



COMBINATION EFFECT OF NAPHTALENE ACETIC ACID (NAA) AND BENZYL AMINOPURINE (BAP) ON MICROPROPAGATION OF *Jatropha curcas* L.

Meutia Zahara¹, Zairin Thomy², Essy Harnelly²

¹ Alumni Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Darussalam 23111, Banda Aceh

² Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Darussalam 23111, Banda Aceh.

Abstract. The combination between *Naphthalene acetic acid* (NAA) (1-2 ppm) and *Benzyl Amino Purine* (BAP) (0, 5 and 1 ppm) for micro propagation of castrol oil plant (*Jatropha curcas* L.) had been studied to induce the callus formation by using the meristem shoot as the ex-plants. The result showed that the combination of NAA 1,5 ppm and BAP 0,5 ppm gave the best result.

Keywords: Castrol oil plant (*Jatropha curcas* L.), callus, NAA and BAP

I. PENDAHULUAN

Cadangan energi fosil dari waktu ke waktu semakin berkurang, sehingga mengakibatkan terjadinya krisis energi, khususnya bahan bakar minyak (BBM) yang menyebabkan melonjaknya harga BBM dunia [5]. Para ilmuwan energi kini giat mengembangkan energi terbarukan (*renewable fuels*) sebagai energi alternatif, salah satunya adalah biodiesel³. Salah satu sumber biodiesel yang sedang marak dikembangkan adalah biji yang berasal dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

Pemanfaatan minyak biji jarak pagar sebagai bahan baku biodiesel merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi tekanan permintaan bahan bakar minyak dan dapat menghemat penggunaan cadangan devisa negara. Minyak biji jarak pagar sebagai salah satu sumber minyak yang dapat terbarukan juga termasuk minyak yang tidak dikonsumsi (*non edible oil*) sehingga tidak bersaing dengan kebutuhan minyak lain yang dikonsumsi, seperti minyak sawit, minyak jagung dan minyak lainnya yang berfungsi sebagai minyak pangan[2].

Tanaman jarak pagar mempunyai potensi tumbuh dan dapat beradaptasi pada berbagai lahan kritis, permasalahan yang dihadapi pada tanaman jarak ini adalah belum adanya varietas unggul dan teknik budidaya yang memadai [8].

Perbanyak tanaman jarak pagar secara konvensional sangat tergantung pada iklim, penyakit, hama dan teknik budidayanya serta hambatan lain. Mikropropagasi tanaman jarak pagar dengan kultur jaringan merupakan suatu cara perbanyak tanaman yang memiliki keuntungan antara lain: penghematan tenaga, waktu, biaya dan hasil yang lebih berkualitas [6].

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi sel dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, dari bulan Maret sampai Agustus 2006 dengan menggunakan pucuk tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L) sebagai bahan.

Pucuk tanaman jarak yang digunakan sebagai eksplan disterilkan dengan menggunakan detergen selama 5 menit dan dicuci 3 kali dengan akuades steril. Kemudian direndam dalam alkohol selama 3 menit, dan dicuci 3 kali dengan akuades steril. Selanjutnya direndam selama 5 menit ke dalam larutan *clorox* dan dicuci dengan aquades steril di dalam Laminar Air Flow (LAF).

Eksplan dipotong kecil-kecil dan ditanam pada media MS terdiri dari NAA (1,0, 1,5 dan 2,0 ppm) dan BAP (0,5 dan 1 ppm), 8 g / l agar-agar dan 30 g/l sukrosa, PH disesuaikan dengan 5.8

menggunakan 0,1 N NaOH atau 0,1 N HCL. Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor dengan tiga kali ulangan digunakan dalam penelitian ini. Konsentrasi NAA, terdiri dari tiga taraf i, e. 1 ppm, 1,5 ppm dan 2 ppm, konsentrasi BAP, juga terdiri dari tiga taraf yaitu 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm, sehingga penelitian ini memiliki 9 kombinasi perlakuan.

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANAVA) dan dilakukan uji lanjut melalui BNJ. Waktu pembengkakan eksplan, waktu munculnya kalus dan berat segar kalus dihitung.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Pembengkakan Eksplan

Berdasarkan hasil analisis data kombinasi zat pengatur tumbuh *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyl Aminopurine* (BAP) tidak berpengaruh nyata terhadap waktu pembengkakan (pembesaran sel) eksplan ($P > 0,01$). Namun penambahan NAA dalam media berpengaruh sangat nyata terhadap waktu pembengkakan eksplan ($P < 0,01$). Pembengkakan yang terjadi pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan awal dengan penyerapan nutrisi dari media yang selanjutnya disertai dengan tahapan proliferasi (perbanyakkan sel).

Proses ini diduga sangat erat kaitannya dengan kemampuan sel tumbuhan untuk mempertahankan strukturnya. Dinding sel dan plasmalemmanya sedikit demi sedikit mengembang (mengendur) melalui aktifitas metabolik, yang mengakibatkan air masuk ke dalam sel untuk mengisi celah kosong. Serat-serat selulosa penyusun dinding sel disintesis kembali melalui celah-celah yang terbentuk.

Hal ini sesuai dengan pernyataan [7] dimana auksin dan sitokinin merupakan jenis hormon yang dapat meningkatkan pembengkakan dinding sel tumbuhan, kemudian menyebabkan masuknya air dan menimbulkan tekanan (turgor) serta mensintesis kembali serat-serat selulosa, sehingga sel yang telah membesar tidak dapat mengecil kembali dan terjadi pertumbuhan. Eksplan yang tumbuh pada tiap perlakuan memiliki waktu yang berbeda untuk mengalami pembengkakan sel. Rata-rata waktu pembengkakan eksplan pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 4.1 Rata-rata waktu pembengkakan eksplan setelah diinkubasi pada media yang diperkaya dengan ZPT (NAA dan BAP)

No.	Perlakuan	Waktu Pembengkakan (hst)
1	NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l	4±0,0
2	NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l	4±0,0
3	NAA 1 mg/l + BAP 1,5 mg/l	4,66±0,57
4	NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l	7±0,0
5	NAA 1,5 mg/l + BAP 1 mg/l	9±0,0
6	NAA 1,5 mg/l + BAP 1,5 mg/l	7,33±1,15
7	NAA 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	6±1,73
8	NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l	6,66±1,15
9	NAA 2 mg/l + BAP 1,5 mg/l	7,33±1,15

Berdasarkan hasil pengamatan, eksplan yang ditanam pada media MS yang diperkaya dengan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l dan NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l menunjukkan waktu pembengkakan (pembesaran sel) yang paling cepat diantara yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa NAA 1 mg/l merupakan konsentrasi yang paling tepat untuk merangsang pembesaran dan pembelahan sel.

Pembengkakan sel tidak hanya dipengaruhi oleh auksin eksogen, namun juga dipengaruhi oleh auksin endogen. Jumlah auksin yang terkandung dalam eksplan tergantung pada tanaman induk eksplan tersebut (auksin endogen). Auksin sangat berperan dalam merangsang pembesaran sel (penyerapan air), pembelahan sel, dan pertumbuhan kalus.

Waktu Munculnya Kalus

Hasil analisis data pada menunjukkan bahwa kombinasi auksin (NAA) dan sitokinin (BAP) berpengaruh sangat nyata terhadap waktu munculnya kalus ($P < 0,01$). Eksplan yang tumbuh pada tiap perlakuan memiliki waktu yang berbeda untuk mengalami pembengkakan sel. Perlakuan NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l dan NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l (Tabel 4.2) menunjukkan waktu yang paling cepat untuk mengalami pembengkakan.

Perlakuan NAA 1,5 mg/l + BAP 1,5 mg/l (Tabel 4.2) menunjukkan waktu yang paling lambat untuk mengalami pembengkakan dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Rata-rata waktu munculnya kalus pada tiap perlakuan, dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata waktu munculnya kalus setelah diinkubasi pada media yang diperkaya dengan ZPT (NAA dan BAP).

No.	Perlakuan	Waktu (hst)
1	NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l	7±0,0 ^a
2	NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l	9±0,0 ^{ab}
3	NAA 1 mg/l + BAP 1,5 mg/l	8,66±0,57 ^{ab}
4	NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l	9±0,0 ^{ab}
5	NAA 1,5 mg/l + BAP 1 mg/l	12±0,0 ^c
6	NAA 1,5 mg/l + BAP 1,5 mg/l	9±1,73 ^{ab}
7	NAA 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	7±1,73 ^a
8	NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l	8±0,0 ^{ab}
9	NAA 2 mg/l + BAP 1,5 mg/l	10±1,73 ^{bc}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan beda sangat nyata pada uji BNJ taraf 1 %.

Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi auksin dan sitokinin pada beberapa konsentrasi menunjukkan pertumbuhan kalus yang optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan [1] bahwa pemberian auksin saja tanpa sitokinin dalam kultur jaringan hanya menyebabkan sel-sel akan membesar tanpa proses pembelahan sel, sehingga tidak memberi pengaruh apapun. Namun, jika auksin dan sitokinin digunakan secara bersamaan, maka sel-sel akan membelah diri secara optimal. Ketika konsentrasi kedua zat pengatur tumbuh itu hampir sama, massa sel akan terus bertambah, namun yang tumbuh adalah kalus yang belum mengalami diferensiasi.

Berdasarkan hasil penelitian terlihat pula bahwa kecepatan waktu pembengkakan (pemelaran sel) dan kecepatan waktu munculnya kalus berbanding terbalik. Pada beberapa perlakuan memperlihatkan waktu yang cepat terhadap pembengkakan, namun memiliki waktu yang lambat untuk munculnya kalus dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu

pada perlakuan NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l. Sebaliknya pada beberapa perlakuan memiliki waktu pembengkakan yang lambat, namun mampu menginduksi kalus dengan cepat dan memiliki ukuran yang besar dan terus membesar, yaitu pada perlakuan NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda. Kombinasi NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l dan NAA 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l menunjukkan waktu muncul kalus yang paling cepat diantara yang lain. Hal ini membuktikan BAP (sitokinin) berperan sangat penting dalam mengatur pembelahan sel pada konsentrasi rendah.

Pertumbuhan kalus diawali dari bagian luka/irisan pada eksplan. Setelah 4 minggu masa penanaman, terlihat ukuran kalus yang tumbuh memiliki perbedaan pada tiap perlakuan, hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut,

Tabel 4.3 Ukuran kalus eksplan jarak pagar pada berbagai perlakuan setelah 4 minggu.

No.	Perlakuan	Ulangan		
		I	II	III
1	NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l	++	++	++
2	NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l	++	++	++
3	NAA 1 mg/l + BAP 1,5 mg/l	++	++	++
4	NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l	+++	+++	+++
5	NAA 1,5 mg/l + BAP 1 mg/l	++	++	++
6	NAA 1,5 mg/l + BAP 1,5 mg/l	++	++	++
7	NAA 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	+	++	++
8	NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l	+	++	+++
9	NAA 2 mg/l + BAP 1,5 mg/l	+	+	++

Keterangan: + = Ukuran kalus eksplan kecil (< 1 cm)
++ = Ukuran kalus eksplan sedang (1-2 cm)
+++ = Ukuran kalus eksplan besar (> 2 cm).
(Elimasni, 2006)

Kalus yang tumbuh pada tiap perlakuan memiliki tekstur yang hampir sama (tekstur kompak) dengan warna hijau kekuningan. Berdasarkan data yang diperoleh memperlihatkan bahwa kombinasi NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l membentuk ukuran kalus yang paling besar dan terus membesar. Bentuk kalus yang tumbuh setelah 4 minggu dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Bentuk kalus yang tumbuh setelah 4 minggu penanaman pada media

Berat basah akhir kalus

Kombinasi NAA dan BAP juga memperlihatkan pengaruh nyata terhadap berat basah akhir kalus. Umumnya taraf pertumbuhan kalus pada berbagai perlakuan cukup baik dengan ukuran eksplan yang besar.

Pada beberapa perlakuan dengan cepat dapat menginduksi kalus, namun memiliki taraf pertumbuhan yang tidak maksimal (lambat). Sehingga berat basah yang dihasilkan memiliki sedikit perbedaan, walaupun sumber eksplan berasal dari tanaman induk yang sama. Hal ini diduga karena kondisi jaringan dan kandungan hormon endogen yang berbeda. Rata-rata berat basah akhir kalus yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rata-rata berat basah akhir kalus setelah perlakuan

No	Perlakuan	Berat basah akhir kalus (g)
1	NAA 1 mg/l + BAP 0,5 mg/l	0,943±0,53 ^{cde}
2	NAA 1 mg/l + BAP 1 mg/l	0,735±0,35 ^{bcd}
3	NAA 1 mg/l + BAP 1,5 mg/l	0,807±0,45 ^{bcd}
4	NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l	2,501±0,62 ^l
5	NAA 1,5 mg/l + BAP 1 mg/l	0,653±0,60 ^{bc}
6	NAA 1,5 mg/l + BAP 1,5 mg/l	1,122±0,44 ^e
7	NAA 2 mg/l + BAP 0,5 mg/l	0,606±0,32 ^{ab}
8	NAA 2 mg/l + BAP 1 mg/l	0,967±0,94 ^{ab}
9	NAA 2 mg/l + BAP 1,5 mg/l	0,351±0,19 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata pada uji BNJ taraf 5%

Berat basah akhir kalus sangat dipengaruhi oleh proses pembengkakan sel dan pembelahan sel yang mengakibatkan terjadinya pertambahan ukuran eksplan serta munculnya kalus. Pembengkakan sel dipengaruhi oleh penyerapan air yang mengakibatkan dinding sel mengendur dan

membesar, sehingga ukuran eksplan membesar. Hal ini juga didukung dengan pernyataan [4] yang menyatakan bahwa agar sel terus tumbuh membesar, maka penyerapan air harus berlangsung secara terus menerus, yang dipengaruhi oleh konsentrasi air sel yang lebih rendah dari konsentrasi larutan di luar sel.

Masuknya air ke dalam sel akan menyebabkan konsentrasi air sel meningkat dan menurunkan konsentrasi larutan di luar sel, akibatnya laju penyerapan air menurun. Untuk meningkatkan kembali laju penyerapan air sel, maka konsentrasi larutan di luar sel harus ditingkatkan dengan menambah konsentrasi bahan terlarut. Pengenduran dinding sel sangat dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh/hormon baik auksin, sitokinin maupun gibberelin dengan fungsinya masing-masing.

Pembelahan sel yang terjadi pada eksplan mengakibatkan munculnya kalus. Menurut [4] setiap sel mempunyai kepekaan tersendiri terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan, selain itu waktu yang dibutuhkan setiap sel untuk melakukan pembelahan tidak sama, karena sel yang berbeda mungkin saja memiliki siklus sel yang berbeda. Berdasarkan data yang diperoleh, kombinasi NAA 1,5 mg/l + BAP 0,5 mg/l memberikan berat basah akhir kalus yang terbaik. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi inilah yang paling tepat untuk menginduksi kalus tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

KESIMPULAN

Kombinasi auksin (NAA) dan sitokinin (BAP) sangat berperan penting terhadap pertumbuhan dan perkembangan kalus tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Kombinasi auksin (NAA) dan sitokinin (BAP) berpengaruh sangat nyata terhadap waktu munculnya kalus dan berpengaruh nyata terhadap berat basah akhir kalus. Kombinasi NAA 1,5 mg/l dan BAP 0,5 mg/l menunjukkan hasil terbaik terhadap pertumbuhan kalus tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

DAFTAR PUSTAKA

1. N.A. Campbell, J.B. Reece dan L.G. Mitchell, 2002. *Biologi*, Jilid 2. Erlangga. Jakarta
2. I. Dwimahyani, 2005, *Pemuliaan Mutasi Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. Petir Batan, Jakarta.

3. K. Faupel dan A. L, Kurki, 2005, Sebuah Tinjauan Ringkas: *Biodiesel*. <http://www.agroindonesia.com/publications/sinopsis2.html>.
4. B. Lakitan, 1995, *Fisiologi Pertumbuhan dan perkembangan Tanaman*. PT Raja Grafindo persada, Jakarta.
5. Maryadi, 2005, *Budidaya Tanaman Jarak (Jatropha curcas)*. Jakarta.
6. A. Nugroho dan H. Sugito, 2005, *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
7. F.B. Salisbury, dan C.W. Ross, 1995, *Fisiologi Tumbuhan edisi IV Jilid III*. Terjemahan dari *Plant Physiology* oleh D. R. Lukman, Sumaryono dan S. Niosoloihin. Penerbit ITB, Bandung
8. A.S. Shetty, 2005, *Energy Plantation Problems and Progress*. India. <http://www.lablandbiotechs.com/event001.html>.