71	Rentan
60	100.00 \pm 0.00	Rentan
90	100.00 \pm 0.00	Rentan
120	100.00 \pm 0.00	Rentan
150	100.00 \pm 0.00	Rentan
180	100.00 \pm 0.00	Rentan
210	100.00 \pm 0.00	Rentan
240	100.00 \pm 0.00	Rentan
270	100.00 \pm 0.00	Rentan
<i>Wild type</i>	100.00 \pm 0.00	Rentan

Tabel 11 menunjukkan bahwa tingkat ketahanan semua nilam yang diberi berbagai durasi paparan UV-C masih dalam kategori rentan. Meskipun begitu, nilam yang diberi perlakuan paparan UV-C selama 30 menit memiliki persentase kejadian penyakit paling rendah sebesar 93.33%, dibandingkan perlakuan lainnya. Perlakuan ini setidaknya memiliki 6.67% nilam yang diduga tahan terhadap serangan penyakit layu oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* karena tidak menunjukkan gejala hingga hari ke-16 setelah inokulasi. Namun, ketahanan ini

belum dapat dipastikan, sehingga diperlukan uji lanjut pada tingkat molekuler untuk mengonfirmasi adanya perubahan genetik pada nilam yang terpapar UV-C.

Banyak penelitian yang memaparkan bahwa Sinar UV meningkatkan akumulasi senyawa antimikroba. Senyawa ini diproduksi sebagai mekanisme pertahanan tanaman terhadap serangan patogen. Paparan UV-C selama 30 menit diduga optimal untuk merangsang produksi senyawa antimikroba tanpa menyebabkan kerusakan berlebihan pada tanaman. Murhadi (2010) menyebutkan bahwa sebagian besar produk dari tanaman yang memiliki aktivitas antimikroba adalah metabolit sekunder, baik dari golongan senyawa fenolik, alkaloid, dan minyak atsiri yang dapat meningkat karena stres. Yang *et al.* (2013) menyebutkan bahwa setidaknya sekitar 26 senyawa dalam minyak nilam yang memiliki aktivitas antibakteri, dan dua yang terkuat diantaranya pogostone dan alkohol nilam. Park *et al.* (2014) dalam penelitiannya melaporkan bahwa iradiasi UV merangsang produksi fenilamid pada daun padi yang berfungsi sebagai senyawa pertahanan untuk melawan bakteri patogen. Zhang *et al.* (2021) melaporkan bahwa pada nektarin, radiasi UV-C meningkatkan biosintesis antosianin, sistem antioksidan, merangsang jalur fenil propane, serta memberikan tindakan antijamur *R. stolonifera*, sementara Kamel *et al.* (2022) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa paparan UV-C antara 20 dan 35 menit mendorong akumulasi senyawa fenolik dan meningkatkan kandungan minyak sebagai mekanisme pertahanan terhadap radiasi.

Selain itu, paparan UV-C pada dosis lebih tinggi mungkin menyebabkan kerusakan sel yang melebihi kemampuan tanaman untuk melakukan perbaikan, sehingga mengarah pada kematian sel dan jaringan. Oleh karena itu, hanya pada dosis rendah tanaman mampu mengaktifkan respons pertahanan tanpa mengalami kerusakan fatal. Choudhary *et al.* (2007) memaparkan bahwa tanaman memiliki serangkaian pertahanan yang diekspresikan sebagai respons terhadap patogen dan parasit. Green dan Fluhr (1995) dalam penelitiannya menemukan bahwa sinar UV merupakan penginduksi kuat protein PR-1 (protein terkait patogenesis) pada daun tembakau. Borie *et al.* (2004) menemukan bahwa sinar UV mengaktifkan gen seperti β -1, 3-glukanase, chalcone synthase, chitinase, lipoxygenase, stilbene synthase, PAL, dan protein PR yang penting untuk ketahanan patogen pada *Vitis*

rupestris dan *Vitis vinifera*, sementara Mmbando (2021) berpendapat sinar UV mempunyai efek signifikan terhadap stres biotik, khususnya resistensi patogen pada padi afrika

4.11 Analisis Korelasi

Analisis korelasi dilakukan untuk melihat kekuatan hubungan antar-variabel persentase bertunas, jumlah tunas, jumlah daun, tunas tertinggi, jumlah, panjang, dan lebar stomata, jumlah kelenjar minyak, serta kejadian penyakit. Hasil analisis korelasi disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil analisis korelasi taraf 5% persentase bertunas, jumlah tunas, jumlah daun, tunas tertinggi, jumlah, panjang, dan lebar stomata, jumlah kelenjar minyak, serta kejadian penyakit pada beberapa durasi penyinaran UV-C

Variabel Pengamatan	Persentase Bertunas	Jumlah Tunas	Jumlah Daun (helai)	Tunas Tertinggi (cm)	Jumlah Stomata	Panjang Stomata (µm)	Lebar Stomata (µm)	Jumlah Kelenjar Minyak	Kejadian Penyakit (%)
Persentase Bertunas	1								
Jumlah Tunas	0.519	1							
Jumlah Daun	0.587	0.983	1						
Tunas Tertinggi	0.239	0.220	0.129	1					
Jumlah Stomata	0.027	0.321	0.234	0.514	1				
Panjang Stomata	0.314	0.034	0.067	0.117	0.416	1			
Lebar Stomata	0.052	0.077	0.071	0.140	0.134	0.562	1		
Jumlah Kelenjar Minyak	0.146	0.047	0.035	0.052	0.034	0.283	0.407	1	
Kejadian Penyakit	0.175	0.249	0.280	0.040	0.528	0.242	0.205	0.253	1

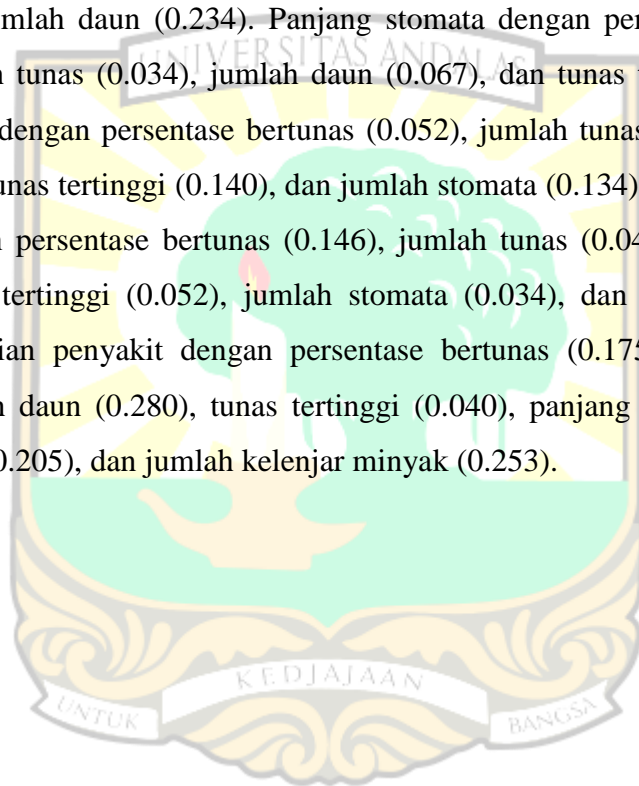
Keterangan: Jika nilai semakin mendekati 1, maka hubungan semakin kuat. Berlaku sebaliknya

Hasil analisis menunjukkan bahwa jumlah tunas dan jumlah daun memiliki hubungan yang sangat kuat dengan nilai korelasi sebesar 0.983. Hubungan yang cukup kuat juga ditemukan antara jumlah tunas dan persentase bertunas (0.519), jumlah daun dan persentase bertunas (0.587), lebar stomata dan panjang stomata (0.562), jumlah kelenjar minyak dan stomata (0.407), jumlah stomata dan kejadian penyakit (0.528), sementara antar-variabel lainnya menunjukkan hubungan yang lemah.

Hubungan yang kuat antara jumlah tunas dengan jumlah daun (0.983) menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah tunas, maka semakin banyak juga daun yang terbentuk. Amelia *et al.* (2020) menyebutkan peningkatan jumlah tunas biasanya selalu diikuti peningkatan jumlah daun. Adugna *et al.* (2020) dalam penelitiannya melaporkan bahwa terjadi peningkatan jumlah daun seiring dengan bertambahnya tunas pada kultur *in vitro* tanaman *Moringa stenopetala*. Irmawati dan Rahayu (2023) juga melaporkan kejadian serupa pada kultur *in vitro* tanaman *Cymbopogon nardus*.

Hubungan yang cukup kuat ditunjukkan oleh antara persentase bertunas dengan jumlah tunas (0.519) dan daun (0.587). Hal ini berarti bahwa semakin tinggi persentase bertunas, maka jumlah tunas dan daun yang terbentuk cenderung lebih banyak. Lebar dan panjang stomata (0.562) yang mengindikasikan bahwa ukuran suatu stomata berkaitan, sementara jumlah kelenjar minyak dan lebar stomata (0.407), menunjukkan kecenderungan peningkatan jumlah kelenjar minyak seiring dengan bertambahnya lebar stomata. Lebar stomata dapat mempengaruhi berbagai proses fisiologis dalam tanaman, termasuk fotosintesis. Meski begitu, korelasi yang tidak terlalu kuat menunjukkan bahwa lebar stomata hanyalah salah satu faktor yang mempengaruhi jumlah kelenjar minyak. Selain itu, terdapat hubungan yang cukup kuat antara jumlah stomata dan kejadian penyakit (0.528), yang mengindikasikan bahwa peningkatan jumlah stomata diduga memicu kerentanan tanaman terhadap penyakit. Agustamia *et al.* (2016) menyebutkan bahwa stomata berpotensi sebagai pintu masuk bagi patogen seperti bakteri, jamur, dan virus. Jumlah stomata yang lebih banyak berarti ada lebih banyak titik potensial untuk infeksi.

Selain hubungan yang kuat dan cukup kuat, beberapa variabel menunjukkan hubungan yang lemah, menandakan bahwa variabel-variabel tersebut tidak memiliki keterkaitan satu sama lain. Hubungan yang lemah menunjukkan bahwa suatu variabel dapat berubah tanpa diikuti perubahan pada variabel lainnya. Contoh hubungan yang lemah ditunjukkan oleh tunas tertinggi dengan persentase bertunas (0.239), jumlah tunas (0.220), dan jumlah daun (0.129) menunjukkan bahwa tunas tertinggi tidak dipengaruhi oleh persentase bertunas, jumlah tunas, dan jumlah daun. Demikian pula, jumlah stomata memiliki korelasi rendah dengan persentase bertunas (0.027), jumlah tunas (0.321), dan jumlah daun (0.234). Panjang stomata dengan persentase bertunas (0.314), jumlah tunas (0.034), jumlah daun (0.067), dan tunas tertinggi (0.117). Lebar stomata dengan persentase bertunas (0.052), jumlah tunas (0.077), jumlah daun (0.071), tunas tertinggi (0.140), dan jumlah stomata (0.134). Jumlah kelenjar minyak dengan persentase bertunas (0.146), jumlah tunas (0.047), jumlah daun (0.035), tunas tertinggi (0.052), jumlah stomata (0.034), dan panjang stomata (0.283). Kejadian penyakit dengan persentase bertunas (0.175), jumlah tunas (0.249), jumlah daun (0.280), tunas tertinggi (0.040), panjang stomata (0.242), lebar stomata (0.205), dan jumlah kelenjar minyak (0.253).



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil penelitian tidak menemukan nilai LD₂₀ dan LD₅₀ diantara paparan UV-C selama 0 – 270 menit. Namun, melalui persamaan regresi $y = -0.0002x^2 + 0.082x + 1.7332$ juga tidak dapat diperkirakan waktu paparan yang diperlukan untuk mencapai LD₂₀ dan LD₅₀ karena tidak ada nilai x yang memenuhi syarat LD₂₀ dan LD₅₀.
2. Paparan UV-C selama 90 menit menghasilkan putatif mutan nilam dengan 38.00 kelenjar minyak, menunjukkan peningkatan kandungan minyak dibandingkan dengan *wild type* yang hanya memiliki 14.00 kelenjar minyak.
3. Paparan UV-C selama 30 menit memiliki peluang sebesar 6.67% untuk menghasilkan putatif mutan nilam yang memiliki ketahanan terhadap penyakit layu bakteri.

5.2 Saran

1. Durasi yang digunakan dalam penelitian ini belum cukup untuk mencapai tingkat kematian nilam sebesar 20% dan 50%, sehingga diperlukan peningkatan pada penelitian berikutnya.
2. Putatif mutan nilam yang diperoleh sebaiknya dipelihara dalam jangka panjang untuk digunakan sebagai bahan perbanyakan. Selanjutnya, dilakukan uji lanjut pada tingkat molekuler untuk mengonfirmasi perubahan genetik yang terjadi antar-perlakuan, serta uji rendemen minyak untuk mengetahui potensi hasilnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkareem, K., Musthapa, O., Garuba, T., Kasture, A., & Oyeyiola, O. (2015). Mutagenic Role Artificial Ultraviolet-C Irradiation on Growth and Yield of Tomato. *Journal of Pharmacy and Applied Sciences*, 2(1), 16-20.
- Acquaah, G. (2007). *Principles of Plant Genetics and Breeding*. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Adugna, A., Feyissa, T., & Tasew, F. (2020). Optimization of Growth Regulators on In Vitro Propagation of *Moringa stenopetala* from Shoot Explants. *BMC Biotechnology*, 20(1), 1-10.
- Afifah, U. (2020). *Evaluasi Fenotipe Nilam (Pogostemon cablin Benth.) Varietas Sidikalang Hasil Mutasi Kromosom dengan Kolkisin*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Afza, H., & Iriawati. (2015). Pengaruh Iradiasi Ultraviolet terhadap Multiplikasi Tunas Aksiler dan Kadar Klorofil Anyelir (*Dianthus caryophyllus* L.). *Buletin Plasma Nutfah*, 21(1), 39-46.
- Agustamia, C., Widiastuti, A., & Sumardiyono, C. (2016). Pengaruh Stomata dan Klorofil pada Ketahanan Beberapa Varietas jagung terhadap Penyakit Bulai. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 20(2), 1-6.
- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, M., Rafay, et al. (2013). Lethal Effect of Secondary Metabolites on Plant Tissue Culture. *American Euroasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 13(4), 539-547.
- Aisyah. (2013). *Mutasi Induksi*. Bogor: IPB Press.
- Aisyah, Y., Hastuti, P., Sastrohamidjojo, H., & Hidayat, C. (2010). Peningkatan Kadar Patchouli Alcohol Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Menggunakan Membran Selulosa Asetat. *Agritech*, 30(3), 184-191.
- Akmalia, H. (2021). Adaptasi Anatomis Tumbuhan terhadap Perbedaan Stres Lingkungan. *Stigma*, 14(1), 18-28.
- Amaliah, N., Amrullah, T., Kurniawan, A., Parytha, V., Purnawan, C., Saragih, B., et al. (2022). Rendemen dan Kualitas Minyak Nilam dari Kalimantan Timur serta Analisis Tekno Ekonominya. *Agrointek*, 16(2), 289-297.
- Amelia, Z., Supriyanto, & Wulandari, A. (2020). Effect of 6-BAP Application on Shoot Production of *Melaleuca alternifolia* Seedlings. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*.
- Anne, Y., & Wiendi, N. (2012). Induksi Mutasi melalui Penggandaan Kromosom Nilam Varietas Sidikalang (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Kolkisin secara In Vitro. *Simposium dan Seminar Bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPi-HIGI: Mendukung Kedaulatan Pangan dan Energi yang Berkelanjutan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Asadi. (2013). Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *Jurnal Agro Biogen*, 9(3), 135-142.
- Asman, A., Nasrun, Nurawan, A., & Sitepu, D. (1993). Penelitian Penyakit Nilam. *Risalah Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah FPI*, (hal. 284-290). Yogyakarta.
- Astuti, D., Pantouw, C., & Hastilestari, B. (2022). Kisaran Dosis Optimal Iradiasi Sinar Gamma dalam Pemuliaan Sorgum sebagai Pangan Potensial. *Seminar Nasional Pengabdian kepada Masyarakat* (hal. 1-6). Badan Riset dan Inovasi Nasional.
- Astutik. (2009). Peningkatan Kualitas Bibit Pisang Kepok Melalui Radiasi Sinar Gamma secara *In Vitro*. *Buana Sains*, 9(1), 69-75.
- Badan Pusat Statistik. (2023). *Statistik Indonesia 2023*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Balai Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. (2016). *Panduan Budidaya Nilam dan Produk Minyak Atsiri*. Palembang: Balai Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan.
- Balfas, S., Suketi, K., & Melati. (2022). Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh dan Nutrisi terhadap Pertumbuhan Setek Pendek Tanaman Vanili. *Seminar Nasional PERHORTI*, (hal. 355-363).
- Barbehenn, R., & Constabel, C. (2011). Tannins in Plant Herbivore Interaction. *Phytochem*, 72(1), 1551-1565.
- Barnes, P., Ryel, R., & Flint, S. (2017). UC Screening in Native and Non-native Plant Species in the Tropical Alpine: Implication for Climate Change-Driven Migration of Species to Higher Elevation. *Functional Plant Ecology*, 8(1), 1-11.
- Beckman, C. (2000). Phenolic Storing Cells: Keys to Programmed Cell Death and Periderm Formation in Wilt Disease Resistance and in General Defence Response in Plants? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57(3), 101-110.
- Beggs, R., & Yang, E. (2019). Chapter Five: Targeting DNA Repair in Precision Medicine. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 115(1), 135-155.
- Bidabadi, S., & Jain, S. (2020). Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration. *Plants*, 9(6), 1-20.
- Bidel, L., Meyer, S., Tahhouet, A., Baudin, X., Daniel, C., Cozals, G., et al. (2020). Epidermal UV-A Screening Capacity Measured In Situ as an Indicator of Light Acclimation State of leaves of a Very Plastic Alpine Plant *Soldanella alpina* L. *Plant Physiology Biochem*, 151(1), 10-20.
- Borie, B., Jeandet, P., Parize, A., Bessis, R., & Adnan, M. (2004). Resveratrol and Stilbene Synthase mRNA Production Grapevine Leaves treated with Bitox and Abiotic Phytoalexin Elicitors. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55, 60-64.

- Cechin, I., & Natalia, C. (2008). Ultraviolet and Water Stress Effects on Growth, Gas Exchange, and Oxidative Stress in Sunflower Plants. *Radiat. Environ. Biophys*, 47, 405-413.
- Chang, Y., Zhu, C., Jiang, J., Zhang, H., Zhu, J., & Duan, C. (2020). Epigenetic Regulation in Plant Abiotic Stress Responses. *J. Integr Plant Biol*, 62(5), 563-580.
- Chopra, V. (2005). Mutagenesis: Investigating the Process and Processing the Outcome for Crop Improvement. *Current Science*, 89, 353-359.
- Choudhary, D., Prakash, A., & Johri, B. (2007). Induced Systemic Resistance (ISR) in Plants: Mechanism of Action. *Indian Journal of Microbiology*, 47(4), 289-297.
- Clancy, S. (2008). DNA Damage & Repair: Mechanisms for Maintaining DNA Integrity. *Nature Education*, 1(1), 103-109.
- Correa, M., Saavedra, M., Parra, E., Ontiveros, E., Flores, J., Montiel, J., et al. (2022). Ultraviolet Radiation and its Effect on Plants. *Intech Open*.
- Cuypers, A., Hendrix, S., Reis, R., Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., et al. (2016). Hydrogen Peroxide, Signaling in Disguise during Metal Phytotoxicity. *Plant Physiology*, 7(1), 1-25.
- Damayanti, F., Ika, R., & Muhammad, M. (2019). Induksi Mutasi Genetik pada Tanaman Alocasia Menggunakan Mutagen Kimia Kolkisin. *Ilmiah Biologi*, 3(1), 120-130.
- Daniel, A. (2012). *Prospek Bertanam Nilam*. Yogyakarta: Pustaka Baru.
- Darmanti, S., Nurchayati, Y., Hastuti, E., & Syaifuddin, M. (2012). Produksi Biomassa Tanaman Nilam pada Intesitas Cahaya Berbeda. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 17(1).
- Dewan Atsiri Indonesia. (2021). *Nilai Impor Produk Hilir Minyak Atsiri Nilam Indonesia*. Jakarta.
- Dinas Perkebunan Jawa Timur. (2020, Oktober 09). *Organisme Pengganggu dalam Budidaya Nilam*. diakses Oktober 12, 2023, dari disbun.jatimprov.go.id
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2020). *Statistik Unggulan Perkebunan*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Doupis, G., Chartzoulakis, K., Taskos, D., & Patakos, A. (2020). The Effect of Drought and Supplemental UV-B Radiation on Physiological and Biochemical Traits of the Grapevine Cultivar Soultanina. *Oeno One*, 54(4), 23-34.
- Duarte, H., Nocchi, N., Pereira, R., Konno, T., & Soares, A. (2020). Effects of UV-B Radition on Secondary Metabolites Production, Antioxidant Activity, Photosynthesis, and Herbivory Interactions in *Nymphoides humboldtiana*. *Elsevier*, 212(1), 1-10.
- Duryatmo, S. (2018). *Pacu Produksi dan Mutu Nilam*. Jakarta: Trubus.

- Effendy, E., Yusuf, M., Romano, & Safrida. (2019). Analisis Struktur Biaya Produksi dan Kesenjangan Pendapatan Petani Akibat Fluktuasi Harga Minyak Nilam. *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Agribisnis (JEPA)*, 3(2), 360-374.
- Escobar, A., Silva, M., Acevedo, P., Nesi, N., Alberdi, & Diaz, R. (2017). Different Levels of UV-B Resistance in *Vaccinium corymbosum* Cultivars Reveal Distinct Backgrounds of Phenylpropanoid Metabolites. *Plant Physiol Biochem*, 118(1), 541-550.
- Fauziah, A., & Izzah, A. (2019). Analisis Tipe Stomata pada Daun Tumbuhan Menggunakan Metode Stomatal Printing. *Seminar Nasional Hayati*, 7, hal. 34-39.
- Green, R., & Fluhr, R. (1995). UV-B Induced PR-1 Accumulation is Mediated by Active Oxygen Species. *Plant Cell*, 7(2), 203-212.
- Guo, W., Xing, Y., Luo, X., Li, F., Ren, M., & Liang, Y. (2023). Reactive Oxygen Species: a Crosslink Between Plant and Human Eukaryotic Cell Systems. *Int. J. Mol. Sci*, 24(17), 1-31.
- Hadipoetnyanti, E., & Trisilawati, O. (2015). *Budidaya Nilam yang Baik dan Benar*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Harli. (2016). Identifikasi dan Potensi Perluasan Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) di Bawah Tegakan Kakao di Kabupaten Polewali Mandar. *Agrovital*, 1(1), 21-26.
- Harsanti, L., & Yulidar. (2015). Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan Awal Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merril.) var. Denna 1. *Pertemuan dan Presentasi Ilmiah - Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir BATAN*. Yogyakarta.
- Hartati, S., & Karyana, N. (2014). Teknik Inokulasi *Ralstonia solanacearum* untuk Pengujian Ketahanan Nilam terhadap Penyakit Layu. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 25(1), 127-135.
- Harusnyah. (2011). Peningkatan Mutu Minyak Nilam Rakyat Melalui Proses Pemurnian. *Jurnal Teknologi Politeknik Negeri Lohokseumawe*, 11(2), 16-20.
- Haryudin, W., Syukur, C., & Nuryani, Y. (2002). Tingkat Kesamaan Tanaman Nilam Hasil Fusi Protoplas Berdasarkan Morfologi dan Anatomi Daun. *J. Biologi Indonesia*, 3(4), 332-339.
- Hashim, M., Ahmad, B., Drouet, S., Hano, C., Abbasi, B., & Anjum, S. (2021). Comparative Effects of Different Light Sources on the Production of Key Secondary Metabolites in In Vitro Cultures. *Plants*, 10(8), 1-18.
- He, Y., Guo, X., Ran, L., Niu, B., Pasapula, V., Hou, P., et al. (2009). Changes in Morphology and Biochemical Indices in Browning Callus Derived from *Jathropa curcas* Hypocotyls. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 11-17.
- Helena, A., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2022). Optimasi Antioksidan sebagai Penghambat Browning pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Hayati*, 7(1), 86-93.

- Helt, C., Cliby, W., Keng, P., Bambara, R., & O'Reilly, M. (2005). Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) and ATM and Rad3-Related Protein Exhibit Selective Target Specificities in Response to Different Forms of DNA Damage. *J. Biol. Chem*, 280(2), 1186-1192.
- Hikosaka, S., Ito, K., & Goto, E. (2010). Effects of Ultraviolet Light on Growth, Essential Oil Concentration, and Total Antioxidant Capacity of Japanese Mint. *Environmental Control Biology*, 48(4), 185-190.
- Hutami, S. (2008). Masalah Pencokelatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2), 83-88.
- Idris, A., Ramajura, M., & Said, I. (2014). Analisis Kualitas Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Produksi Kabupaten Buol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(2), 79-85.
- Irmawati, D., & Rahayu, E. (2023). Development of Photomyxotrophic Culture Protocol of Lemongrass Through Sucrose Concentration Increase and Light Intensity Decrease. *Biosaintifika*, 15(2), 212-219.
- Jabben, N., & Mirza, B. (2004). Ethyl Methane Sulphonate Induces Morphological Mutation in *Capsicum annum*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(2), 340-345.
- Jembere, A., & Jakubowski, T. (2024). Mechanical and Surface Properties of Semifinished Potato Tuber Exposed to UV-C Radiation at Varied Operational Parameters. *European Food Research and Technology*, 1-15.
- Jena, A., Samal, R., Bhol, N., & Duttaroy, A. (2023). Cellular Red-Ox System in Health and Disease: the Latest Update. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 162(1), 1-21.
- Jos, B., & Irawan, B. (2010). Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*.
- Kabera, J., Semana, E., Mussa, A., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function, and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 377-392.
- Kadir, A. (2011). Identifikasi Klon Harapan Tanaman Nilam Toleran Cekaman kekeringan Berdasarkan Kadar Proline dan Karakter Morfologi serta Fisiologi. *J. Agrisiste*, 7(1), 15-18.
- Kamel, R., El-Kholy, M., Ali, L., Tolba, N., Amer, A., & Eltarawy, A. (2022). Influence of Germicidal Ultraviolet Radiation UV-C on the Quality of Apiaceae Spices Seeds. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(89), 1-13.
- Kardinan, A., & Ludi, M. (2004). *Mengenal Lebih Dekat Nilam: Tanaman Beraroma Wangi untuk Industri Parfum dan Kosmetika*. Bogor: Agromedia.
- Kareem, K., Olobatoke, T., Rahaman, A., & Mustapha, O. (2019). Mutagenic Effects of Ultraviolet-C Irradiation on the Anatomy of Three Species of

- Capsicum. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 54(2), 111-116.
- Kazan, K., & Lyons, R. (2016). The Link Between Flowering Time and Stress Tolerance. *J. Exp. Bot.*, 67(1), 47-60.
- Khaerina, D. (2018). *Induksi Mutasi dan Seleksi In Vitro Kalus Nilam (Pogostemon cablin Benth.) untuk Toleransi terhadap Cekaman Kekeringan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Khan, T., Laskar, R., & Debnath, B. (2018). Studies on the Effects of Ultraviolet Irradiation on Pea (*Pisum sativum* L.). *International Journal of Genomics and Data Mining*, 2(3), 1-7.
- Klein, F., Reis, A., Kelnowski, A., Telles, R., Amarante, L., Peters, J., et al. (2018). UV-B Radiation as an Elicitor of Secondary Metabolite Production in Plants of the Genus *Alternanthera*. *Acta Botanica Brassilica*, 32(4), 615-623.
- Klement, Z., Rudolph, K., & Sand, D. (1990). *Methods in Phyto bacteriology*. Budapest: Academia Kiado.
- Kovalchuk, I. (2023). Heritable Responses to Stress in Plants. *Quant Plant Biol*, 4-15.
- Kumari, S., Advani, D., Khosla, A., Kumar, P., & Ambasta, R. (2022). Mutagenic Factors in the Environment Impacting Human and Animal Health. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 62111-62159.
- Laksono, F., & Fanata, W. (2022). Pengaruh Induksi Mutasi dengan Mutagen EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*) terhadap Hasil dan Kualitas Kedelai Hitam. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 5(2), 120-126.
- Lario, L., Ramirez, P., Gutierrez, C., Casati, P., & Spampinato, C. (2011). Regulation of Plant MSH2 dan MSH6 Genes in the UV-B-Induced DNA Damage Response. *J. Exp. Bot*, 62, 2925-2937.
- Laukkanen, H., Rautiainen, L., Taulavuori, E., & Hohtula, A. (2000). Changes in Cellular Structures and Enzymatic Activities during Browning of Scots Pine Callus Derived from Mature Buds. *Tree Physiology*, 20(1), 467-475.
- Lestari, E. (2011). Aplikasi Induksi Mutasi untuk Pemuliaan Tanaman Hias. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 1(1), 335-344.
- Lestari, E. (2012). Combination of Somaclonal Variation and Mutagenesis for Crop Improvement. *Agrobiogen*, 8(1), 38-44.
- Lisdiyanti, N., Anwar, S., & Darmawati, A. (2019). Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Induksi Kalus dan Seleksi Tingkat Toleransi Padi (*Oryza sativa* L.) terhadap Cekaman Salinitas secara *In-Vitro*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2), 67-76.
- Lu, J., & Holmgren, A. (2014). The Thioredoxin Antioxidant System. *Free Radic Biol Med*, 66(1), 75-87.

- Lyu, G., Li, D., Xiong, H., Xiao, L., Tong, J., Ning, C., et al. (2020). Quantitative Proteomic Analyses Identify STO/BBX24 Related Proteins Induced by UV-B. *Int. J. Mol. Sci*, 21(7), 2496.
- Lyu, L., Liu, Y., Zhu, F., Geng, X., Yang, Y., He, Z., et al. (2020). The Enhancement of Salt Stress Tolerance by Salicylic Acid Pretreatment in *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 64(1), 150-158.
- Majda, M., & Robert, S. (2018). The Role of Auxin in Cell Wall Expansion. *Int. J. Mol. Sci*, 19(4), 951-965.
- Manaf, H., Rabie, K., & MS, A. (2016). Impact of UV-B radiation on some Biochemical Changes and Growth Parameters in *Echinacea purpurea* Callus and Suspension Culture. *Ann Agric Sci*, 61(1), 207-216.
- Mangun, H., Waluyo, H., & Purnama, A. (2012). *Nilam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Manubelu, S. (2017). *Induksi Poliferasi Tunas Nilam Varietas Sidikalang dengan Penambahan BAP, Gula, dan Kitosan untuk Produksi Biomassa Nilam secara In Vitro*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Manzoor, A., Ahmad, T., & Bashir, M. (2019). Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants. *Plants*, 8(7), 1-16.
- Marechal, A., & Zou, L. (2013). DNA Damage Sensing by the ATM and ATR Kinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5(9).
- Masykuroh, L., Adisyahputra, & Indrayanti, R. (2016). Induksi Mutasi pada Pisang (*Musa Sp.*) cv. Kepok dengan Iradiasi Gamma secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia (Bioma)*, 12(1), 25-31.
- Mayerni, R., Warnita, Armansyah, & Chan, S. (2020). Direct Organogenesis in Local Clones of Patchouli Plant *In Vitro*. *Jerami: Indonesian Journal of Crop Science*, 3(1), 16-20.
- Mayura, E. (2020). Pengaruh Berbagai Komposisi Media terhadap Induksi Tunas Nilam. *Prosiding Webinar Nasional Seri Sistem Pertanian Terpadu dalam Pemberdayaan Petani di Era New Norma* (hal. 42-58). Payakumbuh: Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh.
- Meliala, J., Basuki, N., & Soegianto, A. (2016). Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Perubahan Fenotipik Tanaman Padi Gogo. *Jurnal Produksi Tanaman*, 4(7), 585-594.
- Mhamdi, A., & Breusegem, F. (2018). Reactive Oxygen Species in Plant Development. *Development*, 145(15), 1-12.
- Mmbando, G. (2021). The Trade-off Between UV-B Sensitivity and Tolerance against other Stresses in Africa Ricespecies. *Turkish Journal of Botany*, 45(1), 601-612.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). a Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 15(1), 473-497.

- Murhadi. (2010). *Antimikroba dari Tanaman: Golongan Senyawa, Sumber, dan Aktivasnya*. Bandar Lampung: Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Murkovic, M., Caballero, B., Finglas, P., & Toldra, F. (2016). Encyclopedia of Food and Health . *Elsevier*, 346-351.
- Murugan, R., & Livingstone, C. (2010). Origin of the Name Patchouli and it's History. *Current Science*, 99(9), 1274-1276.
- Nadarajah, K. (2020). ROS Homestasis in Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Int. J. Mol. Sci*, 1-29.
- Najeeb, U., Xu, L., Ahmed, Z., & Rasheed, U. (2011). Ultraviolet-C Mediated Physiological and Ultrastructural Alterations in *Juncus Effusus* L. Shoots. *Acta Physiol Plant*, 33(2), 481-488.
- Naqvi, S. (1976). Influence of Ultraviolet Radiation on Auxin Transport in *Zea mays* L. *Enviromental Science*, 80(4), 306-309.
- Nasrun, & Nurmansyah. (2016). Keefektifan Formula *Pseudomonas fluorescens* untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Nilam. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 12(2), 46-52.
- Natarajan, A. (2005). Chemical Mutagenesis: from Plants to Human. *Curr.Sci*, 89(1), 312-317.
- Nepal, S., Ojha, B., Meador, A., Gaire, S., & Shilpakar, C. (2014). Effect of Gamma Rays on Germination and Photosynthetic Pigments of Maize Inbreds. *International Journal of Research*, 1(5), 511-516.
- Nguyen, H., Lin, K., Ho, S., Chiang, C., & Yang, C. (2018). Enhancing the Abiotic Stress Tolerance of Plants: from Chemical Treatment to Biotechnological Approches. *Physiologia Plantarum*, 164(4), 452-466.
- Nguyen, H., Vu, N., & Cheong, J. (2022). Trnascriptional Stress Memory and Transgenerational Inheritance of Drought Tolerance in Plants. *Int. J. Mol. Sci*, 23(21), 1-25.
- Novak, F., & Brunner, H. (1992). Plant Breeding; Induced Mutation Technology for Crop Improvement. *IAEA Bulletin*, 4, 25-33.
- Nuryani, Y., Emmyzar, M., & Wahyudi, A. (2007). *Nilam Perbenihan dan Budidaya Pendukung Varietas Unggul*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan.
- Ouyang, P., Liu, Y., Wang, Y., Mo, X., & Zeng, S. (2016). Aging and Tissue Spesific Regulation of Patchoulol and Pogostone in Two *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. cultivars. *Physiologia Plantarum*, 158(3), 272-282.
- Pangesti, R., & Sulistyowati. (2015). Pengaruh Pemberian Air Tauge dan Kelapa terhadap Pertumbuhan Tunas Nilam secara *In Vitro*. *Stigma*, 8(1), 21-24.
- Parekh, S., Vinci, V., & Strobel, R. (2000). Improvement of Microbial Strains and Fermentation Processes. *Appl Microbiol Biotechnol*, 54, 287-301.

- Park, H., Yoo, Y., Hahn, T., Bhoo, S., Lee, S., & Cho, M. (2014). Antimicrobial Activity of UV Induced Phenylamides from Rice Leaves. *Molecules*, *19*(11), 18139-18151.
- Petruk, G., Glucide, R., Rigano, M., & Monti, D. (2018). Antioxidants from Plants Protect against Skin Photoaging. *Oxid Med Cell Longev*, 1-11.
- Phanomchai, S., Noichinda, S., Kachonpadungkitti, Y., & Bodhipama, K. (2021). Differing In Vitro Rooting and Flowering Responses of the Persian Violet to Low and High UV-C Irradiation. *Plants*, *10*(12).
- Pinto, E., Perin, E., Schott, I., Rodrigues, R., Luchetta, L., Manfroi, V., et al. (2016). The Effect of Postharvest Application of UV-C Radiation on the Phenolic Compounds of Conventional and Organic Grapes (*Vitis labrusca* cv. Concord). *J. Postharvest Biology and Technology*, *120*, 84-91.
- Poerba, Y. (2009). Identifikasi Genetik Mutan *Talinum paniculatum* JACQ. (GAERTN.) Berdasarkan Markah RAPD. *Jurnal Natur Indonesia*, *12*(1), 44-48.
- Ponte, N., Martins, S., Goncalves, A., Corella, C., Ribeiro, C., Dias, M., et al. (2019). The Potential Use of the UV-A and UV-B to Improve Tomato Quality and Preference for Consumers. *Sci. Hortic*, *246*(2), 777-784.
- Puspitosari, D., Rochman, N., & Tobing, O. (2017). Daya Insektisidal Minyak Nilam dan Ekstrak Lerak pada Hama Gudang *Sitophilus zeamais* (Motsch.). *Jurnal Agronida*, 1-10.
- Puteri, A., & Meizarini, A. (2020). The Guardian of Genome Against OSCC Progression. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, *7*(10), 1071-1079.
- Putra, A. (2024). *Setek Mikro Nilam dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Indole Butiric Acid (IBA)*. Skripsi, Universitas Andalas, Departemen Agronomi, Padang.
- Qosim, W. A., Istifadah, N., Djatnika, I., & Yunitasari. (2012). Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat terhadap Kapasitas Regenerasi Tunas Hibrida *Phalaenopsis In Vitro*. *Jurnal Hortikultura*, *22*(4), 360-365.
- Rachmani, I., Rahayu, A., & Sulasih. (2021). Perbanyak Tanaman Nilam Menggunakan Sistem Fotoautotropik dengan Berbagai Konsentrasi Gula dan Jumlah Ventilasi. *J. Agron Indonesia*, *49*(2), 212-219.
- Rahman, Q., & Aisyah, S. (2018). Induksi Mutasi Fisik pada Paku Bintik (*Microsorium punctatum*) Melalui Iradiasi Sinar Gamma. *Bulletin Agrohorti*, *6*(3), 422-429.
- Rasool, S., Hameed, A., Azooz, M., Rehman, M., Siddiqi, M., & Ahmad, P. (2013). Salt Stress: Causes, Types, and Response of Plants. *Springer*, 1-24.
- Rastogi, R., Richa, Kumar, A., Tyagi, M., & Sinha, R. (2010). Molecular Mechanism of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair. *J. Nucleic Acids*, 1-33.

- Reape, T., & McCabe, P. (2008). Apoptotic-like Programmed Cell Death in Plants. *New Phytol*, 180(1), 13-26.
- Rezaldi, F., Abdillah, N., Mujjah, M., Susilo, H., Suyamto, S., Setiawan, U., et al. (2022). Multiplikasi Tunas dan Induksi Perakaran Tanaman Nilam. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perkebunan*, 4(1), 77-85.
- Rosiana, N., Feryanto, V., & Sinaga, R. (2017). Posisi Daya Saing dan Tingkat Persaingan Minyak Atsiri Indonesia di Pasar Global. *Agricore: Jurnal Agribisnis dan Sosial Ekonomi Pertanian*, 2(1), 205-290.
- Rusaczonok, A., Czarnocka, W., Willems, P., Rybkowska, M., Breusegem, F., & Karpinski, S. (2021). Phototropin 1 and 2 Influence Photosynthesis, UV-C Induced Photooxidative Stress Responses and Cell Death. *Cells*, 10(2).
- Sankari, M., Hridya, H., Sneha, P., Doss, C., & Ramamoorthy, S. (2017). Effect of UV Radiation and its Implication on Carotenoid Pathway in *Bixa orellana* L. *J. Photochem Photobiol B.*, 136-144.
- Sarghein, S., Carapetian, J., & Khara, J. (2011). The Effects of UV Radiation on some Structural and Ultrastructural Parameters in Pepper (*Capsicum longum*). *Turkish Journal of Biology*, 35(1), 69-77.
- Sari, A., Purwantoro, A., & Hadipoentyanti, F. (2009). Ketahanan Klon Somatis Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) terhadap *Ralstonia solanacearum*. *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah*.
- Sari, L. (2015). *Induksi Mutasi Kalus Embriogenik Menggunakan Ethyl Methane Sulphonate untuk Merakit Tanaman Gandum (Triticum aestivum L.) Toleran Dataran Rendah*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sarinaningsih. (2016). *Pengaruh Intensitas, Lama Waktu Penyinaran, dan Posisi Sumber Sinar Ultraviolet terhadap Reduksi Jumlah Bakteri Escherichia coli pada Air Sumur*. Universitas Mataram.
- Schaad, N., Jones, J., & Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Minnesota: APS Press.
- Schum, A. (2003). Mutation Breeding in Ornamentals: an Efficient Breeding Method. *Acta Horticulture*, 47-60.
- Shabala, S., Bose, J., Fugslang, A., & Pottosin, I. (2015). On a Quest for Stress Tolerance Genes: Membrane Transportes in Sensing and Adapting to Hostile Soils. *Journal of Experimental*, 67(4), 1015-1031.
- Sharma, P., Jha, A., Dubey, R., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 1-26.
- Siddiqui, H., Sami, F., & Hayat, S. (2019). Glucose: sweet or Bitter Effects in Plants a Review on Current and Future Perspective. *Carbohydrate Research*, 487(1), 714-724.
- Silvestre, K., Gomez, J., Hidalgo, M., Lau, N., Roque, Y., & Micell, F. (2022). Effect of UV-B Radiation on Flavonoid and Phenols Accumulation in Tempisque (*Sideroxylon capiri*) Callus. *Plants*, 11(4), 473-482.

- Sitepu, D., & Asman, A. (1989). *Penyakit Nilam di D.I. Aceh*. Aceh: Kerjasama PT. Pupuk Iskandar Muda (Persero) dan Balitro.
- Soeranto, H. (2003). *Peran IPTEK Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industri Pertanian*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Song, Y., Ma, B., Guo, Q., Zhou, L., Lv, C., Liu, X., et al. (2022). Uv-B Induces the Expression of Flavonoid Biosynthetic Pathways in Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) calli. *Frontiers: Plant Science*, 13(1), 1-18.
- Sosnowski, J., Truba, M., & Vasileva, V. (2023). The Impact of Auxin and Cytokinin on the Growth and Development of Selected Crops. *Agriculture*, 13(3), 724-733.
- Sugiharto, B. (2007). Propagasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara In Vitro dengan Kombinasi Sitokinin dan Auksin. *MIPA*, 17(1), 39-47.
- Sukarman. (2012). Pengaruh Jarak Tanam dan Dosis Pupuk Kandang terhadap Produksi dan Viabilitas Benih Stek Nilam. *Jurnal Littri*, 8(2), 81-87.
- Suminar, E., Anjarsari, I., Nuraini, A., & Hapizhah. (2015). Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Nilam var. Lhokeseumawe dari Jenis Eksplan dengan Sitokinin yang Berbeda secara In Vitro. *Jurnal Kultivasi*, 14(2), 10-15.
- Sun, R., Hikosaka, S., Goto, E., Sawada, H., Saito, T., Kudo, T., et al. (2012). Effect of UV Irradiation on Plant Growth and Concentrations of Four Medicinal Ingredients in Chinese Licorice (*Glycyrrhiza uralensis*). *ISHS Acta Horticulturae 956: VII International Symposium on Light in Horticultural System*.
- Suprasanna, P., Mirajkar, S., & Bhagwat, S. (2015). Induced Mutations and Crop Improvement. *Plant Biology and Biotechnology*.
- Swamy, M., & Sinniah, U. (2015). a Comprehensive Review on the Phytochemical Constituents and Pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth: an Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. *Molecules*, 20(1), 8521-8547.
- Takeno, K. (2016). Stress-induced Flowering: the Third Category of Flowering Response. *Journal of Experimental Botany*, 67(17), 4925-4934.
- Tchonkouang, R., Lima, A., Quintino, A., Cristofoll, N., & Vielra, M. (2023). UV-C Light: a Promising Preservation Technology for Vegetable-Based Nonsolid Food Products. *Foods*, 12(17), 1-25.
- Teramura, A. (1983). Effect of Ultraviolet-B Radiation on the Growth and Yield of Crops Plants. *Physiologia Plantarum*, 58(1), 415-427.
- Thaveechai, N., Hartmann, G., & Kositratana, W. (1989). *Bacterial Wilt Resistance Screening. Laboratory Course on Bacterial Wilt of Tomato*. Thailand: Kasetsart University.
- Trimanto, Metusala, D., & Suhartono. (2019). Respon Pertumbuhan *Hedychium borneense* R.M. Sm. (Zingiberaceae), Tumbuhan Endemik Semi-Epifit

- dari Kalimantan dengan Perbedaan Media Tanam. *Jurnal Prolife*, 6(3), 263-273.
- Triyastuti, N., Rahayu, E., & Widiatningrum, T. (2018). Optimasi Pertumbuhan Planlet Krisan Melalui Peningkatan Permeabilitas Tutup Botol dan Penurunan Sukrosa. *Jurnal MIPA*, 41(1), 20-26.
- Untari, R., & Puspitaningtyas, D. (2006). Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Angrek Hitam dalam Kultur *In Vitro*. *Biodiversitas*, 7(3), 344-348.
- Urban, O., Hrstka, M., Holub, P., Vesela, B., Vecerova, K., Novotna, K., et al. (2019). Interactive Effects of Ultraviolet Radiation and Elevated CO₂ Concentration on Photosynthetic Characteristic of European Beech saplings during the Vegetation Season. *Plant Physiology and Biochemistry*, 134, 20-30.
- Van Harten, A. (1998). *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. New York: Cambridge University Press.
- Villium Reasearch Center for Plant Plasticity. (2024). *What is Plant Plasticity?* Dipetik June 13, 2024, dari plantplasticity.ku.dk
- Wada, K., & Takeno, K. (2010). Stress-induced Flowering. *Plant Signal*, 5(1), 944-947.
- Warid, Khumaida, N., Purwito, A., & Syukur, M. (2017). Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma pada generasi Pertama (M1) untuk Mendapatkan Genitipe Unggul Baru Kedelai Toleran Kekeringan. *Agrotrop*, 7(1), 11-21.
- Warmadewi, D. (2017). *Buku Ajar: Mutasi Genetik*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Waterworth, W., Drury, G., Bray, C., & West, C. (2011). Repairing Breaks in the Plant Genome: the Importance of Keeping it Together. *New Phytol*, 192(1), 805-822.
- Wijarini, N. (2017). *Pengaruh Etil Metana Sulfonat (EMS) terhadap Respon Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Bawang Merah (Allium cepa L.)*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Wituszynska, W., Hebda, M., Sobczak, M., & Rusaczonok, A. (2015). Lesion Simulating Disease 1 and Enhanced Disease Susceptibility 1 Differentially Regulate UV-C Induced Photooxidate Stress Signaling and Programmed Cell Death in Arabidopsis Thaliana. *Plant Cell and Environment*, 38(2).
- Wulan, M. (2007). *Peningkatan Keragaman Bunga Sepatu (Hibiscus rosasinensis Linn.) Melalui Induksi Iradiasi Sinar Gamma*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wulandari, Y., Gustia, H., Rosdiana, & Sudirman. (2022). Induksi Mutasi Iradiasi Sinar Gamma pada Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Agrosains dan Teknologi*, 7(2), 99-108.
- Yang, X., Zhang, X., Yang, S., & Liu, W. (2013). Evaluation of the Antibacterial Activity of Patchouli Oil. *Iran J. Pharms. Res*, 12(3), 307-316.

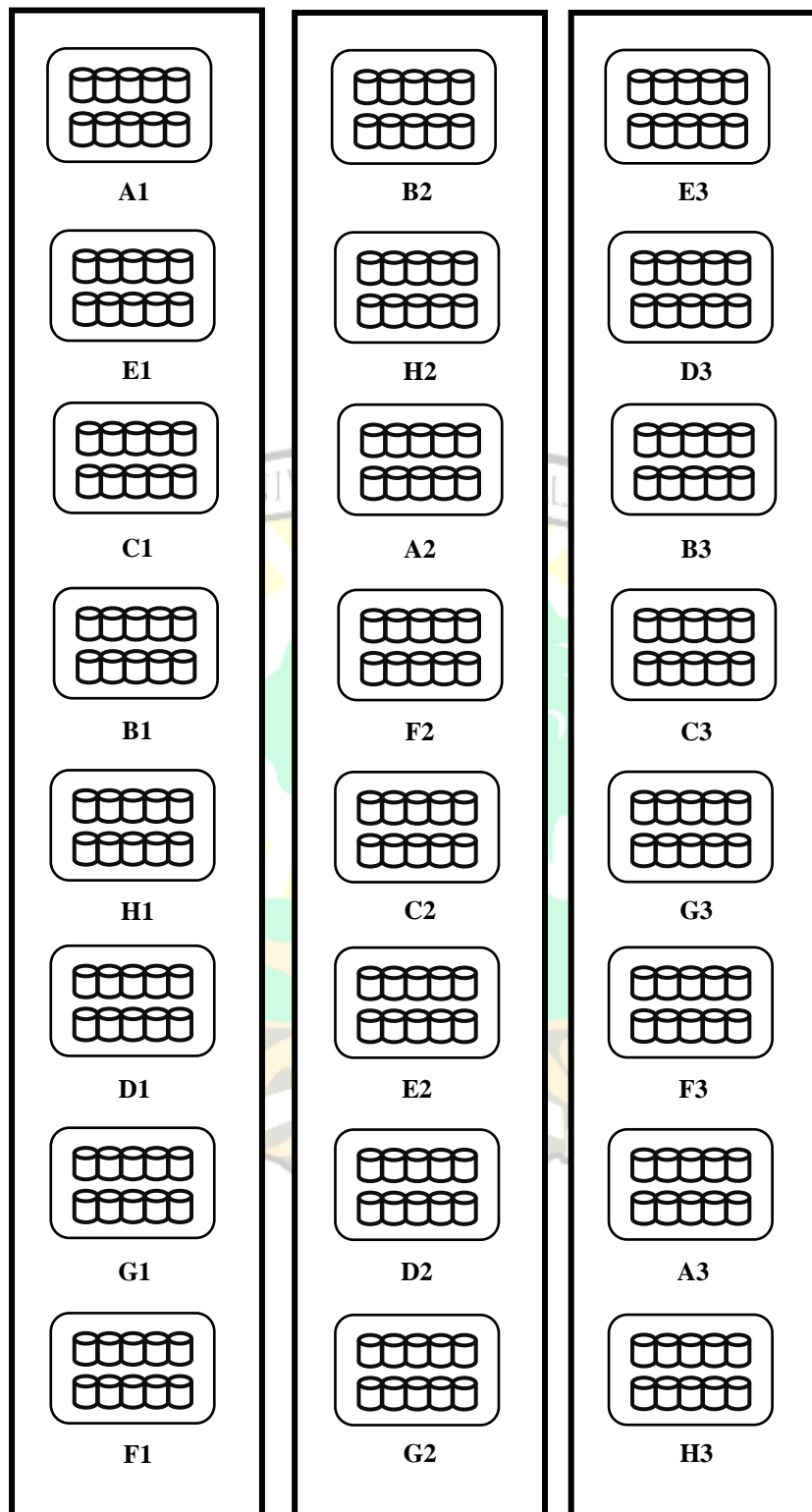
- Yang, Y., Fu, Q., Yang, C., Rao, X., Wu, Z., Wu, Z., et al. (2023). Effects of Mg or Chlorophyll Degradation and Leaf Chroma during the Airing of Tobacco Leaves. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 92(1), 1-19.
- Yanti, Y. (2007). Morphological Variation Planlet "Raja Sereh" Banana Treatments of Ethyl Methane Sulphonate Muthagen Through In Vitro. *The Third Asian Conference on Plant Pathology*.
- Yildirim, A. (2020). Ultraviolet-B Induced Changes on Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and HPLC Profile of In Vitro Grown Plant Materials in *Echium orientale* L. *Ind. Crops Prod*, 153.
- Yin, X., Singer, S., Qiao, H., Liu, Y., Jiao, C., Wang, H., et al. (2016). Insight into the Mechanism Ultraviolet-C Induced Reveratol Metabolism in Grapevine (*V. amurensis* Rupr.) cv. "Tonghua-3". *Frontiers: Plant Science*, 7(1), 1-16.
- Yuniardi, F. (2019). Aplikasi Dimmer Switch pada Rak Kultur sebagai Pengatur Kebutuhan Intensitas Cahaya Optimum Bagi Tanaman *In Vitro*. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(1), 8-13.
- Yusniwati, Setiawan, R., Syarif, Z., & Fitriawati. (2020). Organogenesis Langsung Tanaman Nilam. *Sistem Pertanian Terpadu dalam Pemberdayaan Petani* (hal. 194-201). Payakumbuh: Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh.
- Zamora, L., Castillejo, N., & Hernandez, F. (2021). UV-B Radiation as Abiotic Elicitor to Enhance Phytochemicals and Development of Red Cabbage Sprouts. *Horticulturae*, 5(12), 1-18.
- Zhang, H., Zhao, Y., & Zhu, J. (2020). Thriving Under Stress: How Plants Balance Growth and the Stress Response. *Cell Press*, 55(5), 529-543.
- Zhang, W., Jiang, H., Cao, J., & Jiang, W. (2021). UV-C Treatment Controls Brown Rot in Postharvest Nectarine by Regulating ROS Metabolism and Antocyanin Synthesis. *Postharvest Biology and Technology*, 180(1), 1-15.
- Zhang, X., Chen, Y., Guo, Q., Wang, W., Liu, L., Fan, J., et al. (2017). Short Term UV-B Radiation Effects on Morphology, Physiological Traits, and Accumulation of Bioactive Compounds in *Prunella vulgaris* L. *J. Plant Interact*, 12(1), 348-354.
- Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Zuyasna. (2021). *Kultur In Vitro dan Mutagenesis Tanaman Nilam*. Aceh: Syiah Kuala University Press.

Lampiran 2. Komposisi media Murashige and Skoog (MS)

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg/L)	Larutan Stok (g/L)	Kepekatan (kali)	Kebutuhan (media/L)
Unsur makro				
NH ₄ NO ₃	1650	16,50	10	100
KNO ₃	1900	19,00	10	100
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	4,40	10	100
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	3,70	10	100
KH ₂ PO ₄	170	1,70	10	100
Unsur Mikro				
MnSO ₄ 4H ₂ O	33,30	223*	100	10
ZnSO ₄ 4H ₂ O	8,60	86*	100	10
H ₃ BO ₃	6,20	62*	100	10
KI	0,83	8,30*	100	10
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025	0,25*	100	10
Na ₂ MoO ₄	0,25	2,50*	100	10
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025	0,25*	100	10
FeSO ₄ 7H ₂ O	27,80	5,57*	200	5
Na ₂ EDTA 2H ₂ O	37,30	7,45*	200	5
Vitamin				
Myo-inositol	100	1000*	100	10
Thiamin	0,10	50*	1000	1
Nicotinic acid	0,50	50*	1000	1
Pyrodoksin HCl	0,50	10*	1000	1
Glycine	200	2,00	1000	1
Sukrosa	30 g L ⁻¹			
Bacto agar	8 g L ⁻¹			
pH	5,8			

Sumber: (Murashige & Skoog, 1962)

Lampiran 3. Denah penempatan botol kultur di laboratorium berdasarkan RAK



Keterangan:

0 menit	=	A	1	=	Kelompok 1
30 menit	=	B	2	=	Kelompok 2
60 menit	=	C	3	=	Kelompok 3
90 menit	=	D			
120 menit	=	E			
150 menit	=	F			
180 menit	=	G			
210 menit	=	H			
240 menit	=	I			
270 menit	=	J			



Lampiran 4. Hasil uji t taraf 5% masing-masing durasi iradiasi UV-C pada semua variabel pengamatan

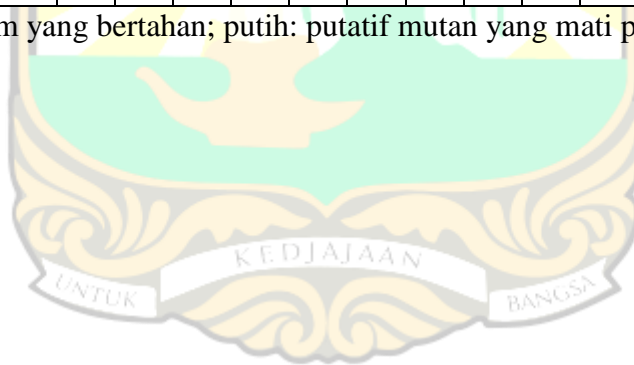
Durasi UV-C (menit)	<i>p-value</i>						
	Waktu Muncul Tunas (HST)	Jumlah Tunas	Jumlah Daun (helai)	Tunas Tertinggi (cm)	Jumlah Stomata	Panjang Stomata (μm)	Lebar Stomata (μm)
30	0.315 ^{tn}	0.050 [*]	0.068 ^{tn}	0.031 [*]	0.740 ^{tn}	0.501 ^{tn}	0.586 ^{tn}
60	0.905 ^{tn}	0.075 ^{tn}	0.101 ^{tn}	0.035 [*]	0.720 ^{tn}	0.367 ^{tn}	0.096 ^{tn}
90	0.737 ^{tn}	0.466 ^{tn}	0.263 ^{tn}	0.005 [*]	0.656 ^{tn}	0.471 ^{tn}	0.406 ^{tn}
120	0.001 [*]	0.064 ^{tn}	0.011 [*]	0.007 [*]	0.965 ^{tn}	0.436 ^{tn}	0.191 ^{tn}
150	0.205 ^{tn}	0.442 ^{tn}	0.105 ^{tn}	0.002 [*]	0.907 ^{tn}	0.103 ^{tn}	0.087 ^{tn}
180	0.080 ^{tn}	0.263 ^{tn}	0.470 ^{tn}	0.001 [*]	0.702 ^{tn}	0.215 ^{tn}	0.697 ^{tn}
210	0.392 ^{tn}	0.018 [*]	0.014 [*]	0.649 ^{tn}	0.727 ^{tn}	0.601 ^{tn}	0.093 ^{tn}
240	1.000 ^{tn}	0.060 ^{tn}	0.123 ^{tn}	0.002 [*]	0.728 ^{tn}	0.354 ^{tn}	0.140 ^{tn}
270	0.855 ^{tn}	0.017 [*]	0.011 [*]	0.661 [*]	0.893 ^{tn}	0.877 ^{tn}	0.060 ^{tn}

Keterangan: tn = tidak nyata; * = berbeda nyata

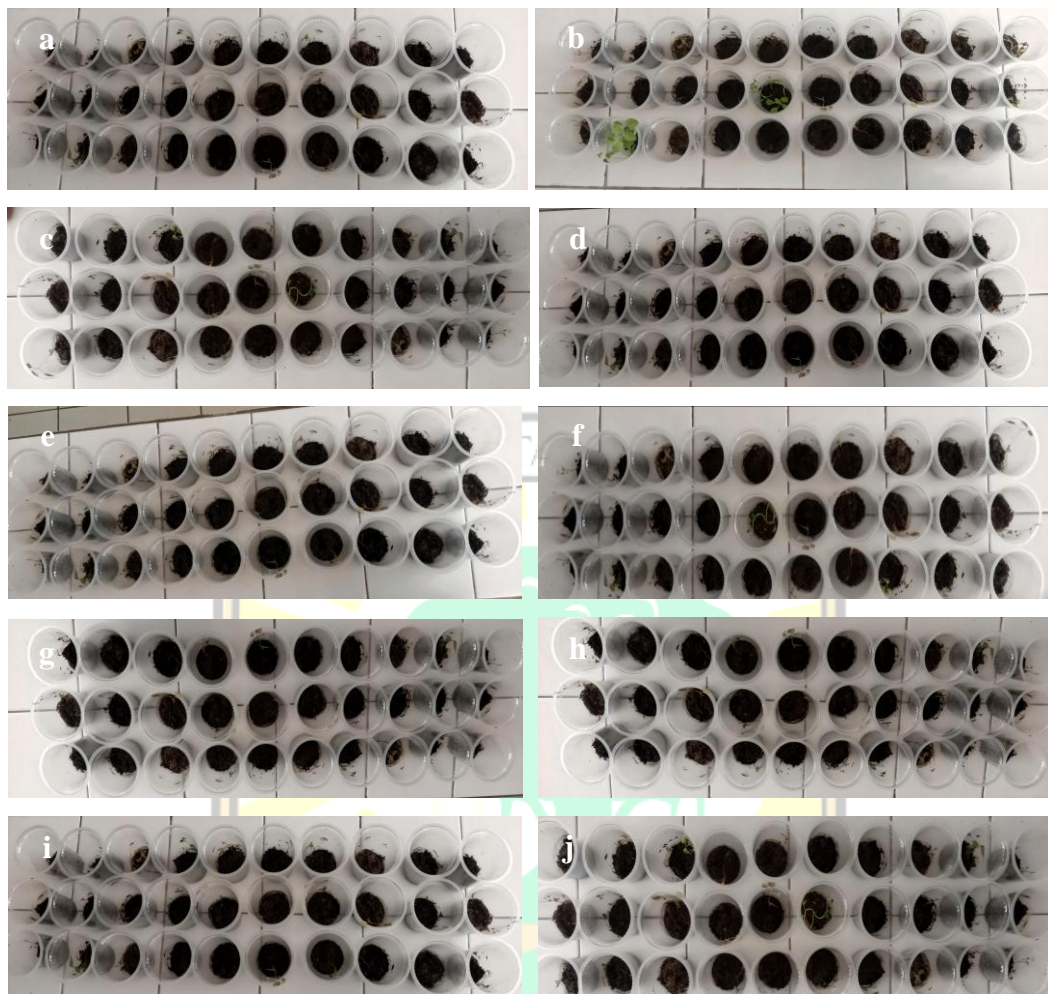
Lampiran 5. Seluruh sampel nilam pasca seleksi dengan suspensi bakteri *Ralstonia solanacearum*

Durasi Penyinaran UV-C (menit)	Sampel Tanaman Ke-																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
0																														
30		■													■															
60																														
90																														
120																														
150																														
180																														
210																														
240																														
270																														

Keterangan: kotak hitam: putatif mutan nilam yang bertahan; putih: putatif mutan yang mati pasca seleksi



Lampiran 6. Kondisi sampel nilam pasca seleksi dengan suspensi bakteri *Ralstonia solanacearum*



Keterangan: a) *wild type*; b) 30 menit; c) 60 menit; d) 90 menit; e) 120 menit; f) 150 menit; g) 180 menit; h) 210 menit; i) 240 menit; j) 270 menit.

