

## SUBSTITUSI AGAR MURNI DENGAN AGAR TEKNIS TERHADAP PERTUMBUHAN EMBRIO SOMATIK, TUNAS, DAN AKAR KULTUR KELAPA SAWIT

Ernayunita dan Yohanes MS Samosir

**Abstrak** Besarnya biaya produksi klon dapat dikurangi melalui substitusi bahan-bahan murni dengan bahan-bahan teknis. Penggunaan agar murni untuk produksi massal kurang efisien karena biaya produksi menjadi besar sehingga perlu digantikan dengan agar alternatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan agar teknis menggantikan fungsi agar murni terhadap pertumbuhan kultur kelapa sawit pada fase embrio somatik hingga perakaran. Penelitian dilakukan pada tahap perbanyakan embrio somatik, pembentukan tunas dan perakaran. Bahan yang digunakan ialah embrio muda yang dikulturkan pada media MS. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap 30 ulangan, dengan perlakuan agar yaitu 100% agar murni (Sigma), 75% agar murni + 25% agar teknis (Moleqagar), 50% agar murni + 50% agar teknis, 25% agar murni + 75% agar teknis, dan 100% agar teknis. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah embrio dan jumlah tunas, perbanyakan embrio dan perbanyakan tunas setelah 3 kali subkultur juga diamati. Pada tahap perakaran diamati tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar primer dan akar sekunder. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut DMRT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa substitusi agar murni dengan agar teknis sebesar 100% memberikan hasil berbeda tidak nyata pada jumlah embrio dan tunas, multiplikasi embrio dan tunas, tinggi tanaman, jumlah akar primer dan sekunder. Substitusi agar murni dengan agar teknis mampu menghemat biaya penggunaan agar sebesar 70,29%.

**Kata kunci** : agar murni, agar teknis, embrio somatik, tunas, perakaran, kelapa sawit

*Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit*

Erna Yunita (✉)  
Pusat Penelitian Kelapa Sawit  
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia  
Email: ernayunita\_25@yahoo.com

**Abstract** The production cost of clones can be reduced by substituting pure materials with technical materials during the process. Pure gelling agent in large scale is not efficient because of its high cost. This study aimed to determine the effect of pure gelling agent substitution with technical gelling agent in oil palm culture. The culture used was a young embryo. The experiment was conducted in Randomize Complete Design with single factor, and 100% pure agar (Sigma), 75% pure agar + 25% technical agar (Moleqagar), 50% pure agar + 50% technical agar, 25% pure agar + 75% technical agar, and 100% technical agar as treatments. The parameters observed were number of embryos and shoot, embryo and shoot multiplication, plant height, number of leaves, number of primary roots and secondary roots. The data were analyzed by using ANOVA and DMRT 5%. The results showed that pure agar substituted with 100% technical agar had no significant difference with 100% pure agar. Substituted with 100% technical agar save price up to 70.29% of total culture production.

**Keywords:** pure gelling agent, agar, technical gelling agent, somatic embryo, shoot, oil palm

### PENDAHULUAN

Teknologi budidaya jaringan kelapa sawit di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) mulai dikembangkan pada 1985. Material klon hasil kultur jaringan kelapa sawit dihasilkan dari serangkaian proses yang cukup panjang dimulai dari pengambilan ortet (eksplan) hingga planlet siap diaklimatisasi kemudian ditanam di lapangan. Proses produksi klon di laboratorium menggunakan bahan-bahan kimia khusus sebagai bahan dasar media kultur sehingga biaya untuk produksi massal cukup besar. Besarnya biaya produksi klon berdampak pada harga klon menjadi lebih tinggi dibandingkan bibit asal biji pada kisaran umur yang sama.

Fase embrio somatik merupakan fase yang cukup rawan dalam kultur jaringan setelah fase kalus karena menentukan keberhasilan pembentukan planlet. Embrio somatik merupakan tahap awal dalam pertumbuhan tunas kemudian akar. Perbanyak embrio somatik menjadi kunci dalam produksi massal klon. Biasanya perbanyak embrio somatik dilakukan pada media padat untuk memudahkan penanganan kultur. Pada kultur cair, dibutuhkan *shaker* untuk menjaga kondisi kultur sehingga penanganannya lebih sulit dan membutuhkan biaya tambahan untuk pengadaan alat.

Meskipun media padat dirasa lebih efisien, kebutuhan agar murni yang cukup besar kurang menguntungkan karena berdampak pada tingginya harga produksi sehingga mempengaruhi harga jual klon. Menurut Puchooa *et.al.* (1999), penggunaan bahan pematat dalam hal ini agar dengan *grade* yang tinggi dalam penelitian kultur jaringan penting, namun untuk perbanyak kultur secara komersial hal ini tidak terlalu penting. Penggunaan bahan pematat dengan *grade* yang rendah dapat diujicobakan.

Penggunaan agar sebagai bahan pematat merupakan komponen penting dalam medium kultur jaringan (Maliro dan Lameck, 2004). Fungsi agar adalah sebagai bahan pematat media untuk mendukung pertumbuhan eksplan, kalus, maupun embrio dalam menopang dan membantu penyerapan unsur hara sehingga berlangsung dengan baik. Penggunaan agar murni dalam jumlah yang cukup besar kurang efisien karena menyebabkan biaya produksi yang besar. Oleh karena itu perlu diusahakan agar yang digunakan dalam kultur jaringan merupakan agar teknis untuk menekan biaya produksi.

Penelitian mengenai penggunaan bahan alternatif pengganti agar telah dilakukan pada beberapa tanaman. Banyak jenis bahan pematat yang dapat digunakan sebagai media kultur jaringan. Agar yang dijual di pasaran sebagai bahan dasar pembuat kue dan dari bahan dasar rumput laut telah dipergunakan untuk kultur jahe yang dikombinasikan dengan penambahan sukrosa 30 g/l, *nicotinic acid*, pyridoxin-HCl, thiamin, asparagin, glutamin, *glicine*, myoinositol dan benzil amino purin (BAP) 0,5 ppm (Sutarto *et al.*, 2003). Agar teknis dan beberapa jenis pati dapat menggantikan agar murni pada kultur ubi kayu (Priyadi *et al.*, 2008), apel, anggrek, dan kiwi dengan hasil yang

cukup baik (Kasim, 2012). Beberapa jenis pati juga dapat digunakan sebagai substitusi seperti pati dari jagung, kentang, beras, gandum, gelatin (Puchooa *et al.*, 1999), dan pati ketela (Moses dan Grace, 2004).

Agar sebagai bahan pematat dapat mempengaruhi pertumbuhan kultur. Perbandingan kandungan antara agar murni dengan agar teknis tidak terlalu besar. Perbedaan yang sangat jelas terlihat pada persentase kandungan debu dalam agar murni justru lebih besar dibandingkan dengan agar teknis. Kandungan debu pada agar teknis kurang dari 2% (Klimaszewska *et al.*, 2000), sedangkan pada agar murni berkisar 2%-4,5% (Sigma-Aldrich, 2012). Namun, nilai keduanya masih berada pada taraf yang normal. Menurut Armisen dan Galatas (2013), kadar debu maksimal adalah 5%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan agar teknis menggantikan peran agar murni dan pengaruhnya terhadap kultur kelapa sawit di fase embrio hingga perakaran.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Kelapa Sawit pada Oktober 2010 hingga Januari 2012.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan ialah embrio muda kelapa sawit hasil induksi embrio dari kalus menggunakan protokol standar induksi embrio kelapa sawit (Harahap, 2011), media kultur, agar teknis, agar murni, alkohol, dan air steril. Media kultur yang digunakan adalah media induksi embrio, induksi pupus, perbanyak pupus dan perakaran planlet menggunakan standart protokol kultur kelapa sawit yang dimodifikasi sesuai dengan perlakuan, sedangkan alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), bunsen, pinset, cawan petri, tabung kultur, rak kultur, plastik *wrap*, dan *scalpel*.

### Metode Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal dengan masing-masing perlakuan mempunyai 30 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah media MS dengan bahan pematat

100% agar murni (Sigma), 75% agar murni + 25% agar teknis (Moleqagar), 50% agar murni + 50% agar teknis, 25% agar murni + 75% agar teknis, dan 100% agar teknis.

Embrio hasil induksi dari kalus kelapa sawit dipilih yang kondisinya baik yaitu tidak mengalami nekrosis, tidak terkontaminasi, dan embrio berisi (teksturnya tidak seperti gabus) (Gambar 1a). Embrio yang telah terpilih ditanam dalam tabung berisi media perbanyakan embrio sesuai perlakuan. Embrio yang ditanam memiliki ukuran relatif sama yaitu berdiameter 1 cm. Setelah 2 bulan, dilakukan pengamatan terhadap jumlah embrio yang terbentuk.

Setelah dihitung jumlah embrio, satu embrio disubkultur pada media perbanyakan. Subkultur dilakukan setiap 2 bulan sekali (Gambar 1b). Jumlah embrio dihitung disetiap subkultur hingga 3 kali subkultur untuk mengetahui kemampuan perbanyakan embrio dari subkultur pertama hingga ketiga. Apabila terdapat tunas pada saat subkultur, dilakukan penanaman tunas pada media perbanyakan tunas. Media perbanyakan tunas menggunakan media MS dengan perlakuan substitusi agar seperti pada perbanyakan embrio. Tunas yang ditanam memiliki ukuran relatif sama yaitu tinggi 1 cm (Gambar 1c). Setelah 2 bulan dilakukan pengamatan terhadap jumlah tunas yang terbentuk. Setelah dihitung jumlah

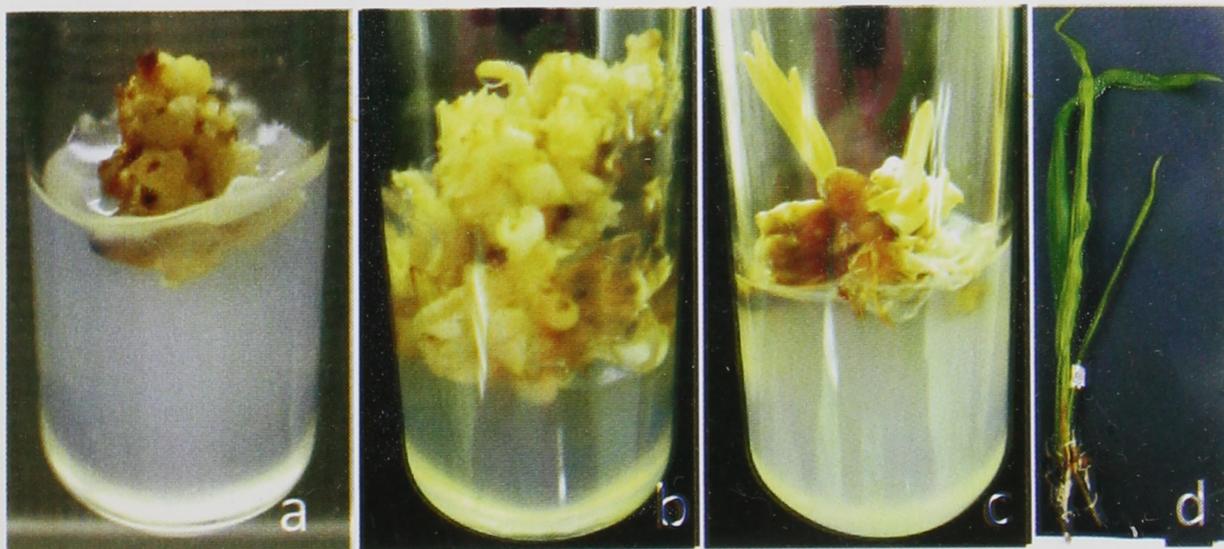
tunas, satu tunas disubkultur pada media pembentukan tunas. Subkultur juga dilakukan setiap 2 bulan sekali hingga subkultur ketiga dan dihitung reratanya dari subkultur pertama hingga ketiga.

Tahap berikutnya adalah induksi perakaran menggunakan media MS sesuai protokol standar media kultur jaringan kelapa sawit (Harahap, 2011), pada media perlakuan agar seperti pada perbanyakan embrio dan tunas. Pengamatan yang dilakukan adalah jumlah daun, tinggi tanaman, jumlah akar primer dan sekunder pada umur kultur 3 bulan (Gambar 1d). Selama proses kultur dari induksi embrio hingga perakaran planlet, kondisi ruang kultur selalu dijaga pada suhu 26°C - 27°C dan intensitas cahaya 4000-6000 lux. Kelembaban nisbi ruang cahaya adalah sebesar 30-50%.

Analisis statistik menggunakan ANOVA (*analysis of varians*) yang dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pada media perbanyakan embrio dan tunas, serta pada media perakaran.

Selain itu juga dilakukan perhitungan penghematan biaya penggunaan agar sehingga dapat diketahui persentase biaya yang dapat dihemat apabila digunakan substitusi agar murni dengan agar teknis pada berbagai taraf substitusi. Penghitungan dilakukan dengan rumus (Ayenew *et al.*, 2012):

$$\% \text{ penghematan biaya} = \frac{\text{biaya agar yang disubstitusi (murni)} - \text{biaya agar yang mensubstitusi (teknis)}}{\text{biaya agar yang disubstitusi (murni)}} \times 100 \% +$$



Gambar 1. a) Embrio dengan kondisi baik untuk perbanyakan kultur; b). Embrio yang siap disubkultur (kanan); c) Tunas dengan tinggi 1 cm siap dipindah ke media perbanyakan tunas ; d) Planlet siap diamati jumlah daun, tinggi tanaman, akar primer, dan akar sekunder..

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan setelah umur 2 bulan, jumlah embrio kelapa sawit berbeda tidak nyata dengan adanya substitusi agar murni dengan agar teknis (Tabel 2). Kisaran jumlah embrio yaitu 3,2 - 5,3 embrio. Jumlah tunas yang dihasilkan juga berbeda tidak nyata dengan adanya substitusi agar murni dengan agar teknis pada berbagai taraf substitusi dengan kisaran 0,12 - 0,29 (Tabel 2).

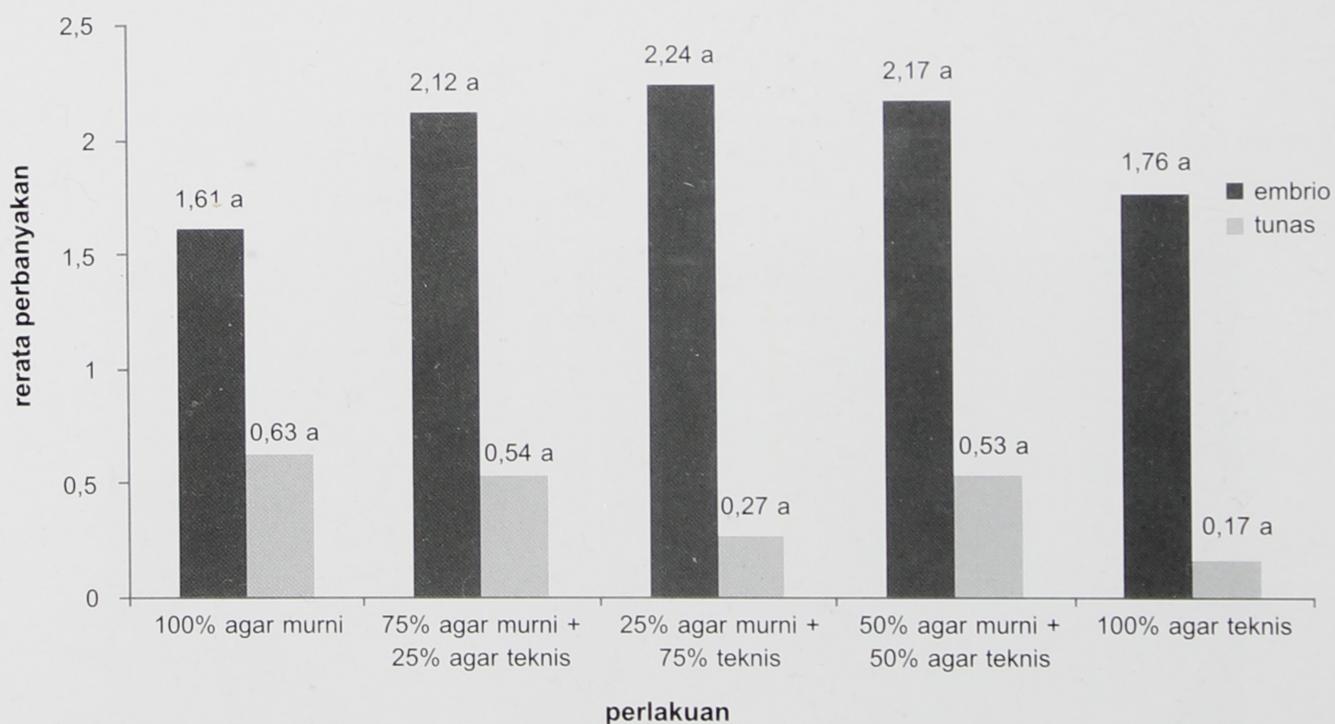
Rerata jumlah embrio subkultur pertama hingga ke-3 pada substitusi agar murni dengan agar teknis memberikan hasil yang berbeda tidak nyata (Gambar 2). Hal serupa juga terjadi pada jumlah tunas hasil subkultur pertama hingga ke-3 yang

menunjukkan tidak terdapat beda nyata dengan adanya substitusi agar (Gambar 2). Substitusi agar murni dengan agar teknis pada berbagai taraf mampu memberikan hasil yang sama baiknya terhadap subkultur pertama hingga ke-3 pada pengamatan jumlah embrio dan tunas. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ayenew *et al.* (2012), yang menyimpulkan bahwa jumlah dan perbanyak tunas pada berbagai alternatif agar menghasilkan jumlah tunas yang berbeda tidak nyata, sedangkan menurut Kacar *et al.* (2010) penggunaan agar yang berbeda (*agar* dan *plant agar*) menghasilkan panjang tunas pisang Cavendish (*Musa acuminata* L.A. Colla) yang berbeda tidak nyata. Perbedaan yang nyata terlihat pada penggunaan *agargel* dan *phytagel* saja.

Tabel 2. Hasil pengamatan substitusi agar pada parameter jumlah embrio, dan jumlah tunas kelapa sawit di media perbanyak embrio setelah 2 bulan.

Agar (%)	Jumlah embrio	Jumlah tunas
<b>Murni + Teknis</b>		
100+25	3,52 a	0,29 a
75+25	3,57 a	0,25 a
50+50	5,32 a	0,22 a
25+75	3,39 a	0,12 a
0+100	3,23 a	0,27 a
<b>CV</b>	<b>75,49</b>	<b>214,57</b>

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT taraf 5%..



Gambar 2. Grafik rerata kemampuan perbanyak embrio dan tunas terhadap perlakuan substitusi agar sampai dengan tiga kali subkultur.

Keterangan : Data ditransformasi  $\log(x+1)$  untuk perbanyak embrio dan transformasi akar kuadrat  $(x+0,5)^{1/2}$  untuk memenuhi kriteria analisis. Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada taraf 5%.

Tabel 3. Jumlah daun, tinggi tanaman (cm), akar primer, dan akar sekunder kelapa sawit pada substitusi agar di media perakaran setelah 3 bulan.

Agar (%)	Jumlah daun	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah akar primer	Jumlah akar sekunder
<b>Murni+Teknis</b>				
100+0	4,93 ab	10,77 a	3,27 a	38,93 a
75+25	4,27 b	10,56 a	2,37 a	28,33 a
50+50	4,76 ab	11,19 a	2,72 a	35,72 a
25+75	4,67 ab	10,93 a	3,33 a	38,67 a
0+100	5,10 a	10,29 a	2,83 a	41,17 a
<b>CV</b>	<b>28,45</b>	<b>16,89</b>	<b>67,34</b>	<b>74,90</b>

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan hasil uji DMRT taraf 5%. Data akar primer dan sekunder telah ditransformasi  $\log(x+1)$  untuk memenuhi kriteria analisis.

Perbedaan jenis agar juga dapat mengakibatkan perbedaan morfofisiologi yang berpengaruh terhadap pertumbuhan. Substitusi agar murni dengan agar teknis berpengaruh nyata terhadap jumlah daun planlet kelapa sawit. Perlakuan 100% agar teknis menghasilkan jumlah daun paling banyak meskipun berbeda tidak nyata dengan perlakuan lainnya kecuali perlakuan 75% agar murni + 25% agar teknis (Tabel 3). Hasil penelitian Jain *et al.* (2009), menunjukkan perbedaan akumulasi pati pada daun planlet pada penggunaan agar Sigma A-1, Sigma A-2, dan Caisson, tetapi akumulasi pati tidak terjadi pada Sigma E. Sigma E mampu menghasilkan planlet yang lebih kuat.

Pada pengamatan tinggi tanaman, jumlah akar primer dan sekunder memberikan hasil berbeda tidak nyata dengan adanya substitusi agar. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Babbar dan Jain (1998) dan Ayenew *et al.* (2012), pada kultur nanas pada pengamatan akar dan jumlah daun. Secara umum dapat dikatakan substitusi agar murni dengan agar teknis pada media perakaran (Tabel 3) dapat dilakukan.

### Persentase Penghematan Biaya Kultur

Tujuan utama adanya penelitian substitusi agar murni dengan agar teknis adalah untuk menekan biaya produksi klon sehingga dapat menghemat biaya. Biaya bahan pemat dapat mencapai sekitar 70%, sedangkan komponen lain dalam media sedikit

berpengaruh karena harganya relatif murah (Priyadi *et al.*, 2008).

Substitusi agar murni dengan agar teknis mampu menekan biaya produksi kultur sesuai dengan persentase substitusi yang digunakan. Penggunaan agar teknis (Moleqagar), mampu menghemat 17,57% hingga 70,29% biaya produksi (Tabel 4). Semakin besar persentase substitusi yang digunakan maka penghematan biaya semakin besar. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, substitusi agar murni dengan agar teknis sebesar 100%, memberikan hasil berbeda tidak nyata dengan penggunaan agar murni pada semua pengamatan, sehingga penghematan biaya agar untuk produksi kultur dapat mencapai 70,29%. Hasil penelitian ini serupa dengan yang dilakukan Daud *et al.* (2011), penggunaan pati kentang, tepung beras, tepung ketela, dan tepung jagung dapat menekan biaya penggunaan bahan pemat hingga 60-90%.

### KESIMPULAN

Agar teknis dapat menggantikan peran agar murni dalam media kultur jaringan kelapa sawit. Dengan adanya substitusi agar murni dengan agar teknis tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio dan tunas sampai dengan 3 kali subkultur, tinggi tanaman, jumlah akar primer dan sekunder. Substitusi agar murni dengan agar teknis hingga 100% akan menghemat biaya penggunaan agar dalam produksi kultur hingga mencapai sebesar 70,29%.

Tabel 4. Persentase penghematan biaya kultur.

Agar (%)		Harga agar/kg (Rp.)	Harga agar per 1 L media (Rp.)	Biaya yang dihemat terhadap agar murni (%)
Murni	Teknis			
100	0	3.938.000	29.535	0,00
75	25	3.246.000	24.345	17,57
50	50	2.554.000	19.155	35,14
25	75	1.862.000	13.965	52,72
0	100	1.170.000	8.775	70,29

Sumber : Daftar harga agar-agar Sigma A7002 per 1 kg pada 27 Mei 2012 (Sigma-Aldrich, 2012)

## DAFTAR PUSTAKA

- Armisen, R., and F., Galatas. 2012. Production and utilization of products from commercial seaweeds, Chapter 1-Production, properties, and uses of agar. <http://www.fao.org/docrep/x5822e/x5822e00.HTM>. Diakses tanggal 27 Mei 2012).
- Ayewew, B., A. Mengesha, T. Tadesse, and E. Gebremariam. 2012. *Ensete ventricosum* (WELW.) Cheesman: A cheap and alternative gelling agent for pineapple (*Ananas comosus* Var. Smooth Cayenne) *in vitro* propagation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science* 2(2):640-652.
- Babbar, S. B., and N. Jain. 1998. 'Isubgol' is an alternative gelling agent in plant tissue culture media. *Plant Cell Reports*. 17:318-322.
- Daud, H., R. Than, N. Mohd, and H. Alimon. 2011. Potential of alternative gelling agents in media for the *in vitro* micro-propagation of *Celosia sp.* *International Journal of Botany*. 7(2):183-188.
- Harahap, I. Y. 2011. *Formulasi Media Kultur Jaringan*. Medan: Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Tidak Dipublikasikan.
- Jain, A., M.D. Polling, A.P. Smith, V.K. Nagarajan, B. Lahner, R.B. Meagher, and K.G. Raghothama. 2009. Variations in the composition of gelling agents affect morphophysiological and molecular responses to deficiencies of phosphate and other nutrients. *Plant Physiology* 100:1033-1049.
- Kacar, Y.A., B. Bicen, I. Varol, Y.Y. Mendi, S. Serce, and S. Cetiner. 2010. Gelling agents and culture vessel affect *in vitro* multiplications of banana plantlets. *Genetics and Molecular Research* 9(1):416-424.
- Kasim, H. 2012. Pertumbuhan tunas kiwi (*Actinidia deliciosa*) pada berbagai bahan pematat media secara *in vitro*. [http://balitbangda.sulteng.go.id/index.php?option=com\\_content&view=article&id=72:pertumbuhan-tunas-kiwi-actinidia-deliciosa-pada-berbagai-bahanpematat-media-secara-in-vitro&catid=37:j-u-r-n-a-l&Itemid=73](http://balitbangda.sulteng.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=72:pertumbuhan-tunas-kiwi-actinidia-deliciosa-pada-berbagai-bahanpematat-media-secara-in-vitro&catid=37:j-u-r-n-a-l&Itemid=73). Diakses tanggal 25 November 2012.
- Klimaszewska, K., M. Bernier-Cardou, D.R. Cyr, and B.C.S. Sutton. 2000. Influence of gelling agents on culture medium gel strength, water availability, tissue water potential, and maturation response in embryogenic cultures of *Pinus strobus* L. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 36:279-286.
- Maliro, M.F.A. and G. Lameck. 2004. Potential of cassava flour as a gelling agent in media for tissue cultures. *African Journal of Biotechnology* 3(4):244-247.
- Moses, F. and L. Grace. 2004. Potential of casava flour as a gelling agent in media for plant tissue cultures. *American Journal of Botany* 3(4):244-247.

- Priadi, D., H. Fitriani, dan E. Sudarmonowati. 2008. Pertumbuhan *in vitro* tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) pada berbagai bahan pematat alternatif pengganti agar. Biodiversitas 9(1):9-12.
- Puchooa, D., P.N. Pureseramen, and B.R. Rujbally. 1999. Effect of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*). Science and Technology Research Journal 3:129-144.
- Sigma-Aldrich. 2012. Product Information Sheet: Agar A7002. [http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product\\_Information\\_Sheet/a4800pis.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/a4800pis.pdf). Diakses pada tanggal 27 Mei 2012).
- Sutarto, I., N. Supriatna, dan Yuliasti. 2003. Penggunaan media alternatif pada kultur *in vitro* Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) varietas Gajah. Bul. Agron. 31(1):1-7.