INDUKSI KALUS JARAK PAGAR (*Jathropa curcas* L.) MENGGUNAKAN 2,4-Dichlorophenoxyacetat DENGAN KULTUR JARINGAN

OLEH

IRMA LEILANI
MORALITA CHATRI
INDAH BUDIANA

14-9-2009
HD
FI
340/HD/2009 - 1,(1)
581 LEI i.1

Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Musyawarah Besar (Mubes) Ikatan Alumni Biologi IKIP Padang dan Universitas Negeri Padang
25-26 Agustus 2007 di Padang

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2007

INDUKSI KALUS JARAK PAGAR (*Jathropa curcas* L.) MENGGUNAKAN 2,4-Dichlorophenoxyacetat DENGAN KULTUR JARINGAN

Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Mubes Ikatan Alumni Biologi IKIP Padang dan Universitas Negeri Padang, di Padang tgl 25-26 Agustus 2007

Oleh

Irma Leilani, Moralita Chatri dan Indah Budiana

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang
Padang 2007

INDUKSI KALUS JARAK PAGAR (*Jathropa curcas* L.) MENGGUNAKAN 2,4-Dichlorophenoxyacetat DENGAN KULTUR JARINGAN*

Irma Leilani, Moralita Chatri dan Indah Budiana**

ABSTRAK

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi untuk menghasilkan biodiesel. Untuk menghasilkan bibit jarak dalam jumlah banyak dan waktu singkat adalah dapat digunakan teknik kultur jaringan. Langkah awal dilakukan dengan menginduksi kalus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginduksi kalus dari tunas jarak pagar dengan penambahan 2,4-D secara in-vitro dan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang tepat dalam menginduksi kalus dari tunas jarak pagar. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dari bulan Maret sampai bulan Juni 2007. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan 6 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan adalah penambahan berbagai konsentrasi 2,4-D pada medium MS, yaitu 0,5 ppm; 1,0 ppm; 1,5 ppm; 2,0 ppm dan 2,5 ppm. Parameter yang diamati adalah % eksplan tumbuh, % eksplan membentuk kalus, bobot basah kalus, warna dan struktur kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan tumbuh adalah 100 % untuk semua perlakuan. Eksplan yang membentuk kalus tanpa penambahan 2,4-D tidak ada (0,0 %) sedangkan dengan penambahan 2,4-D untuk semua perlakuan adalah 90 %. Bobot basah kalus tertinggi dihasilkan pada penambahan 0,5 ppm 2,4-D (3,335 g). Warna kalus yang dihasilkan hijau kekuningan dan kuning kehijauan, sedangkan struktur kalus yang dihasilkan kompak.

Kata kunci : Kultur jaringan, Jarak Pagar, Kalus, 2,4-D.

PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mempunyai banyak manfaat. Hampir semua bagian dari tanaman jarak pagar ini dapat dimanfaatkan, seperti daun, getah, dan biji. Daun dan getah dapat dimanfaatkan sebagai obat sedangkan biji dapat dimanfaatkan sebagai biodiesel. Biodiesel merupakan bahan bakar yang berasal dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai solar atau minyak diesel (Hidayat, 2005:1). Pemanfaatan minyak jarak pagar sebagai bahan biodiesel merupakan alternatif untuk mengurangi tekanan permintaan bahan bakar, menghemat cadangan devisa negara dan pemerataan pembangunan ekonomi (Sudradjat, 2006: 8-21).

*) Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Mubes Ikatan Alumni Biologi IKIP Padang dan Univ. Negeri Padang, di Padang tgl 25-26 Agustus 2007.

**) Jurusan Biologi FMIPA Univ. Negeri Padang.

Perbanyakan jarak pagar secara konvensional dengan menggunakan biji atau stek tidak dapat diharapkan. Seperti yang diungkapkan oleh Dr. Ir. Theresia Prawitasari (ahli kultur jaringan Departemen Biologi IPB), dari setiap pohon jarak pagar hanya dapat diambil maksimal tiga stek batang, agar pertumbuhan pohon induk tidak terganggu. Begitu juga dengan sumber biji yang berkompetensi dengan kebutuhan untuk menghasilkan minyak (Wiguna, 2006: 1-2).

Untuk mengatasi masalah tersebut, teknik kultur jaringan dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif pemecahannya. Perbanyakan dengan menggunakan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, dapat dilakukan setiap saat, serta tidak dipengaruhi oleh musim (Kyte dan Kleyn, 1996: 17).

Langkah awal untuk mendapatkan bahan perbanyakan dalam kultur jaringan adalah menginduksi kalus. Menginduksi kalus berarti membuat kalus dari bagian tanaman tertentu, biasanya dengan penambahan hormone atau Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). ZPT yang biasa digunakan dalam induksi kalus adalah 2, 4- Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) (Santoso dan Nursandi, 2003: 115). Zat pengatur tumbuh ini merupakan auksin sintetis yang mempunyai sifat seperti auksin dan lebih stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau oleh pemanasan dalam sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994: 21).

Penelitian menggunakan 2,4-D secara in-vitro untuk menginduksi kalus, telah banyak dilakukan, antara lain oleh Maftuchah, dkk (1997: 470), yang menggunakan eksplan *Artemicia vulgaris* pada medium MS dengan penambahan 0,5 ppm 2,4-D menghasilkan kalus sebesar 15,733 %. Widhowati (1995: 23) menggunakan jaringan daun kulit manis (*Cinnamomum burmanni*) dengan penambahan 5 ppm 2,4-D pada medium MS dapat menghasilkan kalus sebesar 100 %. Pasaribu (2004: 22) menggunakan eksplan tulang daun manggis pada medium WPM dengan penambahan 7,5 ppm 2,4-D, menghasilkan kalus sebesar 80 %, sedangkan Novrita (2006: 28) dengan eksplan ibu tulang daun manggis pada medium MS menghasilkan kalus 70,40 %. Penggunaan eksplan ibu tulang daun manggis pada medium WPM dengan penambahan 4 ppm 2,4-D oleh Lasni (2005: 27) menghasilkan kalus sebesar 80 %, sedangkan dengan

menggunakan eksplan petiol manggis dapat menghasilkan kalus sebesar 100 % dengan penambahan 6 ppm 2,4-D.

Berdasarkan latar belakang di atas, telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan 2,4-D secara in-vitro dalam menginduksi kalus dari tunas jarak pagar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret - Juni 2007 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNP. Penelitian ini bersifat ekperimen dengan 6 perlakuan dan 10 kali ulangan. Perlakuan adalah berbagai konsentrasi 2,4-D sebagai berikut: A.(0 ppm /Kontrol), B (0,5 ppm), C (1,0 ppm), D (1,5 ppm), E (2,0 ppm) dan F (2,5 ppm)

Peralatan yang digunakan adalah: gelas piala, gelas ukur, cawan petri, pipet tetes, pipet ukur, botol kultur, batang pengaduk, lampu spiritus, erlenmeyer, handsprayer, gunting, scapel, pinset, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, timbangan analitik, *hot plate* dengan *magnetic stirrer*, oven, lemari es,. Semua peralatan yang akan digunakan terlebih dulu disterilkan. Bahan yang digunakan adalah tunas dari jarak pagar; media MS; 2,4-D; gula putih; aquades steril; agar; alkohol 70%; bayclin; HCl 0,1 N; NaOH 0,1 N; myoinositol; Twin 20; kertas saring; spiritus; kertas label; selotip; aluminium foil; kertas topi; deterjen; korek api.

Terlebih dulu dilakukan pembuatan larutan stok 2.4-D 10 ppm sebanyak 200 ml. Kemudian dilakukan pembuatan larutan stok penyusun medium MS dan pembuatan medium MS sesuai dengan perlakuan. 2,4-D ditambahkan dengan menggunakan rumus pengenceran Ukur pHnya tepat 5,8. Kemudian medium dimasukan ke dalam botol kultur sebanyak 10 ml, ditutup dengan aluminium foil dan kertas topi lalu disterilisasikan dalam *autoclave* pada tekanan 15 psi dengan suhu 121° C selama 20 menit. Medium yang telah disterilisasi diinkubasi selama satu minggu.

Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Eksplan adalah tunas jarak yang telah disterilisasi luar dan dalam menurut metode Thepsambran dkk, (2005: 1-4) yang dimodifikasi.

Pengambilan data dilakukan pada minggu ke-6 setelah tanam, meliputi ; Persentase eksplan yang tumbuh, Persentase eksplan yang membentuk kalus, Bobot basah kalus, Persentase struktur dan warna kalus yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Eksplan yang Tumbuh

Tabel 1. Persentase Eksplan yang Tumbuh dengan Penambahan 2,4-D secara In-Vitro pada Minggu Kedua Setelah Tanam

Perlakuan	Eksplan yang tumbuh (%)
A. 0 ppm	100
B. 0,5 ppm	100
C. 1,0 ppm	100
D. 1,5 ppm	100
E. 2,0 ppm	100
F. 2,5 ppm	100

Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa eksplan yang tumbuh pada minggu kedua setelah tanam adalah 100 % untuk semua perlakuan. Walaupun perlakuannya berbeda namun semua eksplan tetap menunjukan kemampuan untuk tumbuh yang sama. Eksplan yang tumbuh ditandai dengan keadaan warna eksplan yang berwarna hijau, eksplan membesar dan memanjang, tidak mengalami pencoklatan (*browning*) dan tidak terkontaminasi oleh jamur dan bakteri. Menurut Katuuk (1989: 56) kemampuan eksplan untuk tumbuh dipengaruhi oleh bagian dari tanaman yang dijadikan sebagai eksplan, ketersedian nutrisi dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang ada di dalam media.

Bagian tanaman yang baik digunakan untuk eksplan adalah bagian tanaman yang masih muda, karena sel-sel dari bagian ini masih aktif membelah sehingga laju pertumbuhannya tinggi (Wiendi, dkk, 1991: 88). Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas dari jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

Nutrisi yang cukup di dalam media juga mempengaruhi daya tahan eksplan untuk tumbuh. Pada penelitian ini, media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS). Sesuai dengan yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984: 189) media MS merupakan media yang paling banyak digunakan dalam berbagai tujuan kultur jaringan karena sudah mengandung semua unsur yang dibutuhkan oleh eksplan untuk tumbuh.

2. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Tabel 2. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus dengan Penambahan 2,4-D secara In-Vitro pada Minggu Keenam Setelah Tanam

Perlakuan	Eksplan yang Membentuk Kalus (%)
A. 0 ppm	0
B. 0,5 ppm	90
C. 1,0 ppm	90
D. 1,5 ppm	90
E. 2,0 ppm	90
F. 2,5 ppm	90

Pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa pada perlakuan B, C, D, E dan F, semua eksplan mampu membentuk kalus sebesar 90%, sedangkan pada perlakuan A tidak terbentuk kalus. Menurut Pierik (1987: 213) kalus adalah jaringan tumor yang tidak terorganisasi yang biasanya timbul pada luka dari eksplan. Bagian eksplan yang pertama kali membentuk kalus adalah pada seluruh permukaan irisan eksplan. Terbentuknya kalus ditandai dengan terjadinya perubahan permukaan eksplan yang menjadi kasar.

Kalus terbentuk bisa disebabkan karena sudah seimbangnya konsentrasi auksin dengan konsentrasi sitokinin. Sesuai dengan yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984: 307) jika konsentrasi auksin sama dengan konsentrasi sitokinin maka akan dihasilkan kalus. Dalam penelitian ini, penambahan 2,4-D dengan konsentrasi 0,5-2,5 ppm ke dalam media mampu menyeimbangkan konsentrasi auksin dan konsentrasi sitokinin.

Selain dari keseimbangan antara konsentrasi auksin dan konsentrasi sitokinin, umur fisiologis tanaman, bagian dari tanaman yang dijadikan sebagai eksplan, jenis tanaman, musim pengambilan eksplan serta faktor luar lainnya juga mempengaruhi terbentuknya kalus (Santoso dan Nursandi, 2003: 112-113). Seperti pada hasil penelitian Lasni (225: 27), untuk mendapatkan kalus 100 % dari tanaman manggis, digunakan eksplan petiol daun manggis.

3. Bobot Basah Kalus

Tabel 3. Bobot Basah Kalus dengan Penambahan 2,4-D secara In-Vitro pada Minggu Keenam Setelah Tanam

Perlakuan	Rerata Bobot Basah Kalus(g)
A. 0 ppm	-
B. 0,5 ppm	3,335
C. 1,0 ppm	1,037
D. 1,5 ppm	1,065
E. 2,0 ppm	1,055
F. 2,5 ppm	1,010

Tabel 3 memperlihatkan bahwa bobot basah kalus tertinggi terdapat pada perlakuan B yaitu dengan penambahan 0,5 ppm 2,4-D dengan bobot basah kalus 3,335 g. Kemudian dengan meningkatnya penambahan 2,4-D bobot basah kalus makin menurun.

Tingginya bobot basah kalus pada penambahan 0,5 ppm 2,4-D itu menandakan bahwa konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang tepat dalam menginduksi kalus, dimana pada konsentrasi ini eksplan mampu untuk tumbuh dengan optimum dan mampu melakukan pembelahan sel yang sangat tinggi. Kalus yang terbentuk pada penambahan 0,5 ppm 2,4-D merupakan kalus yang volume selnya banyak karena mempunyai bobot basah yang paling tinggi.

Secara fisiologis auksin berperan dalam mendorong pembesaran dan pemanjangan sel. Jadi, dengan semakin besar dan panjang sel maka akan dapat meningkatkan bobot basah kalus. Menurut Setiawan (2001, dalam Pasaribu, 2004; 28) bobot basah kalus menggambarkan biomassa jaringan yaitu hasil sintesis dan kandungan air dalam jaringan, sehingga dapat juga dilihat peran auksin yang mampu untuk mendorong pembesaran dan pemanjangan sel, maka bobot basah kalus yang akan dihasilkan semakin meningkat.

Pada perlakuan C, D, E dan F bobot basah kalus makin menurun. Hal ini disebabkan karena konsentrasi 2,4-D yang diberikan cukup tinggi sehingga menghambat pembelahan sel. Salisbury dan Ross (1991: 50) menyatakan bahwa 2,4-D merupakan herbisida jika berada dalam konsentrasi yang tinggi dan mempunyai pengaruh yang lebih besar terhadap tanaman dikotil daripada tanaman monokotil.

4. Persentase Warna dan Struktur Kalus

Tabel 4. Persentase Warna Kalus dengan Penambahan 2,4-D secara In-Vitro pada minggu Keenam Setelah Tanam

Perlakuan	Kuning (%)	Kuning Kehijauan (%)	Hijau Kekuningan (%)	Hijau (%)
A. 0 ppm	-	-	-	-
B. 0,5 ppm	-	33,33	33,33	22,22
C. 1,0 ppm	22,22	11,11	33,33	33,33
D. 1,5 ppm	11,11	22,22	22,22	44,44
E. 2,0 ppm	11,11	33,33	-	55,55
F. 2,5 ppm	22,22	33,33	33,33	11,11

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa warna kalus pada umumnya adalah hijau. Perubahan warna pada kalus sudah mulai terlihat pada minggu ketiga. Pada perlakuan B, yaitu dengan penambahan 0,5 ppm 2,4-D, warna kalus yang dominan adalah warna hijau kekuningan dan kuning kehijauan. Awalnya kalus berwarna hijau, baru pada minggu ketiga warna kalus berubah dari hijau menjadi hijau kekuningan dan kuning kehijauan.

Pada perlakuan C, dengan penambahan 1,0 ppm 2,4-D, warna kalus yang dominan adalah warna hijau dan hijau kekuningan. Pada perlakuan D, dengan penambahan 1,5 ppm 2,4-D dan E, dengan penambahan 2,0 ppm 2,4-D warna kalus yang dominan adalah warna hijau, sedangkan pada perlakuan F, dengan penambahan 2,5 ppm 2,4-D warna kalus yang dominan adalah warna hijau kekuningan dan kuning kehijauan.

Dari hasil penelitian ini kalus yang baik untuk di subkultur adalah yang berwarna hijau kekuningan dan kuning kehijauan. Sesuai dengan yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984: 490) bahwa kalus yang berwarna hijau kekuningan dan kuning kehijauan sangat baik untuk di subkultur.

Wiendi, dkk (1991: 79) menyatakan bahwa terbentuknya warna hijau pada kalus merupakan awal terjadinya morfogenesis. Jika adanya morfogenesis berarti kalus bisa mengalami organogeneis. Selain dari itu, Santoso dan Nursandi (2003: 128) menyatakan bahwa kalus yang berwarna hijau menandakan bahwa pada kalus tersebut terdapat klorofil yang nantinya akan melakukan fotosintesis.

Tabel 5. Persentase Struktur Kalus dengan Penambahan 2,4-D secara In- Vitro pada Minggu Keenam Setelah Tanam

Perlakuan	Renyah (%)	Kompak (%)
A. 0 ppm	-	-
B. 0,5 ppm	11,11	88,88
C. 1,0 ppm	11,11	88,88
D. 1,5 ppm	11,11	88,88
E. 2,0 ppm	11,11	88,88
F. 2,5 ppm	33,33	66,66

Pengamatan terhadap struktur kalus dilakukan secara visual pada minggu keenam setelah tanam. Struktur kalus pada umumnya adalah kompak. Struktur kalus yang kompak ini merupakan eksplan yang baik digunakan untuk subkultur. Kalus tipe kompak yang telah disubkultur tiga kali akan mampu membentuk organ seperti daun (Wiendi, dkk, 1991: 98).

Bentuk, struktur, warna dan kemampuan morfogenesis serta diferensiasi kalus tergantung pada usia jaringan yang digunakan sebagai eksplan (George dan Sherrington, 1984: 392).

KESIMPULAN

1. Penambahan 2,4-D secara in-vitro terhadap tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dapat menginduksi kalus.
2. Penambahan 0,5 ppm 2,4-D menghasilkan bobot basah kalus tertinggi yaitu 3,335 g.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

George, E. F and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture.* Exegetics Limited. England

Hendaryono, D dan A. Wijayanti. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif Modern.* Kanisius. Yogyakarta

Hidayat, D. 2005. *Biodisel Biji Jarak,* (online). (http://cdc eng. ni. Id/ article/ article view/3241/1/2, diakses 7 Mei 2006)

Katuuk, J. R.. P. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman.* Departemen pendidikan dan kebudayaan. Proyek Pendidikan Tinggi Tenaga Kependidikan. Jakarta

3 40/Hd/2009-1,(1) 581 LEI i.1

Kyte, L dan J. Kleyn. 1996. *Plant From Test Tubes An Introduction to Micropropagasi.* Timber Press. Portland, Oregon

Lasni, F. 2005. Induksi Kalus dari Beberapa Jenis Eksplan Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Menggunakan 2,4-D secara In- Vitro. *Skripsi.* Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang

Maftuchah, A. Zainudin. H. K. Ardiana dan J. B. Sulistiyanto. 1997. Callus Induction of Artemisia (*Artemisia vulgaris* L.) Through In-vitro Culture. Dalam Umar (Eds). *Proceedings of The Indonesian Biotechnology Conference.* (hlm.463-473).Bandung

Novrita. 2006. Induksi Kalus Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada Media MS, B5 dan WPM dengan Berbagai Konsentrasi 2,4-D secara In- Vitro. *Skripsi.* Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang

Pasaribu, A. S. 2004. Induksi Kalus Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Beberapa Konsentrasi 2,4-D secara In- Vitro. *Skripsi.* Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang

Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro Culture of Figher Plant.* Martinus Nickhoff Pulb. Dordoct. Nederland

Salisbury, F. B dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan.* Institut Teknologi Bandung. Bandung

Santoso, U dan F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman.* Universitas Muhamadiyah Malang Press. Malang

Sudradjat. 2006. *Memproduksi Biodisel Jarak Pagar.* Penebar Swadaya. Jakarta

Thepsambran, N, Thepsithar, C dan Thoy-pukdee, A. *In vitro Multiple Shoot Induction of Physic nut (Jatropha curcas)*, (Online), (http://www. Departemant of Biology Faculty of Science Silpahorn University Thailand, diakses tanggal 1 Desember 2006)

Widhowati, S. I. 1995. Induksi Jaringan Daun Kulit Manis dengan Penambahan 2,4-D dan BA pada Medium MS dalam Menghasilkan Kalus. *Skripsi.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Padang

Wiendi, N. M. A., G. A. Wattimena, dan L. W. Gunawan. 1991. *Bioteknologi Tanaman.* Pusat Antar University Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor

Wiguna, I. 2006. *Sejuta Bibit dari Tangan Ganesa*, (Online). (http://www. ristek. Go. Id / indek.php? mod = News & conf = v & id = 972, diakses tanggal 16 Mei 2006

UNIV. NEGERI PADANG