

Induksi dan Multiplikasi Tunas Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara *In Vitro*

In Vitro Induction and Shoot Multiplication of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.)

Lizawati^{1*}, Trias Novita¹ dan Ragapadmi Purnamaningsih²

Diterima 29 Oktober 2008/Disetujui 12 Maret 2009

ABSTRACT

The conventional propagation of physic nut (*Jatropha curcas*) is difficult, because it requires a high number of mother plant, which is very limited. *In vitro* culture is an alternative technique to conventional one to solve the problem. An experiment was done to obtain the best *in vitro* culture media for shoot induction and multiplication. This research was separated into two steps, (1) *in vitro* induction of explant growth, and (2) *in vitro* shoot multiplication. Results showed that medium of WPM + 2.0 ppm BAP induced shoot and leaf better than the control. The highest number of leaf axillary's multiplication was obtained from the medium WPM + 2.0 ppm BAP + 0.1 ppm NAA. Various medium formulations for the induction and multiplication of shoots resulted in highly leaf fall. The use of DKW + 2.0 ppm BAP + 0.4 ppm TDZ + 3.0 ppm AgNO₃ medium has effectively induced shoot multiplication and reduction of dehydrated leaf. Meanwhile, the used of DKW medium supplemented with 5 ppm kinetin resulted in the best shoot elongation.

Key words : Induction, *in vitro*, *Jatropha curcas*, shoot, multiplication

PENDAHULUAN

Produksi minyak jarak dinilai sangat prospektif sebagai pengganti bahan bakar minyak (BBM). Akan tetapi, pengembangan bahan bakar alternatif berbahan baku minyak jarak secara nasional terkendala dengan kurangnya bahan baku biji jarak. Bahan baku biji jarak selain dibuat minyak jarak juga bersaing untuk pembibitan. Kebutuhan bibit tanaman jarak pagar terus meningkat, luasan penanaman jarak yang dicanangkan pemerintah saat ini 10 juta ha tanaman jarak. Jika 1 ha berisi 2500 tanaman, berarti paling tidak 25 miliar bibit tanaman jarak pagar harus tersedia (Wiguna, 2006). Penyediaan bibit yang berkualitas baik, merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam pengembangan pertanian. Tersedianya bibit bermutu dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat sangat diharapkan dalam menunjang keberhasilan pengembangan budidaya dan perbaikan kualitas produksi.

Perbanyakan tanaman secara konvensional masih dibatasi oleh kemampuan tanaman untuk menghasilkan bibit baru dalam jumlah banyak, seragam dan dalam waktu singkat. Sampai saat ini bibit jarak pagar diproduksi dengan dua cara, yaitu dengan menggunakan biji dan setek. Penggunaan biji untuk perbanyakan tanaman dalam jumlah banyak akan mengurangi jumlah biji yang dapat diolah menjadi minyak. Teknik perbanyakan melalui stek menghasilkan tanaman

dengan jumlah terbatas, membutuhkan pohon induk yang cukup banyak sementara pohon induk yang tersedia sangat terbatas selain itu dikhawatirkan akan merusak tanaman induk.

Untuk mengatasi masalah tersebut dapat ditempuh melalui teknik kultur *in vitro*. Teknik perbanyakan *in vitro* adalah suatu metoda penanaman protoplas, sel, jaringan dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Penelitian untuk induksi tunas jarak pagar secara *in vitro* telah dilakukan oleh Sujatha dan Muktha (1996) induksi yaitu tunas adventif terbaik diperoleh dari kombinasi IBA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l, oleh Rajore dan Batra (2005) yaitu kombinasi dari BAP 2.0 mg/l dan IAA 0.5 mg/l, oleh Sujatha *et al.* (2005) yang menemukan regenerasi tunas adventif yang paling efisien adalah dengan kombinasi BA 8.9 – 44.4 µM + IBA 4.9 µM. Penemuan yang lain adalah oleh Novita (2006) yaitu inisiasi tunas tercepat terdapat pada perlakuan BAP 0.5 mg/l + IAA 0.1 mg/l, oleh Li *et al.* (2007) yaitu BA. 1.5 mg/l + IBA 0.05 mg/l + GA₃ 0.5 mg/l + phosphinotricin 1 mg/l, dan oleh Datta *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa inisiasi tunas terbaik terdapat pada kombinasi BA 22.2 µM + adenin sulfat 55.6 µM. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kemampuan untuk menginisiasi tunas masih rendah serta belum didapatkannya komposisi media yang terbaik untuk multiplikasi tunas jarak pagar secara *in vitro*.

¹⁾ Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Kampus Pinang Masak Mendalo Darat Km 15 Jambi, E-mail : liza1124_zain@yahoo.com. (*Penulis untuk korespondensi)

²⁾ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Bogor Jl Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

Tujuan umum penelitian adalah untuk mengembangkan teknik *in vitro* pada tanaman jarak pagar, sehingga didapatkan suatu prosedur baku yang efisien untuk perbanyak tanaman jarak secara massal dan cepat. Tujuan khusus adalah mendapatkan komposisi media yang terbaik untuk induksi dan multiplikasi tunas secara *in vitro*, karena kemampuan menghasilkan tunas sangat menentukan keberhasilan produksi bibit yang dapat diproduksi melalui kultur jaringan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi dan Laboratorium Kultur Jaringan Kelti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Bogor dari April – Oktober 2007. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji jarak pagar yang didapat dari buah jarak matang segar dan berwarna kuning berumur 90 hari sejak berbunga diambil langsung dari pohon induk terpilih asal Pakuwon. Bahan-bahan kimia yang digunakan berupa zat pengatur tumbuh BAP, NAA, TDZ, dan kinetin. Media dasar WPM (Lloyd dan McCown, 1981), MS (Murashige dan Skoog, 1962), dan DKW (Driver dan Kuniyuki, 1984), agar (Oxoid) sebagai pematat, AgNO₃, desinfektan (benlate, alkohol 70%, NaClO 5.25%, dan aquades steril).

Penelitian yang dilakukan terdiri dari dua tahapan percobaan, yaitu: (1) Induksi tunas jarak (eksplan asal biji dan mata tunas jarak pagar asal lapang) yang ditumbuhkan secara *in vitro*, dan (2) Multiplikasi tunas jarak melalui kultur *in vitro*.

Percobaan induksi tunas menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan enam taraf konsentrasi BAP, yaitu WPM + BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ppm) sepuluh ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari tiga botol yang ditanami empat eksplan. Pengamatan pada tahap induksi tunas dilakukan setiap minggu (1-12 MST). Peubah yang diamati meliputi jumlah tunas yang tumbuh, jumlah daun dan persentase daun layu. Pengamatan dalam percobaan ini dilakukan tanpa mengeluarkan eksplan dari botol kultur.

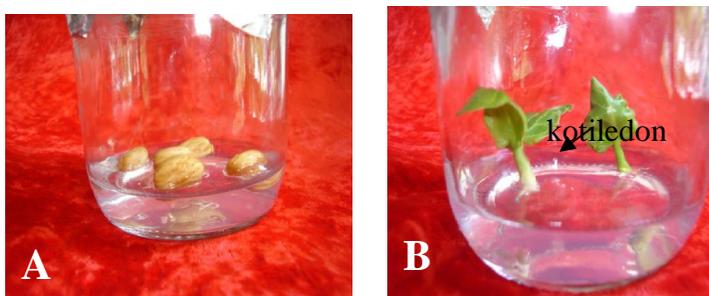
Tunas-tunas yang tumbuh tersebut digunakan sebagai eksplan berupa potongan baku bertunas untuk penelitian tahap ke-2, yaitu percobaan multiplikasi tunas, yang terdiri dari 4 percobaan terpisah. Perlakuan yang diuji adalah : (a) kombinasi media dasar WPM + 0.1 ppm NAA dengan 6 taraf konsentrasi BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ppm), (b). Media dasar komposisi MS dengan formulasi media (0, BAP 1 ppm, BAP 2 ppm + Kinetin 7 ppm), DKW + BAP 1 ppm, dan WPM + BAP 1 ppm + arginin 100 ppm, (c). 3 jenis media dasar yaitu; WPM, DKW dan MS masing-masing media ditambahkan BAP 2 ppm + TDZ 0.4 ppm + AgNO₃ 3.0 ppm, (d). Media dasar komposisi DKW dengan 2 taraf konsentrasi kinetin dan BAP (1 ppm dan 5 ppm). Masing-masing percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari tiga botol yang ditanami satu eksplan. Pengamatan pada tahap multiplikasi tunas dilakukan setiap minggu, peubah yang diamati adalah : jumlah tunas, jumlah daun, persentase daun layu, tinggi tunas, dan pembentukan kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pada 2 percobaan induksi tunas dan 4 percobaan multiplikasi memberikan nilai rata-rata yang tidak berbeda satu sama lainnya

Induksi Tunas

Penelitian diawali dengan mengecambahkan biji dan mengkulturkan mata tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara aseptik. Proses perkecambahan biji secara *in vitro* mulai terlihat pada sepuluh hari setelah ditanam pada media pertunas yang ditandai dengan kulit biji akan pecah. Hal yang sama juga dilaporkan Hasnam dan Mahmud (2006) pada perkecambahan benih jarak pagar di lapang, jika kelembaban cukup perkecambahan akan terjadi dalam 7-10 hari. Biji jarak pagar memiliki tipe perkecambahan yang disebut *epigeal* yaitu kotiledon muncul ke atas permukaan dan berkembang menyerupai daun yang mengandung klorofil, dan daun sebenarnya terbentuk setelah kotiledon (Gambar 1).



Gambar 1. Perkecambahan biji jarak pagar (A) eksplan biji, dan (B) Bibit dengan kotiledon pada minggu ke-kedua setelah tanam di media WPM + BAP 2.0 ppm

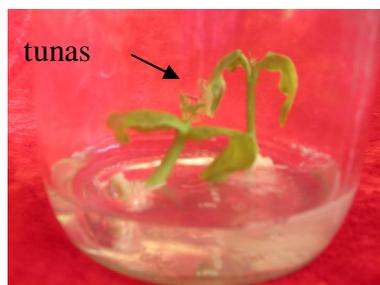
Tunas mulai terbentuk pada minggu ke tujuh (umur 49 hari) setelah tanam. Pembentukan tunas terjadi pada semua tingkat konsentrasi BAP yang diuji. Dari formulasi media yang digunakan terlihat bahwa media WPM + BAP 2.0 ppm menghasilkan jumlah

tunas dan daun lebih banyak dibandingkan kontrol dan formulasi media lainnya. Pengaruh daya induksi berbagai tingkat konsentrasi BAP terhadap tunas, jumlah daun dan persentase daun layu dari eksplan biji jarak pagar disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Pengaruh induksi penambahan BAP pada media WPM terhadap kultur eksplan biji jarak pagar

BAP (ppm)	Jumlah tunas	Jumlah daun	Daun layu (%)
0	1.0 ± 0.32	2.0 ± 0.00	100
0.5	1.0 ± 0.32	2.0 ± 0.00	100
1.0	1.0 ± 0.32	2.1 ± 0.63	100
1.5	1.3 ± 0.68	2.0 ± 0.32	90
2.0	2.0 ± 0.32	2.2 ± 0.84	90
2.5	2.0 ± 0.32	2.2 ± 0.84	100

Keterangan : Angka merupakan rerata dan standar deviasi dari 10 ulangan



Gambar 2. Pembentukan tunas pada eksplan biji jarak pagar pada minggu ke-tujuh setelah tanam di media dasar WPM + BAP 2.0 ppm

Inisiasi tunas dari mata tunas jarak pagar yang diperoleh di lapang memperlihatkan muncul tunas dari buku-buku pada minggu ke lima setelah perlakuan pada media pertunasan. Menurut Holt *et al.* (1962), buku-buku merupakan eksplan yang baik untuk menginduksi tunas dan akar pada kultur jaringan, di mana calon-calon tunas dan akar banyak ditemukan.

Jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan mata tunas tidak berbeda untuk semua formulasi media, sedangkan untuk jumlah daun penggunaan formulasi media WPM + BAP 2.0 ppm menghasilkan jumlah daun yang cenderung lebih banyak dibandingkan kontrol dan formulasi media lainnya. Hanya saja empat minggu setelah terbentuk tunas daun menjadi layu dan akhirnya gugur.

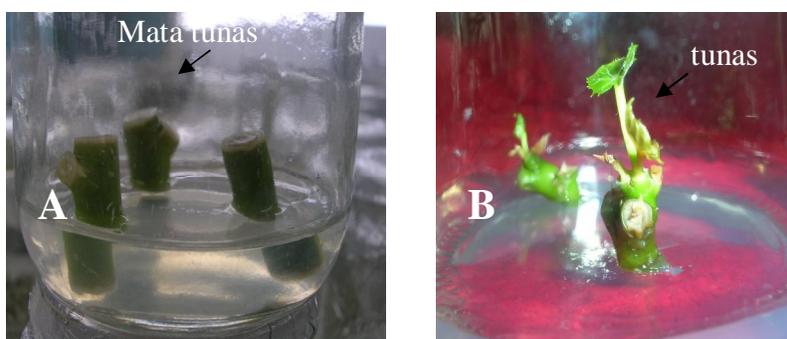
Pengaruh daya induksi berbagai formulasi media terhadap tunas jumlah daun dan persentase daun layu dari mata tunas jarak pagar disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 3. Berdasarkan hasil penelitian ini terlihat

bahwa perlakuan BAP 2.0 ppm pada medium wpm merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi tunas, baik pada eksplan asal biji maupun mata tunas. Hal yang sama juga diperoleh Rajore dan Batra (2005) pada kultur *in vitro* jarak pagar. Hormon BAP adalah salah satu sitokinin sintesis yang mempunyai peran fisiologis untuk mendorong pembelahan sel, sehingga penambahan BAP ke dalam media dapat merangsang pembentukan tunas majemuk. Menurut Wattimena (1988), pengaruh sitokinin pada berbagai proses fisiologis diduga pada tingkat pembuatan protein mengingat kesamaan struktur sitokinin dengan adenine yang merupakan komponen dari DNA dan RNA. Selanjutnya, Lakitan (1995) menambahkan bahwa sitokinin merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein, beberapa di antara protein ini dapat berperan sebagai enzim yang dibutuhkan untuk terjadinya mitosis.

Tabel 2. Pengaruh induksi penambahan BAP pada media WPM terhadap kultur eksplan mata tunas jarak pagar

BAP (ppm)	Jumlah tunas	Jumlah daun	Daun layu (%)
0	1.0	2.1 ± 0.32	100
0.5	1.0	2.2 ± 0.63	100
1.0	1.0	2.2 ± 0.63	100
1.5	1.0	2.0 ± 0.00	100
2.0	1.0	2.3 ± 0.84	100
2.5	1.0	2.2 ± 0.63	100

Keterangan : Angka merupakan rerata dan standar deviasi dari 10 ulangan



Gambar 3. Induksi tunas jarak pagar (A) eksplan mata tunas, dan (B) tunas yang muncul dari buku pada minggu ke-tujuh setelah tanam di media WPM + BAP 2.0 ppm

Dari Tabel 1 dan 2 terlihat bahwa semua formulasi media yang digunakan belum optimal untuk menginduksi inisiasi tunas dari eksplan biji maupun mata tunas. Jumlah tunas yang dihasilkan hanya satu sampai dua, sedangkan dari jumlah daun yang terbentuk tersebut, daun yang semula berwarna hijau segar kemudian menjadi kecoklatan dan akhirnya gugur pada minggu ke sepuluh setelah tanam. Gambar 4 menunjukkan penampilan tunas jarak pagar dari eksplan biji dan mata tunas, memperlihatkan daun yang mulai layu dan akhirnya gugur pada minggu ke sepuluh setelah perlakuan.

Gugur daun diduga berkaitan dengan adanya produksi gas etilen, kekurangan hara pada media dan terjadinya toksisitas. Produksi gas etilen akan terakumulasi secara nyata dalam fase gas di dalam wadah yang digunakan untuk kultur *in vitro*. Pengaruh akumulasi etilen adalah mempercepat penuaan dan perontokan daun (Magdalita *et al.*, 1997). Etilen diduga menyebabkan ukuran daun kecil pada perbanyakan kentang *in vitro* dalam botol tertutup rapat. Efek etilen pada kultur jaringan diduga dapat dihindari dengan menambahkan beberapa macam bahan kimia ke dalam media kultur, misalnya dengan penambahan Perak Tiosulfat (PTS) untuk menghambat aksi fisiologi dari etilen.

Kekurangan hara diduga akibat dari habisnya hara yang terdapat pada media dalam botol, oleh karena itu

perlu dilakukan subkultur pada 4 minggu setelah tanam agar gugur daun tidak menyebabkan kematian. Sujatha *et al.* (2005) melaporkan bahwa subkultur pada kultur *in vitro* jarak pagar dilakukan pada 4 minggu setelah tanam. Tunas-tunas yang diperoleh dari percobaan tahap 1 ini selanjutnya digunakan untuk penelitian tahap 2 yaitu multiplikasi tunas jarak pagar secara *in vitro*.

Multiplikasi Tunas

Multiplikasi dilakukan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dalam media. Untuk meningkatkan daya multiplikasi tunas, maka tunas-tunas yang telah dihasilkan dipindahkan pada media baru. Tunas yang muncul pada penelitian ini adalah tunas aksilar, yaitu tunas yang muncul dari ketiak daun. Tunas aksilar mulai terlihat pada 1-2 minggu setelah dipindahkan ke media perlakuan. Seperti halnya pada media inisiasi tunas, maka pada media multiplikasi tunas jumlah tunas yang dihasilkan hanya satu untuk semua formulasi media, untuk jumlah daun WPM + BAP 2.0 ppm + NAA 0.1 ppm dan WPM + BAP 2.5 ppm + NAA 0.1 ppm menghasilkan jumlah daun yang relatif lebih banyak dibandingkan kontrol dan formulasi media lainnya (2.2 helai). Persentase untuk daun layu pada formulasi media yang digunakan cukup tinggi yaitu 90 – 100 % (Tabel 3).

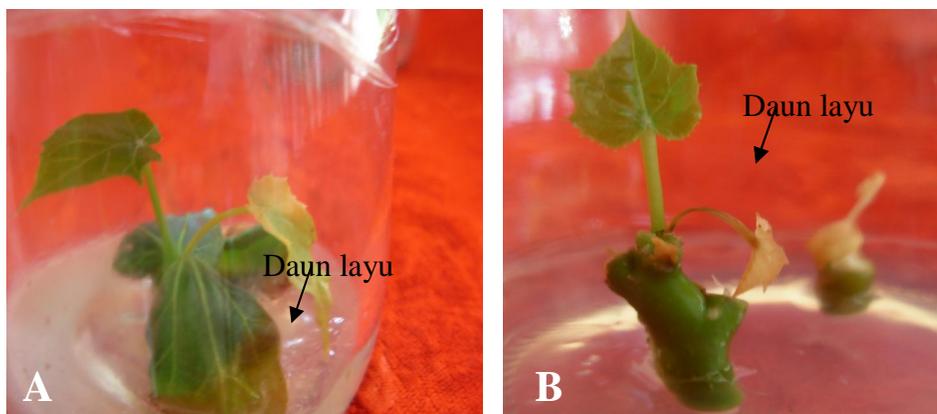
Tabel 3. Multiplikasi tunas pada media WPM dan NAA 0.1 ppm diperkaya BAP

BAP (ppm)	Jumlah tunas	Jumlah daun total	Daun layu (%)
0.5	1.0	2.0 ± 0.00	100
1.0	1.0	2.1 ± 0.32	100
1.5	1.0	2.1 ± 0.32	90
2.0	1.0	2.2 ± 0.63	90
2.5	1.0	2.2 ± 0.63	100

Keterangan : Angka merupakan rerata dan standar deviasi dari 10 ulangan

Pada media multiplikasi tunas jumlah tunas yang dihasilkan hanya satu, sedangkan daun yang terbentukpun akhirnya gugur. Oleh karena itu dicoba beberapa formulasi media lain dengan menggunakan jenis media dasar yang berbeda yaitu WPM, MS, dan DKW dikombinasikan dengan sitokinin (BAP dan

kinetin) (Tabel 4). Akan tetapi hasil yang diperoleh belum memuaskan, namun demikian penggunaan media DKW + BAP 1 mg/l nampaknya dapat menekan pengguguran daun, walaupun jumlah tunas yang dihasilkan masih rendah.



Gambar 4. Performansi tunas jarak pagar pada minggu ke-sepuluh setelah tanam pada media WPM + BAP 2.0 ppm (A) tunas asal biji, dan (B) tunas asal mata tunas

Tabel 4. Multiplikasi tunas pada berbagai formulasi media

Formulasi media (ppm)	Jumlah tunas	Jumlah daun	Daun layu (%)
MS (tanpa ZPT)	1.0	2.0 ± 0.00	100
MS + BAP1	1.0	2.1 ± 0.63	100
DKW + BAP 1	1.0	3.0 ± 1.05	40
MS + BAP2 + K7	1.0	3.0 ± 1.05	55
WPM + BAP1 + arginin 100	1.0	2.5 ± 1.03	50

Keterangan : Angka merupakan rerata dan standar deviasi dari 10 ulangan

Dari berbagai formulasi media untuk inisiasi dan multiplikasi tunas ternyata keguguran daun sangat tinggi. Diduga hal ini disebabkan karena ketidak seimbangan kandungan auksin – sitokinin endogen di dalam jaringan tanaman. Kandungan auksin endogen dalam tanaman sangat tinggi sehingga meningkatkan aktivitas etilen yang menyebabkan daun menjadi gugur. Menurut Wattimena (1988) auksin merupakan salah satu faktor kunci dalam sintesis etilen, karena auksin merupakan prekursor dalam perubahan SAM menjadi

ACC, yaitu senyawa antara dalam sintesis etilen. Untuk itu dicoba beberapa formulasi media lainnya dengan menambahkan salah satu jenis auksin lainnya, yaitu thidiazuron (TDZ) untuk meningkatkan daya multiplikasi tunas serta dengan menambahkan salah satu senyawa organik ($AgNO_3$) untuk menekan aktivitas etilen sehingga diharapkan jumlah tunas yang dihasilkan lebih banyak dan pengguguran daun dapat dihambat (Tabel 5 dan Gambar 5).



Gambar 6. Perkembangan tunas jarak pagar pada minggu ke-tiga setelah tanam (A) media dasar DKW + kinetin 5 ppm, dan (B) media dasar DKW + BAP 5 ppm

KESIMPULAN

Hasil pada 2 percobaan induksi tunas dan 4 percobaan multiplikasi tunas memberikan nilai rata-rata yang tidak berbeda nyata satu sama lainnya. Formulasi media WPM + BAP 2.0 ppm dapat menginduksi tunas, dan jumlah daun lebih banyak pada eksplan biji dan mata tunas jarak pagar. Penggunaan media dasar DKW+BAP 2.0 ppm + TDZ 0.4 ppm +AgNO₃ 3.0 ppm lebih efektif menginduksi multiplikasi tunas dan menurunkan persentase daun layu, untuk perpanjangan tunas jarak pagar media terbaik adalah DKW + Kinetin 5 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional melalui Penelitian Hibah Bersaing Nomor Kontrak: 025/SP2H/PP/DP2M/III/2007 yang telah membiayai penelitian ini. Ucapan terimakasih juga ditujukan kepada Dr. Ika Mariska APU dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Bogor atas bantuan dan kerjasamanya.

DAFTAR PUSTAKA

Datta, M.M., P. Mukherjee, B. Ghosh, T.B. Jha. 2007. *In vitro* Clonal Propagation of Biodiesel Plant (*Jatropha curcas* L.). *Current Science* 93(10):1438-1442.

Driver, J.A., A.H. Kuniyuki. 1984. *In vitro* propagation of paradox walnut rootstocks. *HortScience*. 19:507-516.

Gamborg, O.L., G.C. Phillips. 1995. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture Fundamental Methods*. Springer. Germany.

Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hasnam, Z. Mahmud. 2006. *Panduan Umum Perbenihan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)*. Puslitbang Perkebunan. Bogor.

Holt, R.W. 1962. *Botany*. Third Edition. Chapter 8 : The Structure and growth of stems. Wilson-Loomis. New York.

Lakitan, B. 1995. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Li, M., H. Li, H. Jiang, X. Pan, G. Wu. 2007. Establishment of an *Agrobacterium*-Mediated Cotyledon Disc Transformation Method for *Jatropha curcas*. Springer Science+Business Media B.V. *Plant Cell Tiss Organ Cult*.

Lloyd, G., B. McCown. 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings of International Plant Propagation Society*. 30 : 421 – 427.

Magdalita, P.M., D.G. Ian, A.D. Roderick, W.A. Stephen. 1997. Effect of ethylene and culture environment on development of papaya nodal cultures. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 49: 93-100.

Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15:473-497.

- Novita, V. 2006. Kultur *in vitro* jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui penggunaan pematat hidrogel (AquasorbTM) dan gula trehalosa (TrehaTM). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Purnamaningsih, R., I. Mariska, S. Rahayu. 1988. Penekanan masalah penguningan pada daun Pulau. Plasma Nutfah. III(1) : 1-7.
- Rajore, S., A. Batra. 2005. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L. J. Plant Biochemistry & Biotechnology. 14 : 73-75.
- Soedharma, I. K. 2003. Peran bioteknologi dalam perbanyak tanaman buah. Makalah. Seminar Bioteknologi. Lembaga Penelitian Pusat Kajian Buah-buahan Tropika. IPB. 8 Mei 2003. Bogor.
- Sujatha, M., N. Mukta. 1996. Morphogenesis and plant regeneration from tissue culture of *Jatropha curcas* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 44: 135-141.
- _____, M., H.P.S. Makkar, K. Becker. 2005. Shoot bud ploliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. Plant Growth Regulation 47: 83-90.
- Taiz, L., E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. Third Edition. USA: Sinauer.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- _____, G.A. 1992. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wiguna, I. 2006. Bangun kilang minyak di kebun. Trubus 434- Januari 2006/XXXVII.p 80-81.