

Induksi Tunas pada Kotiledon dan Hipokotil Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui Organogenesis Tak Langsung

Iswari S. Dewi¹, Anggi Nindita², Bambang S. Purwoko^{2*}, dan Darda Efendi²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
Telp. (0251) 8629353; Faks. (0251) 8629353; *E-mail: bambangpurwoko@gmail.com

Diajukan: 23 April 2012; Diterima: 1 Oktober 2012

ABSTRACT

Hypocotyl and Cotyledon-Derived Shoots of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) through Indirect Organogenesis. *Iswari S. Dewi, Anggi Nindita, Bambang S. Purwoko, and Darda Efendi.* Propagation through tissue culture of plant species with rich secondary metabolites such as *Jatropha curcas* L. is difficult to obtain. However, once established, it can be used as one of the alternatives to supply uniform propagules. The effects of auxin and cytokinin on the regulation of *de novo* woody plants shoot development have been studied through shoot induction, differentiation and development. The objective of this research was to identify explant and suitable culture media for *in vitro* shoot induction through indirect organogenesis. Factorial experiment was arranged in a completely randomized design, replicated 20 times. The first factor was explants, i.e. cotyledons and hypocotyls. The second factor was MS media containing combination of plant growth regulator IAA (0, 0.05, and 0.1 mg/l) and BAP (0, 1.0, 2.0, 3.0 mg/l). The results of the experiment showed that the fastest callus initiation was achieved by MS + IAA 0.1 mg/l, i.e. 9.5 days after explants were cultured. Shoots with leaves can be induced from both cotyledons and hypocotyls. However, hypocotyls gave more shoots and leaves than cotyledons when cultured in MS + IAA 0.1 mg/l + BAP 3.0 mg/l. Shoots obtain from hypocotyls and cotyledons were successfully rooted in MS medium without any growth regulator.

Keywords: Physic nut, organogenesis, IAA, BAP, hypocotyl, cotyledon.

ABSTRAK

Induksi Tunas pada Kotiledon dan Hipokotil Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui Organogenesis Tak Langsung. *Iswari S. Dewi, Anggi Nindita, Bambang S. Purwoko, dan Darda Efendi.* Spesies tanaman penghasil metabolit sekunder seperti tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) sangat sulit untuk diperbanyak melalui kultur jaringan. Namun jika metode ditemukan, maka perbanyakan melalui kultur jaringan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam menjamin suplai propagul yang seragam. Auksin dan sitokinin diketahui berperan dalam mengatur perkembangan tunas beberapa tanaman berkayu *de novo*

melalui studi induksi tunas, diferensiasi dan perkembangannya. Tujuan penelitian ini mendapatkan eksplan dan media MS yang mengandung kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh optimum untuk menginduksi tunas melalui organogenesis tak langsung pada jarak pagar secara *in vitro*. Rancangan percobaan adalah percobaan faktorial yang disusun secara acak lengkap. Faktor pertama adalah eksplan yang terdiri dari 2 taraf, yaitu kotiledon, dan hipokotil. Faktor kedua adalah 12 taraf media MS yang mengandung kombinasi zat pengatur tumbuh IAA (0; 0,05; dan 0,1 mg/l) dan BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0 mg/l). Setiap kombinasi perlakuan diulang 20 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inisiasi kalus tercepat adalah pada media MS + IAA 0,1 mg/l, yaitu 9,5 hari setelah tanam. Tunas berdaun dapat diinduksi baik dari kotiledon maupun hipokotil. Namun demikian lebih banyak tunas berdaun yang dapat diinduksi dari hipokotil dibandingkan dari kotiledon ketika eksplan ditanam pada media MS + IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l. Tunas-tunas yang diperoleh dari hipokotil dan kotiledon dapat berakar di medium MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh.

Kata kunci: Jarak pagar, organogenesis, IAA, BAP, hipokotil, kotiledon.

PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman yang diunggulkan di Indonesia sebagai penghasil minyak untuk biodiesel. Upaya pengembangan tanaman jarak pagar memerlukan penyediaan bibit atau benih sebagai bahan tanam. Perbanyakan jarak pagar dapat ditempuh dengan cara konvensional dan non konvensional. Perbanyakan jarak pagar secara konvensional dapat dilakukan secara generatif dengan biji (secara langsung atau melalui pembibitan sebelum penanaman) (Achten *et al.*, 2008), secara vegetatif dengan stek (Swamy dan Singh, 2006; Feike *et al.*, 2007) atau secara non konvensional, yaitu melalui kultur jaringan (Datta *et al.*, 2007). Perbanyakan melalui kultur jaringan memiliki kelebihan dibandingkan dengan stek atau biji, yaitu tanaman dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim karena dilakukan di ruang tertutup, tidak memerlukan bahan tanam yang banyak, tanaman dapat diperbanyak dalam jumlah

besar dalam waktu yang relatif singkat dan tanaman yang dihasilkan seragam serta bebas dari penyakit. Eksplan yang dapat digunakan dalam perbanyakan kultur jaringan jarak pagar, yaitu bagian hipokotil, epikotil, pucuk, daun, dan tangkai daun (Sujatha dan Mukta, 1996; Wei *et al.*, 2004).

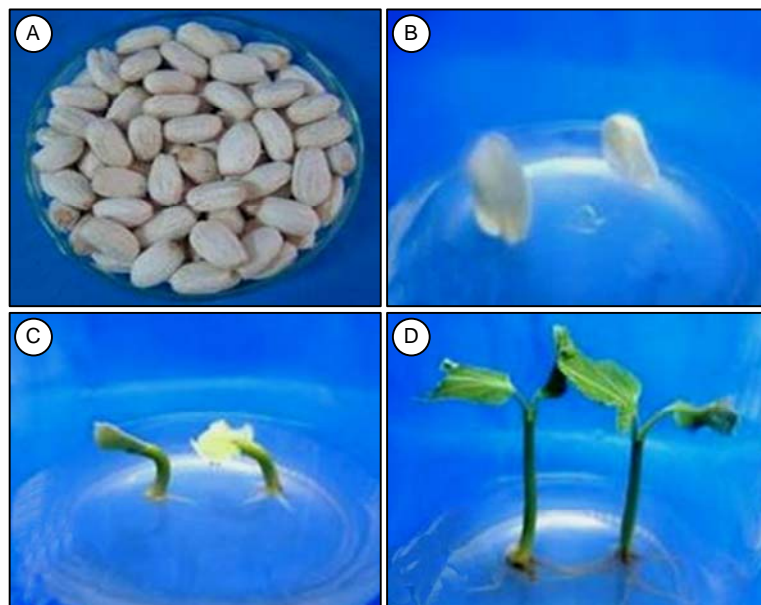
Induksi pembentukan organ seperti tunas dan akar adventif (organogenesis) dari eksplan yang menghasilkan struktur unipolar sering digunakan untuk memperoleh tanaman yang serupa dengan induknya. Organogenesis melalui kultur jaringan (*in vitro*) dapat diperoleh langsung dari eksplan yang dikulturkan (*direct organogenesis*) atau melalui sedikit pembentukan kalus sebelum tunas dan akar adventif diperoleh (*indirect organogenesis*). Proses organogenesis terdiri atas 3 fase, yaitu (i) induksi kompetensi eksplan yang dikulturkan, (ii) determinasi sel yang dipengaruhi zat pengatur tumbuh yang diberikan, dan (iii) pembentukan organ tanaman atau morfogenesis (Yancheva *et al.*, 2003). Sejak Skoog dan Miller pada tahun 1957 menunjukkan kemampuan sitokinin dalam menginduksi tunas pada kultur jaringan, saat ini diketahui bahwa pembentukan tunas secara *in vitro* juga diregulasi oleh keseimbangan antara auksin dan sitokinin (Filipov *et al.*, 2006). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan eksplan dan media mengandung kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh *indole-3-acetic acid* (IAA) dan *6-benzylaminopurine* (BAP) yang optimum untuk menginduksi tunas pada jarak pagar melalui organogenesis tak langsung.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Agronomi dan Hortikultura-IPB, Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah benih jarak pagar unggul genotipe IP-1P yang diperoleh dari Kebun Percobaan Puslitbangbun di Sukabumi. Biji disimpan di suhu ruang sebelum digunakan. Biji disterilkan selama 20 menit dengan 20% pemutih komersial setelah kulit luar dibuang, kemudian dicuci dengan air distil steril 5 kali. Untuk memperoleh eksplan kotiledon dan hipokotil, embrio diisolasi menggunakan skalpel dan pinset kemudian ditanam di media MS0 (Gambar 1). Eksplan diambil dari kecambah umur 7-14 hari setelah tanam (HST).

Percobaan ini berupa percobaan faktorial yang disusun secara acak lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah eksplan yang terdiri dari 2 taraf, yaitu kotiledon dan hipokotil yang diperoleh setelah mengecambahkan biji jarak *in vitro* (Gambar 1). Faktor kedua adalah 12 taraf media MS (M) mengandung kombinasi zat pengatur tumbuh IAA (0; 0,05; dan 0,1 mg/l) dan BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0 mg/l). Setiap kombinasi perlakuan diulang 20 kali, sehingga terdapat 480 satuan percobaan.

Pengamatan dilakukan dengan mengamati pertumbuhan dan perkembangan eksplan setiap minggu selama delapan minggu setelah eksplan dikulturkan. Peubah yang diamati adalah waktu kalus muncul, pertumbuhan dan perkembangan kalus, jumlah tunas, dan jumlah daun.



Gambar 1. Biji jarak dikecambahkan *in vitro*. A = biji tanpa kulit luar, B = embrio jarak, C = kecambah umur 3 HST, D = kecambah 7-14 HST sebagai sumber eksplan hipokotil dan kotiledon.

Untuk memudahkan pengamatan terhadap pertumbuhan kalus pada jarak pagar, maka ditetapkan nilai skor sebagai berikut: Inisiasi kalus (skor 1), 10-25% kalus menutupi eksplan (skor 2), 26-50% kalus menutupi eksplan (skor 3), 51-75% kalus menutupi eksplan (skor 4), dan 76-100% kalus menutupi eksplan (skor 5). Semakin tinggi skor berarti pertumbuhan kalus semakin baik. Pengamatan terhadap perkembangan kalus diamati melalui perubahan warna kalus. Perkembangan kalus ditetapkan dengan nilai skor sebagai berikut: Inisiasi kalus yang berwarna putih (skor 1), 76-100% kalus berwarna coklat (skor 2), 21-75% kalus berwarna coklat (skor 3), Kalus tidak berwarna atau bening (skor 4), Kalus berwarna hijau bening (skor 5). Semakin tinggi skor berarti perkembangan kalus semakin baik dalam menghasilkan kalus embriogenik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Inisiasi Kalus

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa faktor tunggal media memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu munculnya kalus. Tabel 1 menunjukkan waktu munculnya kalus tanpa memperhatikan jenis eksplan di berbagai media. Secara umum, tampak bahwa semua perlakuan media yang mengand

ung BAP (1,0; 2,0; dan 3,0 mg/l) menunda waktu muncul kalus (Tabel 1). Waktu inisiasi kalus terlama adalah pada media MS mengandung kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IAA 0,1 mg/l dan BAP 3,0 mg/l yaitu selama 24 hari setelah tanam (HST). Waktu muncul kalus tercepat adalah pada media MS mengandung zat pengatur tumbuh IAA 0,1 mg/l, yaitu 9,5 HST. Inisiasi pembentukan kalus kompak yang berwarna putih kekuningan terjadi setelah eksplan mengembang (Gambar 2 dan 3). Menurut Filippov *et al.* (2006) penambahan auksin ke dalam media kultur dapat mempercepat pembentukan kalus, namun keseimbangan kombinasinya dengan sitokininlah yang akan menentukan waktu keluarnya kalus.

Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus

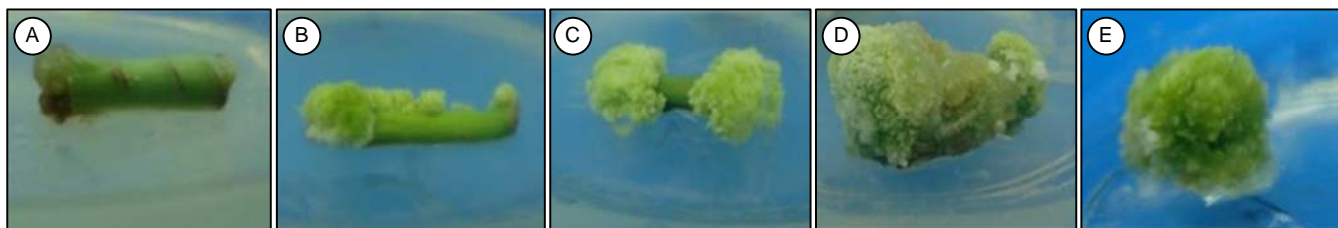
Kalus yang diinduksi pada eksplan hipokotil dan kotiledon diamati pertumbuhannya dan di skor melalui besarnya persentase penutupan eksplan oleh kalus. Contoh skoring pertumbuhan kalus dapat dilihat pada eksplan hipokotil (Gambar 2).

Interaksi antara media mengandung zat pengatur tumbuh IAA dan BAP dengan kombinasi berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan kalus jarak pagar dari eksplan hipokotil dan kotiledon (Tabel 2). Interaksi dari kedua faktor

Tabel 1. Pengaruh media mengandung berbagai konsentrasi IAA dan BAP terhadap waktu muncul kalus pada eksplan jarak.

Media	Waktu muncul kalus (HST)
M1 = IAA 0,0 mg/l + BAP 0,0 mg/l	17,5 c
M2 = IAA 0,0 mg/l + BAP 1,0 mg/l	19,6 abc
M3 = IAA 0,0 mg/l + BAP 2,0 mg/l	19,9 abc
M4 = IAA 0,0 mg/l + BAP 3,0 mg/l	19,0 abc
M5 = IAA 0,05 mg/l + BAP 0,0 mg/l	14,7 c
M6 = IAA 0,05 mg/l + BAP 1,0 mg/l	18,0 bc
M7 = IAA 0,05 mg/l + BAP 2,0 mg/l	20,0 abc
M8 = IAA 0,05 mg/l + BAP 3,0 mg/l	23,1 ab
M9 = IAA 0,1 mg/l + BAP 0,0 mg/l	9,5 d
M10 = IAA 0,1 mg/l + BAP 1,0 mg/l	19,4 abc
M11 = IAA 0,1 mg/l + BAP 2,0 mg/l	17,5 c
M12 = IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l	24,0 a

Angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT. HST = hari setelah tanam.



Gambar 2. Skoring pertumbuhan kalus pada eksplan hipokotil jarak pagar. A = inisiasi kalus-eksplan mengembang (skor 1), B = 10-25% kalus menutupi eksplan (skor 2), C = 26-50% kalus menutupi eksplan (skor 3), D = 51-75% kalus menutupi eksplan (skor 4), E = 76-100% kalus menutupi eksplan (skor 5).

perlakuan tersebut terjadi mulai 4 minggu setelah tanam (MST).

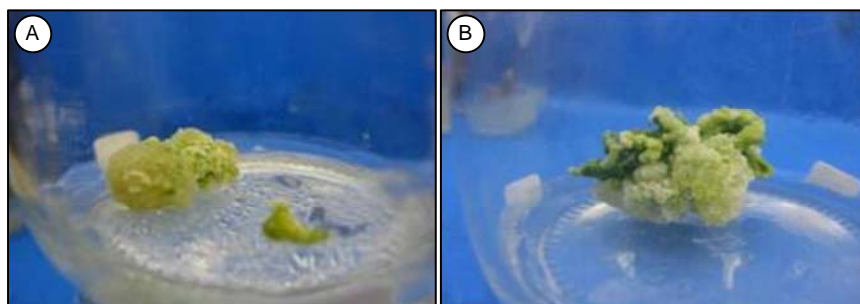
Pada pengamatan 8 MST interaksi antara eksplan dan media yang memberikan skor pertumbuhan kalus tertinggi (skor 4,8) adalah pada penggunaan eksplan kotiledon dengan media yang diperkaya dengan IAA 0,05 mg/l dan BAP 3,0 mg/l (Tabel 2 dan Gambar 3). Namun, secara umum respon eksplan kotiledon pada media mengandung IAA (0, 0,05, dan 0,1 mg/l) yang dikombinasikan dengan BAP (1,2, dan 3 mg/l) serta media yang hanya mengandung BAP 2,0 atau 3,0 mg/l tidak berbeda nyata dalam memberikan skor pertumbuhan kalus >4,0 (Gambar 3). Hasil skoring tersebut juga menunjukkan tidak berbeda nyata dengan skor pertumbuhan kalus untuk eksplan hipokotil yang diperoleh pada media MS mengandung IAA 0,05 mg/l dan BAP 1,0 mg/l, media MS mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 1,0 atau 2,0 mg/l serta media yang hanya mengandung BAP 3,0 mg/l.

Baik pada eksplan hipokotil maupun kotiledon tampak pada media yang tidak mengandung IAA maupun BAP pertumbuhan kalus sangat rendah. Penam-

bahan IAA 0,1 mg/l tidak meningkatkan pertumbuhan kalus dari eksplan hipokotil maupun eksplan kotiledon (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin keduanya berinteraksi dalam mengontrol proses pertumbuhan dan perkembangan dalam tanaman seperti pembelahan dan diferensiasi sel (Davies, 1995).

Pada percobaan ini terlihat ada dua jenis warna kalus, yaitu putih bening dan hijau bening. Kalus kompak berwarna putih muncul terlebih dahulu, sedangkan kalus kompak yang berwarna hijau merupakan kalus yang perkembangannya sudah lebih lanjut. Hal serupa tampak pada percobaan induksi kalus pada daun nanas Smooth Cayenne oleh 2,4-D di mana kalus yang terbentuk kompak dan menghijau. Kalus yang menghijau menunjukkan jenis kalus yang embriogenik (Roostika *et al.*, 2012). Contoh skoring perkembangan kalus pada kotiledon disajikan pada Gambar 4 dan 5.

Interaksi antara jenis eksplan dengan taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh berpengaruh nyata pada peubah perkembangan kalus setelah 2 MST. Pada 8 MST, nilai skoring perkembangan kalus >4,4 diperoleh



Gambar 3. Kalus pada eksplan yang berasal dari hipokotil (A) dan kotiledon (B) pada 8 MST yang menunjukkan skor >4.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan media dengan berbagai konsentrasi IAA dan BAP pada eksplan hipokotil dan kotiledon terhadap pertumbuhan kalus.

Media	Skor pertumbuhan kalus*							
	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	H	K	H	K	H	K	H	K
M1 = IAA 0,0 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,1 l	1,4 kl	1,3 m	1,7 lm	1,6 i	1,7 i
M2 = IAA 0,0 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,1 fghij	2,0 ghij	2,5 hij	2,7 ghi	3,0 fg	3,4 ef
M3 = IAA 0,0 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,8 hijk	2,0 ghij	2,3 ij	3,4 cde	2,3 hi	4,0 bcde
M4 = IAA 0,0 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,6 cdefg	3,0 abc	3,3 cdef	4,0 b	4,1 abcde	4,5 abc
M5 = IAA 0,05 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,8 hijk	1,5 jkl	2,2 ijk	1,6 lm	2,5 gh	2,0 ghi
M6 = IAA 0,05 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,8 abcd	2,2 efghi	4,1 ab	3,1 defg	4,6 ab	4,1 abcde
M7 = IAA 0,05 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,8 hijk	2,6 bcdef	2,9 efgh	3,3 cdefg	3,7 def	4,4 abcd
M8 = IAA 0,05 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,1 fghij	2,7 bcde	2,7 fghi	3,6 bcd	3,3 ef	4,8 a
M9 = IAA 0,1 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,3 kl	1,7 ijk	1,5 lm	1,9 jkl	1,5 i	2,0 ghi
M10 = IAA 0,1 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,3 defgh	3,2 ab	3,5 bcde	3,8 bcd	4,2 abcd	4,7 ab
M11 = IAA 0,1 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,2 ab	3,4 a	3,8 bc	4,7 a	4,5 abc	4,7 ab
M12 = IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,0 ghij	2,7 bcde	3,0 efgh	3,8 bcd	3,8 cde	4,6 ab

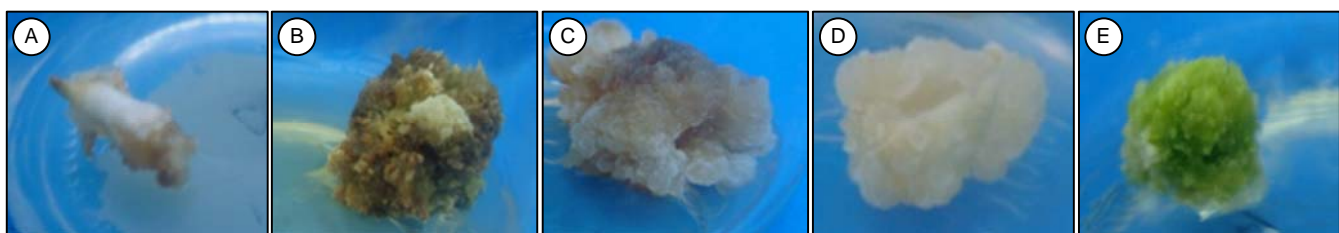
Angka pada kolom dan baris yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT, MST = minggu setelah tanam; H = hipokotil; K = kotiledon. * skor = 1-5.

dari interaksi eksplan dan media MS mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 1,0; 2,0; atau 3,0 mg/l (Tabel 3). Secara umum baik untuk eksplan hipokotil maupun kotiledon tampak bahwa pemberian BAP pada media MS tanpa ataupun bersamaan dengan pemberian IAA memberikan skoring perkembangan kalus yang tinggi dibandingkan tanpa BAP (Tabel 3). Pada 8 MST, nilai skoring perkembangan kalus >4,4 diperoleh dari interaksi eksplan dan media MS mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 1,0; 2,0; atau 3,0 mg/l (Tabel 3).

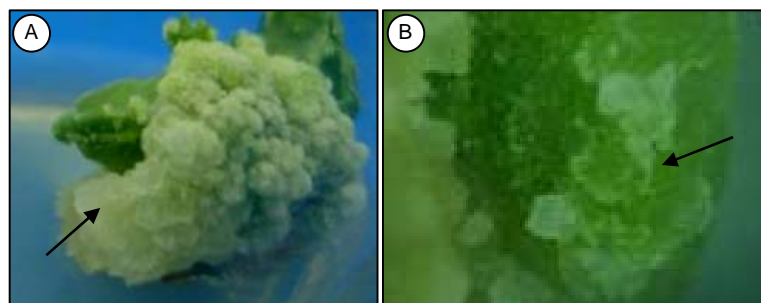
Pembentukan Tunas dan Daun

Tunas dan daun yang diinduksi dari hipokotil dan kotiledon dapat dilihat pada Gambar 6. Tunas mulai terbentuk pada 4 MST. Interaksi antara media dan eksplan terhadap peubah jumlah tunas berpengaruh nyata mulai 4 MST (Tabel 4). Tunas terbanyak diperoleh pada umur 6 dan 8 MST.

Pada saat 8 MST, tunas terbanyak, yaitu 2,9 batang/eksplan diperoleh dari eksplan hipokotil pada media mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 3,0 mg/l. Namun jumlah tunas tersebut tidak berbeda nyata dengan yang diperoleh dari hipokotil pada media MS



Gambar 4. Skoring perkembangan kalus pada kotiledon. A = inisiasi kalus (skor 1), B = 76-100% kalus berwarna coklat (skor 2), C = 21-75% kalus berwarna coklat (skor 3), D = kalus tidak berwarna atau bening (skor 4), E = kalus berwarna hijau bening (skor 5).



Gambar 5. Profil kalus dari jarak dekat. A = warna kalus putih bening, B = hijau bening.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan media dengan berbagai konsentrasi IAA dan BAP pada eksplan hipokotil dan kotiledon terhadap skoring warna kalus.

Konsentrasi zat pengatur tumbuh pada media MS	Skor perkembangan kalus*							
	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	H	K	H	K	H	K	H	K
M1 = IAA 0,0 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	2,2 hi	2,1 hi	2,8 f	2,4 f	2,8 g	2,3 g
M2 = IAA 0,0 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,5 def	4,2 abcd	3,6 de	4,4 abcd	3,5 cdef	4,0 abcde
M3 = IAA 0,0 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,1 fg	4,2 abcd	3,2 e	4,0 abcde	3,2 ef	3,8 abcde
M4 = IAA 0,0 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	4,1 abcde	3,9 bcdef	3,8 bcde	3,8 bcde	4,0 abcd	3,6 bcdef
M5 = IAA 0,05 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,8 cdef	2,2 hi	3,6 de	2,1 f	3,1 f	2,2 g
M6 = IAA 0,05 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	4,8 a	3,8 cdef	4,7 a	3,9 abcde	4,3 abc	4,0 abcde
M7 = IAA 0,05 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,9 bcdef	4,4 abc	4,2 abcd	4,3 abcd	4,0 abcd	4,1 abcd
M8 = IAA 0,05 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,7 cdef	4,8 a	3,9 abcde	3,6 cde	3,9 ab	3,3 def
M9 = IAA 0,1 mg/l + BAP 0,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	1,5 i	2,4 gh	1,7 f	2,2 f	1,8 g	2,2 g
M10 = IAA 0,1 mg/l + BAP 1,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	4,1 abcde	4,5 abc	4,4 abcd	4,8 abc	4,5 a	4,4 ab
M11 = IAA 0,1 mg/l + BAP 2,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,3 ef	4,5 abc	4,3 abcd	4,6 a	4,5 a	4,6 a
M12 = IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l	1,0 a	1,0 a	3,9 bcdef	4,8 ab	4,5 abc	4,7 a	4,4 ab	4,6 a

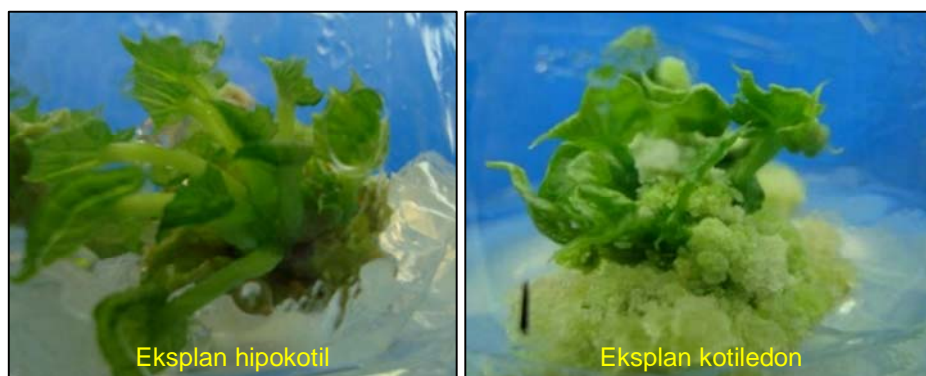
Angka pada kolom dan baris yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT, MST = minggu setelah tanam; H = hipokotil; K = kotiledon. * skor = 1-5.

hanya dengan BAP 1,0 mg/l ataupun dari eksplan kotiledon pada media MS yang diberi IAA 0,1 mg/l dan BAP 2,0 atau 3,0 mg/l serta di media MS yang hanya mengandung BAP 3 mg/l. Sampai pengamatan terakhir pada 8 MST, tampak bahwa semua media yang tidak mengandung BAP tidak dapat menginduksi tunas baik pada eksplan hipokotil maupun kotiledon (Tabel 4).

Sitokinin diperlukan untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan tunas melalui peningkatan dalam pembelahan sel. Regulasi siklus sel dan jumlah siklus di mana sel membelah di meristem dan bakal organ (*organ primordia*) merupakan target utama sitokinin (Schmülling, 2002). Dalam kelompok sitokinin, BAP diketahui merangsang induksi tunas lebih efektif dibandingkan zeatin (Z) atau kinetin (Howell *et al.*, 2003). Pemberian BAP untuk menginduksi tunas pada kotiledon *Pinus pinea* juga menghasilkan tunas yang lebih baik dan lebih panjang dibandingkan dengan pemberian thidiazuron, ZPT yang bersifat *cytokinin-like* (Sul dan Korban, 2004). Hal serupa ditunjukkan oleh Costa *et al.* (2004) yang berhasil menginduksi tunas

pada kultur epikotil jeruk hanya dengan menggunakan BAP saja. Eksplan epikotil jeruk yang dikulturkan pada medium mengandung 1,0 mg/l BAP dapat menghasilkan tunas langsung (*direct organogenesis*). Namun, pada konsentrasi 2,0 mg/l BAP atau lebih tinggi, tunas diperoleh setelah eksplan membentuk kalus (*indirect organogenesis*).

Dengan demikian, penambahan BAP ke dalam media kultur dapat menyebabkan perbedaan dalam respon organogenik dari eksplan yang dikulturkan tergantung dari apakah BAP tersebut berfungsi secara langsung atau melalui pengendalian atas akumulasi dengan senyawa sitokinin endogen yang mungkin sudah ada pada eksplan yang dikulturkan (Arigita *et al.*, 2005). Wei *et al.* (2004) menyatakan bahwa pertumbuhan tunas jarak terutama dipengaruhi oleh sitokinin yang diberikan ke dalam media kultur, karena ZPT ini penting dalam merangsang diferensiasi sel. Hal ini juga ditunjukkan oleh Rajore dan Amla (2005) yang berhasil menginduksi tunas pada eksplan ujung pucuk (*shoot-tip*) jarak dengan 2,0 mg/l BAP.



Gambar 6. Tunas terbentuk pada eksplan hipokotil dan kotiledon.

Tabel 4. Pengaruh interaksi perlakuan media dengan eksplan terhadap pembentukan tunas jarak.

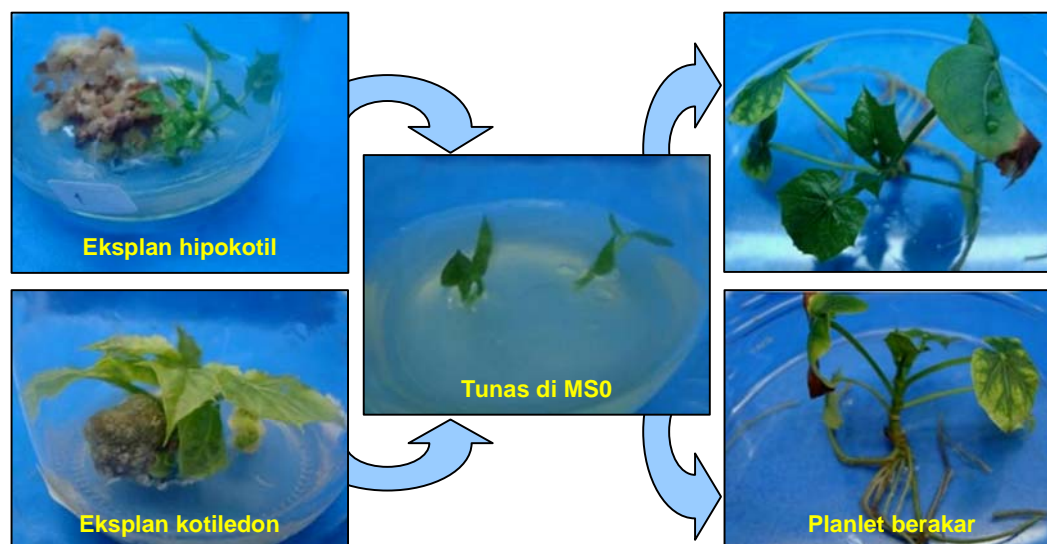
Media MS	Jumlah tunas/eksplan							
	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	H	K	H	K	H	K	H	K
M1 = IAA 0,0 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,0 b	0,0 e	0,0 e	0,0 h	0,0 h
M2 = IAA 0,0 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,1 b	0,0 e	0,5 de	2,0 abcd	1,4 bcdef
M3 = IAA 0,0 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	1,5 a	0,5 b	1,6 bc	0,7 de	1,6 bcde	0,7 efgh
M4 = IAA 0,0 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	1,2 a	1,6 a	1,2 cd	1,8 bc	1,6 bcde	2,4 ab
M5 = IAA 0,05 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,0 b	0,0 e	0,0 e	0,0 h	0,0 h
M6 = IAA 0,05 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,1 b	0,0 e	0,1 e	0,0 h	0,5 fgh
M7 = IAA 0,05 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,6 b	0,0 e	0,8 de	0,0 h	0,9 efgh
M8 = IAA 0,05 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,4 b	0,5 b	0,5 de	0,7 de	0,5 fgh	0,8 efgh
M9 = IAA 0,1 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,0 b	0,0 e	0,0 e	0,0 h	0,0 h
M10 = IAA 0,1 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,5 b	0,1 b	0,7 de	0,7 de	1,1 cdefgh	1,0 defgh
M11 = IAA 0,1 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,4 b	1,3 bcd	1,9 bc	1,3 cdefg	2,1 abc
M12 = IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,2 b	2,9 a	2,0 ab	2,9 a	2,0 abcd

Angka pada kolom dan baris yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT, MST = minggu setelah tanam; H = hipokotil; K = kotiledon.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara jenis eksplan dan media MS mengandung IAA dan BAP memberi pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah daun yang muncul mulai 4 MST. Pada eksplan hipokotil, jumlah daun terbanyak pada 8 MST diperoleh dari tunas yang muncul dari media MS mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 3,0 mg/l, yaitu sebanyak 6,1 helai walaupun tidak berbeda nyata dengan jumlah daun di media yang hanya mengandung BAP 1 mg/l (Tabel 5). Namun demikian jumlah daun tersebut juga tidak berbeda nyata dengan yang dihasilkan oleh tunas yang muncul dari eksplan kotiledon pada media MS mengandung IAA 0,1 mg/l dan BAP 2,0 atau 3,0 mg/l. Tampaknya media MS dengan atau tanpa IAA yang juga tanpa BAP selain tidak dapat membentuk tunas juga tidak dapat menginduksi daun.

Induksi Perakaran

Pada penelitian ini tampak bahwa pembentukan tunas pada jarak melalui organogenesis terjadi secara tak langsung, yaitu melalui pembentukan kalus. Untuk menginduksi perakaran pada tunas jarak yang dihasilkan dari berbagai eksplan, Sujatha dan Mukta (1996) serta Jha *et al.* (2007) menggunakan media tanpa zat pengatur tumbuh. Oleh karena itu untuk mengetahui apakah tunas-tunas yang dihasilkan dapat menjadi planlet sempurna yang berakar, maka tunas yang sudah berdaun sempurna dan membuka dipotong dari eksplan dan dikulturkan pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh (MS0). Semua tunas dapat berakar pada 4 minggu setelah dikulturkan di MS0 (Gambar 7).



Gambar 7. Induksi perakaran pada tunas yang diperoleh dari eksplan hipokotil dan kotiledon.

Tabel 5. Perlakuan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada eksplan hipokotil dan kotiledon terhadap jumlah daun/tunas.

Konsentrasi zat pengatur tumbuh pada media MS	Jumlah daun (helai)							
	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	H	K	H	K	H	K	H	K
M1 = IAA 0,0 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,0 d	0,0 h	0,0 h	0,0 i	0,0 i
M2 = IAA 0,0 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,3 cd	0,0 h	1,3 fgh	4,4 abcd	3,5 bcdef
M3 = IAA 0,0 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	1,5 a	1,1 dc	2,8 def	1,6 efgh	2,8 defg	1,6 fghi
M4 = IAA 0,0 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	2,4 ab	3,4 a	2,4 def	3,7 bcd	2,4 efgh	4,2 bcde
M5 = IAA 0,05 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,0 d	0,0 h	0,0 h	0,0 i	0,0 i
M6 = IAA 0,05 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,2 d	0,0 h	0,2 gh	0,9 ghi	1,0 ghi
M7 = IAA 0,05 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	1,6 bc	0,0 h	2,2 def	0,8 hi	2,7 defgh
M8 = IAA 0,05 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,8 cd	1,0 cd	1,1 fgh	1,9 efg	1,1 ghi	2,0 fgh
M9 = IAA 0,1 mg/l + BAP 0,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,0 d	0,0 h	0,0 h	0,0 i	0,0 i
M10 = IAA 0,1 mg/l + BAP 1,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	1,1 dc	0,4 cd	1,6 efgh	1,5 efgh	2,5 efgh	2,3 fgh
M11 = IAA 0,1 mg/l + BAP 2,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,1 d	1,1 cd	3,2 cde	4,9 ab	3,2 cdef	5,5 ab
M12 = IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l	0,0 a	0,0 a	0,0 d	0,4 cd	6,1 a	4,7 abc	6,1 a	4,7 abc

Angka pada kolom dan baris yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT, MST = minggu setelah tanam; H = hipokotil; K = kotiledon.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini tunas dapat diinduksi dari eksplan hipokotil dan kotiledon dengan lintasan organogenesis tidak langsung, yaitu melalui pembentukan kalus. Waktu munculnya kalus tercepat adalah pada media MS mengandung IAA 0,1 mg/l, yaitu 9,5 HST. Pembentukan tunas dan daun dari kotiledon maupun hipokotil memerlukan BAP. Namun demikian lebih banyak tunas dan daun yang dapat diinduksi dari hipokotil dibandingkan dari kotiledon ketika eksplan ditanam pada media MS + IAA 0,1 mg/l + BAP 3,0 mg/l. Tunas yang diperoleh dari hipokotil dan kotiledon dapat berakar setelah tunas disubkultur pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional atas Dana Hibah Penelitian Strategis Nasional (STRANAS) kepada Prof. Dr. Bambang S. Purwoko, MSc.

DAFTAR PUSTAKA

- Achten, W.M.J., L. Verchot, Y.J. Franken, E. Mathijs, V.P. Singh, R. Aerts, and B. Muys. 2008. *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass and Bioenergy* 32:1063-1084.
- Arigita, L., B. Fernández, A. González, and R.S. Tamés. 2005. Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis, acclimatization and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions. *Plant Phys. Biochem.* 43:161-167.
- Costa, M.G.C., V.S. Alves, E.R.G. Lani, P.R. Mosquim, C.R. Carvalho, and W.C. Otoni. 2004. Morphogenic gradients of adventitious bud and shoot regeneration in epicotyl explants of Citrus. *Scientia Horticulturae* 100:63-74.
- Datta, M.M., P. Mukherjee, B. Ghosh, and T.B. Jha. 2007. *In vitro* clonal propagation of biodiesel plant (*Jatropha curcas* L.). *Current Sci.* 93(10):1438-1442.
- Davies, P.J. 1995. The Plant Hormones: Their nature, occurrence, and functions. p. 1-12. *In* P.J. Davies (ed.). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. 2nd Edition. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands.
- Feike, T., K. Weis, W. Claupein, and J. Mueller. 2007. Propagation of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) on Leyte Island. Philippines. Tropentag University of Kassel-Witzenhausen and University of Göttingen. Presentation in Conference on International Agricultural Research for Development.
- Filippov, M., D. Miroshnichenko, D. Vernikovskaya, and S. Dolgov. 2006. The effect of auxins, time exposure to auxin and genotypes on somatic embryogenesis from mature embryos of wheat. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 84(2):100192-100201.
- Jha, T.B., P. Mukherjee, and M.M. Datta. 2007. Somatic embryogenesis in *Jatropha curcas* Linn., an important biofuel plant. *Plant Biotechnol. Rep.* 1:135-40.
- Howell, S.H., S. Lall, and P. Che. 2003. Cytokinin and shoot development. *Trend Plant Sci.* 8:453-459.
- Rajore, S. and B. Amla. 2005. Efficient Plant Regeneration via Shoot Tip Eksplan in *Jatropha curcas* L. *Plant Biochem and Bioetecol.* 14:73-75.
- Roostika, I., I. Mariska, N. Khumaida, and G.A. Wattimena. 2012. Indirect organogenesis and somatic embryogenesis of pineapple induced by dichlorophenoxy acetic acid. *J. AgroBiogen* 8(1):8-18.
- Schmülling, T. 2002. New insights into the functions of cytokinins in plant development. *J. Plant Growth Regul.* 21:40-49.
- Sujatha, M. and Mukta N. 1996. Morphogenesis and plant regeneration from tissue culture of *Jatropha curcas* L. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 44:135-141.
- Sul, I.W. and S.S. Korban. 2004. Effects of salt formulations, carbon sources, cytokinins, and auxin on shoot organogenesis from cotyledons of *Pinus pinea* L. *J. Plant Growth Regul.* 43:197-205.
- Swamy, S.L. and L. Singh. 2006. Strategies for development of quality planting of *Jatropha curcas* for biofuel plantations. Biodiesel Conference Toward Energy Independence-Focus on *Jatropha*. Rashtrapati Nilayam Bolaram, Hyderabad on 9-10 Juni, 2006. p. 143-1157.
- Wei, Q., W.D. Lu, Y. Liao, S.L. Pan, Y. Xu, L. Tang, and F. Chen. 2004. Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas* L. *Plant Physiol. Mol. Biol.* 30(4):475-478.
- Yancheva, S.D., S. Golubowicz, E. Fisher, S. Lev-Yadun, and M.A. Flaishman. 2003. Auxin type and timing of application determine the activation of the developmental program during *in vitro* organogenesis in apple. *Plant Sci.* 165:299-309.