



***In-Vitro* Effect of Combined Indole Butyric Acid (IBA) and Benzil Amino Purine (BAP) on the Planlet Growth of *Jatropha curcas* L.**

M. Satria Fitri, Zairin Thomy, Essy Harnelly

Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, 23111, Indonesia

Abstract. Research on combination of *Indole Butyric Acid* (IBA) and *Benzil Amino Purine* (BAP) to the shoot and root growth of physic nut (*Jatropha curcas* L.) has been done in Biology Department Syiah Kuala University from June to Oktober 2007. This research used a complete randomized factorial design with 2 factors namely 0,01 mg/L, 0,05 mg/L, 0,1 mg/L, and 0,5 mg/L and BAP (0,5 mg/L and 1,0 mg/L) with 3 times repetitions. The result after 3 months showed that the combination IBA and BAP could not able to stimulate the formation of shoot and root in the tissue culture of physic nut.

Keywords: *Indole butyric acid, benzyl amino purine, jarak pagar, planlet growth.*

I. PENDAHULUAN

Tumbuhan jarak pagar termasuk ke dalam familia Euphorbiaceae. 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.). Diantara jenis tanaman jarak tersebut yang berpotensi menghasilkan minyak bakar (*biofuel*) adalah jarak pagar [5].

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman yang tumbuh liar atau di tanam penduduk sebagai tanaman pagar. Tanaman ini dapat tumbuh baik di tanah yang tidak bergitu subur dan beriklim panas, dari dataran rendah hingga ketinggian 300 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini berasal dari Amerika tropis dan sekarang tersebar di beberapa negara tropis, termasuk Indonesia [9].

Biji jarak mampu menghasilkan minyak campuran untuk solar. Selain dari jarak pagar, pada dasarnya minyak yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan dapat dijadikan bahan campuran solar, misalnya kelapa sawit atau kedelai. Solar yang dicampur dengan minyak nabati menghasilkan pembakaran yang lebih sempurna daripada solar murni sehingga emisi lebih aman bagi lingkungan.

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 [7].

Sel yang berasal dari spesies tanaman apapun dapat dibiakkan atau dikulturkan secara aseptik dalam media buatan, baik media padat (agar) atau media cair. Kultur jaringan biasanya dimulai dengan menanamkan satu iris jaringan steril pada media buatan yang dapat berupa padat ataupun cair, dalam waktu 2 – 3 minggu akan dapat terbentuk 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 [11].

Keberhasilan dalam penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikultur [11]. Faktor penentu di dalam media tumbuh adalah komposisi garam anorganik, ZPT dan bentuk fisik media [2]. Banyak jenis media yang digunakan untuk kultur kalus, namun yang paling banyak digunakan adalah media

Murashige dan Skoog (MS, 1962). Kandungan garam-garam dalam media MS tersebut antara lain hara Nitrogen dalam bentuk NO_3 , NH_4 , serta terdapat gula dan vitamin [6].

Zat pengatur tumbuh adalah hormon tumbuhan yang dapat memacu pertumbuhan sel-sel atau jaringan tertentu dari sel-sel kalus yang belum terdiferensiasi [8]. ZPT berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Faktor penting dalam penggunaan ZPT antara lain; jenis, konsentrasi dan urutan penggunaan ZPT serta lama waktu induksi tanaman pada media yang mengandung ZPT [2]. Ada beberapa jenis ZPT yaitu; auksin, giberelin, sitokinin, dan adenin, namun yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin [6].

Sejauh ini penelitian yang telah dilakukan di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala dengan mengkombinasikan zat pengatur tumbuh auksin berupa *Naftalene Acetic Acid* (NAA) dan sitokinin yaitu *Benzil Amino Purine* (BAP) pada kultur jaringan pucuk tanaman jarak pagar hanya mampu memicu pembentukan kalus.

Namun demikian penelitian kultur epikotil tanaman jarak pagar yang dilakukan di Cina dengan mengkombinasikan *Indole Butyric Acid* (IBA) dan BAP mampu memicu pembentukan tunas dan akar. Berdasarkan permasalahan tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh *Indole Butyric Acid* (IBA) dan *Benzil Amino Purine* (BAP) terhadap pertumbuhan planlet tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) secara *in vitro*.

II. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet*, autoklaf, kulkas, timbangan analitik, lampu spiritus, pinset, skalpel, spatula, pH meter, corong, pipet tetes, Erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 500 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 5 ml, batang pengaduk, botol kultur, botol alkohol, *sprayer*, *shaker*, masker dan alat alat lainnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alkohol 95% dan 70%, *Bayclin*, deterjen, ZPT (Auksin dan sitokinin), aluminium foil, dan media Murashige dan Skoog (MS) yang dikembangkan pada tahun 1962, dengan komposisi seperti tertera pada lampiran.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Faktorial dengan 2 faktor, yaitu 1) Auksin (IBA) terdiri dari 4 taraf (0,01 mg/l, 0,05 mg/l, 0,1 mg/l, dan 0,5 mg/l) dan 2) Sitokinin (BAP) terdiri dari 2 taraf (0,5 mg/l, 1,0 mg/l), sehingga penelitian ini mempunyai 8 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan.

Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang tahan panas dan akuades disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit dan yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%. Media MS yang akan digunakan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media

1. Pembuatan Larutan Stok Hara

Stok hara terdiri dari stok hara makro yaitu stok A, B, C, D, E, F dan stok hara mikro yaitu stok G (lampiran 1). Larutan stok hara 1 liter dibuat dengan cara menimbang setiap garam mineral sesuai dengan jumlah yang terdapat pada Lampiran 1. Masing-masing bahan dilarutkan ke dalam 600–700 ml akuades steril yang telah diisikan ke dalam wadah yang disediakan. Stok yang komposisinya lebih dari 1 jenis garam mineral seperti stok F dan G dilarutkan secara terpisah dengan akuades steril, kemudian dicampur dalam satu wadah. Setelah bahan kimia larut dan tercampur sempurna volume ditepatkan hingga 1 liter dengan menambah akuades steril.

Khusus untuk larutan stok F, setelah Na_2EDTA dimasukkan ke dalam 200 ml akuades steril, kemudian dipanaskan pada suhu $40\text{--}60^\circ\text{C}$ hingga larut dan setelah dingin ditambahkan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang telah dilarutkan dengan akuades steril. Setelah kedua bahan dicampurkan volume ditepatkan hingga 1 liter dengan menambah akuades steril, kemudian wadah larutan stok F ditutup dengan Aluminium foil. Semua stok disimpan dalam lemari pendingin.

2. Pembuatan Larutan Stok Vitamin

Bahan yang telah ditimbang sesuai dengan jenis dan jumlah yang terdapat pada Lampiran 1 (stok H, I dan J) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml yang telah berisi 25 ml akuades steril.

3. Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

- a. Stok Auksin
Ditimbang 100 mg, dilarutkan ke dalam 70 ml akuades steril, diaduk sambil ditetesi sedikit larutan KOH 1 N dan ditepatkan volumenya hingga 100 ml dengan menambah akuades steril, disimpan dalam lemari pendingin.
- b. Stok Sitokinin
Ditimbang 100 mg, dilarutkan ke dalam 70 ml akuades, diaduk sambil ditetesi HCl 1 N dan ditepatkan volumenya hingga 100 ml dengan menambah akuades steril, disimpan dalam lemari pendingin

4. Pembuatan dan Sterilisasi Media
Disiapkan larutan gula setelah semua larutan stok dimasukkan, ditambahkan 8 g agar-agar, pH diusahakan 6,0 sebelum disterilkan, untuk mendapatkan pH yang sesuai ditambahkan KOH 1 N atau HCL 1 N, media dipanaskan dan dituang ke dalam botol-botol kultur setinggi 1,5–2 cm, botol ditutup rapat dengan aluminium foil. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril disimpan selama 3 hari, bila tidak terkontaminasi maka media dapat digunakan.

Sterilisasi Eksplan

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 *bayclin* 5% dan dicuci sebanyak 3 kali dengan akuades steril.

Penanaman Eksplan

Eksplan yang sudah disterilkan, selanjutnya ditanam pada botol berisi media MS secara aseptik dengan bantuan pinset (1 eksplan dalam satu botol). Botol berisi eksplan kemudian disimpan dalam ruang inkubasi pada suhu 25°C dengan pencahayaan lampu TL selama 24 jam.

Parameter yang Diamati

Waktu Pembengkakan Eksplan, Waktu kemunculan tunas, Jumlah tunas yang terbentuk, dan jumlahakar yang terbentuk

Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANAVA). Apabila data analisis varian menunjukkan perbedaan pada tingkat kepercayaan 95%, maka akan dilakukan uji lanjutan melalui BNT.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

WaktuPembengkakanEksplan

Auksin dan sito kinin merupakan jenis hormon yang dapat menyebabkan terjadinya pembengkakan pada jaringan eksplan. Analisis sidik ragam menunjukan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh *Indole Butyric Acid* (IBA) dan *Benzil Amino Purine* (BAP) tidak berpengaruhnya ta terhadap waktu pembengkakan eksplan. Eksplan pada seluruh kombinasi rata-rata mulai mengalami pembengkakan 4-5 hari setelah tanam (hst) (Tabel 1).

Pembengkakan yang terjadi pada eksplan merupakan suatu proses pertumbuhan awal akibat penyerapan air dannutrisidari media yang selanjutnya disertai dengan tahap anproliferasi (perbanyakkan sel). Proses ini sesuai dengan pernyataan Salisbury dan Ross bahwa sel tumbuha nmiliki kemampuan untuk menyerap air dan unsur hara sehingga menyebabkan terjadinya pertambahan ukuran dan jumlah sel yang pada akhirnya menyebabka nterjadinya pembengkakan jaringan.

Tabel1. Rerata waktu pembengkakan eksplan setelah diinkubasi pada media yang diperkaya dengan ZPT (IBA, BAP)

No	Perlakuan (mg/L)	WaktuPembengkakan (hst)
1	IBA 0,01	5,00
2	IBA 0,05	5,00
3	IBA 0,10	4,33
4	IBA 0,50	5,33
5	IBA 0,01	4,66
6	IBA 0,05	5,33
7	IBA 0,10	5,66
8	IBA 0,50	5,00

Waktu Kemunculan Kalus

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kombinasi auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) berpengaruh sangatnya ta terhadap waktu munculnya kalus (P < 0,01). Rata-rata waktu

munculnya kalus pada tiap perlakuan, dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini,

Tabel 2. Rerata waktu kemunculan kalus setelah diinkubasi pada media yang diperkaya dengan ZPT (IBA, BAP).

No.	Perlakuan (mg/L)	WaktuKemunculanKalus (hst)
1	IBA 0,01+ BAP 0,50	15,00 ^b
2	IBA 0,05+ BAP 0,50	17,00 ^c
3	IBA 0,10+ BAP 0,50	13,33 ^b
4	IBA 0,50 + BAP 0,50	12,66 ^a
5	IBA 0,01+ BAP 1,00	13,00 ^a
6	IBA 0,05+ BAP 1,00	11,66 ^a
7	IBA 0,10 + BAP 1,00	11,66 ^a
8	IBA 0,50+ BAP 1,00	12,00 ^a

Keterangan: Angka yang diikutihuruf yang sama Dalam satu kolom menunjukkan tidak berbedanya ta pada uji BNT 1%

Hasil penelitian menunjukkan waktu pembentukan kalus tercepat yaitu 11,66 hst (Tabel 2) terjadi pada eksplan yang dikulturkan pada media dengan penambahan kombinasi 0,05 mg/L dan 0,01 mg/L IBA dengan 1,00 mg/L BAP. IBA yang merupakan senyawa auksin menyebabkan terjadinya proses kelenturan dinding sel yang diikuti proses masuknya air ke dalam sel sehingga sel akan membengkak. BAP yang merupakan senyawa sito kinin akan menyebabkan terjadinya peristiwa sito kinesis sehingga jumlah sel akan bertambah.

Keseluruhan proses inilah yang mengakibatkan terbentuknya kalus pada eksplan. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Campbell *et.al*, jika sitokinin dan auksin digunakan secara bersamaan pada konsentrasi yang berimbang, makasel-sel akan membelah diri dan membentuk kalus yang belum mengalami diferensiasi.

Pertumbuhan kalus diawali dari bagian pinggir eksplan dan dilanjutkan pada bagian luka eksplan yang bersentuhan langsung dengan media. Kalus yang tumbuh pada tiap perlakuan

memiliki tekstur yang hamper sama (membulat dan keras) dengan warna hijau (Gambar 1).

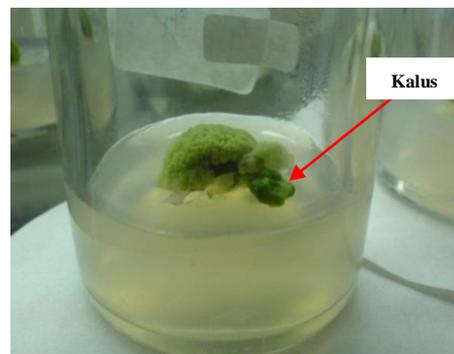
Kalus berwarna hijau dikarenakan sumber eksplan yang digunakan adalah pucuk tanaman jarak pagar yang masih berwarna hijau. Di duga warna hijau pada kalus yang pertama terbentuk disebabkan kalus masih membawa sifat asli eksplan.



Gambar 1. Bentuk kalus yang tumbuh setelah 6 minggu penanaman pada media

Jumlah Tunas yang Muncul

Berdasarkan hasil pengamatan, tunas hanya muncul dalam satu perlakuan, yaitu pada kombinasi 0,10 mg/L IBA dan 0,50 mg/L BAP. Tunas yang muncul di duga bukan berasal dari diferensiasi sel kalus melainkan dari tunas ketiak yang ikut terambil pada saat penanaman eksplan. Hal inidi pengaruhi oleh keberadaan sitokinin (BAP), dimana sesuai dengan pernyataan[9] bahwa pengaruh sitokinin dalam kultur jaringan tanaman antara lain berhubungan dengan proses pembelahan sel, profil erasi tunas ketiak dan penghambatan pertumbuhan akar. Tunas yang muncul setelah 9 minggu setelah hari penanaman pada media dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. Tunas ketiak yang tumbuh setelah 9 minggu penanaman pada media

Jumlah Akar yang Muncul

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) pada eksplan tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) tidak memberikan pengaruh terhadap pembentukan akar. Hal ini diduga karena belum tepatnya konsentrasi antara kedua jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan

1. Kombinasi Auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) berperan terhadap pertumbuhan dan perkembangan kalus tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).
2. Kombinasi Auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) tidak berpengaruh terhadap waktu pembengkakan kalus dan berpengaruh terhadap waktu munculnya kalus.
3. Kombinasi Auksin (IBA) dan Sitokinin (BAP) pada penelitian ini tidak mampu memicu pembentukan tunas dan akar tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

DAFTAR PUSTAKA

1. E. Hambali, A. Suryani, D. Hariyadi, H. Hanafie, I.K. Reksowardojo, M. Rivai, M. Ihsanur, P. Suryadarma, S. Tjitrosemito, T.H. Soerawidjaja, T. Prawitasari, T. Prakoso dan W. Purnama, 2006, *Jarak Pagar-Tanaman Penghasil Biodiesel*. PT. Penebar Swadaya, Jakarta.
2. I. Dwimahyani, 2005, *Pemuliaan Mutasi Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas)*, Petir Batan, Jakarta.
3. E. G. Giwangkara, 2006, *Jarak Pagar Lebih Fleksibel dari Kelapa Sawit*. [http://](http://persembahanku.wordpress.com/2006/10/28/jarak-pagar-lebih-fleksibel-dari-kelapa-sawit.htm)

persembahanku.wordpress.com/2006/10/28/jarak-pagar-lebih-fleksibel-dari-kelapa-sawit.htm. Diakses tanggal 10 Maret 2007

4. A. Nugroho dan H. Sugito, 2005, *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
5. E. Sinaga, 2002, *Jatropha curcas* L. [http://www.iptek-apjii.or.id/artikel/tgtanam-obat/unas/jarak %20pagar.pdf](http://www.iptek-apjii.or.id/artikel/tgtanam-obat/unas/jarak%20pagar.pdf). Diakses tanggal 10 Maret 2007.
6. Hariyadi. 2005. *Budidaya Tanaman Jarak (Jatropha curcas) Sebagai Sumber Bahan Alternatif Biofuel*. [http://www.ristek.go.id/Kementerian Negara Riset dan Teknologi.htm](http://www.ristek.go.id/Kementerian%20Negara%20Riset%20dan%20Teknologi.htm), 17-10-2005. Diakses tanggal 10 Maret 2007
7. C.G.J. van Stennis, 1975, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Terjemahan dari Flora oleh Moeso Sarjowinoto. Pradnya Paramita, Jakarta.
8. G. Tjitrosoepomo, 1989, *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
9. G. A. Wattimena, 1992, *Bioteknologi Tanaman*. DEPDIKBUD, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB, Bogor.
10. L.W. Gunawan, 1995, *Teknik Kultur Invitro Dalam Hortikultura*. PT.Penebar Swadaya, Jakarta.
11. J.R.P. Katuuk, 1989, *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. DEPDIKBUD, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan, Jakarta.