

**INDUKSI KALUS DAN DETEKSI KANDUNGAN ALKALOID DAUN JARAK
(*Jatropha curcas* L.) MENGGUNAKAN HORMON 2,4-D DALAM
MEDIA MS (MURASHIGE SKOOG)**

Yudi Rinanto

**Program Studi Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Sebelas Maret Surakarta**

ABSTRACT

The research was conducted to examine 2,4-D hormone on callus induction and the synthesis of alkaloids in Jarak (*Jatropha curcas* L.) leaves callus on MS medium. The young leaves of Jarak are used as explant. The amount of 2,4-D hormone to be treated was 1 mg/l, 2 mg/l, dan 3 mg/l, respectively.

Evaluation of callus formation was done after 8 weeks incubation time. Qualitative analysis on the Alkaloid was done by color reaction and by TLC (Thin Layer Chromatography) with stationary phase silica gel GF 254 and asetat:metanol:air (100:13,5:10) as movement phase. The chromatogram was observed under UV254 nm and UV366 nm lamps

The results showed 3 ppm concentration of 2,4-D hormone resulted highest growth of callus formation (85%), the fastest time of callus induction (12.2 days) and average weight (0.054 grams) of dried callus. The qualitative analysis with Dragendorff reagent produced positive result brown color in TLC at UV254 nm, and blue color in UV366 nm. hRf value was almost the same as wild type. According to the research, alkaloid also found in the callus as in the wild type plant.

Keywords: Alkaloid, *Jatropha curcas* L., 2,4-D hormone

ABSTRAK

Penelitian telah dilakukan untuk menguji penggunaan hormone 2,4-D terhadap induksi kalus dan sintesa Alkaloid dalam kalus menggunakan bahan tanam daun jarak pada media MS. Daun jarak yang masih muda digunakan sebagai bahan tanam. Konsentrasi hormone 2,4-D dibuat bervariasi, yaitu 1 mg/l, 2 mg/l, dan 3 mg/l.

Pengamatan pembentukan kalus dilakukan

setelah masa inkubasi 8 minggu. Analisa kandungan alkaloid dilakukan secara kualitatif dengan reaksi warna dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak asetat:metanol:air (100:13,5:10). Kromatogram kemudian diamati di bawah lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm,

Hasil penelitian menunjukkan hormone 2,4-D dengan konsentrasi 3 ppm menghasilkan kalus dengan pertumbuhan tertinggi sebesar 85 %, waktu induksi kalus tercepat selama 12,2 hari dan berat rata-rata kalus kering terbanyak 0,054 gram. Analisa kualitatif dengan pereaksi Dragendorff memberikan hasil positif berwarna coklat, dengan KLT pada UV254 nm berwarna coklat dan UV366 nm berwarna biru. Nilai hRf hampir sama dengan tanaman asal. Berdasarkan uji kualitatif tersebut dapat disimpulkan bahwa dalam kalus yang dihasilkan juga mengandung alkaloid seperti pada tanaman asal.

Kata kunci: 2,4-D, Murashige Skoog, Alkaloid, kalus, *Jatropha curcas* L.

PENDAHULUAN

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) memiliki beberapa nama menurut daerah asalnya antara lain *nawaih nawas* (Aceh), *jirak* (Minangkabau); *jarak kosta* (Sunda) *jarak pager* (Jawa) (Nurcholis dan Sumarsih, 2007).

Beberapa bagian tanaman jarak pagar mempunyai banyak manfaat. Bijinya sebagai bahan pembuatan biodiesel, sabun dan peptisida. Bagian daun dapat digunakan sebagai makanan ulat sutra, atau insektisida. Ekstrak daun juga bersifat antiseptik. Getahnya mengandung alkaloid *jatrophine* yang berkhasiat anti kanker (Nurcholis dan Sumarsih, 2007). Batang mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol (Anonim, 2000).

Selain memproduksi metabolit primer, tanaman juga memproduksi metabolit sekunder. Senyawa yang berfungsi sebagai bahan baku obat-obatan kebanyakan berasal dari metabolit sekunder. Kenyataan yang ada menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder hanya diproduksi dalam jumlah yang sangat terbatas di dalam tanaman. Berbagai upaya telah banyak dilakukan untuk meningkatkan jumlah sintesa senyawa tersebut.

Penelitian tentang metabolit sekunder telah mengalami kemajuan yang pesat pada dekade terakhir ini. Salah satu aspek yang semakin berkembang adalah pendekatan proses produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan tanaman (Santoso dan Nursandi, 2003). Skrining jenis media yang dikombinasikan dengan hormone tertentu serta penambahan precursor ke dalam media tumbuh, merupakan faktor penentu didalam menginduksi senyawa metabolit sekunder yang menjadi target penelitian.

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh hormone 2,4-D dalam menginduksi pembentukan kalus yang berasal dari bahan tanam (eksplan) daun jarak dalam media MS, serta mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid di dalam kalus yang dihasilkan. Hormone 2,4-D berfungsi dalam merangsang perpanjangan sel dan pembentukan kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Keberhasilan pembentukan kalus dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut, antara lain sebagai bahan kultur suspensi sel untuk memproduksi metabolit sekunder yang menjadi target.

METODE PENELITIAN

Media *Murashige Skoog* (MS), hormon 2,4-D daun jarak yang masih muda sebagai eksplan, asam klorida (HCl) dan Natrium hidroksida (NaOH). Bahan kimia untuk sterilisasi adalah Dithane 430-F, bayclin®, alkohol 70 dan tween 80. Bahan kimia untuk analisis Alkaloid secara KLT adalah pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi asam nitrat pekat, etanol 70 %, plat silica gel GF 254, fase gerak campuran etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Alat yang digunakan adalah Autoklaf, oven, alat-alat gelas, *Laminar Air Flow* (LAF), Timbangan analitik, pH stick, bejana pengembang, iluminator UV dan TLC Scanner CS – 930.

Beberapa parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

1. Penentuan prosentase keberhasilan dilakukan dengan membandingkan jumlah eksplan yang berhasil membentuk kalus dengan jumlah seluruh eksplan yang ditanam, kemudian dikalikan 100%.
2. Waktu eksplan membentuk kalus, diamati mulai eksplan menunjukkan perubahan bentuk dengan adanya benjolan-benjolan massa sel yang dapat diamati secara visual.
3. Penentuan uji kandungan Alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak etanol dilarutkan dengan 1,5 ml HCl 2 %, larutan dibagi lima sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi pertama sebagai pembanding (ekstrak daun jarak), tabung reaksi kedua ditambah 2-3 tetes larutan Dragendorf, tabung reaksi ketiga ditambah 2-3 tetes larutan Mayer, tabung reaksi keempat ditambah 2-3 tetes larutan Bouchardat dan tabung reaksi kelima ditetesi 2-3 tetes larutan asam nitrat pekat. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terjadinya kekeruhan atau terjadinya endapan jingga kecoklatan untuk pereaksi Dragendorf, endapan putih kekuningan untuk pereaksi Mayer, endapan coklat untuk pereaksi Bouchardat, dan endapan coklat untuk pereaksi asam nitrat pekat.
4. Uji KLT terhadap senyawa alkaloid dilakukan secara kualitatif dengan metode KLT menggunakan fase diam silica gel GF 254 dan fase gerak etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Ekstrak etanol dari proses ekstraksi ditotolkan pada lempeng silica gel GF 254. Noda dikeringkan kemudian dimasukkan dalam *chamber* yang berisi etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Identifikasi alkaloid pada fase diam dapat dilakukan dengan cara dideteksi dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm, 366 nm, atau disemprot dengan pereaksi Dragendorf, hasil dinyatakan positif jika menghasilkan noda berwarna coklat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberhasilan pembentukan kalus.

Hasil pengamatan keberhasilan pembentukan kalus seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1 . Prosentase keberhasilan pembentukan kalus kultur daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

Konsentrasi Hormon 2,4-D (ppm)	Ulangan	Eksplan yang Menghasilkan kalus	Prosentase Keberhasilan
Kontrol (tanpa)	20	10	50
1	20	12	60
2	20	15	75
3	20	17	85

Eksplan yang berhasil membentuk kalus ditandai oleh masa bergerombol berwarna bening ditepi bekas irisan daun, serta tanpa adanya pertumbuhan jamur. Peningkatan konsentrasi hormon 2,4 D sampai dengan konsentrasi 3 ppm masih menunjukkan pengaruh positif terhadap prosentase pembentukan kalus.

Waktu eksplan membentuk kalus.

Pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap waktu induksi kalus daun jarak seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata waktu induksi pembentukan kalus daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

Konsentrasi Hormon 2,4-D (ppm)	Rata-rata Waktu induksi kalus (hari)
Kontrol (tanpa)	14,2
1	16,6
2	12,4
3	12,2

Perlakuan pemberian hormon 2,4-D sebanyak 3 ppm selain meningkatkan prosentase keberhasilan pembentukan kalus juga mampu mempercepat proses pembentukan kalus.

Pemanenan kalus

Kalus dipanen setelah melewati masa inkubasi selama 4 minggu. Berdasarkan

pengamatan ternyata lebih banyak kalus terbentuk disekitar tulang daun dibanding dengan di tepi daun. Kalus yang terbentuk kemudian dilepaskan dari bagian daun dan ditimbang berat basah kalus kemudian dikeringkan dalam oven untuk diketahui berat kering kalus. Hasil pengamatan seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Berat kalus (*Jatropha curcas* L.)

Konsentrasi Hormon 2,4-D (ppm)	Ulangan	Berat Basah (gram)	Rata-rata Berat basah (gram)	Berat Kering (gram)	Rata-rata Berat kering (gram)
Kontrol (tanpa)	10	4,743	0,395	0,390	0,039
1	12	5,352	0,446	0,516	0,043
2	15	7,682	0,512	0,733	0,049
3	17	9,605	0,565	0,924	0,054

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa perlakuan 2,4-D 3 ppm secara konsisten berpengaruh positif terhadap peningkatan berat basah maupun berat kering kalus. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 2,4-D sebanyak 3 ppm berpengaruh baik terhadap kualitas pertumbuhan kalus daun jarak.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon 2,4-D terhadap kandungan senyawa alkaloid dilakukan analisa penegasan kandungan alkaloid dengan pembandingan tanaman asalnya terlebih dahulu, dengan asil seperti terlihat pada Tabel 4.

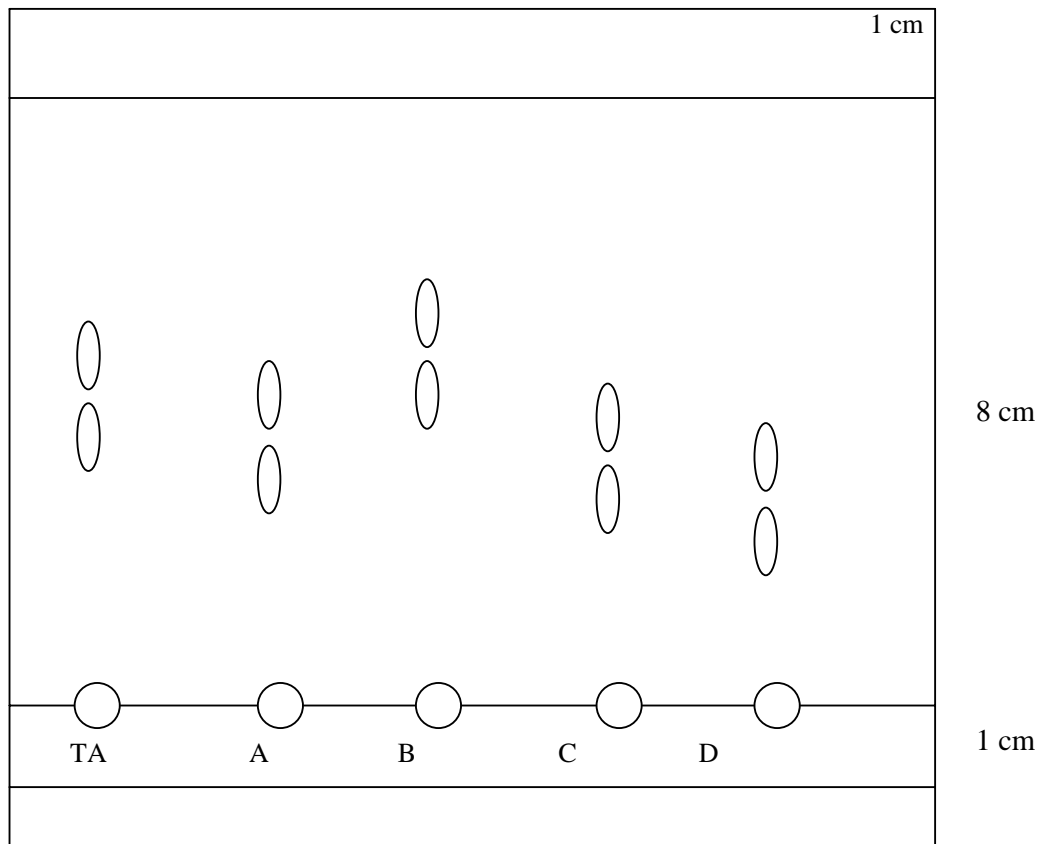
Tabel 4. Uji reaksi pendahuluan pada kalus daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

Konsentrasi Hormon 2,4-D (ppm)	Mayer	Dragendorff	Bauchardat	Asam Nitrat pekat	Keterangan
Kontrol (tanpa)	Endapan Putih kekuningan	Endapan Jingga kecoklatan	Endapan coklat	Endapan coklat	Terdapat Alkaloid
1	Endapan Putih kekuningan	Endapan Jingga kecoklatan	Endapan coklat	Endapan coklat	Terdapat Alkaloid
2	Endapan Putih kekuningan	Endapan Jingga kecoklatan	Endapan coklat	Endapan coklat	Terdapat Alkaloid
3	Endapan Putih kekuningan	Endapan Jingga kecoklatan	Endapan coklat	Endapan coklat	Terdapat Alkaloid
Tanaman Asal	Endapan Putih kekuningan	Endapan Jingga kecoklatan	Endapan coklat	Endapan coklat	Terdapat Alkaloid

Seperti terlihat pada Tabel 4, bahwa di dalam kalus juga mengandung senyawa alkaloid seperti halnya yang terdapat di dalam tanaman aslinya.

Uji kromatografi lapisan tipis (KLT)

Hasil pengujian menggunakan KLT seperti terlihat pada kromatogram berikut :



Kromatogram KLT dengan fase gerak etil asetat : methanol : air (100:13,5:10) fase Diam silik Gel GF 254 pada UV 366 nm

D = Perlakuan hormon 2,4-D konsentrasi 3 ppm

Keterangan :

- TA = Tanaman asli
- A = Kontrol (tanpa hormon)
- B = Perlakuan hormon 2,4-D konsentrasi 1 ppm
- C = Perlakuan hormon 2,4-D konsentrasi 2 ppm

Hasil kromatogram uji KLT menunjukkan adanya senyawa alkaloid baik pada tanaman asal maupun kalus yang ditumbuhkan dalam media MS dengan penambahan hormon 2,4-D dalam berbagai konsentrasi. Hasil kromatogram tersebut selanjutnya diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta diuji dengan pereaksi pewarna Dragendorff dengan hasil seperti terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai hRf dan warna bercak senyawa alkaloid

Konsentrasi 2,4-D (ppm)	hRf	Deteksi			
		UV 254	UV 366	Dragendorff	Interpretasi
Kontrol	57,50	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
	48,75	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
1	55,00	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
	46,25	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
2	65,00	-	Biru	Coklat	Alkaloid

	56,25	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
3	40,00	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
	32,50	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
Tanaman asal	38,75	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid
	30,00	Coklat	Biru	Coklat	Alkaloid

Hasil pengujian warna bercak menunjukkan bahwa baik kalus maupun tanaman asalnya mengandung senyawa alkaloid. Nilai hRf menunjukkan angka yang tidak sama, kemungkinan hal ini disebabkan oleh adanya variasi volume pemotolan sampel.

Pengujian menggunakan KLT scanner menunjukkan hasil negatif sehingga belum bisa diperoleh informasi banyaknya kandungan alkaloid setiap sampel yang diuji. Hal ini dimungkinkan karena hasil yang diperoleh belum sepenuhnya murni. Masih terdapat senyawa pengotor sehingga sulit untuk menentukan luas area setiap bercak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hormon 2,4-D mampu mempengaruhi pertumbuhan kalus daun jarak. Pertumbuhan kalus tertinggi 85 %, waktu induksi kalus tercepat 12,2 hari, dan berat rata-rata kalus kering paling banyak 0,054 gram dihasilkan oleh perlakuan hormon 2,4-D dengan konsentrasi 3 ppm.
2. Hasil analisa menggunakan KLT menunjukkan bahwa kalus daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), mengandung alkaloid seperti tanaman asalnya.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2000, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 2* Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 140.

George, E.F., Sherington, P.D., 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories*, Exegetics Ltd., Eversley, Basingtoke, England, 334-341.

Gritter, R.J., Bobbit, J.M., Swarting, A.E. *Pengantar Kromatografi*, Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Edisi I, ITB Bandung.

Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Soediro, I., Edisi II, Penerbit ITB, Bandung.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., 1990. *Plant Propagation Principles and Practices Fifth Edition*, Texas A & M University College Station, Internasional.

Hendaryono, D dan Wijayani, A., 1994, *Teknik Kultur Jaringan*, cetakan I, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Mursyidi, A., 1990. *Analisa Metabolit Sekunder*, PAV Bioteknologi UGM, Yogyakarta.

Nurcholis, M., dan Sumarsih, S., 2007. *Jarak Pagar dan Pembuatan Biodiesel* Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Edisi VI, Penerbit ITB, Bandung.

Santoso, U., Nursandi, F., 2003, *Kultur Jaringan Tanaman*, Edisi I, UMM, Malang.