

Pengaruh Komposisi Media dan Sumber Eksplan Terhadap Induksi Kalus, Perkecambahan, dan Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik Jarak Pagar

The Influence of Media Composition and Explant Source on Callus Induction, Germination and Development of Somatic Embryos of *Jatropha*

Tantri Dyah Ayu Anggraeni, Emy Sulistyowati, dan Rully Dyah Purwati

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat
Jln. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang
e-mail: tantri210@yahoo.com

Diterima: 15 Agustus 2012 disetujui: 29 Oktober 2012

ABSTRAK

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati sebagai bahan baku bio-diesel. Selama ini, kebutuhan bahan tanam diperoleh dari benih dan setek. Teknik mikropropagasi khususnya melalui embriogenesis somatik merupakan alternatif untuk penyediaan bahan tanam dalam jumlah besar dengan waktu relatif lebih singkat. Jenis eksplan, genotipe, dan kondisi fisiologis tanaman donor serta jenis dan kondisi fisik medium merupakan faktor utama yang mempengaruhi keberhasilan embriogenesis somatik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui eksplan dan komposisi media yang tepat untuk induksi kalus embriogenesis somatik, perkecambahan embrio somatik dan pertumbuhan tunas hasil embriogenesis somatik. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat mulai bulan April sampai dengan November 2011, meliputi tiga tahap, yaitu 1) menguji komposisi media untuk induksi kalus embriogenesis somatik antara lain M1=MS+0,5 mg/l BAP+0,5 mg 2,4 D; M2= MS+1 mg/l BAP +0,5 mg/l 2,4 D; M3= MS+0,5 mg/l BAP+0,2 mg/l TDZ, dan M4= MS+1 mg/l BAP+0,2 mg/l TDZ; 2) menguji komposisi media untuk induksi perkecambahan embrio somatik antara lain MK1= MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l NAA dan MK2= MS+0,5 mg/l BAP+0,4 mg/l IBA; dan 3) menguji komposisi media untuk pertumbuhan tunas embrio somatik antara lain MP1= MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l IBA dan MP2= MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l IAA. Bahan tanam yang digunakan adalah genotipe IP-3A dan IP-3M dengan sumber eksplan kotiledon dan daun. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi MS+0,5 mg/l BAP+0,2 mg/l TDZ dengan sumber eksplan kotiledon paling sesuai untuk induksi kalus embriogenesis somatik. Genotipe IP-3M memiliki respon yang lebih baik dibanding IP-3A dan stabil dari tahap induksi kalus embriogenesis somatik, induksi perkecambahan embrio somatik, dan pertumbuhan tunas embrio somatik.

Kata kunci: Embriogenesis somatik, komposisi media, zat pengatur tumbuh, induksi

ABSTRACT

Jatropha (*Jatropha curcas* L.) is an oil producing plants as source of bio-diesel. Planting materials usually are obtained from seeds and stem-cuttings. Micro-propagation techniques especially through somatic embryogenesis is an alternative to provide a large number of planting material in a relatively short time. Explant sources, genotype and physiological conditions of donor plants, also composition and physical condition of medium are the main factors affecting the successful of somatic embryogenesis. The study was conducted to determine the most suitable combination of explant and media composition for embryogenic calli induction, somatic embryo germination, and shoots growth derived from somatic embryogenesis. The experiment was conducted in the Tissue Culture Laboratory, of Indonesian Sweetener and Fiber Crops Research Institute from April to November 2011 covering three phases: 1) testing media composition to induce somatic embryogenic calli i.e. M1=MS+0.5 mg/l BAP+0.5 mg 2.4 D; M2 = MS+1 mg/l BAP+0.5 mg/l 2.4 D; M3 = MS+0.5 mg/l BAP+0.2 mg/l TDZ and M4 = MS+1 mg/l BAP+ 0.2 mg/l TDZ; 2) testing media composition to induce somatic embryo germination i.e. MK1 = MS+0.5 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA and MK2 = MS+0.5 mg/l

BAP+0.4 mg/l IBA; and 3) testing media composition to induce somatic embryo shoot growth i.e. MP1 = MS+0.5 mg/l BAP+0.1 mg/l IBA and MP2= MS+0.5 mg/l BAP+0.1 mg/l IAA. Plant material used are genotype IP-3A and IP-3M with cotyledone and leaf as explant sources. The results showed that combination of MS+0.5 mg/l BAP+0.2 mg/l TDZ and cotyledons as explants source is the most suitable for somatic embryogenic calli. IP-3M genotype showed a better response to IP-3A and stable from induction of somatic embryogenic calli, somatic embryo germination, and somatic embryo shoots growth.

Keywords: Somatic embryogenesis, media composition, plant growth regulator, induction

PENDAHULUAN

JARAK pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati untuk bahan baku bio-diesel. Saat ini, bahan tanam yang digunakan adalah benih atau setek, sehingga apabila kebutuhan bahan tanam dalam program pengembangan cukup banyak, akan terjadi masalah dalam pemenuhannya. Oleh karena itu, diperlukan teknologi perbanyakan masal bahan tanam jarak pagar.

Teknik mikropropagasi secara kultur *in vitro* merupakan alternatif dalam penyediaan bahan tanam dalam jumlah besar dengan waktu relatif lebih singkat, karena teknik tersebut mampu menghasilkan bahan tanam dengan multiplikasi yang tinggi. Pada tanaman abaka, multiplikasi mencapai 1:10 setiap 3 bulan atau sekitar 1.000.000 planlet dalam waktu 20 bulan (Mariska & Sukmadjaja 2006). Untuk tanaman jarak pagar, multiplikasi tunas mencapai 1:13 dalam waktu 4–5 bulan (Purwati et al. 2007). Kultur *in vitro* jarak pagar dapat dilakukan melalui berbagai cara yaitu induksi kalus, induksi tunas adventif, maupun teknik embriogenesis somatik.

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses sel somatik baik haploid maupun diploid berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Purnamaningsih 2002). Embrio somatik yang berasal dari kultur sel, jaringan, atau organ dapat terbentuk secara langsung atau tidak langsung. Embrio somatik yang terbentuk secara langsung meliputi pembentukan embrio tanpa melalui pembentukan kalus, sedangkan embrio yang terbentuk secara tidak langsung adalah pembentukan embrio melalui fase kalus (Jimenez 2001; Dixon

dalam Utami et al. 2007). Embriogenesis somatik mempunyai beberapa tahap spesifik, yaitu induksi sel dan kalus embriogenik, pendewasaan, perkecambahan, dan *hardening* (Purnamaningsih 2002).

Keberhasilan embriogenesis somatik dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya adalah jenis eksplan, genotipe tanaman donor, kondisi fisiologis tanaman donor, jenis dan kondisi fisik medium, lingkungan kultur, dan zat pengatur tumbuh (Zhang et al. 2001; Gill et al. 2004). Pada tahap induksi kalus embriogenik dibutuhkan media yang mengandung auksin dengan konsentrasi tinggi. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk induksi kalus embriogenik pada jarak pagar (Soomro & Memon 2007; Cai et al. 2011) dan pada beberapa tanaman lain seperti tebu (Gill et al. 2004; Khan & Khatri 2006), kopi arabika (Oktavia et al. 2003) dan tanaman kurma (Aslam et al. 2011). Selain auksin, zat pengatur tumbuh (ZPT) lain yang berperan dalam induksi kalus embriogenesis adalah sitokinin pada kultur jarak pagar (Jha et al. 2007), TDZ pada kultur tanaman sereal (Schulze 2012), atau kombinasi beberapa zat pengatur tumbuh (Haq 2005; Qayyum et al. 2006). Pada tahap perkecambahan dan pertumbuhan tunas juga dibutuhkan media dengan kombinasi zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang tepat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji beberapa komposisi media dan sumber eksplan yang tepat untuk induksi kalus, perkecambahan, dan pertumbuhan tunas jarak pagar yang dihasilkan dari embriogenesis somatik. Hasil pengujian tersebut selanjutnya digunakan sebagai metode perbanyakan bibit jarak pagar secara massal melalui kultur jaringan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat mulai bulan April sampai dengan November 2011. Bahan tanam yang digunakan adalah jarak pagar genotipe IP-3A dan IP-3M. Penelitian meliputi beberapa tahap sebagai berikut:

Induksi Kalus Embriogenesis Somatik

Penelitian untuk menginduksi kalus embriogenesis somatik menguji empat kombinasi media dan sumber eksplan yang disusun dalam rancangan acak lengkap diulang 3 kali. Masing-masing ulangan terdiri atas 10 botol kultur ukuran 70 ml.

Sumber eksplan adalah kotiledon dan daun jarak pagar IP-3A dan IP-3M. Eksplan kotiledon berasal dari benih jarak pagar yang dikecambahkan secara steril. Benih jarak pagar dicuci terlebih dahulu dengan air yang mengalir kemudian direndam dalam larutan alkohol 90% selama 10 menit, larutan desinfektan NaOCl 30% selama 30 menit, dan dibilas dengan air destilata steril selama 3x5 menit. Kemudian benih ditanam dalam media pasir steril. Setelah benih berkecambah dan berumur 1–2 minggu kotiledon dipotong secara steril dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dan ditanam dalam media yang diuji. Sedangkan eksplan daun berasal dari tanaman jarak pagar di rumah kaca dan telah disterilisasi. Sterilisasi daun dilakukan dengan mencuci daun dengan air yang mengalir, kemudian berturut-turut daun direndam dalam larutan air destilata+tween 20 selama 5 menit, larutan fungisida Benomyl 2 gram/l selama 15 menit, larutan rifampicin 600 mg/l selama 15 menit, larutan desinfektan NaOCl 20% selama 10 menit, TDZ dan dibilas dengan air destilata steril selama 3x5 menit.

Media dan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS), ZPT *Benzil Amino Purine* (BAP), ZPT *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), ZPT *Thidiazuron* (TDZ), ZPT *Indole Butyric Acid* (IBA), ZPT *Naphtalene*

Acetic Acid (NAA), dan ZPT *Indole Acetic Acid* (IAA). Adapun 4 macam komposisi media yang diuji yaitu M1=MS+0,5 mg/l BAP+0,5 mg 2,4 D; M2= MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l 2,4 D; M3= MS+0,5 mg/l BAP+0,2 mg/l TDZ; dan M4= MS+1 mg/l BAP+ 0,2 mg/l TDZ.

Pengamatan meliputi skoring potensi embriogenesis, yaitu skor:

- 0: 0%
- 1: 0,01–2,99%
- 2: 3,00–4,99%
- 3: 5,00–24,99%
- 4: 25,00–49,99%
- 5: ≥ 50%

Dengan skoring tersebut di atas dihitung indeks embriogenesis somatik (IE) menggunakan rumus sbb.:

$$IE = \frac{x(R_1)(M_1) + x(R_2)(M_2) + x(R_x)(M_x)}{n}$$

n= jumlah eksplan, R= skoring embriogenesis, M= % kalus yang terbentuk dan dapat dipelihara, dan x= jumlah eksplan dengan rating 0, 1, 2, dst. Data yang diperoleh akan dianalisis berdasarkan analisis sidik ragam menggunakan F hitung dengan tingkat kepercayaan 5%. Perbandingan antarperlakuan dilakukan menggunakan uji BNT. Pengamatan juga dilakukan pada persentase eksplan berkalus dan berkalus embriogenik.

Induksi Perkecambahan Embrio Somatik

Pada 8 minggu setelah tanam, kalus yang terbentuk pada percobaan induksi kalus embriogenesis somatik disubkultur ke media induksi perkecambahan embrio somatik yang terdiri atas dua komposisi media yaitu MK1= MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l NAA dan MK2= MS+0,5 mg/l BAP+0,4 mg/l IBA (Purnamaningsih 2002; Cai *et al.* 2011; Aslam *et al.* 2011). Dari tiap kombinasi perlakuan media dan eksplan pada percobaan induksi kalus embrio somatik disubkultur ke 10 botol kultur ukuran 70 ml. Pengamatan dilakukan pada persentase embrio somatik berkecambah dan kecepatan berkecambah pada 8 minggu setelah subkultur.

Tahap Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik

Pada 8 minggu setelah subkultur ke media induksi perkecambahan kalus, kecambah/tunas yang diperoleh disubkultur ke media pertumbuhan tunas yang terdiri atas dua komposisi media yaitu MP1=MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l IBA dan MP2=MS+0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l IAA. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah tunas pada 9 minggu setelah subkultur ke media pertumbuhan tunas, pertambahan tinggi tunas, dan jumlah daun. Pertambahan tinggi tunas dan jumlah daun diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Pertambahan tinggi tunas = tt akhir – tt awal

Pertambahan jumlah daun = jd akhir – jd awal

Keterangan:

tt akhir=tinggi tunas pada 13 minggu setelah subkultur di media pertumbuhan tunas

tt awal=tinggi tunas pada 9 minggu setelah subkultur di media pertumbuhan tunas

jd akhir=jumlah daun akhir pada 13 minggu setelah subkultur di media pertumbuhan tunas

jd awal=jumlah daun awal pada 9 minggu setelah subkultur di media pertumbuhan tunas

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus Embriogenesis Somatik

Hasil penelitian menunjukkan kedua klon jarak pagar IP-3A dan IP-3M memiliki respon sama terhadap pembentukan kalus embriogenesis somatik. Eksplan kotiledon mampu membentuk kalus lebih tinggi dibanding eksplan

daun. Kalus embriogenesis somatik hanya terinduksi pada media MS dasar dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan TDZ, sedangkan BAP dan 2,4 D tidak dapat menginduksi pertumbuhan kalus (Tabel 1).

Pada Tabel 1 dapat ditunjukkan bahwa persentase kalus embriogenesis tertinggi dicapai pada perlakuan eksplan kotiledon yang ditanam pada media MS dasar dengan penambahan 0,5 mg/l BAP dan 0,2 mg/l TDZ, yaitu sebesar 33,33% dan 30% berturut-turut pada klon IP-3A dan IP-3M. Hal ini juga didukung dengan nilai IE yang tinggi pada kedua perlakuan tersebut. Selain itu juga dapat ditunjukkan bahwa perlakuan kombinasi eksplan kotiledon dengan media yang mengandung sitokinin (BAP) lebih tinggi (1 mg/l pada media M4) menyebabkan pembentukan kalus menjadi menurun. Pada eksplan daun yang terjadi adalah sebaliknya, peningkatan konsentrasi BAP meningkatkan pembentukan kalus. Dalam hal ini, kombinasi BAP dan TDZ menyebabkan pertumbuhan kalus embriogenik yang lebih baik dibandingkan kombinasi BAP dan 2,4-D (Tabel 1).

Meskipun dari berbagai hasil penelitian telah dilaporkan bahwa 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk induksi kalus embriogenik (Soomro & Memon 2007; Aslam *et al.* 2011; Cai *et al.* 2011), namun hasil tersebut tidak didapatkan pada penelitian ini. Warna cokelat pada eksplan diduga akibat dari konsentrasi 2,4-D pada media induksi terlalu tinggi sehingga bersifat toksik pada tanaman, karena 2,4-D mempunyai sifat fitotoksitas yang tinggi (Wattimena 1988). Kondisi ini diduga

Tabel 1. Pengaruh kombinasi media dan sumber eksplan terhadap persentase eksplan berkalus embriogenik dan nilai IE pada 8 MST

Kombinasi media dan sumber eksplan	IP-3A		IP-3M	
	Eksplan berkalus embriogenik	Indeks embriogenesis (IE)	Eksplan berkalus embriogenik	Indeks embriogenesis (IE)
Kotiledon-M1	0 b	0 b	0 b	0 c
Kotiledon-M2	0 b	0 b	0 b	0 b
Kotiledon-M3	33,33 a	0,4825 a	30,00 a	0,2497 a
Kotiledon-M4	26,67 a	0,0417 b	26,00 a	0,1225 ab
Daun-M1	0 b	0 b	0 b	0 c
Daun-M2	0 b	0 b	0 b	0 c
Daun-M3	6,67 ab	0,0032 b	20,00 ab	0,0483 bc
Daun-M4	10,00 ab	0,0350 b	20,00 ab	0,1617 ab

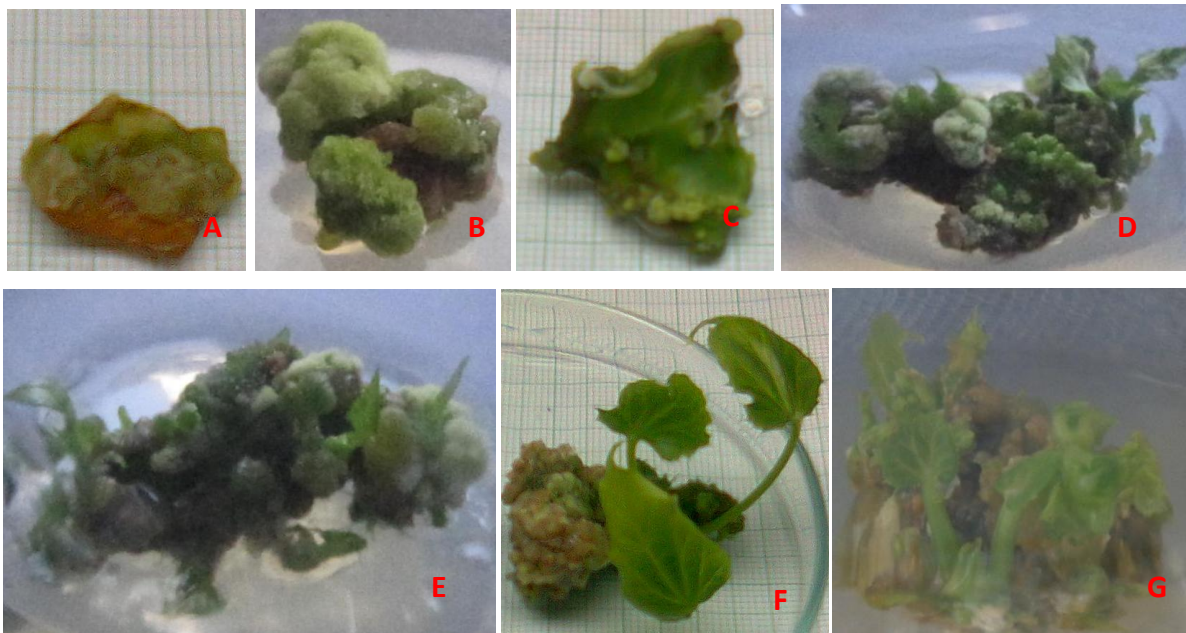
Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

dapat menghambat induksi rediferensiasi dan reinisiasi dari pembelahan sel sehingga sel tersebut tidak dapat mengekspresikan kompetensi embriogeniknya (Jimenez 2001). Hasil penelitian Cai *et al.* (2011) menunjukkan keberhasilan induksi somatik embriogenesis pada kultur jarak pagar menggunakan media yang mengandung 2,4-D yang konsentrasinya lebih rendah dari penelitian ini yaitu 0,1–0,2 mg/l.

Pada 2 minggu setelah tanam, eksplan yang ditanam pada media MS+BAP+2,4-D berubah warna menjadi cokelat. Pada umur 4 minggu mulai terbentuk kalus berwarna putih dari bekas perlukaan, namun eksplan tetap berwarna cokelat. Selanjutnya kalus menutupi permukaan eksplan dengan ciri-ciri kalus berstruktur padat dan kompak dengan permukaan yang halus (Gambar 1A dan B). Eksplan yang ditanam pada media MS dengan penambahan BAP dan TDZ tetap berwarna hijau dan membentuk kalus dengan struktur yang remah dengan bentuk-bentuk nodular yang mencirikan kalus yang bersifat embriogenik (Gambar 1C dan D). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Soomro & Memon (2007) pada tanaman

jarak pagar, Sie *et al.* (2010) pada tanaman rosela, dan Ghaemi *et al.* (2011) pada tanaman kapas.

Eksplan yang ditanam pada media induksi kalus yang mengandung BAP dan TDZ dapat menghasilkan kalus embriogenesis somatik. Kombinasi BAP dan TDZ pada media induksi kalus diduga menghasilkan ikatan *cytokinin binding protein* (CBP) yang memiliki dua reseptor sehingga lebih efektif dalam menginduksi pembelahan sel (Tefera & Wannakraij 2006). TDZ juga mampu memodifikasi sitokinin endogen sehingga menghasilkan reaksi pada kultur jaringan dalam mekanisme pembelahan dan regenerasi sel, serta menginduksi berbagai respon morfogenik dan ekspresi embriogenik (Visser *et al.* 1992; Deore & Johnson 2008; Guo *et al.* 2011). Selain itu, TDZ merupakan zat pengatur tumbuh yang efektif pada proses mikropopagasi berbagai spesies tanaman berkayu (Huetteman & Preece 1993; Lu 1993) dan untuk induksi kalus embriogenesis somatik pada berbagai spesies tanaman sereal (Schulze 2012).



Gambar 1. Perkembangan kalus pada kultur embrio somatik jarak pagar pada beberapa kombinasi media dan jenis sumber eksplan. (A dan B) Eksplan dan kalus yang ditanam pada media MS+BAP+2,4-D, (C dan D) Eksplan dan kalus yang ditanam pada media MS+BAP+TDZ, (E) Embrio somatik genotipe IP-3M dari eksplan kotiledon pada media induksi perkecambahan, (F) Tunas IP-3M pada media pertumbuhan tunas, dan (G) Tunas IP-3A pada media pertumbuhan tunas

Pada penelitian ini eksplan kotiledon lebih responsif untuk induksi kalus embriogenesis somatik dibandingkan eksplan yang berasal dari daun, dan hal ini sesuai hasil penelitian Kalimuthu *et al.* (2007). Hal ini diduga disebabkan eksplan kotiledon lebih bersifat meristematik dibanding daun. Penggunaan eksplan yang bersifat meristematik memberikan keberhasilan pembentukan embrio somatik yang lebih tinggi (Purnamaningsih 2002). Menurut Katuuk dalam Purwati (2010) jaringan meristematis yang memiliki pertumbuhan cepat atau berada pada tahap awal pertumbuhan sangat baik dipergunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan. Selain itu, jaringan tanaman yang masih muda memiliki daya regenerasi lebih tinggi dibandingkan jaringan tua, karena sel-selnya masih aktif membelah diri dan relatif mengandung sedikit kontaminan (Yusnita 2004).

Induksi Perkecambahan Embrio Somatik

Pada tahap induksi perkecambahan embrio somatik hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan respon genotipe. Genotipe IP-3M menunjukkan respon yang lebih baik pada semua parameter yang diuji dibandingkan IP-3A. Persentase perkecambahan embrio somatik IP-3M dapat mencapai 69,84–89,68%, sedangkan IP-3A hanya mencapai 19–30%. Selain itu, waktu yang dibutuhkan IP-3M untuk berkecambah juga lebih cepat yaitu 39–46 hari, sedangkan IP-3A membutuhkan waktu lebih dari 51 hari. Pengaruh kombinasi media yang diuji tidak berbeda nyata pada parameter persentase dan kecepatan perkecambahan pada kedua genotipe yang diuji (Tabel 2.).

Perbedaan genotipe dalam somatik embriogenesis dilaporkan pada tanaman tebu (Gandonou *et al.* 2005) dan kapas (Ghaemi *et al.* 2011). Perbedaan efek genotipik dalam induksi embriogenesis mungkin berhubungan dengan kemampuan genotipe tertentu dalam mengaktifkan elemen kunci pada sistem embriogenesis (Ghaemi *et al.* 2011). Kemampuan dalam induksi embriogenesis pada tanaman kapas dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu varietas-varietas yang memiliki kemampuan embriogenesis somatik tinggi, sedang, dan rendah.

Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik

Pada tahap pertumbuhan tunas embrio somatik, data pengamatan jumlah tunas, penambahan tinggi tunas, dan jumlah daun hanya diperoleh dari genotipe IP-3M, karena tunas embrio somatik IP-3A pertumbuhannya terhambat dan banyak yang mengalami kematian (Tabel 3). Genotipe IP-3A menghasilkan tunas lebih sedikit dibandingkan IP-3M. Tunas IP-3A menunjukkan penurunan jumlah tunas pada 4 minggu setelah subkultur dan berlanjut sampai 9 minggu setelah subkultur. Hal ini disebabkan kondisi tunas yang tidak sehat, ditandai dengan keguguran daun dan pencokelatan pada kalus (Gambar 1G). Pencokelatan dapat menurunkan kemampuan regenerasi *in vitro*, toksisitas medium, dan kematian tunas *in vitro* (Hutami 2008). Pencokelatan diduga disebabkan oleh kandungan auksin endogen dalam tanaman yang cukup tinggi sehingga meningkatkan aktivitas etilen yang dapat menyebabkan nekrosis dan keguguran daun (Lizawati *et al.* 2009). Dibandingkan pada genotipe IP-3A, tunas jarak pagar genotipe IP-

Tabel 2. Pengaruh kombinasi media perkecambahan embriosomatik dan asal eksplan terhadap perkecambahan embrio somatik, jumlah kecambah/eksplan, dan kecepatan berkecambah eksplan jarak pagar genotipe IP-3A dan IP-3M

Kombinasi media perkecambahan embriosomatik dan asal eksplan	IP-3A		IP-3M	
	Perkecambahan embrio somatik (%)	Kecepatan berkecambah eksplan jarak pagar (hari)	Perkecambahan embrio somatik (%)	Kecepatan berkecambah eksplan jarak pagar (hari)
Kotiledon MK1	30,16 a	51,000 b	89,68 a	42,333 a
Kotiledon MK2	23,81 a	57,667 ab	76,19 a	39,667 a
Daun MK1	19,05 a	65,667 a	80,16 a	46,000 a
Daun MK2	28,57 a	61,667 a	69,84 a	40,333 a

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

3M menunjukkan kondisi yang segar dan perkembangan yang baik (Gambar 1F). Pertumbuhan kultur IP-3A cenderung lebih cepat, namun cepat pula mengalami kematian, sedangkan pertumbuhan IP-3M cenderung lebih lambat namun dapat bertahan hidup lebih lama. Genotipe IP-3M dalam penelitian ini menunjukkan respon yang stabil dari tahap induksi kalus embriogenesis, perkecambahan embrio somatik, regenerasi, dan pertumbuhan tunas. Dari hasil penelitian sebelumnya juga didapatkan perbedaan respon pada induksi perakaran tunas *in vitro* jarak pagar, genotipe IP-3M juga menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding genotipe IP-3A (data belum dipublikasikan). Pada penelitian di lapangan populasi asal IP-3M yaitu IP1M menunjukkan karakter jumlah daun dan jumlah cabang yang lebih tinggi dibanding genotipe IP1A dan IP1P namun lebih lambat berbunga (Bora *et al.* 2008).

Tabel 3. Pengaruh kombinasi media pertumbuhan tunas dan asal eksplan terhadap jumlah tunas, pertambahan tinggi tunas, dan pertambahan jumlah daun tunas jarak pagar genotipe IP-3M

Kombinasi media pertumbuhan tunas dan asal eksplan	Jumlah tunas pada 9 MSS	Pertambahan tinggi tunas 9–10 MSS (cm)	Pertambahan jumlah daun 9–10 MSS
Kotiledon MP1	2,70 a	0,34 a	1,70 a
Kotiledon MP2	2,35 a	0,30 a	1,50 a
Daun MP1	2,53 a	0,40 a	1,60 a
Daun MP2	2,24 a	0,23 a	1,30 a

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%

Hasil penelitian pada tahap pertumbuhan tunas dari embrio somatik menunjukkan pengaruh komposisi media tidak berbeda nyata pada semua parameter yang diuji (Tabel 3). Dari hasil tersebut dapat ditunjukkan bahwa media MS yang diperkaya dengan BAP dan IBA serta BAP dan IAA sama baik dalam proses pertumbuhan tunas *in vitro* jarak pagar. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang berbeda telah dicoba pada berbagai penelitian induksi dan perkembangan embrio somatik (Han *et al.* 2009). Komposisi media MS yang diperkaya dengan

BAP dan kombinasi ZPT lain telah berhasil dalam proses regenerasi dan pertumbuhan tunas *in vitro* jarak pagar pada berbagai penelitian (Qin *et al.* 2004; Sujatha *et al.* 2005; Purwati 2010).

Pengembangan genotipe IP-3A sesuai untuk daerah dataran rendah beriklim kering dengan curah hujan minimum 600 mm per tahun dan IP-3M sesuai untuk daerah dataran rendah beriklim sedang dengan curah hujan antara 1.000–2.000 mm per tahun. Kedua genotipe (populasi) tersebut berpotensi untuk dikembangkan di 29 provinsi dengan luas lahan yang sangat sesuai sebesar 14 juta hektar (Ditjenbun 2010). Peluang penyediaan bahan tanam melalui kultur jaringan khususnya teknik somatik embriogenesis masih terbuka dengan kapasitas produksi 89–111 tunas *in vitro* dalam waktu $\pm$ 6 bulan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan kombinasi MS+0,5 mg/l BAP+0,2 mg/l TDZ dan sumber eksplan kotiledon paling sesuai untuk induksi kalus embriogenesis somatik. Pada tahap induksi perkecambahan embrio somatik ada perbedaan respon genotipe. Sedangkan pada fase pertumbuhan tunas komposisi media yang diuji memberikan respon yang sama. Genotipe IP-3M memiliki respon yang lebih baik dibanding IP-3A dan stabil dari tahap induksi kalus embriogenesis somatik, induksi perkecambahan embrio somatik, dan pertumbuhan tunas embrio somatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslam, J, Khan, SA, Cheruth, AJ, Mujib, A, Sharma MP & Srivastava, PS 2011, Somatic embryogenesis, scanning electron microscopy, histology and biochemical analysis at different developing stages of embryogenesis in six date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars, *Saudi Journal of Biological Sciences* 18:369–380.

- Bora, CY, Sulistyono, E, Yahya, S & Mahmud, Z 2008, Hubungan transpirasi dengan hasil dan rendemen minyak biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), *Berita Biologi* 9(3):243–251.
- Cai, L, Fu, L & Ji, L 2011, Regeneration of *Jatropha curcas* through efficient somatic embryogenesis and suspension culture, *GM Crops* 2(2): 110–117.
- Deore, AC & Johnson, TS 2008, High frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas* L.: An important biodiesel plant, *Plant Biotechnol. Rep.* 2:7–11.
- Ditjenbun 2010, *Road map jarak pagar*, Kementerian Pertanian, Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta, 34 hlm.
- Gandonou, C, Errabii, T, Abrini, J, Idaomar, M, Chibi, F & Senhaji, S 2005, Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharum* sp.), *African Journal of Biotechnology* 4(11): 1250–1255.
- Ghaemi, M, Majd, A, Fallahian, F & Bezdi, KG 2011, Comparison of callus induction and somatic embryogenesis of some iranian cotton (*Gossypium* spp.) with Coker 312 and histology of somatic embryogenesis, *African Journal of Biotechnology* 10(15):2915–2922.
- Gill, NK, Gill, R & Gosal, SS 2004, Factors enhancing somatic embryogenesis and plant regeneration in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), *Indian Journal of Biotechnology* 3: 119–123.
- Guo, B, Abbasi, BH, Zeb, A, Xu, LL & Wei, YH 2011, Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator, *African Journal of Biotechnology* 10(45):8894–9000.
- Han, GY, Wang, XF, Zhang, GY & Ma, ZY 2009, Somatic embryogenesis and plant regeneration of recalcitrant cotton (*Gossypium hirsutum*), *African Journal of Biotechnology* 8(3): 432–437.
- Haq, I 2005, Callus proliferation and somatic embryogenesis in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *African Journal of Biotechnology* 4(2): 206–209.
- Huetteman, CA & Preece, JE 1993, Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 33: 105–119.
- Hutami, S 2008, Masalah pencoklatan pada kultur jaringan, *Jurnal Agro Biogen* 4(2):83–88.
- Jha, TB, Mukherjee, P & Datta, MM 2007, Somatic embryogenesis in *Jatropha curcas* Linn., an important biofuel plant, *Plant Biotechnol Rep.* 1:135–140.
- Jimenez, VM 2001, Regulation of in vitro somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones, *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 13(2):196–223.
- Kalimuthu, K, Paulsamy, R, Senthilkumar, S & Sathya, M 2007, *In vitro* propagation of the biodiesel plant *Jatropha curcas* L., *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 17(2):137–147.
- Khan, IA & Khatri, A 2006, Plant regeneration via organogenesis or somatic embryogenesis in sugarcane: histological studies, *Pak. J. Bot.* 38(3):631–636.
- Lizawati, T, Novita, Purnamaningsih, R 2009, Induksi dan multiplikasi tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in vitro*, *J. Agron. Indonesia* 37(1):78–85.
- Lu, C-Y 1993, The use of Thidiazuron in tissue culture, *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 29:92–96.
- Mariska, I & Sukmadjaja, D 2006, *Aplikasi bioteknologi kultur jaringan*, diakses pada 26 Juni 2006, (http://www.indobiogen.or.id/terbitan/pdf/Buku_Abaka.pdf).
- Oktavia, FS, Budiani, A & Sudarsono 2003, Embriogenesis somatik langsung dan regenerasi planlet kopi arabika (*Coffea arabica*) dari berbagai eksplan, *Menara Perkebunan* 71(2):44–55.
- Purnamaningsih, R 2002, Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya, *Buletin AgroBio* 5(2):51–58.
- Purwati, RD, Basuki, S, Adikadarsih, S & Supriadi 2007, Regenerasi tunas tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in vitro*, *Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Tanaman jarak pagar (Jatropha curcas L.)*, Puslitbang Perkebunan, Bogor, hlm. 323–327.
- Purwati, RD 2010, Perbanyak tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui kultur *in vitro*, *Prosiding Lokakarya Nasional V Inovasi Teknologi dan Cluster Pioneer menuju DME Berbasis Jarak Pagar*, Tunggal Mandiri Publishing, Malang, hlm. 92–101.
- Qayyum, RA, Sarfraz, HS, Saqib, SM, Abbas, BSY, Hashim, RM, Allah, R, Majeed, Ali, SA, Zafar, S, Tayyab, H & Riazuddin, S 2006, Somatic embryogenesis in wild relatives of cotton

- (*Gossypium* spp.), *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 7(4):291–298.
- Qin, W, Wei-Da, L, Yi, L, Shu-Lin, P, Ying, X, Lin, T & Fang, C 2004, Plant regeneration from epycotil explant of *Jatropha curcas*, *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* 30 (4):475–478.
- Schulze, J 2012. *Improvements in cereal tissue culture by Thidiazuron: A review fruit, vegetable and cereal science and biotechnology* © Global Science Books, diakses pada 26 Januari 2012, (http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/Sample/FVCSB_1%282%2964-79.pdf).
- Sie, RS, Charles, G, Sakhanokho, HF, Toueix, Y, Dje, Y, Sangare, A & Branchard, M 2010, Protocols for callus and somatic embryo initiation for *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae): Influence of explant type, sugar, and plant growth regulators, *Australian Journal of Crop Science* 4(2):98–106.
- Soomro, R & Memon, RA 2007, Establishment of callus and suspension culture in *Jatropha curcas*, *Pak. J. Bot.* 39(7):2431–2441.
- Tefera, W & Wannakrairoj, S 2006, Synergistic effects of some plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen), *African Journal of Biotechnology* 5(10):1894–1901.
- Utami, ESW, Sumadi, I, Taryono & Semiarti, E 2007, Pengaruh α -naphthaleneacetic acid (NAA) terhadap embriogenesis somatik anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl, *Biodiversitas* 8(4):295–299.
- Visser, C, Qureshi, JA, Gill, R, Malik, KA & Saxena, PK 1992, Morpho-regulatory role of thidiazuron: Substitution of auxin and cytokinin requirement for the induction of somatic embryogenesis in geranium hypocotyls culture. *Plant Physiol.* 99:1704–1707.
- Wattimena, GA 1988, *Zat pengatur tumbuh tanaman*, Pusat Antar Universitas, Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yusnita 2004, *Kultur jaringan cara memperbanyak tanaman secara efisien*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Zhang, B, Feng, R, Liu, F & Wang, Q 2001, High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration of an elite Chinese cotton variety, *Bot. Bull. Acad. Sin* 42:9–16.