



**PENGARUH BAP (*benzylaminopurine*) DAN IBA (*Indole-3-butyric Acid*)
TERHADAP INDUKSI KALUS
TANAMAN JARAK PAGAR (*Jatropha Curcas L.*)**

SKRIPSI

OLEH

**ADE MUHAMMAD SUMAHAL JUNJUNGAN
131510501267**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENGARUH BAP (*benzylaminopurine*) DAN IBA (*Indole-3-butyric Acid*)
TERHADAP INDUKSI KALUS
TANAMAN JARAK PAGAR (*Jatropha Curcas L.*)**

SKRIPSI

OLEH

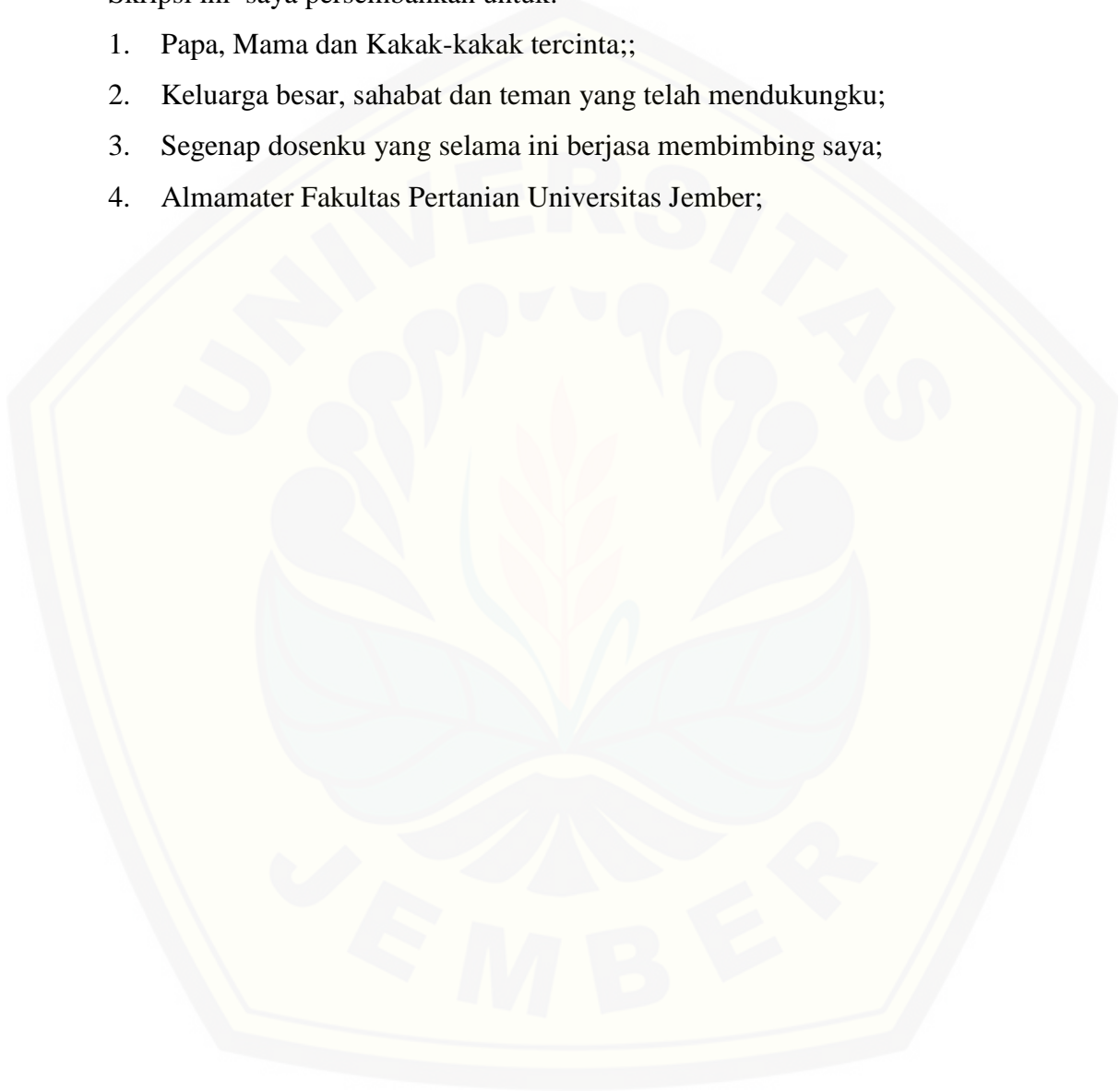
**ADE MUHAMMAD SUMAHAL JUNJUNGAN
131510501267**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Papa, Mama dan Kakak-kakak tercinta;;
2. Keluarga besar, sahabat dan teman yang telah mendukungku;
3. Segenap dosenku yang selama ini berjasa membimbing saya;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember;

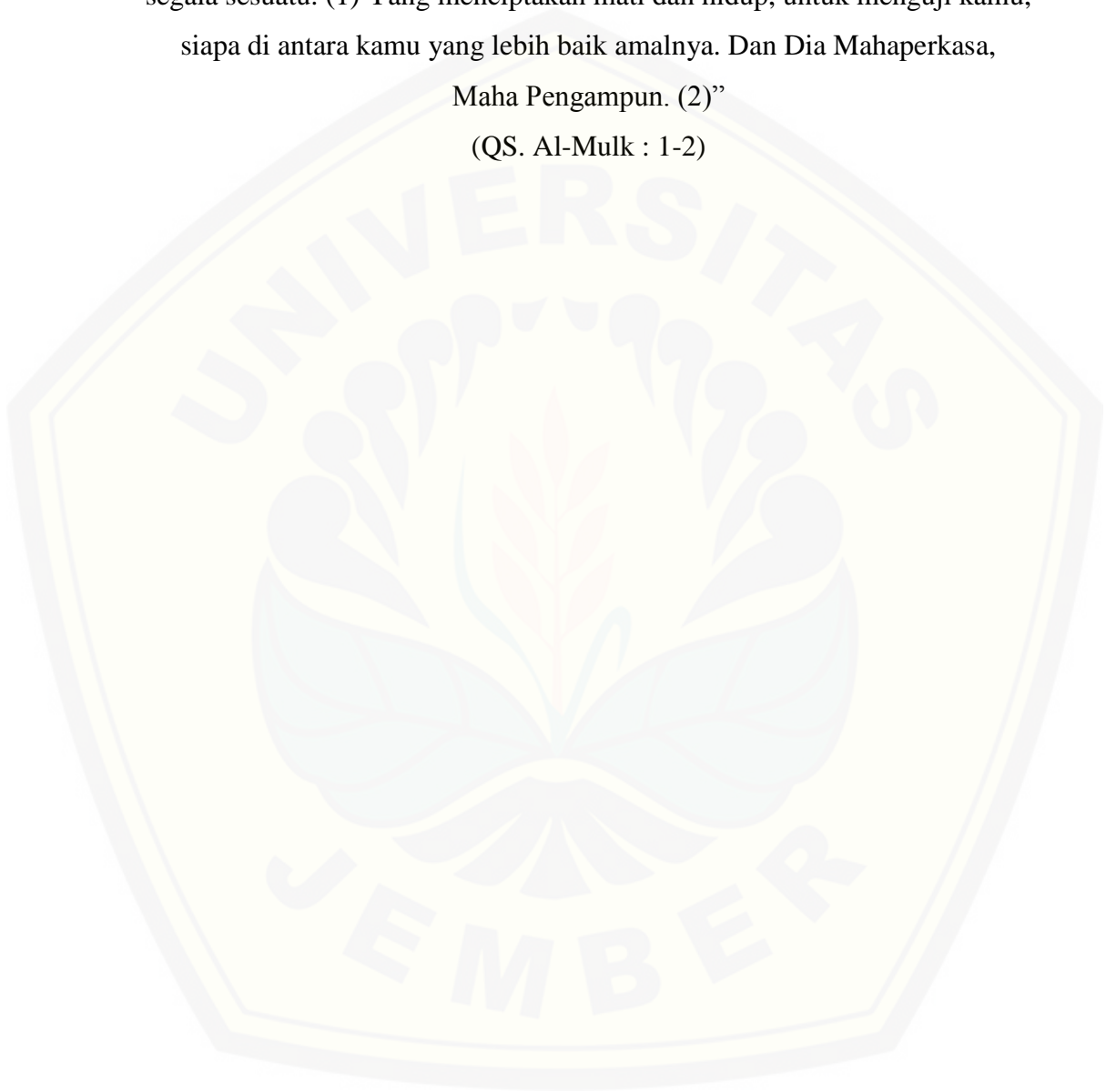


MOTTO

“Mahasuci Allah yang menguasai (segala) kerajaan, dan Dia Mahakuasa atas segala sesuatu. (1) Yang menciptakan mati dan hidup, untuk menguji kamu, siapa di antara kamu yang lebih baik amalnya. Dan Dia Mahaperkasa,

Maha Pengampun. (2)”

(QS. Al-Mulk : 1-2)



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ade Muhammad Sumahal Junjungan

NIM : 131510501267

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Pengaruh BAP (benzylaminopurine) dan IBA (Indole-3-butyric Acid) terhadap Induksi Kalus Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*)**” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 12 Desember 2017

Yang menyatakan,

Ade Muhammad Sumahal J
NIM 131510501267

SKRIPSI

**PENGARUH BAP (*benzylaminopurine*) DAN IBA (*Indole-3-butyric Acid*)
TERHADAP INDUKSI KALUS
TANAMAN JARAK PAGAR (*Jatropha Curcas L.*)**

Oleh

Ade Muhammad Sumahal Junjungan
NIM 131510501267

Pembimbing:

Pembimbing Utama : Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.
NIP. 196504261994031001

PENGESAHAN

Skripsi yang Berjudul “**Pengaruh BAP dan IBA terhadap Induksi Kalus Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*)**”, telah di uji dan disahkan pada :

Hari : Selasa
Tanggal : 12 Desember 2017
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.
NIP. 196504261994031001

Penguji I,

Penguji II,

Ir. Kacung Haryono, MS., Ph.D.
NIP. 196408141995121001

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS.
NIP. 196003171983032001

Mengesahkan
Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, MS. Ph.D
NIP. 19600506 198702 1 001

RINGKASAN

Pengaruh BAP (benzylaminopurine) dan IBA (Indole-3-butyric Acid) terhadap Induksi Kalus Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.). Ade Muhammad Sumahal Junjungan, 131510501267; 2017; 36 halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Jarak pagar (*Jatropha Curcas* L.) sangat berpotensi sebagai biodiesel, karena tidak bersaing dengan tanaman penghasil pangan, tidak dimakan binatang karena beracun, tanaman ini mudah beradaptasi di lapangan, pertimbangan lingkungan untuk mengurangi polusi, tidak tergantung pada bahan bakar fosil, kesempatan bisnis baru untuk pendapatan petanidan kegiatan produksi bahan bakar lebih terdesentralisasi. Namun, terdapat beberapa tantangan dalam pengembangan jarak pagar itu sendiri, diantaranya (1) produksi rendah, (2) teknologi budidaya masih kurang, dan (3) nilai jual masih rendah (Syakir, 2010). Untuk menjawab tantangan tersebut dibutuhkan teknologi yang dapat meningkatkan produksi dari jarak pagar tersebut, salah satunya adalah dengan transfer genetic yang dapat dicapai dengan kultur jaringan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi BAP dan IBA terhadap induksi kalus eksplan tangkai daun tanaman jarak pagar. Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2016 hingga Oktober 2017 di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Jember menggunakan Rancangan Acak Lengkao (RAL) faktorial. Perlakuan BAP dan IBA yang diberikan terhadap eksplan tangkai daun tersebut diantaranya BAP : B₀ (0 ppm); B₁ (1,0 ppm); B₂ (3,0); dan B₃ (5,0) yang dikombinasikan dengan IBA : I₀ (0 ppm); I₁ (0,5 ppm); I₂ (1,0); dan I₃ (1,5) dengan empat kali ulangan. Pelaksanaan penelitian dimulai dari pembuatan media, sterilisasi peralatan, sterilisasi eksplan yang dilanjutkan induksi kalus. Variabel pengamatan dari penelitian ini diantaranya adalah kedinian munculnya kalus, warna kalus dan tekstur kalus.

Hasil analisis ragam menunjukkan variabel pengamatan kedinian munculnya kalus berbeda sangat nyata. Hasil penelitian didapatkan pertumbuhan

kalus dari eksplan tangkai daun tanaman jarak pagar cenderung lebih baik pada perlakuan B1I3. Pada perlakuan tersebut, kediniannya munculnya kalus sekitar 13-14 hari setelah tanam. Kalus yang didapat merupakan kalus bertekstur *friable* (remah) dengan warna hijau kekuningan (7,5 GY 7/10).

Kata kunci : Jarak pagar (*Jatropha Curcas L.*), jarak pagar, kalus, BAP dan IBA.



SUMMARY

The Influence of BAP (benzylaminopurine) and the IBA (Indole-3-butyric Acid) against Induction Kalus of *Jatropha Curcas* L. Ade Muhammad Sumahal Junjungan, 131510501267; 2017; 36 pages; Agroteknologi Studies Program, Faculty Of Agriculture, University Of Jember.

Physic Nut (*Jatropha Curcas* l.) as a potential biodiesel, because it does not compete with food-producing plants, do not eat animals because it is toxic, the plant is adaptable in the field, environmental considerations to reduce pollution, not dependent on fossil fuels, new business opportunities in agricultural production activities income to fuel more decentralized. However, there are some challenges in the development of the jatropha itself, including the following: (1) low production, (2) technology of cultivation is still lacking, and (3) value is still low (Syakir, 2010). To answer these challenges required technology that can improve the production of the jatropha curcas, one of which is the transfer of genetic which can be reached by tissue culture.

This research was conducted to find out the influence of the concentration of BAP and IBA against induction kalus eksplan stalk leaves a jatropha curcas. The research was carried out in November and October 2016 2017 Jairngan Culture in the laboratory, Faculty of Agriculture University of Jember using Random Design Lengkao (RAL) factorial. Treatment of the BAP and the IBA awarded against eksplan the leaf stalk of which BAP: Bo (0 ppm); B1 (1.0 ppm); B2 (3.0); and B3 (5.0) combined with IBA: Io (0 ppm); I1 (0.5 ppm); I2 (1.0); and I3 (1.5) and four replicates. Implementation of the research starts from the creation of the media, sterilization, sterilization equipment eksplan that extended induction kalus. Variable observation from this research include kedinian the emergence of kalus, kalus color and texture kalus.

The results of the analysis of the spectrum indicates the variable observations kedinian the emergence of different very real kalus. The research results obtained from the eksplan stalk kalus growth leaves crops jatropha curcas

tend to be better at the treatment B1I3. On the treatment, kedinian rise of the kalus 13-14 days after planting around. Kalus obtained textured kalus is friable (crumb) and yellowish green color (7.5 GY 7/10).

Keywords : Physic Nut (*Jatropha Curcas* L.), *jatropha curcas*, BAP and IBA.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**PENGARUH BAP (benzylaminopurine) DAN IBA (Indole-3-butyric Acid) TERHADAP REGENERASI TANAMAN JARAK PAGAR (Jatropha Curcas L.)**”. Tidak sedikit kesulitan dan hambatan yang penulis alami dalam proses terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya Drs. Burtiham M,Pd dan Umi Kalsum yang telah membantu banyak dalam segi materi, tanpa kalian saya tidak akan bisa sampai pada tahap ini. Terimakasih pula pada kakak saya Ade Nova Junjungan, Ade Utami Rachma Junjungan, dan Ade Zaona Akhirita Junjungan.
2. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing, memotivasi, menyisakan waktu luangnya dan telah memberikan banyak pemikiran yang logis untuk kemajuan penulis.
3. Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D dan Prof.Dr.Ir. Sri Hartatik, MS selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penelitian ini.
4. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D. selaku Dekan dan Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC. selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
5. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberi nasehat serta motivasi hingga akhir semester.
6. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan Kharisma Wisnuwijaya, Ratna Arifina, Mohammad Jauhari, Yoko Simbolon yang telah menjadi kawan saat sedang bingung, teman seperjuangan dalam mendapatkan hasil akhir

penelitian di kultur jaringan. Terimakasih banyak atas bantuan kalian. Terimakasih juga kepada Pak Budi (teknisi Laboratorium Kultur Jaringan) yang telah ikut serta membimbing serta membantu dalam penelitian ini.

7. Teman-teman kelas E 2013, Agroteknologi 2013, Keluarga besar Chorus Rusticarum, dan teman-teman lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu, Terimakasih atas kerjasama yang kalian berikan selama ini.
8. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung atau tidak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Demikian penyusunan skripsi ini sebagai laporan pertanggungjawaban penelitian dengan harapan hasil penelitian yang telah diperoleh dapat bermanfaat bagi pengembangan pengetahuan dan sebagai informasi yang dapat digunakan sebagai acuan bagi para peneliti atau pihak yang terkait dalam mengembangkan penelitian.

Jember, 12 Desember 2017

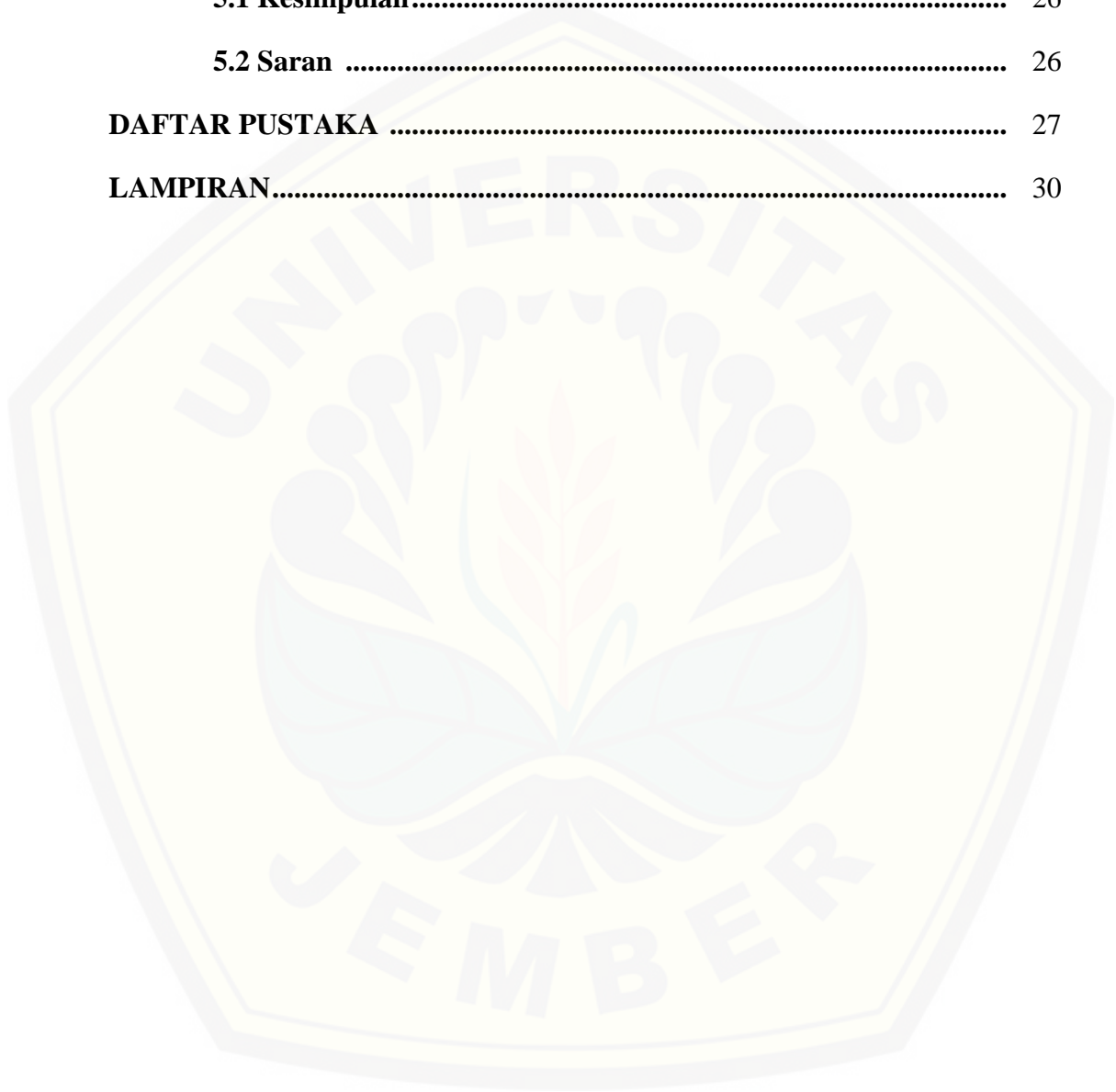
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4

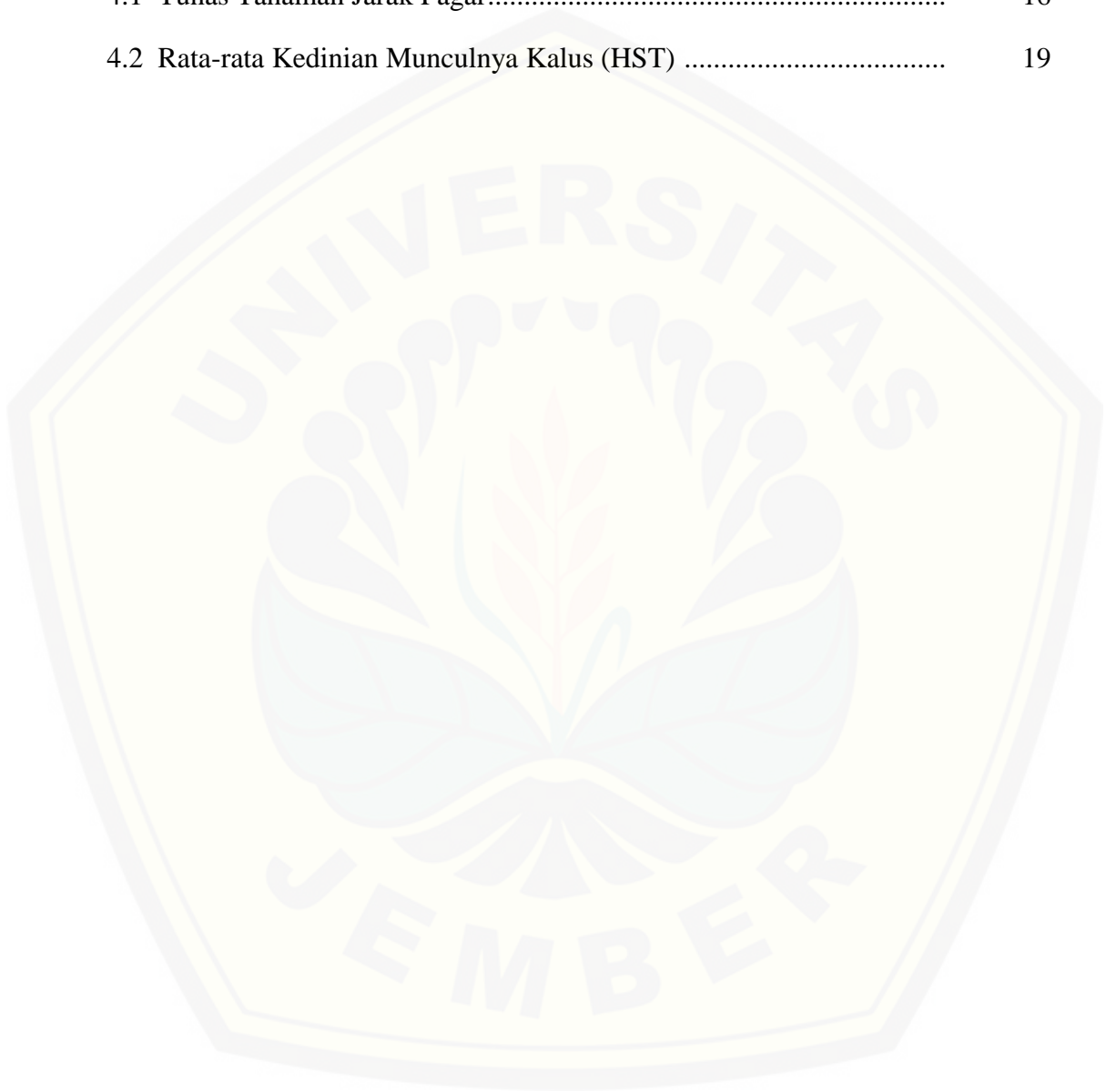
2.1 Jarak Pagar (<i>Jatropha Curcas</i> L.)	4
2.2 Biologi Tanaman Jarak Pagar	4
2.3 Potensi Jarak Pagar	5
2.4 Kultur Jaringan	7
2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	10
2.5.1 Zat Pengatur Tumbuh <i>benzyladenine aminopurine</i> (BAP)	10
3.4.2 Zat Pengatur Tumbuh <i>Indole-3-Butyric Acid</i> (IBA)	11
2.6 Hipotesis	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat	12
3.2 Alat dan Bahan	12
3.3 Metode Percobaan	12
3.3.1 Perlakuan dan Ulangan	13
3.4 Pelaksanaan Percobaan	13
3.4.1 Persiapan Media	13
3.4.2 Sterilisasi Peralatan	14
3.4.3 Persiapan Eksplan	14
3.4.4 Induksi Kalus	14
3.4.5 Variabel Percobaan	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Kondisi Umum Percobaan	16
4.2 Hasil	18
4.2.1 Kedinian Muncul Kalus	18
4.2.2 Warna Kalus	20

4.2.3 Tekstur Kalus	21
4.3 Pembahasan	22
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN.....	30



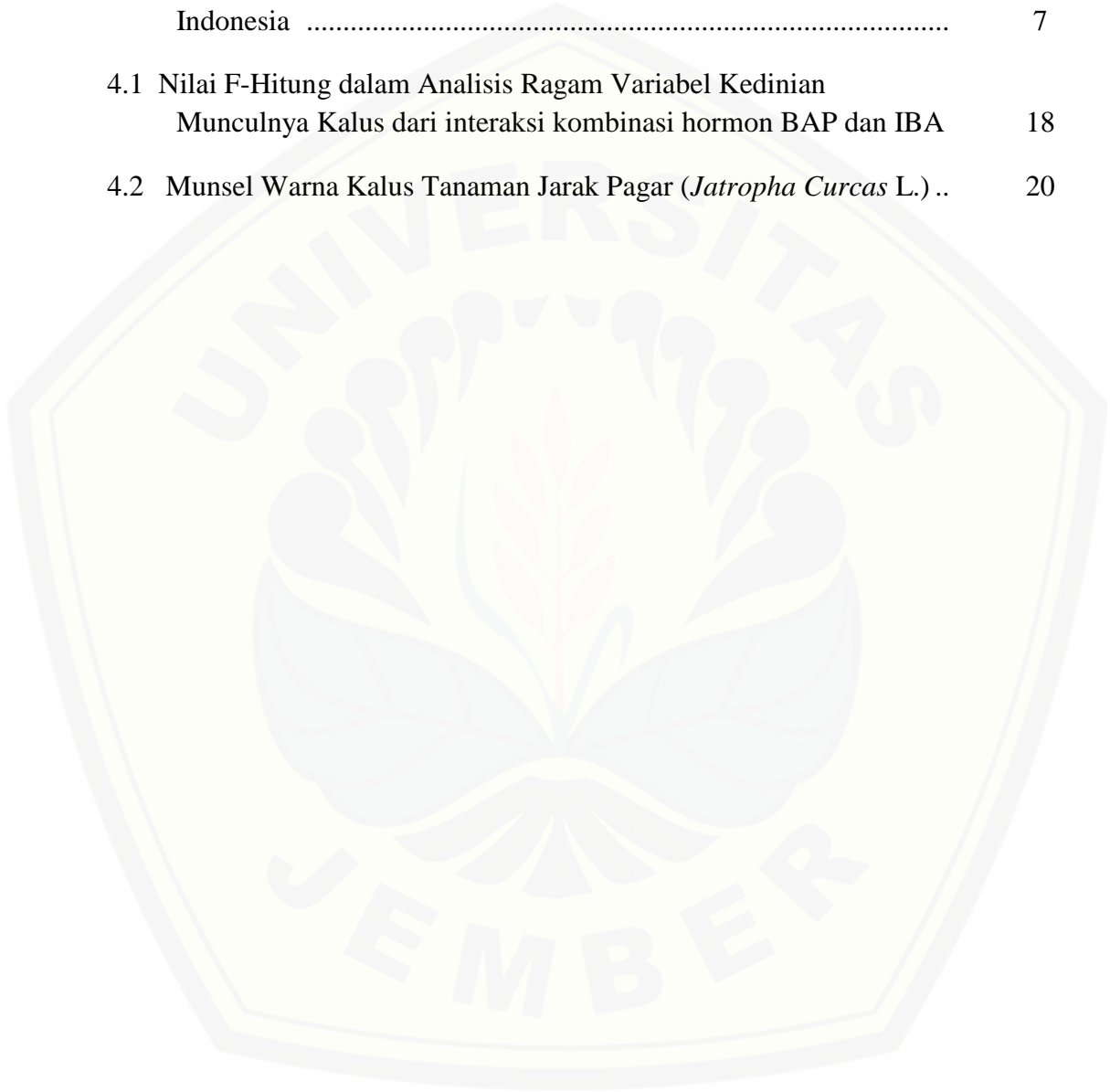
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
4.1 Tunas Tanaman Jarak Pagar.....	16
4.2 Rata-rata Kedonian Munculnya Kalus (HST)	19



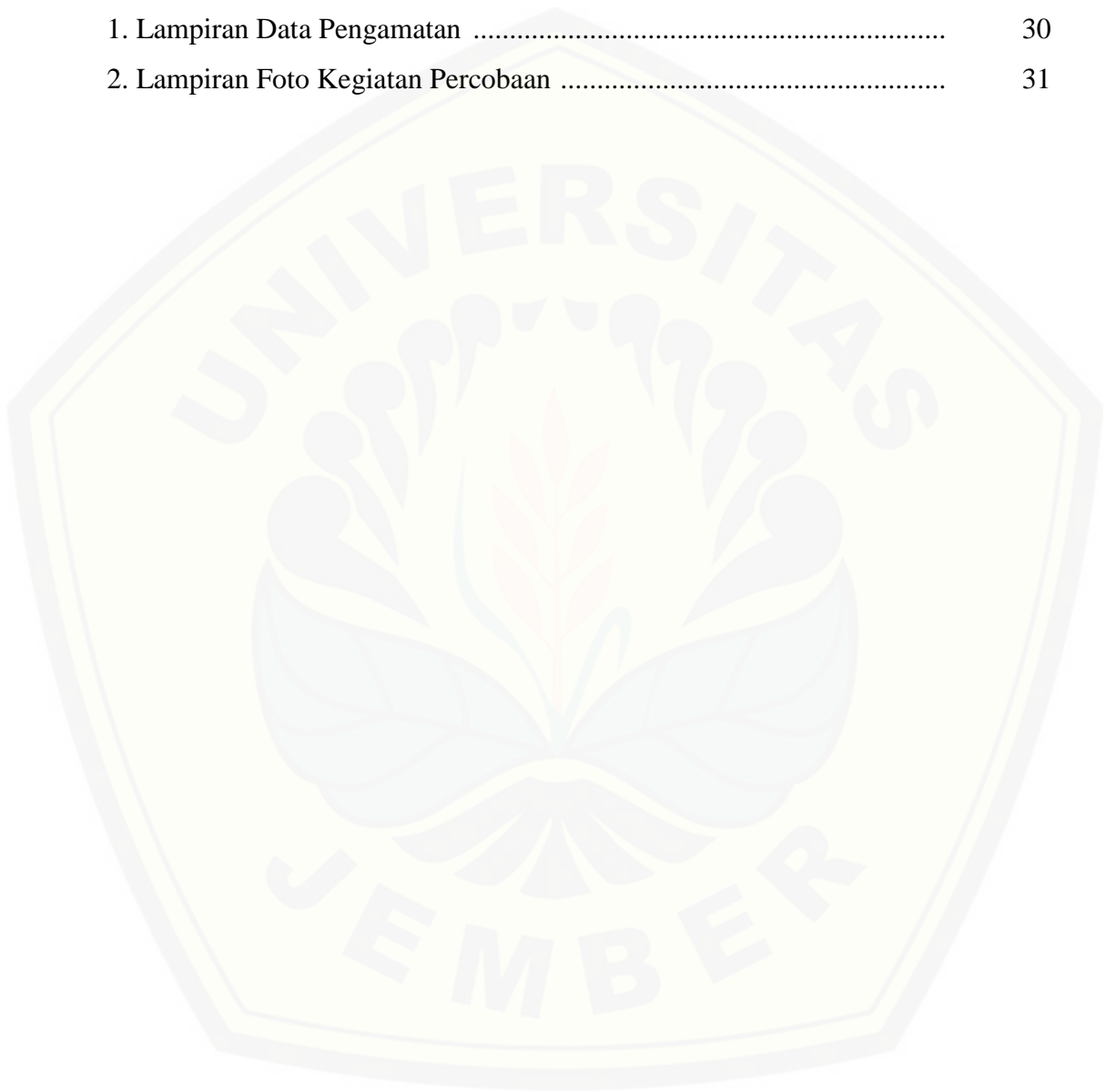
DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Luas Lahan yang sesuai Tanaman Tahunan Lahan Kering di Indonesia	7
4.1 Nilai F-Hitung dalam Analisis Ragam Variabel Kedinian Munculnya Kalus dari interaksi kombinasi hormon BAP dan IBA	18
4.2 Munsel Warna Kalus Tanaman Jarak Pagar (<i>Jatropha Curcas L.</i>) ..	20



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Lampiran Data Pengamatan	30
2. Lampiran Foto Kegiatan Percobaan	31



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati untuk bahan baku biodiesel. 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 (Anggraeni, 2012).

Salah satu upaya diversifikasi energi adalah melalui penyediaan bahan bakar energi yang dapat diperbaharui seperti biodiesel yang dapat dihasilkan dari minyak nabati seperti minyak kelapa, minyak kelapa sawit dan minyak jarak pagar. Biodiesel digunakan sebagai bahan bakar alternatif pengganti minyak diesel/solar. Penggunaan minyak kelapa dan minyak kelapa sawit sebagai biodiesel dapat mengganggu stok minyak makan nasional, kebutuhan industri oleokimia dan ekspor CPO. Biodiesel yang dihasilkan dari minyak kelapa dan minyak kelapa sawit memiliki harga yang lebih tinggi dibandingkan minyak diesel dari bahan bakar fosil. Pemanfaatan minyak jarak pagar sebagai biodiesel memberikan peluang yang besar karena minyak jarak pagar tidak dapat dikonsumsi sebagai minyak makan (non edible oil) (Said, 2010).

Jarak pagar sangat berpotensi sebagai biodiesel, karena tidak bersaing dengan tanaman penghasil pangan, tidak dimakan binatang karena beracun, tanaman ini mudah beradaptasi di lapangan, pertimbangan lingkungan untuk mengurangi polusi, tidak tergantung pada bahan bakar fosil, kesempatan bisnis baru untuk pendapatan petanidan kegiatan produksi bahan bakar lebih terdesentralisasi. Namun, terdapat beberapa tantangan dalam pengembangan jarak pagar itu sendiri, diantaranya (1) produksi rendah, (2) teknologi budidaya masih kurang, dan (3) nilai jual masih rendah (Syakir, 2010). Untuk menjawab tantangan tersebut dibutuhkan teknologi yang dapat meningkatkan produksi dari jarak pagar tersebut, salah satunya adalah dengan transfer genetic yang dapat dicapai dengan kultur jaringan.

Penerapan teknik kultur jaringan pada tanaman jarak pagar di Indonesia masih belum banyak dilakukan. Berbagai peneliti (Srivastava 1974; Srivastava dan Johri 1974; Kristanto dan rahmi 1993; Kristanto dan Reddy 2000) telah melaporkan berbagai hasil dari penggunaan jarak pagar sebagai bahan kultur dengan berbagai eksplan dan genotipe yang berbeda dalam regenerasi tunas jarak pagar. Metode yang tepat dalam regenerasi jarak pagar menggunakan bagian vegetatif tanaman sangat penting dilakukan, karena akan menjadi dasar yang dalam perbanyakan jarak pagar melalui kultur jaringan.

Jarak pagar dalam kultur jaringan bukan merupakan tanaman baru, telah banyak penelitian yang menggunakan berbagai macam sumber eksplan jarak pagar mulai dari daun, tangkai daun, kotiledon hingga mata tunas, Seperti pada penelitian (Kumar *et al* 2015) yang menggunakan eksplan daun, nodus, dan tangkai daun dalam inokulasi kalus tanaman jarak pagar menggunakan beberapa komposisi media seperti NAA, IBA, dan 2,4-D yang menghasilkan tangkai daun dan daun menunjukkan pertumbuhan kalus paling tinggi. Menurut Pierik dalam Panghal *et al* (2012), tangkai daun memiliki jaringan somatik dan tanaman yang dikembangkan dari tangkai daun memiliki ketahanan terhadap variasi geneteik. Hormon yang paling banyak digunakan untuk penumbuhan kalus pada tangkai daun jarak pagar sendiri yaitu golongan auksin seperti IAA dan IBA seperti pada penelitian Weida *et al*, (2013) yang menggunakan IBA.

Perbanyakan dengan teknik kultur jaringan tentunya didukung dengan zat pengatur tumbuh untuk merangsang pertumbuhan eksplan. Jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini adalah BAP dan IBA dimana zat pengatur tumbuh tersebut banyak digunakan dalam induksi kalus tanaman jarak pagar. Penelitian Panghal *et al*. (2012), menunjukkan bahwa induksi kalus tanaman jarak pagar pada perlakuan BAP 1 ppm + 3 IBA ppm menghasilkan berat basah cukup tinggi yaitu 7,231 gram. Hasil penelitian Weida *et al*. (2013), menyatakan bahwa induksi kalus dengan eksplan tangkai daun tanaman jarak pagar lebih efisien menggunakan IBA 5 ppm. Teknik ini diharapkan dapat memberikan alternatif dalam upaya konservasi dan perkembangan jarak pagar dimasa yang akan datang. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilaksanakan

penelitian tentang tanaman jarak pagar dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA yang tepat sehingga dapat menginduksi kalus dari eksplan tanaman gaharu.

1.2. Rumusan Masalah

Tanaman jarak pagar merupakan tanaman nabati penghasil minyak yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif biodiesel maupun biofuel. Akan tetapi, terdapat kendala dalam perbanyakan jarak pagar secara generatif diantaranya (1) produksi rendah, (2) teknologi budidaya masih kurang, dan (3) nilai jual masih rendah. Perbanyakan melalui kultur jaringan dengan induksi kalus pada bagian vegetatif, yaitu tangkai daun dapat menjadi salah satu solusi mengatasi permasalahan sehingga tanaman yang dihasilkan seragam dan relatif lebih cepat. Teknik kultur jaringan tanaman jarak pagar dengan melakukan induksi kalus zat pengatur tumbuh BAP dan IBA untuk merangsang pertumbuhan kalus pada eksplan tangkai daun tanaman jarak pagar.

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui induksi kalus dari tangkai daun jarak pagar akibat perlakuan kombinasi BAP dan IBA.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai referensi multiplikasi tunas secara tidak langsung untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

Jarak pagar adalah spesies tanaman berbunga kecil yang masuk dalam keluarga Euphorbiaceae. Tanaman yang berasal dari Amerika Tengah ini sangat baik dalam beradaptasi dan berpotensi sebagai salah satu energi yang terbarukan dari tanaman, yaitu biofuel (Subroto, 2014). Jarak pagar atau biasa di kenal dengan *physic nut*, adalah tanaman dengan tinggi mencapai 5m dan memiliki spesies sebanyak 170 yang tersebar diseluruh dunia. Nama genus berasal dari bahasa Yunani *Jatros* (dokter) dan *trophe* (makanan), yang berarti tanaman obat. Jarak pagar merupakan nama umum dari tanaman, sedangkan *physic nut* biasa digunakan di Malabar, India (Garg, 2011).

Jarak pagar mampu menghasilkan hingga 8 ton benih kering / ha dengan tingkat ekstraksi sekitar 30-40% (Subroto, 2014). Kandungan tersebut lebih tinggi dari tanaman minyak seperti kedelai, kandungan minyak dari Jarak pagar ini juga memiliki karakteristik yang sama dengan minyak-minyak lain yang biasa digunakan untuk mesin diesel dan minyak makan, sehingga dapat menjadi calon pengganti bahan bakar fosil dan tentunya energi terbarukan Kadar minyak dalam biji jarak ini terbagi pada bagian biji yaitu sebesar 27-30%, lapisan benih 35%-40%, dan kernel 55-60%. (Misra, 2010). Menurut Mve (2013), penggunaan Jarak pagar untuk produksi biofuel dapat mengkompensasi kekurangan energi, mengurangi emisi CO² dan memberikan kontribusi untuk meningkatkan pendapatan petani. Namun, terdapat beberapa tantangan sebelum tanaman ini dieksploitasi. Diperlukan pasokan produksi dalam skala besar dan tentunya dengan kualitas tinggi dan dalam waktu singkat.

2.2 Biologi Tanaman Jarak pagar

Tanaman jarak pagar sudah dikenal di tingkat masyarakat luas. Beberapa nama lokal diberikan untuk tanaman ini, seperti ; jarak budeg, jarak gundul, jarak Cina (Jawa), baklawah, nawaih (NAD), jarak kosta (Sunda), paku kare (Timor), peleng kaliki (Bugis), kalelkie paghar (Madura), jarak pager (Bali), lulumau, paku

kase, jarak pagar (Nusa Tenggara), kuman nema (Alor), jarak kosta, jarak walanda, binalalo, tondo utomene (Sulawesi), ai huwa kamala, balacai, kadoto (Maluku) (Nurcholis, 2006).

Tanaman jarak pagar asli berasal dari Amerika Tengah kemudian menyebar ke seluruh dunia. Tanaman ini datang ke Indonesia pada abad 18 oleh pelaut Portugis sehingga variasi yang ada sempit dengan ekotipe tertentu saja (Hasnam dalam Syakir, 2010). Klasifikasi tanaman jarak menurut Syakir (2010), sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta.
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Euphorbiales
Famili : Euphorbiaceae
Genus : Jatropha
Species : Jatropha curcas L.

Genus Jatropha terdiri atas 175 spesis dan yang ada di Indonesia ada lima spesis, yaitu : J. curcas, J. gossypifolia, J. integerrima, J. multifida dan J. Podagrica. Spesies jarak pagar terdiri atas dua kelompok. Pertama kelompok diploid ($2m=22$) dan tetraploid (20-44).

2.3 Potensi Jarak pagar.

Tanaman ini juga tidak bersaing dengan tanaman pangan, sehingga tidak akan mengganggu tanaman pangan yang berpotensi sebagai biofuel seperti pisang, jagung, ataupun kedelai. Jarak pagar sejatinya merupakan tanaman beracun yang didalamnya terdapat senyawa beracun seperti lektin, saponin, karsinogenik phorbol, dan inhibitor tripsin. Pada tahun 2005, Australia Barat sempat melarang tanaman jarak berjenis *J. Gossypifolia* karena sangat beracun bagi manusia dan juga binatang. Meskipun sifat racun yang tinggi tersebut, beberapa negara di dunia tetap mengkonsumsinya dengan cara di panggang terlebih dahulu untuk mengurangi toksisitas. Getah dari tanaman ini dapat menyebabkan iritasi pada kulit, apabila tertelan dan tidak diobati dengan segera dapat berakibat fatal bagi manusia. Oleh karena itu, Jarak pagar digunakan sebagai pagar di seluruh dunia

untuk melindungi lahan pertanian. Namun, dari beberapa fakta diatas minyak dan turunan tanaman ini dapat digunakan untuk sejumlah produk berguna, seperti lilin, sabun kualitas tinggi, kosmetik, biopestisida, dan pupuk Duke dalam Misra (2010).

Potensi jarak pagar sebagai bahan obat telah digunakan oleh penduduk di daerah Mojokerto untuk menyembuhkan gejala asam urat. Jarak pagar yang digunakan adalah jarak jenis wangi dengan aroma menyerupai daun pandan yang sekaligus menjadi penciri yang membedakan dengan jarak pagar pada umumnya. Aroma tersebut sebagai dugaan adanya senyawa atsiri pada daun dan bagian tanaman yang lain yang berupa daun dan ranting. Pada penelitian analisis kandungan Jarak pagar varietas Wangi oleh Widaryanto (2009), didapatkan bahwa senyawa aromatik terkandung dalam jarak wangi dengan proporsi terbesar adalah trans-phytol (31.40%) dan total golongan benzene (31.85%). Selain dari keuntungan tersebut, pengembangan tanaman jarak harus didukung dengan ketersediaan lahan yang sesuai untuk penanaman massal jarak pagar ini sendiri.

Jarak pagar tentunya telah menjadi tanaman yang sangat berpotensi sebagai tanaman penghasil bioenergi. Namun, ketersediaan lahan harus dipenuhi agar tanaman ini dapat bersaing dengan tanaman perkebunan penghasil minyak yang mendominasi saat ini seperti kelapa sawit, kelapa, dan karet. Jarak pagar ini sendiri merupakan tanaman yang toleran terhadap lahan kering, oleh karena itu telah dilakukannya perluasan lahan kering bagi komoditas bioenergi oleh Badan Litbang Pertanian. Luas lahan total lahan kering mencapai 22,3 juta ha dengan peluang untuk tanaman lahan kering tahunan sebesar 15,3 juta ha yang tersebar di Sumatra, Jawa, Bali, Nusa Tenggara, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Luas Lahan yang sesuai tanaman tahunan lahan kering di Indonesia

Pulau	Lahan Kering Semusim (ha)	Lahan Kering Tahunan (ha)	Luas Total Lahan Kering (ha)
Sumatra	1.311.776	3.226.785	4.538.561
Jawa	40.544	158.953	199.497
Bali dan Nusa Tenggara	137.659	610.165	747.824
Kalimantan	3.639.403	7.272.049	10.911.452
Sulawesi	215.452	601.165	816.632
Maluku dan Papua	1.738.978	3.440.973	5.179.951
Indonesia	7.083.812	15.310.105	22.393.917

2.4 Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman, seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap dan kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya (Laelawati dan Ibrahim dalam Rahayu 2016).

Kultur jaringan adalah budaya dan pemeliharaan sel atau organ tanaman dalam lingkungan steril dan kecukupan gizi yang baik bagi tanaman (secara *in vitro*). Dalam dunia komersial, kultur jaringan lebih kearah propagasi tanaman sehingga disebut sebagai micropropagasi. Kultur jaringan merupakan cara untuk mengembangkan tanaman pada media transparan dengan campuran media seperti zat pengatur tumbuh dan nutrisi dibawah keadaan steril. Oleh karena itu, keadaan steril sangat mempengaruhi keberhasilan dari kultur jaringan. Hasil dari kultur

jaringan ini memproduksi tanaman persis dengan tetuanya, baik dalam bunga, buah, dan sifat yang diturunkan oleh tetua. Terdapat beberapa jenis kultur jaringan, yaitu kultur kalus, kultur sel suspensi, kultur protoplast, kultur eksplan, kultur mikrospora, kultur embrio, kultur akar, kultur meristem dan tunas, dan kultur organ (Garg, 2011).

Menurut Garg (2011), komposisi media terutama hormon dan sumber nitrogen akan sangat berpengaruh langsung terhadap morfologi tanaman. Kelebihan Auksin akan merangsang pelebaran sel, terutama elongasi sel khususnya pada akar. Sementara kelebihan sitokinin dapat menghasilkan tunas dengan memproduksi stimulan dari proses sintesis DNA dan peningkatan divisi sel. Keseimbangan antara Auksin dan Sitokinin akan lebih meningkatkan pertumbuhan kalus karena terjadi proses penumpukan sel. Hal itu dikarenakan jaringan tanaman menjadi aktif sehingga pembelahan sel dan perluasan sel, perkembangan morfologi tergantung pada jenis tanaman serta komposisi media (Garg, 2011).

Prinsip kerja teknik kultur jaringan adalah dengan cara pengambilan sebagian sel atau jaringan pada tumbuhan yang dikehendaki, bisa melalui potongan kecil daun, akar, batang, atau bagian organ tumbuhan yang lainnya. Potongan tersebut, kemudian ditumbuhkan di dalam suatu medium bernutrisi yang telah dipersiapkan untuk pertumbuhan potongan organ tumbuhan. Dari potongan tumbuhan yang diletakkan di atas medium tadi akan tumbuh menjadi individu baru yang utuh. Teknik kultur jaringan memanfaatkan sifat totipotensi sel tumbuhan, yaitu sifat sel yang mampu menjadi satu individu baru yang utuh, lengkap dengan akar, batang, dan daunnya (Abdurahman, 2008). Berikut beberapa keuntungan yang diperoleh dari teknik kultur jaringan menurut Abdurahman (2008), diantaranya, (a) efisiensi dalam tempat, karena hanya memerlukan lahan yang sedikit, (b) mendapatkan banyak bibit tanaman dalam jangka waktu singkat, (c) anakan hasil kultur jaringan memiliki sifat yang sama dengan induknya, (d) dapat memperoleh sifat yang dikehendaki dan (e) metabolit sekunder tanaman segera didapat tanpa perlu menunggu tanaman dewasa.

Kultur jaringan akan lebih besar persentasenya bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan meristem adalah jaringan muda, yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah, dindingnya tipis, belum mempunyai penebalan dari zat pektin, plasmanya penuh dan vakuola yang kecil, hal tersebut diperkirakan karena jaringan meristem mempunyai zat hormon yang mengatur pembelahan.

Perbanyakan tanaman dapat digolongkan menjadi dua, yaitu perbanyakan tanaman secara *generatif* dan perbanyakan secara *vegetatif*. Dimana perbanyakan secara *generatif* adalah dengan menanam biji, sedangkan perbanyakan secara *vegetatif* adalah perbanyakan yang dilakukan secara sambung seperti *stek*, okulasi cangkok, penyambungan, merunduk, dan yang paling mutakhir adalah dengan kultur jaringan. Budidaya meristem atau embrio bertujuan untuk menumbuhkan kalus dari eksplan yang ditanam. Kalus ini biasanya muncul dari bagian periderm, periblem, dan plerom, sepanjang tulang daun atau di antara tulang daun.

Kalus sebenarnya adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdeferensiasi. Massa sel ini terbentuk pada seluruh permukaan irisan eksplan, sehingga semakin luas permukaan irisan eksplan maka akan semakin cepat dan semakin banyak kalus yang terbentuk. Isolasi protoplas dan kloroplas memerlukan kalus yang telah dalam bentuk remah (*Viable*). Kalus yang remah dapat diperoleh dengan cara melakukan sub-kultur berulang-ulang dengan media padat. Menurut Fitri (2012), faktor penentu di dalam media tumbuh adalah komposisi garam anorganik, ZPT dan bentuk fisik media. 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.

Penelitian kali ini akan menggunakan eksplan tangkai daun dari jarak pagar yang akan ditanam pada media MS dengan kombinasi BAP dan IBA untuk induksi kalus. BAP sendiri merupakan sitkonin yang baik dalam menunjang regenerasi BAP yang dikombinasikan dengan hormon suplemen auksin untuk elongasi tunas. Didapat dari penelitian Panghal *et al* (2012), bahwa kombinasi

sitkonin BAP dan suplemen auksin IBA merupakan kombinasi yang tepat dalam proses regenerasi tunas dari eksplan tangkai daun.

2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).

Zat pengatur tumbuh adalah hormon tumbuhan yang dapat memacu pertumbuhan sel-sel atau jaringan tertentu dari sel-sel kalus yang belum terdiferensiasi. 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. Ada beberapa jenis ZPT yaitu; auksin, giberelin, sitokinin, dan adenin, namun yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Fitri, 2012). Komposisi media terutama zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan kultur jaringan. Auksin dan sitokinin merupakan dua golongan zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel-sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur.

1.5.1 Zat Pengatur Tumbuh benzyladenin 6-aminopurin (BAP)

6-Benzylaminopurine (BAP) merupakan ZPT sintetis yang mempunyai sifat stabil yakni tidak mudah terurai oleh pemanasan pada proses sterilisasi, dan harganya relatif murah. (Hidayati dalam Rahayu, 2016). benzyladenin 6-aminopurin (BAP) termasuk dalam golongan sitokinin yang berperan dalam pertumbuhan tunas. Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi kedua ZPT tersebut bekerja secara berinteraksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Sitokinin merangsang pembelahan sel tanaman dan berinteraksi dengan auksin dalam tanaman (Wareing dan Phillips, 1970). Menurut Kehr dan Schoeffer (1976), Dustan dan Short (1977) bahwa sitokinin di samping merangsang pembelahan sel, juga dapat menghambat pemanjangan batang. Hal ini diduga

sitokinin/BAP menghambat proses pemanjangan sel oleh auksin. Konsentrasi BAP yang optimal untuk memacu pertumbuhan tanaman bervariasi dan tergantung pada jenis tanaman. Banyak jumlah tunas yang terbentuk karena tercapainya antara zat pengatur tumbuh eksogen dengan eksplan untuk merangsang pemunculan tunas-tunas baru, karena untuk menghasilkan tunas dalam jumlah banyak eksplan yang dikulturkan juga berasal dari tunas sehingga eksplan yang digunakan lebih aktif merespon zat pengatur tumbuh.

1.5.2 Zat Pengatur Tumbuh Indole Butyric Acid (IBA)

Indole-3-Butyric Acid (IBA). Merupakan jenis auksi dengan fungsi untuk memacu pertumbuhan akar didasarkan pada: sifat translokasi, persistensi (tidak mudah terurai), dan laju aktivitas. IBA merupakan jenis auksin yang paling sering digunakan dalam menginduksi akar diban-dingkan jenis auksin lainnya, karena kemampuan yang tinggi dalam menginisiasi perakaran (Wattimena, 1992). Pada penelitian Kumar *et al* (2015), menunjukkan bahwa penambahan suplemen auksin NAA 2,4-D dan IBA dalam media MS merupakan kombinasi terbaik dalam induksi kalus tanaman jarak pagar.

2.6 Hipotesis

Konsentrasi BAP dan IBA yang sesuai mempengaruhi induksi kalus pada tangkai daun jarak pagar.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2016 hingga selesai di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan diantaranya timbangan analitik, magnetic stirrer, pH meter, autoclave, Laminair Air Flow (LAF), gelas ukur, botol kultur, cawan petri, pinset, gunting, dan skalpel. Bahan yang digunakan antara lain adalah tangkai daun (*petiole*) tanaman Jarak pagar (*Jatropha Curcas L.*), media MS (Murashige Skoog, 1962) 4,4gr, vitamin, zat pengatur tumbuh BAP, IBA (Indole-3-butiras asam), aquades, sukrosa 30g, agar 6g, alumunium foil, plastik wrap, dan alkohol 70%

3.3 Metode Percobaan

Metode yang digunakan pada tahap induksi kalus ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan menggunakan 2 faktor sebagai berikut :

- a) Faktor pertama, Konsentrasi BAP dengan 4 taraf : B₀ (0 ppm); B₁ (1,0 ppm); B₂ (3,0); dan B₃ (5,0).
- b) Faktor kedua, Konsentrasi IBA dengan 4 taraf : I₀ (0 ppm); I₁ (0,5 ppm); I₂ (1,0); dan I₃ (1,5).

Dengan kedua faktor di atas, akan dilihat pengaruh dari konsentrasi BA dan IBA dalam regenerasi tunas dan elongasi tunas., dengan model linier aditif sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Pengamatan pada satuan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan taraf ke-i dari faktor A dan taraf ke-j dari faktor B.

μ = Nilai tengah umum

- α_i = Pengaruh taraf ke-i dari faktor A
 β_j = pengaruh taraf ke-j dari faktor B
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh taraf ke-i dari faktor A dan taraf ke-j dari faktor B.
 ϵ_{ijk} = Pengaruh acak dari satuan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij. $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

3.3.2 Perlakuan dan ulangan

No	BA (6-benzyladenine)	IBA (Indole-3-Butyric Acid)			
		I ₀	I _{0,5}	I ₁	I _{1,5}
1	B ₀	B ₀ I ₀	B ₀ I _{0,5}	B ₀ I ₁	B ₀ I _{1,5}
2	B ₁	B ₁ I ₀	B ₁ I _{0,5}	B ₁ I ₁	B ₁ I _{1,5}
3	B ₃	B ₃ I ₀	B ₃ I _{0,5}	B ₃ I ₁	B ₃ I _{1,5}
4	B ₅	B ₅ I ₀	B ₅ I _{0,5}	B ₅ I ₁	B ₅ I _{1,5}

Dengan 2 faktor BA dan IBA tersebut masing-masing terdiri dari 4 taraf, sehingga didapat $4 \times 4 = 16$ kombinasi perlakuan,. Dimana masing-masing kombinasi perlakuan dikenakan 4 ulangan sehingga didapat $16 \times 4 = 64$ satuan percobaan. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA), akan dilakukan uji lanjut duncan 5% apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan.

3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Persiapan Media

Persiapan awal adalah menyiapkan larutan stok yang digunakan untuk pembuatan media .Media ditambahkan dengan 100 mg/l myo-inositol dan 3,0% sukrosa. Volume akhir dibuat menggunakan air ditilasi ganda. pH semua media telah disesuaikan dengan 5,8 menggunakan 1.0N 5.8 NaOH HCl dan kemudian media kultur dipadatkan dengan menggunakan 0,8% agar sebelum di autoclave.

Media kemudian dipanaskan hingga mencair, kemudian media cair tersebut dimasukkan kedalam tabung-tabung steril. Semua media kultur lalu di autoclave selama 20 menit pada suhu 121° C dan tekanan 15 psi selama 20 menit.

3.4.2 Sterilisasi Peralatan

Sterilisasi peralatan dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf, dimana sebelum alat-alat seperti botol kultur, cawan petri, pinset, scalpel dimasukkan ke dalam autoklaf, peralatan yang akan digunakan harus terlebih dahulu dicuci dan dibungkus menggunakan plastik khusus yang tahan terhadap suhu tinggi. Sehingga peralatan yang akan digunakan tidak mudah rusak. Setelah peralatan tersebut dibungkus, selanjutnya disterilkan di dalam autcelave pada suhu 121⁰C dan tekanan 14,22 psi selama 30 menit.

3.4.3 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan pada percobaan ini adalah tangkai daun dari tanaman Jarak pagar dewasa. Bagian tunas keras pada daun muda dipotong dari tanaman. dan tangkai dain di isolaso dari tunas. Permukaan tangkai daun di sterilkan dengan 2% Natrium Hipoklorit (NaClO) selama 15 menit lalu di bilas 5 kali dengan aquades. Tangkai daun lalu di potong sepanjang 4-6 mm dan digunakan sebagai eksplan untuk inokulasi ke media.

3.4.4 Induksi kalus

Eksplan di inokulasikan secara horizontal pada media MS yang mengandung sitokinin BA dengan konsentrasi berikut : 0 mg/l, 1,0 mg/l, 3,0 mg/l dan 5,0 mg/l dan kombinasi suplemen auksin IBA dengan konsnetrasi : 0 mg/l, 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l. Untuk mendapatkan kalus embriogenik, dilakukan subkultur setiap 2 minggu untuk memacu pertumbuhan eksplan serta memperbarui nutrisi pada media.

3.5 Variabel Percobaan

Analisis data yang digunakan pada induksi kalus adalah secara kualitatif dan kuantitatif. Variabel secara kuantitatif pada induksi kalus yaitu kedinian muncul kalus dan variabel secara kualitatif yaitu warna kalus dan tekstur kalus. Kedinian kemunculan kalus, ditentukan berdasarkan penghitungan jumlah hari yang dibutuhkan eksplan untuk membentuk kalus, ditunjukkan dengan munculnya granul atau jaringan berwarna putih kekuningan pada permukaan eksplan. Pengamatan kedinian munculnya kalus dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat munculnya kalus yang dinyatakan dalam HST (hari setelah tanam).

Variabel secara kualitatif pada induksi kalus diantaranya warna kalus dan tekstur kalus. Pengamatan warna kalus didasarkan pada buku pedoman warna kalus yaitu *Munsell Color Charts For Plant Tissue*. Pengukuran didasarkan pada kecocokan warna kalus dengan warna yang terdapat pada buku *Munsell* dan hasil yang disajikan merupakan hasil yang dominan dari setiap perlakuan. Sedangkan untuk pengamatan tekstur kalus diamati secara visual.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Induksi kalus terbaik pada kombinasi perlakuan BAP 3 ppm dan IBA 1,5 ppm dengan indikator kediniannya munculnya kalus sekitar 13,5 HST. Kalus yang didapat merupakan kalus bertekstur *friable* (remah) dengan warna hijau kekuningan (7,5 GY 7/10).

5.2 Saran

1. Metode perendaman mungkin saja bisa pada jenis sitkonin lain yang lebih stabil seperti BAP.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman D. 2008. *Biologi*. Grafindo Media Pratama: Bandung.
- Anggraeni T.D.A., E. Sulistyowati dan R.D. Purwati. 2012. Pengaruh Komposisi Media dan Sumber Eksplan Terhadap Induksi Kalus, Perkecambahan, dan Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik Jarak pagar. *Tanaman Tembakau*. 4(2): 76-84.
- Chiangmai P.N, Y. Pootang-on, P Moetum, R. Kamakjon, Yuiam, N. Rungphan dan P. Ninkaew. 2015. Regeneration of Adventitious Shoots from Callus and Leaf Explants in *Jatropha curcas* L. 'Phetchaburi'. 9(1): 28-39.
- Fadilah, R., E. Ratnasari, dan Isnawati. 2014. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Daun Tin (*Ficus carica*) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi IBA dan Kinetin pada Media MS secara In Vitro. *Lentera Bio*, 3 (3): 141-146
- Fitri M.S., Z. Thomy dan E. Harnelly. 2012. *In-Vitro* Effect of Combined Indole Butyric Acid (IBA) and Benzil Amino Purine (BAP) on the Planlet Growth of *Jatropha curcas* L. *Natural*. 12(1): 27-31.
- Garg P. 2011. Plant Tissue Culture of *Jatropha Curcas* L: A Review. *Pharmacognasy & Natural Products*. 1(1): 6-13.
- Guang Li Z., M. Gong, S.Z. Yang dan W.B. Long. Effiecient Callus Induction and indirect plant regeneration from various tissues of *Jatropha curcas*. *African Journal of Biotechnology*. 11(31): 7843-7849.
- Hambali E. 2006. *Jarak pagar, Tanaman Penghasil Biodiesel*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jose, J., Nimisha, K., Anu, M. A., and Nambisan, P. (2012) Evaluation of somaclonal variation in callus cultures of *Jatropha curcas* maintained on different hormonal combination using RAPD makers. *World Journal of Agricultural Sciences* 8(6): 616-623.
- Kumar S., V. Kumar, M.K Sharma, N. Kumar, A. Kumar, L.P.S. Tomar, S.K. Sharma, M.K. Singh, R.S. Sengar dan N. Jaiswal . 2015. Effects of different plant growth regulators on *in vitro* callus induction in physic nut (*Jatropha curcus* L.). *Applied and Natural Science*. 7(1): 30-37.
- Liu Ying, X. Tong, W. Hui, T. Liu, X. Chen, J. Li, C. Zhuang, Y. Yang dan Z. Liu. 2015. Efficient culture protocol for plant regeneration from petiole

- explants of physiologically mature trees of *Jatropha curcas* L. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 29(3): 479-488.
- Misra M dan A.N. Misra. 2010. *Jatropha: The Biodiesel Plant Biology, Tissue Culture and Genetic Transformation – A Review*. *Pure Appl. Science. Technology*. 1(1): 11-24.
- Mve S. D. M., et al. 2013. *In Vitro* Micropropagation of *Jatropha curcas* L. from Bud Aggregates. *Technology Innovation of Renewable Energy*. 2(2): 146-164.
- Nadhirah N.A., N. Anuar dan Z. Yaakob. 2014. Induction of Multiple Shoot Bud Formation from *Jatropha curcas* L. *Applied Science and Agriculture*. 9(20): 63-69.
- Nurcholis M. Dan S. Sumarsih. 2006. *Biodiesel Jarak pagar Bahan Bakar Alternatif yang Ramah Lingkungan*. Pt. Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Panghal S., Beniwal.V.S and Laura J.S. 2012. An Efficient Plant Regeneration Protocol from petiole explants of physic nut (*Jatropha curca* L.). *Biotechnology*. 11(63): 12653-126566.
- Peterson, G., R. Smith. 1991. Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of American and international rice varieties. *Plant Cell Rep* 10: 35-38.
- Pierik, R. L. M., 1987. *In Vitro culture of hinger plant*. Martinus Nijhoff Publisher. Netherlands.
- Purnamaningsih, R 2002, Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya, *Buletin AgroBio* 5(2):51–58.
- 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.
- Raghavan, V. 1986. *Embryogenesis in angiosperm : A developmental and experimental study*. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Rahayu T dan U. Mardini. 2016. Respon Eksplan Nodus dan Daun Tanaman Binahong (*Andrea cordifolia* L.) pada Media MS dengan Variasi Konsentrasi BAP. Diadakan oleh Pendidikan Biologi FKIP-UNS: Prodi Pendidikan Biologi UNS, UNS, Surakarta.
- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan. Jilid 1*. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryo. Bandung : ITB

- Said M., W. Septiarty dan T. Tutiwi. 2010. Studi Kinetika Reaksi pada Metanolisis Minyak Jarak pagar. *Teknik Kimia*. 17(1): 15-22.
- Subroto A. P. 2014. Tissue Culture Media Optimization and Genetic Transformation of *Jatropha curcas* Genotype Jatromas Cotyledon Explants. *Energy Procedia*. 15-20.
- Syakir M. 2010. Prospek dan Kendala Pengembangan Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) Sebagai Bahan Bakar Nabati di Indonesia. 9(2): 55-65.
- Tonga, I. B., E. B. M. Siregar, dan N. Anna. 2012. Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Terhadap Pemberian 2,4-D Secara In Vitro. *USU*, 1 (1): 16-21
- Widaryanto Eko. 2009. Identifikasi Jarak pagar (*Jatropha Curcas* L.) Jenis Wangi. *Ilmu Pertanian*. 31(1): 1-12.
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Mokara. *J. Hort.*, 24(3): 230-238
- Yeoman, M. M. and Yeoman, C. L. (1996) Manipulating secondary metabolism in cultural plant cells. *New Phytologist* 134: 553-569.
- Yulia, E.N.S., L.S. Budipramana dan E. Ratnasari. 2012. Induksi dan Pertumbuhan Kalus Batang Melati (*Jasminum sambac*) pada Media MS dengan Penambahan Giberelin. *LenteraBio*, 1 (1): 49-53

LAMPIRAN

A. ANALISIS RAGAM VARIABEL KEDINIAN MUNCULNYA KALUS (HST)

NO	NO	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
		I	II	III	IV		
1	B0I0	21	20	20	20	81	20,25
2	B0I0,5	19	19	20	20	78	19,5
3	B0I1	17	17	17	16	67	16,75
4	B0I1,5	16	16	16	15	63	15,75
5	B1I0	20	20	20	21	81	20,25
6	B1I0,5	19	19	19	20	77	19,25
7	B1I1	16	16	17	17	66	16,5
8	B1I1,5	16	16	16	17	65	16,25
9	B3I0	20	20	21	21	82	20,5
10	B3I0,5	19	20	20	20	79	19,75
11	B3I1	16	16	16	17	65	16,25
12	B3I1,5	13	13	14	14	54	13,5
13	B5I0	20	20	20	21	81	20,25
14	B5I0,5	19	20	20	20	79	19,75
15	B5I1	17	17	18	18	70	17,5
16	B5I1,5	16	17	17	17	67	16,75
	Jumlah	284	286	291	294	1155	288,75

FK = 20844,14063

No	SK	DB	JK	KT	F-HITung	F-tabel	
						0,05	0,01
1	Perlakuan	15	273,61	18,24067	66,07939623	1,880175	2,435846
2	Faktor A	3	9,0468	3,0156	10,92443774	2,798061	4,217958
3	Faktor B	3	244,5468	81,5156	295,3017962	2,798061	4,217958
4	Faktor AxB	9	20,01562	2,223958	8,056601761	2,08173	2,801816
2	Error	48	13,25	0,276042			
3	Total	63	286,86	4,553333			

Cv = 2,9%

B. Tabel Komposisi MS (Murashige dan Skoog)

Stok	Senyawa	Per liter stok	Pemakaian	
			Stok	Per liter medium
A	NH ₄ NO ₃	82,5 g	20 ml	1.650 mg
B	KNO ₃	95 g	20 ml	1.900 mg
C	KH ₂ PO ₄	34 g	5 ml	170 mg
	H ₃ BO ₃	1,24 g		6,2 mg
	KI	0,166 g		0,83 mg
	Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,05 g		0,25 mg
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,005 g		0,025 mg
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88 g	5 ml	440 mg
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74 g	5 ml	370 mg
	MnSO ₄ .4H ₂ O	4,46 g		22,3 mg
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,72 g		8,6 mg
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005 g		0,025 mg
F	Na ₂ .EDTA	7,46 g	5 ml	37,3 mg
	FeSO ₄ .7H ₂ O	5,56 g		27,8 mg
	<i>Myo</i> -inositol	10 g	10 ml	100 mg
	Glisin	0,2 g		2 mg
	Niasin	0,05 g		0,5 mg
	Piridoksin-HCl	0,05 g		0,5 mg
	Tiamin-HCl	0,01 g		0,1 mg
	Sukrosa			30 g
	Agar			8 g

Sumber : Zulkarnain (2011)