

Standard of Operation Procedure (SOP)

Kegiatan : Good Development Practice

Sub Kegiatan : Peningkatan kualitas dan kuantitas bahan baku nilam melalui teknik kultur jaringan

I. **Tujuan:** Mengembangkan nilam unggul melalui teknik kultur jaringan

II. **Pihak Terkait:**

III. **Langkah-langkah pelaksanaan:**

III.1. Perbanyak nilam melalui teknik kultur jaringan

1. Pilih tanaman nilam unggul yang sehat.
2. Ambil eksplan daun muda yang telah mengembang sempurna dan dicuci dengan air mengalir selama 30 menit.
3. Eksplan daun kemudian disterilisasi di dalam *laminar air flow* (LAF) dengan larutan sterilan 30% yang berbahan aktif 5.25% NaClO selama 15 menit. Sebelum kegiatan kultur dilakukan, LAF disterilisasi dengan sinar UV selama \pm 1 jam dan disemprot alkohol.
4. Larutan sterilan dibuang dan eksplan daun dicuci 3 kali dengan air steril, masing-masing selama 5 menit.
5. Daun nilam diambil dan diletakkan dalam cawan petri steril dan dipotong-potong dengan ukuran 0.5 cm kemudian dikultur pada medium induksi tunas yang mengandung zat pengatur tumbuh NAA dan BAP. Tunas mulai terbentuk 2 minggu setelah kultur.
6. Setelah 6 minggu kultur, tunas disubkultur pada medium baru untuk memperbanyak tunas atau disubkultur pada media pemanjangan tunas dan induksi akar yang mengandung zat pengatur tumbuh GA3 dan NAA untuk membentuk plantlet.
7. Plantlet diaklimatisasi pada media tanah.
8. Aklimatisasi dilakukan dengan cara plantlet dikeluarkan dari botol dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa media agar yang menempel pada plantlet.
9. Plantlet kemudian ditanam pada baki plastik yang berisi campuran media tanah, arang sekam dan kokopit.
10. Baki plastik yang telah ditanami plantlet ditutup dengan plastik untuk mengurangi penguapan dan ditempatkan dalam ruang teduh.
11. Setelah 2 minggu, penutup plastik dibuka secara bertahap dan apabila plantlet sudah survive/tetap hidup dalam baki plastik tanpa penutup, individu plantlet kemudian dipindahkan pada polibag yang berisi media tanah dan kompos dan siap digunakan sebagai bibit nilam.

III.2. Induksi tanaman nilam tetraploid

1. Eksplan daun nilam dicuci dengan air mengalir selama 30 menit, kemudian disterilisasi di dalam *laminar air flow* (LAF) dengan larutan sterilan 30% yang berbahan aktif 5.25% NaClO selama 15 menit.
2. Larutan sterilan dibuang dan eksplan daun dicuci 3 kali dengan air steril, masing-masing selama 5 menit.
3. Daun nilam diambil dan diletakkan dalam cawan petri steril dan dipotong-potong dengan ukuran 0.5 cm kemudian dikultur pada medium induksi tunas yang mengandung kolkisin selama 2-4 minggu untuk menginduksi terjadinya poliploidi kromosom.
4. Tunas yang terbentuk terbentuk dari eksplan daun yang diperlakukan dengan kolkisin telah diperbanyak dan diregenerasikan menjadi plantlet.

5. Plantlet kemudian diaklimatisasi pada media tanah.
6. Analisis poliploidi tanaman dilakukan secara langsung dengan menghitung jumlah kromosom dalam sel-sel ujung akar yang mengalami mitosis atau secara tidak langsung dengan melihat perbedaan ukuran dan densitas sel stomata.

Analisis kromosom

- Analisis kromosom dilakukan dengan membuat preparat squash ujung akar tanaman nilam.
- Ujung akar tanaman nilam difiksasi dalam larutan alkohol:asam asetat glacial=3:1 selama 24 jam.
- Ujung akar yang telah difiksasi dicelupkan dalam larutan HCL 1N panas 60 °C selama 5 menit, kemudian diletakkan dalam object glass dan ditetesi dengan larutan pewarna aceto orcein selama 20 menit.
- Preparat kemudian ditutup dengan gelas penutup dan disquash.
- Preparat diamati di bawah mikroskop dan dihitung jumlah kromosomnya

Pengamatan stomata

- Oleskan gelatin/kutek pada bagian bawah daun nilam dan tunggu beberapa saat.
- Setelah gelatin/kutek kering tempelkan selotip pada bagian bawah daun yang telah diolesi gelatin
- Tarik/ambil selotip dan tempelkan pada object glass dan amati di bawah mikroskop.
- Ukur dan hitung jumlah stomata, bandingkan dengan ukuran dan jumlah stomata pada tanaman nilam kontrol (diploid).
-

IV. **Penanggung Jawab:** Dr. Wahyu Widoretno, M.Si.