

**KEMAMPUAN TUMBUH EKSPLAN *Jatropha curcas* L.  
PADA MEDIA *IN VITRO* YANG MENGANDUNG HORMON IBA DAN BA****Growth Ability of *Jatropha Curcas* L. Explants on the *In Vitro* Media  
Containing IBA and BA****Karyanti\*, Juanda, Teuku Tajuddin**Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT, Gedung 630 Kawasan PUSPIPTEK, Setu,  
Tangerang Selatan, Banten 15314\*E-mail: [karyanti@bppt.go.id](mailto:karyanti@bppt.go.id)**ABSTRACT**

Research on the growth ability of *Jatropha curcas* L. shoots and callus in solid and liquid media have been conducted. Explants were planted in the initiation MS medium. After ten weeks, the explants were subcultured into solid and liquid media containing combination of IBA and BA treatments. The number of combinations was 12 treatments, each with 6 replications. Observation was conducted from the first week after subculturing upto the fourth week. Parameters of observation were the percentage of explant forming shoots, the number of shoots, height, number of leaves, weight, color, and form of callus. The results showed that the explant which was subcultured in liquid media had higher growth rate than those subcultured in solid media. Treatment of 1 ppm IBA + 0.5 ppm BA gave a good result on the growth of shoots on solid and liquid media. For callus formation, treatment of 2 ppm IBA + 1 ppm BA gave the best result.

**Keywords:** Callus, *Jatropha*, IBA and BA, solid and liquid media, hormone

**ABSTRAK**

Penelitian terhadap kemampuan tumbuh kalus dan tunas tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) telah dilakukan pada media padat dan cair. Eksplan diinisiasi pada media MS dan setelah 10 minggu dipindahkan ke media padat dan cair yang mengandung perlakuan kombinasi hormon IBA dan BA. Jumlah kombinasi sebanyak 12 perlakuan dan setiap perlakuan dibuat 6 ulangan. Pengamatan dilakukan dari minggu pertama subkultur hingga minggu keempat. Peubah yang diamati adalah persentase eksplan yang membentuk tunas, jumlah dan tinggi tunas, terbentuknya daun pada tunas, perbedaan berat, bentuk, dan warna kalus. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa eksplan yang disubkultur pada media cair memiliki laju pertumbuhan yang lebih tinggi daripada media padat. Perlakuan IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm menghasilkan pertumbuhan tunas yang paling tinggi pada media padat dan cair. Pembentukan kalus yang terbaik diperoleh pada perlakuan IBA 2 ppm + BA 1 ppm.

**Kata kunci:** Kalus, *Jatropha*, IBA dan BA, media padat dan cair, hormon

## PENDAHULUAN

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) termasuk ke dalam famili *Euphorbiaceae*, satu famili dengan karet (*Hevea brasiliensis*) dan ubi kayu (*Manihot esculenta*). Di Indonesia terdapat berbagai jenis tanaman jarak antara lain jarak kepyar (*Ricinus communis* L.), jarak Bali (*Jatropha podagrica* L.), jarak ulung (*Jatropha gossypifolia* L.), dan jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) (Van der Putten 2010). Diantara berbagai jenis tanaman jarak tersebut yang potensial menghasilkan minyak bakar (*biofuel*) adalah jarak pagar.

Jarak pagar merupakan tumbuhan semak berkayu yang banyak ditemukan di daerah tropis. Tanaman perdu ini memiliki tinggi berkisar antara 1-7 m dengan cabang kuat dan tidak teratur. Tanaman jarak pagar dapat tumbuh pada berbagai iklim dan jenis tanah, seperti gurun, pasir pantai hingga tanah gambut. Menurut Hambali (2006), jarak pagar dapat hidup dan berkembang dari dataran rendah sampai dataran tinggi, curah hujan yang rendah maupun tinggi (300-2.380 ml/tahun), dengan rentang suhu antara 20-26°C. Sifat tersebut menyebabkan tanaman jarak pagar mampu tumbuh pada tanah berpasir, berbatu, lempung ataupun tanah liat, hingga lahan kritis.

Jarak pagar menjadi sangat populer ketika dikaitkan dengan energi alternatif ramah lingkungan. Biodiesel merupakan salah satu diantara berbagai macam sumber energi alternatif terbarukan yang ramah lingkungan dan prospektif untuk dikembangkan. Tumbuhan penghasil minyak nabati di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel cukup banyak, antara lain: kelapa sawit (*Elaeis guineensis*), kelapa (*Cocos nucifera*) dan jarak pagar. Minyak kelapa sawit dan minyak kelapa banyak dimanfaatkan sebagai minyak makan, sedangkan minyak jarak pagar agar dapat digunakan untuk tujuan pangan harus didetoksifikasi terlebih dahulu. Untuk itu peluang pemanfaatan minyak jarak pagar sebagai bahan baku biodiesel lebih besar karena tidak akan mengganggu stok minyak makan nasional (Hambali 2006).

Jarak pagar dapat diperbanyak secara generatif dan vegetatif. Perbanyakan secara generatif melalui biji memiliki keunggulan dan kelemahan. Bibit yang berasal dari biji memiliki perakaran yang kuat dan dalam

karena memiliki akar tunggang serta lebih tahan kering dan mampu berumur panjang. Akan tetapi perbanyakan secara generatif hampir selalu memberikan keturunan yang berbeda dengan induknya karena ada segregasi sifat tetuanya. Perbanyakan jarak pagar secara vegetatif yang dilakukan dengan cara stek menunjukkan tingkat keberhasilan yang masih rendah. Bibit hasil stek memiliki sistem perakaran yang lemah atau dangkal karena tidak memiliki akar tunggang sehingga mudah roboh dan percabangan awal yang tidak teratur sehingga harus segera dipangkas (Prihardana dan Hendroko 2006).

Mikropropagasi tanaman dengan kultur jaringan merupakan suatu cara perbanyakan tanaman yang memiliki keuntungan antara lain, penghematan tenaga, waktu, biaya, dan hasil yang lebih berkualitas (Nugroho dan Sugito 2005). Syarat utama keberhasilan dari teknik ini berawal dari kondisi yang aseptik, yaitu kondisi tanaman, lingkungan kerja, alat, dan bahan yang digunakan bebas dari jamur, bakteri dan virus serta mikroorganisme kontaminan lainnya. Tanpa kondisi yang aseptik maka tujuan yang akan dicapai dalam menumbuhkan tanaman *in vitro* jelas tidak akan terwujud. Hal ini perlu mengingat bagian dari tanaman yang dikultur dapat tumbuh dengan baik jika media dan lingkungan dalam kondisi steril sehingga nutrisi yang diperlukan oleh tanaman yang terdapat dalam media dapat digunakan sepenuhnya oleh tanaman tanpa gangguan dari kontaminan (Royani 2003).

Kultur jaringan biasanya dimulai dengan menanam satu iris jaringan steril pada media buatan, berupa media padat ataupun cair, dalam waktu 2-3 minggu dan membentuk kalus. Kalus adalah jaringan yang terdiri dari sejumlah sel yang tidak terorganisasi, merupakan bentuk awal calon tunas yang kemudian mengalami proses pelengkapan bagian tanaman seperti daun, batang, dan akar. Dalam kultur jaringan, kalus terbentuk karena luka atau irisan eksplan sebagai respon terhadap auksin dan sitokinin yang tinggi (Katuuk 1989; Nugroho dan Sugito 2005).

Percobaan ini bertujuan untuk: 1) mengetahui perbedaan pertumbuhan tunas dan kalus jarak pagar pada media padat maupun cair, 2) mengetahui pengaruh hormon tumbuh IBA dan BA terhadap perkembangan kultur jarak pagar.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT di Kawasan Puspiptek, Serpong. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah kotiledon tanaman jarak pagar yang diambil dari hasil perkecambahan *in vitro* yang berumur 4 minggu dan berjenis *Improved Population generation 2* (IP 2) yang berasal dari Pakuwon, Sukabumi.

Eksplan yang digunakan disterilisasi dengan metode sebagai berikut: biji direndam dalam larutan alkohol 70% selama 5 menit, sambil diguncang-guncangkan agar seluruh biji terendam alkohol. Alkohol selanjutnya dibuang dan biji dipanaskan di atas Bunsen untuk menghilangkan sisa kandungan alkoholnya. Biji yang sudah steril diambil satu per satu dan diletakkan di atas cawan petri steril. Biji dibuka menggunakan alat pembuka biji, *scalpel*, dan pinset. Embrio dari dalam biji diambil dan diletakkan di atas cawan petri lainnya, kemudian ditanam pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh (MS 0). Setelah 4 minggu kecambah yang tumbuh dipotong bagian kotiledonnya. Potongan kotiledon masing-masing ditanam pada media inisiasi awal hingga terbentuk kalus. Setelah sepuluh minggu, kalus yang telah menginisiasi tunas kecil disubkultur ke media perlakuan.

Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog 1962) dan dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh IBA (*Indole Butyric Acid*) dan BA (*Benzyl Adenin*), serta mengandung adenin sulfat 25 ppm, glutamin 50 ppm, L arginine 15 ppm, dan vitamin C 25 ppm. Perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh IBA dengan konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm, serta BA dengan konsentrasi 0 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm.

Dalam percobaan ini, media merupakan perlakuan berupa media padat dan cair, dengan jumlah kombinasi sebanyak 12 perlakuan dan setiap perlakuan dibuat 6 ulangan. Peubah yang diamati adalah persentase eksplan yang membentuk tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, terbentuknya daun pada tunas, perbedaan berat kalus, bentuk kalus, dan warna kalus.

Sebelum disubkultur, terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat awal kalus,

penghitungan jumlah kalus yang sudah membentuk tunas, jumlah tunas, dan jumlah daun yang terbentuk.

Ruang kultur untuk inkubasi eksplan dijaga agar temperatur tetap stabil pada suhu 25-27°C dengan intensitas cahaya 100-200 lux selama 12 jam. Eksplan yang telah terkontaminasi oleh mikroorganisme segera dipisahkan dan dikeluarkan dari ruang kultur.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

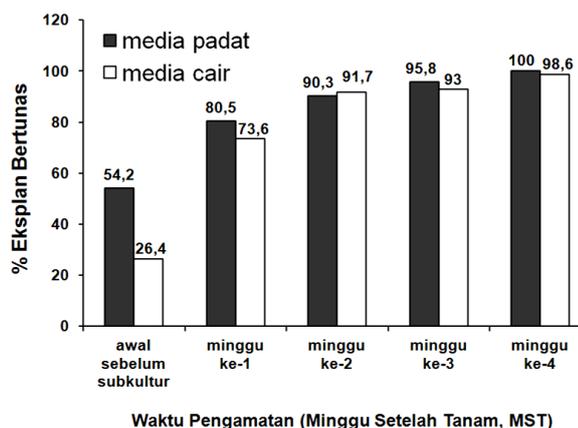
Respon awal yang terlihat setelah penanaman pada media inisiasi adalah pembentukan kalus pada sayatan jaringannya. Setelah sepuluh minggu, dilakukan subkultur ke dalam media padat dan cair yang mengandung kombinasi perlakuan IBA dan BA. Tujuan dari subkultur ini adalah untuk memperpanjang tunas (elongasi) hasil dari penanaman pada media inisiasi.

Dari hasil pengamatan, diketahui bahwa tidak semua kalus membentuk tunas. Hanya 58 kalus (40,3%) saja yang dapat membentuk tunas, dengan rata-rata tinggi tunas antara 1-2 mm. Subkultur dilakukan dengan cara mengambil kalus secara acak dari media inisiasi awal kemudian ditanam ke dalam media perlakuan. Dari hasil pengambilan acak ini, diperoleh 39 kalus (54,2%) yang telah membentuk tunas disubkultur ke dalam media padat, sedangkan sisa kalus yang membentuk tunas, sebanyak 19 kalus (26,4%) disubkultur ke media cair.

### Persentase pembentukan tunas

Setelah seminggu pada media padat, jumlah kalus yang membentuk tunas meningkat dari 39 menjadi 58 kalus (80,5%). Pada minggu ke-2, kembali terjadi peningkatan jumlah kalus yang membentuk tunas yaitu sebanyak 65 kalus (90,3%). Pada minggu ke-3, sebanyak 69 kalus membentuk tunas. Hasil pengamatan minggu ke-4 seluruh kalus telah membentuk tunas dengan sempurna (Gambar 1).

Sedangkan pada media cair setelah satu minggu, jumlah kalus yang membentuk tunas meningkat menjadi 53 kalus (73,6%). Hal ini berarti terjadi peningkatan sekitar 47,2%. Pada minggu ke-2, jumlah kalus yang membentuk tunas sebanyak 66 kalus (91,7%), sedang minggu ke-3, sebanyak 67 kalus. Hasil



**Gambar 1.** Persentase pertambahan jumlah kalus yang membentuk tunas pada media padat dan cair

pengamatan minggu ke-4 menunjukkan bahwa 71 kalus telah membentuk tunas dengan sempurna. Hasil ini setara dengan 98,6% (Gambar 1).

Berdasarkan hasil di atas terlihat bahwa laju pembentukan tunas pada media cair lebih tinggi daripada media padat. Hal ini tampak dari peningkatan persentase pembentukan tunas pada 4 minggu setelah subkultur.

Kecepatan laju pembentukan tunas pada media cair, karena luas permukaan kalus yang kontak langsung lebih besar dibandingkan dengan media padat. Hal ini menyebabkan penyerapan hara maupun hormon akan lebih efektif. Pertumbuhan sel terjadi dengan cepat karena kalus dapat menyerap nutrisi dari dalam medium dengan sangat baik, apalagi jika diimbangi dengan suplai zat hara secara teratur sehingga media tidak kehabisan nutrisi. Untuk mempercepat pertumbuhan sel dilakukan subkultur, yaitu penggantian media lama dengan yang baru dalam interval waktu selama dua atau empat minggu. Apabila subkultur terlambat, maka terjadi perubahan warna kalus menjadi kecoklatan dan pertumbuhannya terhenti.

## Jumlah tunas

Media dengan penambahan IBA 0 ppm + BA 1 ppm memberikan jumlah tunas yang paling besar, dengan rata-rata jumlah tunas 8,50. Jumlah tunas ini berbeda secara nyata dengan perlakuan lainnya. Tampak terjadinya penurunan rata-rata jumlah tunas seiring dengan peningkatan konsentrasi IBA. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi BA, maka semakin besar pula rata-rata jumlah tunasnya (Tabel 1). Kondisi ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Herawati (2006), bahwa perlakuan dengan BA 1 ppm memberikan jumlah tunas yang banyak.

Pada media tanpa zat pengatur tumbuh (IBA 0 ppm + BA 0 ppm) jumlah tunas yang dihasilkan paling sedikit (2,17 dan 3,83, masing-masing pada media padat dan cair) dibandingkan dengan kombinasi media lain yang mengandung IBA, BA, ataupun keduanya. Hal ini berarti zat pengatur tumbuh mutlak dibutuhkan untuk pembentukan tunas.

Pada media cair hingga minggu keempat pengamatan, media dengan penambahan zat pengatur tumbuh IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm memberikan jumlah tunas yang paling tinggi dengan rata-rata tunas sebesar 9,67. Hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan IBA 2 ppm + BA 0 ppm yang memiliki rata-rata jumlah tunas sebesar 9,17 namun berbeda secara nyata dengan perlakuan IBA + BA lainnya (Tabel 1).

Jumlah tunas pada media cair menunjukkan rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah tunas pada media padat. Hal ini juga membuktikan bahwa laju pertumbuhan tunas pada media cair lebih cepat dibandingkan media padat.

Pertumbuhan dan perkembangan tunas dikendalikan oleh substansi kimia yang konsentrasinya sangat rendah, yang disebut substansi pertumbuhan tanaman, hormon tumbuhan, fitohormon, atau zat pengatur

**Tabel 1.** Rata-rata jumlah tunas pada minggu ke 4 pada media padat dan cair

Konsentrasi BA (ppm)	Konsentrasi IBA (ppm)							
	0		1		1,5		2	
	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair
0	2,17 <sup>a</sup>	3,83 <sup>p</sup>	4,83 <sup>ab</sup>	5 <sup>pqr</sup>	4,00 <sup>ab</sup>	7 <sup>pqrs</sup>	3,50 <sup>ab</sup>	9,17 <sup>s</sup>
0,5	6,17 <sup>bc</sup>	6 <sup>pqrs</sup>	5,67 <sup>bc</sup>	9,67 <sup>s</sup>	5,67 <sup>bc</sup>	7,5 <sup>pqrs</sup>	5,17 <sup>ab</sup>	8,5 <sup>qrs</sup>
1	8,50 <sup>c</sup>	8,67 <sup>rs</sup>	6,33 <sup>bc</sup>	4,17 <sup>p</sup>	6,50 <sup>bc</sup>	4,17 <sup>p</sup>	5,00 <sup>ab</sup>	4,67 <sup>pq</sup>

Keterangan: BNT 5% untuk padat: 3,17; BNT 5% untuk cair: 3,89.

Huruf yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%

tumbuh. Zat pengatur tumbuh endogen (yang diproduksi oleh tanaman) diartikan sebagai hormon tanaman atau fitohormon. George dan Sherrington (1984) mengatakan bahwa untuk proses morfogenesis akar dan tunas dari kultur kalus biasanya dibutuhkanimbangan taraf zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. Dalam perkembangan teknik kultur jaringan dengan adanya zat pengatur tumbuh perlu dicari konsentrasi danimbangan atau interaksi antara dua zat pengatur tumbuh yang diproduksi oleh sel atau jaringan secara endogen akan menentukan arah perkembangan kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen mengubah level atau taraf zat pengatur tumbuh endogen sel. Taraf zat pengatur tumbuh ini kemudian merupakan faktor pemicu atau penggerak untuk proses-proses pertumbuhan dan morfogenesisnya.

### Tinggi tunas

Pada media padat, perlakuan IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm memberikan hasil pertumbuhan tinggi tunas yang paling tinggi dengan nilai rata-rata 20,50 mm. Kemudian diikuti oleh media IBA 1 ppm + BA 0 ppm dengan rata-rata tinggi tunas 13,00 mm (Tabel 2). Perlakuan dengan konsentrasi IBA 1 ppm menghasilkan rata-rata tinggi tunas tertinggi. Nilai rata-rata tinggi tunas berkurang jika konsentrasi IBA dinaikkan.

Respon awal yang terlihat dari perlakuan dengan konsentrasi IBA lebih dari 1 ppm (1,5 ppm dan 2 ppm) adalah kecepatan pertumbuhan kalus yang luar biasa. Kecepatan pertumbuhan kalus yang tinggi ini kemungkinan menyebabkan proses pemanjangan tunas menjadi terhambat, dan nampak terlihat kerdil dibandingkan dengan tunas hasil perlakuan dengan konsentrasi rendah. IBA 0 ppm dan 1 ppm menghasilkan percepatan pertumbuhan kalus yang rendah dengan panjang tunas yang tinggi.

Rata-rata tinggi tunas pada media cair lebih besar dibandingkan media padat. Hal ini sama dengan parameter jumlah tunas di atas. Perlakuan IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm menunjukkan hasil terbaik dengan rata-rata 15,00 mm (Tabel 2). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada media padat. Hasil ini membuktikan bahwa perlakuan IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm merupakan perlakuan terbaik dalam memperpanjang tunas (elongasi).

### Jumlah daun

Pada media padat, rata-rata jumlah daun terbanyak dihasilkan pada perlakuan IBA 0 ppm + BA 1 ppm dengan rata-rata jumlah daun sebesar 5,50 (Tabel 3). Banyaknya jumlah daun pada perlakuan ini berkorelasi positif dengan jumlah tunas yang terbentuk. Perlakuan IBA 0 ppm + BA 1 ppm juga memiliki rata-rata jumlah tunas yang terbanyak yaitu sebesar 8,50 (Tabel 1). Semakin cepat terbentuknya tunas maka penambahan jumlah daun akan semakin banyak pula. Pada media cair, terlihat bahwa perlakuan IBA 2 ppm + BA 0,5 ppm memiliki rata-rata jumlah daun tertinggi sebesar 5,67 (Tabel 3).

### Berat kalus

Kalus terbentuk pada semua perlakuan dan tampak dominan. Pertumbuhan kalus yang dominan ini dipengaruhi oleh jaringan asal yang digunakan untuk menginisiasi kalus, yaitu kotiledon. Kotiledon merupakan tempat penimbunan makanan yang disiapkan bagi pertumbuhan awal suatu embrio tanaman dan sebagai alat untuk melakukan asimilasi.

Pada media padat, perlakuan IBA 0 ppm + BA 0 ppm menghasilkan kalus yang terkecil dengan berat rata-rata 9,33 mg. Hal ini diduga karena kalus mengalami stagnasi dan menjadi keras, sehingga kalus tersebut tidak dapat berkembang. Perlakuan IBA 2 ppm + BA 1 ppm menghasilkan kalus terbesar

**Tabel 2.** Rata-rata tinggi tunas (mm) pada minggu ke 4 pada media padat dan cair

Konsentrasi BA (ppm)	Konsentrasi IBA (ppm)							
	0		1		1,5		2	
	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair
0	6,17 <sup>ab</sup>	5,67 <sup>p</sup>	13 <sup>bc</sup>	13,2 <sup>qrst</sup>	8,5 <sup>ab</sup>	7,3 <sup>pqr</sup>	4,5 <sup>ab</sup>	8,5 <sup>abcd</sup>
0,5	10,3 <sup>ab</sup>	14,83 <sup>t</sup>	20,5 <sup>c</sup>	15,0 <sup>t</sup>	6,5 <sup>ab</sup>	13,5 <sup>rst</sup>	4,33 <sup>a</sup>	7,0 <sup>ab</sup>
1	10,0 <sup>ab</sup>	14,67 <sup>st</sup>	7,83 <sup>ab</sup>	11 <sup>pqrst</sup>	7,17 <sup>ab</sup>	8,17 <sup>pqr</sup>	7,0 <sup>ab</sup>	8,0 <sup>abc</sup>

Keterangan: BNT 5% untuk padat: 8,5; BNT 5% untuk cair: 6,3.

Huruf yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%

**Tabel 3.** Rata-rata jumlah daun pada minggu ke 4 pada media padat dan cair

Konsentrasi BA (ppm)	Konsentrasi IBA (ppm)							
	0		1		1,5		2	
	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair
0	6,17 <sup>ab</sup>	1,17 <sup>p</sup>	13,0 <sup>bc</sup>	1,67 <sup>p</sup>	8,5 <sup>ab</sup>	3,5 <sup>pqrs</sup>	4,5 <sup>ab</sup>	2,83 <sup>pqr</sup>
0,5	10,3 <sup>ab</sup>	2,0 <sup>pq</sup>	20,5 <sup>c</sup>	3,8 <sup>pqrs</sup>	6,5 <sup>ab</sup>	4,5 <sup>qrs</sup>	4,33 <sup>a</sup>	5,67 <sup>s</sup>
1	10,0 <sup>ab</sup>	5,0 <sup>rs</sup>	7,83 <sup>ab</sup>	2,0 <sup>pq</sup>	7,17 <sup>ab</sup>	2,3 <sup>pqr</sup>	7,0 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>p</sup>

Keterangan: BNT 5% untuk padat: 8,5; BNT 5% untuk cair: 2,67.

Huruf yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%

**Tabel 4.** Rata-rata berat kalus (mg) pada minggu ke 4 pada media padat dan cair

Konsentrasi BA (ppm)	Konsentrasi IBA (ppm)							
	0		1		1,5		2	
	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair	Padat	Cair
0	9,33 <sup>a</sup>	4,17 <sup>p</sup>	12,5 <sup>ab</sup>	9,17 <sup>pq</sup>	12,5 <sup>ab</sup>	10,3 <sup>pqr</sup>	12,17 <sup>ab</sup>	11,8 <sup>pqr</sup>
0,5	17,3 <sup>bc</sup>	16,3 <sup>qrs</sup>	20,3 <sup>cd</sup>	17,5 <sup>rs</sup>	16,8 <sup>abc</sup>	19,83 <sup>s</sup>	27,5 <sup>de</sup>	21,5 <sup>st</sup>
1	29,0 <sup>e</sup>	29,5 <sup>u</sup>	16,8 <sup>abc</sup>	28,17 <sup>tu</sup>	26,0 <sup>de</sup>	30,3 <sup>u</sup>	41,0 <sup>f</sup>	41,4 <sup>v</sup>

Keterangan: BNT 5% untuk padat: 7,78; BNT 5% untuk cair: -.

Huruf yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%

dengan berat rata-rata 41,00 mg (Tabel 4). Nilai ini berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Kalus yang terbentuk tetap berwarna hijau dari awal minggu pertama hingga minggu keempat. Hasil yang sama juga diperoleh pada perlakuan konsentrasi IBA 2 ppm + BA 1 ppm dalam media cair. Hasil analisis sidik ragam (*analysis of variance*) menunjukkan bahwa perlakuan ini berbeda secara sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Terlihat bahwa perlakuan IBA dan BA yang tinggi terbukti dapat menginduksi kalus dengan hasil tertinggi, baik pada media cair maupun padat.

Dari pengamatan tampak bahwa kalus tumbuh pada sisi luar jaringan kotiledon, sedangkan bagian tengah tidak terjadi pertumbuhan kalus. Jadi pembelahan sel tidak terjadi pada semua jaringan asal, tetapi hanya pada sel-sel yang berada pada jaringan perifer.

### Warna kalus

Pada media padat, semua perlakuan memiliki warna kalus yang relatif stabil dari minggu pertama hingga minggu keempat. Perlakuan IBA 2 ppm + BA 0,5 ppm, IBA 1ppm + BA 0 ppm, IBA 1,5 ppm + BA 1 ppm dan IBA 2 ppm + BA 1 ppm memiliki warna kalus yang tetap hijau. Warna kalus pada perlakuan-perlakuan tersebut berkorelasi

positif dengan berat kalusnya. Keempat perlakuan tersebut memiliki berat kalus yang tertinggi.

Hasil pengamatan pada minggu ke-1, terdapat 4 kalus yang berwarna hijau kecoklatan. Proses ini disebut *browning*, yang ditandai dengan perubahan warna kalus menjadi kecoklatan dan penurunan daya tumbuh. *Browning* merupakan proses oksidasi asam-asam fenolik yang biasa terjadi bila ada pelukaan pada jaringan tanaman yang menyebabkan jaringan tersebut menjadi coklat dan mati. Senyawa fenolik tersebut beroksidasi dengan oksigen (O<sub>2</sub>) membentuk senyawa kinon atau kuinon. Asam kuinon adalah merupakan racun yang dapat mematikan jaringan eksplan.

*Browning* terjadinya karena adanya tindakan proteksi dari tanaman tersebut ketika dilukai. Proses oksidasi yang dilakukan asam-asam fenolik ini menyebabkan kesukaran dalam pembiakan mikro terutama bagi tanaman yang mengandung asam-asam fenolik seperti jarak pagar.

Pemotongan atau pengirisan pada kultur jaringan yang menimbulkan pelukaan atau pecahnya vakuola dapat menyebabkan terjadinya fenolase. Salah satu bagian sel tanaman yaitu vakuola adalah sebagai tempat penyimpanan air dan produk-produk sel khususnya metabolit sekunder termasuk

fenol. Dalam pemotongan jaringan, vakuola terpotong dan mengeluarkan fenol yang bereaksi dengan enzim fenol oksidase di dalam sitosol sehingga terbentuk kuinon yang menyebabkan warna coklat dan beracun.

Proses oksidasi yang terjadi pada tanaman dilakukan oleh enzim lacase atau p-difenol oksidase dan o-difenol oksidase. Untuk menghindari terjadinya proses oksidasi yang menyebabkan *browning* ini, dapat dilakukan beberapa cara seperti pemberian senyawa-senyawa anti oksidan (asam askorbat, cystein, PVP, dan NaHSO<sub>3</sub>), pemberian Cu-reagent (*thiourea*, *phenyl thiourea*, dan *sodium diethyl dithio carbamate*), serta pemberian ion-ion klor (NaCl) (Wattimena 1988). Selain itu, *browning* juga dapat dicegah atau dikurangi dengan cara pencucian dengan air mengalir hingga bersih, penambahan arang aktif pada media, penyimpanan di ruang gelap pada awal inisiasi, hindari penggunaan sukrosa dan kalium yang berlebihan, dan melakukan subkultur secara berulang.

Pada media cair, kalus yang berwarna hijau jumlahnya lebih sedikit daripada di media padat. Bahkan, jumlahnya semakin menurun pada minggu ke-4. Hal ini disebabkan permukaan kalus yang kontak langsung dengan media cair lebih luas dibandingkan dengan media padat, sehingga lebih rentan terjadi proses *browning*.

### Bentuk kalus

Kalus yang tumbuh pada awal inisiasi, mempunyai bentuk tidak bulat dan bertekstur padat. Hal ini disebabkan konsentrasi BA yang tinggi pada media inisiasi awal yaitu sebesar 3,4 ppm. Setelah dilakukan subkultur, pada minggu pertama terjadi perubahan bentuk kalus. Kalus-kalus yang disubkultur ke dalam media tanpa BA menunjukkan tekstur yang lembut dan remah. Bentuk kalus tidak mengalami perubahan hingga minggu ke-4. Secara umum, bentuk kalus dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu: (1) padat, tidak bulat, (2) lunak, mudah rusak, tidak bulat, (3) padat, bulat, saling menempel, dan (4) lunak, bulat, saling menempel.

Pada media padat, 47,2% kalus mempunyai bentuk bergerumul padat. Hal ini diduga karena di dalam media terdapat zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yaitu BA. Sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan

oleh Royani (2003), bahwa penambahan BA ke dalam media membuat kalus yang tadinya lunak menjadi bertekstur lebih padat. Bentuk kalus yang padat ini terutama terjadi pada perlakuan dengan konsentrasi BA 1 ppm.

Setelah dilakukan subkultur, terlihat bahwa terdapat kalus yang bertekstur lembut dan remah. Kalus yang remah dapat diperoleh dengan cara melakukan subkultur berulang-ulang, sebab dengan cara demikian cukup tersedia nutrisi bagi perkembangan kalus tersebut. Pembentukan kalus juga dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam medium dan cara sterilisasi medium. Sterilisasi dengan pemanasan sering menyebabkan kerusakan pada vitamin dan gula yang ada pada medium. Dengan proses pemanasan, fruktosa akan mengadakan interaksi dengan senyawa-senyawa lain dalam medium, misalnya MgSO<sub>4</sub> yang dapat membentuk senyawa yang bersifat toksik. Tidak jauh berbeda dengan media padat, bentuk kalus pada media cair juga tidak mengalami perubahan yang berarti sejak minggu ke-1 setelah subkultur hingga minggu ke-4.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa persentase pembentukan tunas pada media cair lebih tinggi daripada media padat. Jumlah dan tinggi tunas pada media cair menunjukkan rata-rata yang lebih besar dibandingkan dengan pada media padat. Perlakuan IBA 1 ppm + BA 0,5 ppm menghasilkan pertumbuhan tunas yang paling tinggi pada media padat dan cair. Semakin cepat terbentuknya tunas maka pertambahan jumlah daun akan semakin banyak pula. Terlihat bahwa perlakuan IBA dan BA tinggi terbukti dapat menginduksi kalus dengan hasil tertinggi, baik pada media cair maupun padat. Pembentukan kalus yang terbaik diperoleh pada perlakuan IBA 2 ppm + BA 1 ppm. Untuk warna kalus, pada media cair kalus yang berwarna hijau jumlahnya lebih sedikit daripada di media padat. Berdasarkan persamaan hasil bentuk kalus, baik pada media padat maupun cair, maka dapat diambil kesimpulan bahwa jenis media tidak berpengaruh terhadap bentuk kalus. Perbedaan bentuk kalus hanya dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ada di dalam media.

## DAFTAR PUSTAKA

- George EF, Sherrington PD (1984) *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook*. Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Ltd. England. 709p
- Hambali E (2006) *Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodiesel*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Herawati L (2006) *Pengaruh zat pengatur tumbuh sitokinin terhadap embrio somatic *Jatropha curcas* L.* Fakultas MIPA Universitas Nusa Bangsa, Bogor
- Katuuk JRP (1989) *Panduan mengajar teknik kultur jaringan dalam mikropropagasi tanaman*. Departemen Pendidikan & Kebudayaan, Jakarta
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15:473-497
- Nugroho A, Sugito H (1996) *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya, Jakarta
- Prihardana R, Hendroko R (2006) *Petunjuk Budi Daya Jarak Pagar*. Agro Medika Pustaka, Depok
- Royani JI (2003) *Teknik sterilisasi dan subkultur tanaman*. Balai Pengkajian Bioteknologi, Puspiptek. Serpong
- Van der Putten E (2010) *The *Jatropha* Handbook – from Cultivation to Application*. FACT Foundation. The Netherlands
- Wattimena GA (1988) *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Bogor