

RESPON PERTUMBUHAN *IN-VITRO* GALUR MUTAN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA BAHAN PEMADAT

Marina Yuniawati dan Arwin

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan

ABSTRAK

RESPON PERTUMBUHAN *IN-VITRO* GALUR MUTAN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.) PADA BEBERAPA BAHAN PEMADAT. Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan penghasil minyak atsiri yang cukup penting sebagai bahan baku untuk industri parfum, kosmetik dan sabun. Perbanyakkan tanaman nilam dilakukan secara vegetatif dengan menggunakan stek, karena tanaman nilam tidak mampu berbunga dan menghasilkan biji di daerah tropis. Teknik kultur *in-vitro* merupakan salah satu cara yang cepat untuk menghasilkan bibit secara masal, namun bila digunakan bahan pematat agar bacto untuk kultur *in-vitro* nilam memerlukan biaya yang cukup tinggi. Penelitian yang bertujuan untuk mendapatkan bahan pematat yang lebih murah dan mudah diperoleh pada perbanyakkan tanaman nilam secara *in-vitro* ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan pola faktorial dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah bahan pematat yaitu agar bacto, agar swallow dan agar batang. Faktor kedua adalah galur mutan nilam, yang berasal dari planlet MV₆ hasil radiasi dengan dosis 15 Gy (galur mutan B) dan 45 Gy (galur mutan D). Setiap unit perlakuan terdiri dari 5 botol kultur yang berisi 25 ml media MS dengan bahan pematat sesuai perlakuan. Eksplan yang digunakan adalah daun planlet yang berukuran 25 mm² dan setiap botol kultur terdiri dari 3 eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa agar batang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan pematat agar bacto untuk perbanyakkan tanaman nilam secara *in-vitro*, karena pada umumnya planlet galur mutan nilam yang dikulturkan pada media dengan bahan pematat agar batang tidak memperlihatkan perbedaan pengaruh terhadap planlet yang ditumbuhkan pada media dengan bahan pematat agar bacto. Agar swallow memberikan respon perumbuhan planlet yang kurang baik dibandingkan agar bacto dan agar batang. Agar batang merupakan bahan pematat yang paling murah untuk pembuatan media kultur *in-vitro* nilam.

Kata Kunci: Nilam, agar bacto, agar swallow, agar batang, kultur in vitro.

ABSTRACT

GROWTH RESPOND ON *IN-VITRO* CULTURE OF PATCHHOULI (*Pogostemon cablin* Benth.) MUTANT LINES ON DIFFERENT SOLIDIFIED AGENTS. Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) is an important plant used as raw materials for perfume, cosmetics and soap industries. Patchouli is propagated vegetatively by using cuttings as plant material since this plant is not able to bloom in the tropical area. Propagation by cuttings is not met the demand of plant material. *In-vitro* culture technique is a method of mass propagation for producing plant material in shorter time. However, the price of bacto agar as a solidified agent for *in-vitro* culture of patchouli is expensive. This experiment aimed to obtain a cheaper solidified agent was arranged in a completely randomized design with 2 factors and 4 replications. The first factor was different solidified agents such as bacto, swallow and stick. The second factor was patchouli mutant lines derived from MV₆ of irradiated plantlets at the doses 15 and 45 Gy namely B and D mutant lines respectively. Every unit of treatment consisted of 5 jars filled with 25 ml medium. The explants used were leaflets sized 25 mm² and 3 explants were cultured in

each jar. The result showed that stick agar can be used as an alternative solidified agent to replace bacto agar for in-vitro culture of patchouli since plantlets cultured on media solidified by stick agar did not indicate any significant effects on those cultured on media solidified by bacto agar. Most of plantlets grown on swallow agar did not show any better growth compare to those grown on stick or bacto agar. Stick agar is recommended to use as a solidified agent for *in-vitro* culture of patchouli since its price is cheaper than bacto or swallow agar.

Keywords: Patchouli, so bacto, to swallow, to stem, in vitro culture.

PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dapat dijumpai di Indonesia, Filipina, Malaysia, Madagaskar, Paraguay dan Brazilia. Indonesia mensuplai hampir 90 % kebutuhan minyak nilam dunia, 450 ton dari total produksi 500 – 550 ton per tahun dihasilkan di Indonesia. Minyak nilam yang diekspor ke Amerika, Perancis, Inggris, Belanda, India dan Singapura merupakan bahan baku untuk industri parfum, kosmetik dan sabun (1). Usaha pemanfaatan minyak atsiri sebagai bahan baku parfum semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya permintaan minyak nilam sebagai bahan pengikat (*fixative*) bagi bahan pewangi lain, sehingga aroma parfum dapat bertahan lama (2).

Kultur *in-vitro* merupakan teknik isolasi dan pemisahan bagian tanaman seperti organ, jaringan, sel atau protoplasma, dan menumbuhkan bagian tanaman tersebut pada media aseptik yang kaya nutrisi dalam wadah tertutup yang tembus cahaya. Bagian tanaman ini dapat memperbanyak diri dan beregenerasi membentuk tanaman baru yang sama dengan induknya (3, 4, 5). Perbanyak tanaman nilam dilakukan secara vegetatif dengan menggunakan stek, karena tanaman nilam tidak mampu berbunga dan menghasilkan biji di daerah tropis. Perbanyak tanaman dengan stek tidak dapat memenuhi kebutuhan bibit yang seragam secara massal dan cepat (6). Teknik kultur *in-vitro* merupakan cara yang cepat untuk menghasilkan bibit yang seragam secara massal, namun bila digunakan bahan pematat agar bacto untuk kultur *in-vitro* nilam memerlukan biaya yang cukup tinggi. Oleh karena itu perlu adanya alternatif bahan pematat yang lebih murah seperti agar swallow dan agar batang.

Agar berasal dari rumput laut yang diolah secara tradisional atau dalam skala industri. Agar bacto merupakan agar yang telah dimurnikan dengan mereduksi serendah mungkin kandungan pigmen pengotor, garam dan bahan organik atau anorganik, sehingga dapat mendukung pertumbuhan mikroba, sel atau jaringan tanaman (7). Agar swallow

mengandung serat tinggi dengan komposisi serbuk agar dan vanili. Agar swallow adalah salah satu produk bahan pematat makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat luas. Agar batang juga merupakan bahan pematat makanan yang berasal dari rumput laut dan diolah secara sederhana dalam bentuk batang.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bahan pematat yang lebih murah dan mudah diperoleh pada perbanyakan tanaman nilam secara *in-vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur mutan nilam B dan D yang berasal dari planlet MV₆ hasil radiasi dengan dosis 15 dan 45 Gy. Sumber eksplan berasal dari daun planlet nilam yang berukuran 25 mm². Media yang digunakan adalah Murashige dan Skoog (MS) (8) dari SIGMA (M 8280), sukrosa (gula pasir) dan agar bacto, swallow dan batang sebagai bahan pematat.

Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan pola faktorial dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah bahan pematat yaitu agar bacto, agar swallow dan agar batang. Faktor kedua adalah galur mutan nilam, yang merupakan MV₆ hasil radiasi dengan dosis 15 Gy (galur mutan B) dan 45 Gy (galur mutan D). Setiap unit perlakuan terdiri dari 5 botol kultur. Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam dan dilakukan uji lanjut BNJ apabila ada perbedaan yang nyata (9).

Persiapan media dilakukan sesuai dengan perlakuan bahan pematat. Ke dalam botol berukuran 500 ml dimasukkan media 2,15 g MS, 4 g agar bacto, swallow atau batang dan 15 g gula pasir, ditambahkan aquadest hingga 500 ml, diaduk menggunakan magnetic stirer dan pH diukur hingga mencapai 5,8 dengan pH meter dan menambahkan HCl atau NaOH. Selanjutnya botol ditutup dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰ C dan tekanan 15 psi. Sementara itu, botol kultur yang ditutup dengan aluminium foil juga disterilkan dalam oven selama 2 jam pada suhu 180⁰ C Setelah itu, setiap botol kultur diisi 25 ml media MS sesuai dengan perlakuan bahan pematat.

Eksplan yang digunakan adalah daun planlet yang berukuran 25 mm² dan pada setiap botol kultur ditanami 3 eksplan, kemudian botol ditutup dengan selotip berdiameter 5 cm dan dibalut dengan selotip berdiameter 1 cm. Botol kultur yang sudah ditanami

eksplan ditempatkan di rak kultur di ruang tumbuh pada suhu 20 – 24⁰ C dengan penyinaran selama 16 jam setiap hari.

Parameter yang diamati adalah persentase galur mutan yang mampu membentuk planlet, jumlah tunas dan daun, panjang akar, tinggi planlet dan warna daun. Warna daun diamati dengan nilai skor sebagai berikut: 0 – 1 (tanaman mati), 1,1 - 2,0 (tanaman berwarna coklat), 2,1 – 3,0 (tanaman berwarna kuning pucat), 3,1 – 4,0 (tanaman berwarna hijau muda), dan 4,1 – 5,0 (tanaman berwarna hijau tua).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase eksplan galur mutan B dan D yang mampu membentuk planlet pada media dengan bahan pematik agar bacto, swallow dan batang berkisar antara 94 – 100 % dan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5 %. Hal ini menunjukkan bahwa bahan pematik agar bacto, swallow dan batang tidak mempengaruhi pertumbuhan eksplan untuk membentuk planlet galur mutan B dan D (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase eksplan galur mutan B dan D yang mampu membentuk planlet pada bahan pematik agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematik	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	100	92	96
Agar swallow	98	100	99
Agar batang	94	96	95
Rata-rata	97	96	t.n
KK (%)	7,22		

Keterangan:

KK = Koefisien Keragaman. t.n = tidak berbeda nyata

Planlet tertinggi (3,35 cm) diperoleh dari eksplan yang galur mutan B yang dikultur pada medium dengan bahan pematik agar batang dan berbeda nyata bila dibandingkan dengan galur mutan B yang dikultur pada agar bacto dan swallow, demikian pula galur D yang dikultur pada media dengan bahan pematik agar bacto, swallow dan batang. Agar

batang memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap tinggi planlet (2,20 cm) dan berbeda nyata dibandingkan dengan agar swallow (1,27 cm), tetapi tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan agar bacto (1,91). Planlet galur mutan B (2,60 cm) lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan planlet galur mutan D (0,98 cm) (Tabel 2).

Tabel 2. Tinggi planlet (cm) galur mutan B dan D pada bahan pematat agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematat	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	2,74 b	1,06 d	1,91 b
Agar swallow	1,70 c	0,83 d	1,27 c
Agar batang	3,35 a	1,04 d	2,20 b
Rata-rata	2,60 b	0,98 d	
KK (%)	6,46		

Keterangan:

Angka pada kolom dan baris yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5 %. KK = Koefisien Keragaman.

Planlet galur mutan B yang dikultur pada agar bacto mampu membentuk daun terbanyak (45,75 helai) dan berbeda nyata bila dibandingkan planlet galur mutan B yang dikultur pada agar swallow (27,06 helai), Planlet galur mutan D yang ditumbuhkan pada agar swallow (13,18 helai) dan agar batang (19,27 helai), tetapi tidak berbeda nyata dibandingkan dengan planlet galur mutan B yang dikultur pada agar batang (43,29 helai) dan planlet galur mutan D yang ditumbuhkan pada agar bacto (36,54 helai). Jumlah daun planlet galur mutan B lebih banyak (38,70 helai) dan berbeda nyata dibandingkan galur mutan D (22,66 helai), sedangkan jumlah daun pada planlet yang ditumbuhkan pada agar bacto (40,65 helai) lebih banyak dan berbeda nyata daripada planlet yang ditumbuhkan pada agar swallow (27,06 helai), tetapi tidak berbeda nyata dibandingkan dengan planlet yang ditumbuhkan pada agar batang (31,28 helai) (Tabel 3).

Tabel 3. Jumlah daun galur mutan B dan D pada bahan pematat agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematat	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	45,75 a	35,54 ab	40,65 a
Agar swallow	27,06 bc	13,18 d	20,12 cd
Agar batang	43,29 a	19,27 cd	31,28 ab
Rata-rata	38,70 a	22,66 cd	
KK (%)	14,70		

Keterangan:

Angka pada kolom dan baris yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5 %. KK = Koefisien Keragaman.

Jumlah tunas terbanyak (14,71) diperoleh dari planlet galur mutan B yang dikultur pada agar bacto tidak berbeda nyata dibandingkan galur mutan B yang dikultur pada agar batang (13,41) serta galur mutan D yang dikultur pada agar bacto (14,15) dan agar batang (12,83), tetapi berbeda nyata dibandingkan dengan planlet galur mutan B dan D yang dikultur pada agar swallow. Dengan kata lain, planlet yang dikultur pada agar batang mampu membentuk jumlah tunas yang setara dengan planlet yang dikultur pada agar bacto (Tabel 4).

Pada umumnya peningkatan jumlah tunas selalu disertai dengan jumlah daun. Hal ini ditunjukkan bahwa jumlah daun terbanyak (Tabel 3) diperoleh dari planlet dengan jumlah tunas terbanyak (Tabel 4) karena jumlah tunas merupakan indikator dalam pertumbuhan tanaman. Kandungan utama dari rumput laut adalah karbohidrat yang merupakan senyawa penting dalam pembelahan dan pembesaran sel serta pembentukan jaringan tanaman (10), di samping itu rumput laut juga mengandung unsur makro dan mikro yang dapat menyokong pertumbuhan planlet (11).

Tabel 4. Jumlah tunas galur mutan B dan D pada bahan pematat agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematat	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	14,71 a	14,15 a	14,43 a
Agar swallow	8,50 bc	5,04 c	6,77 b
Agar batang	13,41 a	12,83 ab	13,12 a
Rata-rata	12,21 ab	10,67 ab	
KK (%)	16,59		

Keterangan:

Angka pada kolom dan baris yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5 %. KK = Koefisien Keragaman.

Planlet galur mutan B yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar batang memperlihatkan *score* warna daun tertinggi (4,07) dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan galur mutan B yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar bacto (3,81) serta planlet galur mutan D yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar swallow (3,78) dan agar batang (3,75), namun berbeda nyata dibandingkan planlet galur mutan B yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar swallow (3,57) dan planlet galur mutan D yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar bacto (3,33). Planlet galur mutan B memberikan *score* warna daun yang lebih baik dan berbeda nyata daripada planlet galur mutan D. Planlet yang ditumbuhkan pada media dengan bahan pematat sgar batang menunjukkan *score* warna daun yang lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan planlet yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar swallow dan agar bacto (Tabel 5).

Agar bacto merupakan agar yang telah dimurnikan melalui proses dan teknologi industri., sedangkan agar batang diproduksi secara tradisional sehingga memungkinkan zat yang terkandung di dalamnya masih sama dengan asalnya, yaitu rumput laut. Rumput laut merupakan ganggang merah yang mempunyai pigmen fikobilin. Fikobilin terdiri dari pigmen filoeritrin (merah) dan fikosianin (biru) yang dapat diserap tanaman untuk menibgkatkan kandungan klorofil (12).

Tabel 5. *Score* warna daun galur mutan B dan D pada bahan pematat agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematat	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	3,81 a	3,33 b	3,57 b
Agar swallow	3,57 b	3,79 a	3,68 b
Agar batang	4,07 a	3,75 a	3,91 a
Rata-rata	3,82 a	3,62 b	
KK (%)	3,57		

Keterangan:

Angka pada kolom dan baris yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5 %. KK = Koefisien Keragaman.

Score warna daun: 0 – 1 (tanaman mati), 1,1 - 2,0 (tanaman berwarna coklat), 2,1 – 3,0 (tanaman berwarna kuning pucat), 3,1 – 4,0 (tanaman berwarna hijau muda), dan 4,1 – 5,0 (tanaman berwarna hijau tua).

Akar terpanjang diperoleh dari planlet galur mutan D yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar bacto (2,05 cm) dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan planlet galur mutan B (1,54 cm) pada bahan pematat yang sama, tetapi berbeda nyata dibandingkan dengan planlet galur mutan B dan D yang dikultur pada media dengan bahan pematat agar swallow (0,87 dan (1,05 cm) dan agar batang (1,16 dan 0,90 cm). Akar planlet galur mutan D lebih panjang daripada akar plalet galur mutan B namun tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Planlet yang ditumbuhkan pada mdia dengan bahan pematat agar bacto mampu membentuk akar yang lebih panjang dan berbedanyata dibandingkan dengan planlet yang ditumbuhkan pada media dengan bahan pematat agar swallow dan agar batang (Tabel 6).

Akar mempunyai peranan yang sangat penting dalam pertumbuhan tanaman. Sebagian besar absorpsi air dan zat terlarut oleh tumbuhan berlangsung melalui sistem perakaran yang membutuhkan media yang sesuai. Agar bacto merupakan agar yang telah dimurnikan dengan mereduksi serendah mungkin bahan organik dan anorganik, sehingga dapat menyokong pertumbuhan akar planlet (7).

Tabel 6. Panjang akar (cm) planlet galur mutan B dan D pada bahan pematat agar bacto, swallow dan batang.

Bahan pematat	Galur mutan		Rata-rata
	B	D	
Agar bacto	1,54 ab	2,05 a	1,80 a
Agar swallow	0,87 c	1,05 bc	0,94 c
Agar batang	1,16 bc	0,90 c	1,03 c
Rata-rata	1,17 bc	1,33 bc	
KK (%)	19.78		

Keterangan:

Angka pada kolom dan baris yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5 %. KK = Koefisien Keragaman.

Harga agar bacto (Rp.530.000,-/250g) jauh lebih mahal daripada agar swallow (Rp.2.075,-/7 g) dan agar batang Rp.1500,-/8 g), sedangkan harga media MS adalah Rp.4.504,- Satu liter media memerlukan bahan pematat sebanyak 8 g dengan biaya berturut-turut Rp.16.960,-, Rp.2.371,- dan Rp.1.500,- untuk agar bacto, swallow dan batang. Total biaya yang dibutuhkan untuk pembuatan satu liter media MS dengan bahan pematat agar bacto, swallow dan batang berturut-turut adalah Rp.21.464,-, Rp.6.875,- dan Rp.6.004,-. Agar batang merupakan bahan pematat yang paling murah dibandingkan agar swallow dan agar bacto. Oleh karena itu kebutuhan biaya untuk pembuatan media yang menggunakan agar batang sebagai bahan pematat juga paling rendah (Tabel 7).

Tabel 7. Kebutuhan dan harga bahan pematat untuk kultur *in-vitro* galur mutan nilam

Kebutuhan/harga bahan pematat	Bahan pematat		
	Agar bacto	Agar swallow	Agar batang
Kebutuhan bahan (g)	8	8	8
Harga bahan (Rp)	530.000/250 g	2.075/7 g	1.500/8 g
Harga bahan/l (Rp)	16.960	2.371	1.500
Harga media MS/l (Rp)	4.504	4.504	4.504
Total harga media/l (Rp)	21.464	6.875	6.004

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa agar batang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan pematat agar bacto untuk perbanyakan tanaman nilam secara *in-vitro*, karena pada umumnya planlet galur mutan nilam yang dikulturkan pada media dengan bahan pematat agar batang tidak memperlihatkan perbedaan pengaruh terhadap planlet yang ditumbuhkan pada media dengan bahan pematat agar bacto. Agar swallow memberikan respon perumbuhan planlet yang kurang baik dibandingkan agar bacto dan agar batang. Agar batang merupakan bahan pematat yang paling murah untuk pembuatan media kultur *in-vitro* nilam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Ismiyati Sutarto dan Sdr. Agus Nuruddin atas partisipasinya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- JAYA, U., R. FREDY dan PAIMIN. Minyak nilam Indonesia di pasaran dunia. *Trubus* (1992). 23(276):56 – 58. TASMA, I. Pengaruh bahan stek dan nitroaromatik terhadap pertumbuhan stek batang nilam. *Pemberitaan Litri*. 1989. Hal 98 98 – 101.
- GEORGE, E. F. and F. D. SHERINGTON. *Plant propagation by tissue cultures. Handbook and directory of commercial laboratories.*
- PIERIK, R. L. M. *In-vitro culture of higher plants.* Martinus Nijhoff Publisher. Netherland. (1987).
- TORRES, K. L. *Tissue culture techniques for horticultural crops.* Chapman and Hall. New York. 285p. (1998).
- HUTAMI, S., N. SUNARLIM., Y. SUPRIYATI and I. MARISKA. Perbanyakan *in-vitro* tanaman nilam khimera melalui proliferasi tunas aksiler. *Biotek Pertanian*. 1998. 3(2):47 – 52.
- GELRITE. Gellan Gum. Kelco Division. USA. 1p.

- MURASHIGE, T. and F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 1962. 15:473 – 497.
- GOMEZ, K. A. and A. A. GOMEZ. Statistical procedure for agricultural research. John Wiley and Sons Inc. Singapore. (1984).
- HARTMANN, H. T., D. E. KESTER., F. T. DAVIES and R. L. GENEVE. 6th Edition Prentice Hall International. New Jersey. 647p. (1997).
- ANONIM. Pesona rumput laut sebagai sumber devisa. Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. Jakarta. <http://www.dkp.go.id/content.php?c=2685>. 3 hal. 24 Maret 2006. 1hal (2006).
- ANONIM. Rhodophyta. http://www.e-dukasi.net/modul_online/MO134_bio_106_kb2_hal25b.htm. 1hal.

DISKUSI

HADIAN IMAN SASMITA

1. Planlet umur berapa yang digunakan sebagai indicator?.
2. Mengapa kontrol (nilar wid type) tidak digunakan/dibandingkan dalam makalah ini?.

MARINA YUNIAWATI

1. Pertumbuhan planlet diamati 3 (tiga) bulan setelah tanam
2. Planlet kontrol tidak diradiasi tidak disertakan dalam percobaan ini karena telah mati atau tidak ada planlet kontrol yang bisa diselamatkan. Sebelumnya hal ini membuktikan bahwa galur mutan yang digunakan lebih tahan dibandingkan dengan kontrolnya.