

PENGARUH KOMPOSISI MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN KOTILEDON JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) KLON NTB 554 PADA KULTUR *IN VITRO*

Sri Adikadarsih¹⁾, Sri Rustini¹⁾, Sri Handayani²⁾, dan Rully Dyah Purwati¹⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang

²⁾ Universitas Negeri Malang

ABSTRAK

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu cara untuk menyediakan bibit tanaman jarak pagar dalam skala besar. Penelitian mengenai kultur jaringan tanaman jarak pagar yang menggunakan tambahan auksin indol butiric acid (IBA), sitokinin benzyl amino purin (BAP) secara tunggal dan kombinasi keduanya pada media MS sampai saat ini belum banyak dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan auksin, sitokinin, dan kombinasi keduanya pada media MS terhadap pertumbuhan kotiledon *J. curcas* L. klon NTB 554 yang merupakan koleksi plasma nutfah Balittas. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balittas mulai bulan Maret sampai dengan Juni 2008 menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Perlakuan terdiri dari M₁ (media MS tanpa penambahan ZPT), M₂ (media MS + IBA 0,2 mg/l), M₃ (media MS + BAP 0,5 mg/l), dan M₄ (media MS + IBA 0,2 mg/l + BAP 0,5 mg/l). Parameter yang diukur adalah pertambahan berat eksplan, kecepatan muncul kalus, warna kalus, kecepatan muncul tunas, dan jumlah tunas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa M₄ (MS + IBA 0,2 mg/l + BAP 0,5 mg/l) lebih mampu memacu pertumbuhan kotiledon tanaman jarak pagar dibanding dengan 3 macam media lain yang hanya ditambah dengan auksin (IBA) atau sitokinin (BAP) secara tunggal, serta kontrol (tanpa penambahan ZPT). Pertambahan berat eksplan, kecepatan muncul kalus, kecepatan muncul tunas, serta jumlah tunas yang dihasilkan M₄ menunjukkan hasil yang signifikan dibanding dengan 3 media lain. Perbedaan warna kalus yang dihasilkan eksplan pada M₄ dengan M₁, M₂, dan M₃ tampak jelas, sehingga pertumbuhan kalus yang dihasilkan eksplan pada ke-4 media sangat berbeda.

Kata kunci: Media, BAP, IBA, eksplan, kotiledon, jarak pagar, *Jatropha curcas* L.

EFFECT OF MEDIUM COMPOSITION TO *Jatropha curcas* L. (CLONE NTB 554) *IN VITRO* CULTURE USING COTYLEDON AS EXPLANTS

ABSTRACT

Tissue culture is a method to supply a great number of *Jatropha* seedlings. Experiment about *Jatropha* tissue culture enriched with single auxins (IBA), single cytokinins (BAP) and combination of both auxins and cytokinins was still rare. This research was conducted to understand effect of using single auxins, single cytokinins and the combination of both of hormones in MS medium to the development of *J. curcas* cotyledon clone NTB 554. The experiment held in Tissue Culture Laboratory Indonesian Tobacco and Fiber Crops Research Institute from March to June 2008 and arranged on completely randomized design with 3 replications. The treatments were M₁ (MS without growth hormone), M₂ (MS + IBA 0.2 mg/l), M₃ (MS + BAP 0.5 mg/l), and M₄ (MS + IBA 0.2 mg/l + BAP 0.5 mg/l). The parameters observed were increase of explants weight, time of calli appearing, time of shoot appearing, number of shoots and color of calli. The experiment resulted M₄ stimulated cotyledon development better than other treatments and control. Other parameters observed on M₄ also shown significant different result. The calli color on the M₄ also shown significant difference, and it shown an effect to calli development on all the treatments.

Keywords: Medium, BAP, IBA, explants, cotyledon, physic nut, *Jatropha curcas* L.

PENDAHULUAN

Kendala yang sering dialami dalam pengembangan tanaman jarak pagar adalah penyediaan bibit. Umumnya penyediaan bibit jarak pagar masih dilakukan secara sederhana melalui setek dan biji yang membutuhkan waktu yang lama, banyak tenaga, dan tempat yang luas. Salah satu cara untuk mengatasi masalah tersebut adalah teknik kultur jaringan tanaman. Kelebihan bibit yang dihasilkan melalui teknik kultur jaringan dapat seragam, bebas penyakit, dan dalam jumlah banyak.

Salah satu kunci keberhasilan pada kultur jaringan adalah komposisi media. Berbagai komposisi media telah banyak digunakan dalam kultur jaringan, namun media Murashige & Skoog (MS) merupakan media dasar yang paling sering digunakan (Margono *et al.*, 2003). Media mempunyai dua fungsi utama, yaitu untuk menyuplai nutrisi dan untuk mengarahkan pertumbuhan melalui zat pengatur tumbuh (ZPT) (Katuuk, 1989).

Penambahan ZPT pada media sangat penting untuk mengarahkan pertumbuhan eksplan. Sukmadjaja (2003) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur merupakan kunci keberhasilan baik pada tahap induksi maupun elongasi tunas. ZPT yang sering digunakan adalah auksin dan sitokinin, baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi keduanya (Sadhu *dalam* Raharjeng, 2007). Pertumbuhan kalus dan pembelahan sel daun dapat dirangsang dengan perbandingan konsentrasi auksin dan sitokinin yang tepat yang ditambahkan pada media.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh media yang mengandung auksin atau sitokinin serta kombinasi keduanya terhadap pertumbuhan eksplan asal kotiledon jarak pagar klon NTB 554.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Juni 2008 di Laboratorium Kultur Jaringan Pemuliaan Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas), Malang, Jawa Timur. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 3 ulangan. Setiap ulangan terdiri atas 10 unit perlakuan. Bahan tanam (eksplan) yang digunakan adalah kotiledon klon NTB 554, salah satu koleksi plasma nutfah Balittas, Malang. Kotiledon dari kecambah yang telah berumur 2 minggu digunakan sebagai eksplan dengan ukuran 5 mm x 5 mm. Sebagai media dasar kultur adalah Murashige & Skoog (MS) dan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah indol butiric acid (IBA) dan atau benzyl amino purin (BAP). Perlakuan terdiri dari M₁ (media MS tanpa penambahan ZPT), M₂ (media MS + IBA 0,2 mg/l), M₃ (media MS + BAP 0,5 mg/l), dan M₄ (media MS + IBA 0,2 mg/l + BAP 0,5 mg/l) dilakukan secara aseptik di dalam Laminair Air Flow (LAF). Kultur diinkubasikan di ruang kultur dengan kelembapan \pm 65%, suhu 25°C \pm 2°C, dan penyinaran dengan lampu TL 36 watt selama 8 jam pada rak kultur. Pengamatan dilakukan hingga 60 hari setelah tanam (HST) atau 2 bulan terhadap pertambahan berat eksplan, kecepatan muncul kalus, kecepatan muncul tunas, jumlah tunas, dan warna kalus. Data kuantitatif dianalisis sidik ragamnya, jika berbeda nyata dilanjutkan dengan BNT 5%.

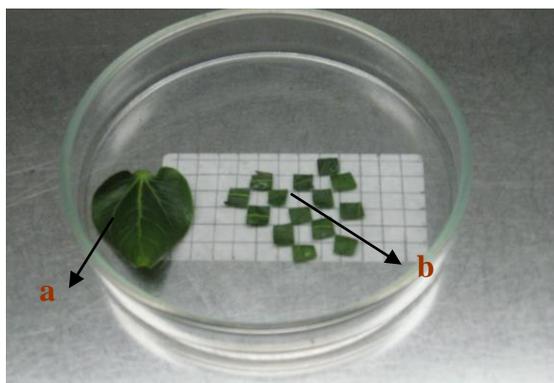
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertambahan berat eksplan pada bulan I dan II, kecepatan munculnya kalus, warna kalus, kecepatan munculnya tunas, dan jumlah tunas yang berasal dari eksplan kotiledon jarak pagar klon NTB 554 pada kultur *in vitro* dipengaruhi oleh media yang digunakan (Tabel 1).

Tabel 1. Pertambahan berat eksplan, kecepatan muncul kalus dan tunas, jumlah tunas, serta warna kalus yang berasal dari eksplan kotiledon jarak pagar klon NTB 554 pada kultur *in vitro* sampai 60 HST

Perlakuan	Pertambahan berat eksplan (mg)		Kecepatan muncul kalus (hari)	Kecepatan muncul tunas (hari)	Jumlah tunas	Warna kalus
	Bulan I	Bulan II				
M ₁	5,67 a	1,94 a	-	-	0 a	-
M ₂	9,68 b	4,61 a	11,7	-	0 a	Putih-putih kehijauan
M ₃	10,10 b	6,46 a	36	-	0 a	Hijau-hijau kecokelatan
M ₄	62,46 c	70,88 b	10,5	33,4	1,9 b	Putih kehijauan-hijau

Keterangan: M₁ = MS0; M₂ = MS + IBA 0,2 mg/l; M₃ = MS + BAP 0,5 mg/l; M₄ = MS + IBA 0,2mg/l + BAP 0,5 mg/l; - = tidak membentuk kalus atau tunas



Gambar 1. Eksplan kotiledon sebelum ditanam. a = kotiledon *J. curcas* L. utuh, b = kotiledon yang telah dipotong berukuran 5 mm x 5 mm

Pertambahan berat eksplan digunakan sebagai parameter pertumbuhan untuk mempermudah pengukuran dan untuk mengetahui pertumbuhan sel. Lukiati (2001) menyatakan bahwa pertumbuhan merupakan peristiwa pembelahan dan pembesaran sel. Adanya pertumbuhan eksplan kotiledon kecabah jarak pagar ditandai dengan tumbuhnya kalus, menunjukkan bahwa kotiledon dapat digunakan sebagai eksplan dalam upaya perbanyakan bibit melalui kultur jaringan. Kotiledon merupakan

tempat penyimpanan cadangan makanan yang dapat digunakan untuk proses pertumbuhan. Kotiledon bersifat embriosomatik sehingga dapat digunakan sebagai eksplan, hal ini sesuai dengan pernyataan Wetter dan Constabel (1991) bahwa setiap bagian benih yang berkecambah merupakan eksplan yang mampu membentuk kalus. Yeoman (1986) menambahkan bahwa kalus dapat diperoleh dari banyak bagian tanaman yang berbeda, tetapi jaringan yang reaktif adalah jaringan yang masih muda. Beberapa kalus bergantung pada tempat asal jaringan dan juga komposisi media yang digunakan untuk menginduksi dan memelihara kalus tersebut.

Komposisi media berpengaruh pada pertumbuhan eksplan, pertumbuhan eksplan pada media dengan penambahan auksin dan sitokinin secara bersama-sama (M₄, yaitu IBA 0,2 mg/l dan BAP 0,5 mg/l) lebih baik dibandingkan pada M₁ (tanpa penambahan ZPT), M₂ (dengan penambahan auksin yaitu IBA 0,2 mg/l), dan M₃ (dengan penambahan sitokinin yaitu BAP 0,5 mg/l), diduga pertumbuhan serta morfogenesis jaringan yang dikulturkan diatur oleh interaksi serta keseimbangan antar-ZPT yang diberikan ke dalam media (eksogenus).

Eksplan pada M_1 tidak dapat menghasilkan kalus dan tunas (Gambar 2A), karena tidak ada penambahan ZPT. Auksin dan sitokinin endogenus pada eksplan belum mencukupi untuk merangsang pertumbuhan akibatnya kematian eksplan terjadi lebih cepat dibanding eksplan pada media lain. Seluruh eksplan pada M_1 berubah warna menjadi kuning-cokelat pada hari ke-20 setelah tanam. Terhentinya pertumbuhan eksplan yang ditanam pada media MS tanpa tambahan zat lain menunjukkan bahwa tanaman jarak pagar sangat membutuhkan ZPT untuk tumbuh dengan baik pada kultur jaringan.

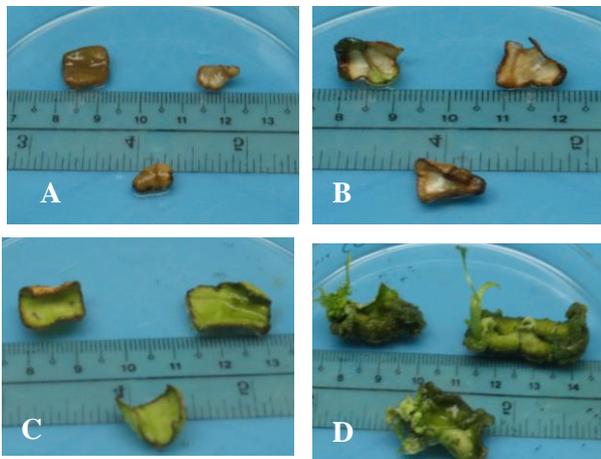
Eksplan pada M_2 juga menunjukkan gejala menguning (Gambar 2B), namun masih ada beberapa eksplan yang dapat menghasilkan kalus sehingga masih menunjukkan adanya pertumbuhan. Eksplan pada M_2 banyak yang mengalami kematian setelah memasuki bulan II sehingga rerata pertambahan berat eksplan pada bulan II menurun jika dibandingkan dengan bulan I (Tabel 1). Kematian eksplan yang terjadi pada M_2 setelah memasuki bulan II, kemungkinan dikarenakan eksplan mengalami kelebihan auksin setelah dilakukan subkultur pada media baru dengan konsentrasi auksin yang sama. Kelebihan auksin tanpa diimbangi sitokinin dapat menyebabkan pertumbuhan kalus terhenti hingga terjadi kematian eksplan. Balqis (2002) menyatakan bahwa konsentrasi auksin yang tinggi merangsang pembentukan etilen yang semakin tinggi. Menurut Krishnamoorthy (1998), etilen menghambat pertumbuhan (pemanjangan) daun yang disebabkan terhambatnya pembelahan sel dan pemanjangan sel. Auksin sintesis seperti NAA dan IBA dapat merangsang produksi etilen dalam waktu lama. Lukiati (2001) menambahkan bahwa auksin disintesis pada pucuk apikal, daun muda, dan calon daun. Penambahan auksin tunggal secara eksogen pada eksplan berupa kotiledon yang mengandung klorofil dapat menyebabkan kelebihan auksin pada eksplan. Kelebihan auksin pada eks-

plan dapat menyebabkan perkembangan jaringan mesofil pada eksplan menjadi terhambat akibatnya klorofil pada eksplan tereduksi sehingga warnanya berubah menguning dan akhirnya mati.

Eksplan pada M_3 menunjukkan tanda pertumbuhan melebar, tetap berwarna hijau serta mampu menghasilkan kalus namun membutuhkan waktu yang agak lama. Hal ini sesuai dengan pendapat Krishnamoorthy (1998) yang menyebutkan bahwa sitokinin menyebabkan kotiledon melebar. Pertumbuhan eksplan setelah bulan II mulai terganggu yaitu warna kalus berubah menjadi cokelat (Gambar 2C), dan banyak eksplan yang mengalami kematian. Subkultur pada media baru yang mengandung sitokinin yang dilakukan pada saat memasuki bulan II menyebabkan sitokinin terakumulasi pada eksplan. Konsentrasi sitokinin yang tinggi saja belum mampu merangsang pembentukan kalus dengan maksimal, sehingga menyebabkan pertambahan berat eksplan pada bulan II menurun (Tabel 1). Penambahan sitokinin eksogen pada M_3 dapat merangsang pertumbuhan kalus dan menyebabkan kalus tetap berwarna hijau karena sitokinin dapat mencegah penuaan. Sitokinin yang terkandung dalam M_3 belum mampu merangsang pembentukan tunas pada eksplan. Tunas dapat terbentuk apabila terdapat auksin dengan konsentrasi tertentu pada media, dengan demikian penambahan sitokinin tunggal juga kurang maksimal untuk menunjang pertumbuhan eksplan.

Eksplan pada M_4 dengan penambahan ZPT auksin dan sitokinin menunjukkan pertumbuhan paling pesat dibanding dengan media lain. Perbandingan konsentrasi sitokinin dan auksin yang tepat dapat mempengaruhi kecepatan munculnya kalus, dibuktikan dengan dihasilkannya kalus pada seluruh bagian eksplan yang telah dilukai dalam waktu yang relatif singkat dibanding dengan eksplan pada media lain. Warna kalus yang dihasilkan eksplan pada M_4 ini hijau segar dan massa selnya meningkat sehingga rerata pertambahan berat eksplan baik

pada bulan I maupun bulan II mengalami peningkatan (Tabel 1 dan Gambar 2D). Pertumbuhan kalus dari eksplan pada M_4 dapat membentuk tunas. Konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibanding auksin menyebabkan munculnya tunas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dixon dan Gonzales (1994) yang menyebutkan bahwa diferensiasi organ pada tanaman dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin yang saling berpengaruh satu sama lain sehingga keduanya berfungsi sebagai penunjuk ketika mengembangkan media untuk tanaman baru.



Gambar 2. Eksplan umur 60 hari. A = eksplan pada M_1 , tidak menghasilkan tunas dan pertumbuhan sangat lambat, B = eksplan pada M_2 , tidak menghasilkan tunas, namun masih mengalami pertumbuhan hingga 10 mm x 10 mm, C = eksplan pada M_3 , tidak menghasilkan tunas, namun eksplan masih mengalami pertumbuhan hingga 15 mm x 15 mm, dan D = eksplan pada M_4 , dapat menghasilkan tunas.

Keberadaan auksin dan sitokinin pada media menyebabkan pertumbuhan eksplan maksimal. Krishnamoorthy (1998) menyatakan bahwa selain sitokinin, keberadaan auksin juga dibutuhkan dalam merangsang pembelahan sel. Ketika kedua ZPT ditambahkan pada media secara bersama-sama, sel dapat membelah dan menyebabkan kalus. Sitokinin meningkatkan sintesis DNA dan mRNA,

auksin meningkatkan komponen rRNA pada pembelahan sel. Menurut Abidin (1982), auksin dapat memacu pertumbuhan, karena dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas, dan pembesaran sel.

Kalus pada M_4 yang mengandung auksin dan sitokinin menunjukkan warna hijau. Perimbangan kedua macam hormon tersebut mengakibatkan pertumbuhan eksplan menjadi maksimal. Konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibanding dengan auksin menyebabkan kalus tetap berwarna hijau, bahkan dapat bertahan hingga akhir pengambilan data (60 HST). Krishnamoorthy (1998) menyatakan bahwa sitokinin dapat mencegah penuaan pada daun. Penuaan diakibatkan menurunnya protein dan RNA dalam klorofil sehingga menimbulkan peningkatan aktivitas enzim ribonuklease yang mampu mendegenerasikan RNA. Penambahan sitokinin dapat mengurangi aktivitas RNase sehingga degenerasi RNA dapat dikurangi. RNA yang tersedia dalam jumlah cukup digunakan untuk meningkatkan pembentukan klorofil dan mencegah penuaan.

Penggunaan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin pada M_4 mengakibatkan munculnya tunas setelah terbentuk kalus. Menurut Krishnamoorthy (1998), media yang mengandung auksin dan sitokinin dalam perbandingan 10:1 dapat menghasilkan sel-sel yang tidak terorganisasi disebut kalus, dan tidak terdiferensiasi menjadi jaringan organ. Pernyataan Wetter dan Constabel (1991) tentang organogenesis yaitu merujuk pada proses yang menginduksi pembentukan jaringan, sel atau kalus menjadi tunas dan tanaman sempurna. Stafford dan Warren (1991), menyatakan bahwa konsentrasi auksin yang lebih rendah dari pada konsentrasi sitokinin menyebabkan munculnya tunas.

KESIMPULAN

Media dengan penambahan kombinasi auksin dan sitokinin (MS + IBA 0,2 mg/l + BAP 0,5 mg/l) memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap semua parameter pertumbuhan eksplan kotiledon *J. curcas* L. klon NTB 554 dibandingkan dengan 3 macam media lain yang hanya ditambah dengan auksin (IBA 0,2 mg/l) dan sitokinin (BAP 0,5 mg/l) secara tunggal, serta kontrol (tanpa penambahan ZPT).

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1982. Dasar-Dasar pengetahuan tentang zat pengatur tumbuh. Bandung. Angkasa.
- Balqis. 2002. Hormon tumbuhan dan perannya dalam pertumbuhan dan perkembangan. Malang. Jurusan Biologi FMIPA UM Depdiknas.
- Dixon, R.A and Gonzales, R.A. (editors). 1994. Plant cell culture: A Practical approach 2nd edition. New York. Oxford University Press.
- Katuuk, J.R.P. 1989. Teknik kultur jaringan dalam mikropropagasi tanaman. Jakarta. Ditjen Dikti Depdikbud.
- Krishnamoorthy. 1998. Plant growth substances. New Delhi. Tata-MacGrow-Hill Publishing Company Limited.
- Lukiati, B. 2001. Pertumbuhan dan perkembangan. Malang. Jurusan Biologi FMIPA UM Depdiknas.
- Margono, H., Balqis, dan Kartini, E. 2003. Kultur jaringan tumbuhan. Malang. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Peningkatan Manajemen Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.
- Raharjeng, A.R.P. 2007. Mikropropagasi daun dan tangkai daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang berasal dari Bandulan pada medium MS + BAP 5 mg/l + vitamin C 100 mg/l yang diperkaya dengan berbagai konsentrasi Thidiazuron(Tdz). Skripsi. Malang. Universitas Negeri Malang. (tidak diterbitkan).
- Sukmadjaja, D. 2003. Jati. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.(Online), (http://www.google.com/search?q=cache:zFk6uecxaOJ:biogen.litbang.deptan.go.id/terbitan/pdf/Buku_%2520Jati.pdf+macam-macam+sterianuntuk+eksplan&hl=id&ct=clnk&cd=1&gl=id, diakses 28 Juli 2007).
- Stafford, A. and G. Warren. 1991. Plant cell and tissue culture. Chichester-New York-Brisbane-Toronto-Singapore. John Wiley&Sons.
- Wetter, L.R. and F. Constabel. 1991. Metode kultur jaringan tanaman Edisi Kedua. Bandung. ITB.
- Yeoman, M.M. 1986. Plant, cell, tissue, and organ culture. Oxford-London-Edinburgh-Boston-Paloalto-Melbourne. Blackwell Scientific Publications.

DISKUSI

- Tidak ada pertanyaan.