

PENINGKATAN DAYA HIDUP DAN KERAGAAN PLANLET KELAPA SAWIT DI PEMBIBITAN AWAL MELALUI *HARDENING IN-VITRO*

Fatmawati, Gale Ginting, dan Sjafrul Latif

ABSTRAK

Bahan tanaman kelapa sawit yang dihasilkan melalui kultur jaringan masih mempunyai kendala pada tahap aklimatisasi dan pembibitan awal. Kegagalan hidup planlet pada tahap aklimatisasi mencapai 20-30 % dan tahap pembibitan awal 10 %. Kegagalan ini erat kaitannya dengan kejaguran planlet di dalam laboratorium, terutama kualitas pupus dan akar. Untuk memaksimalkan daya hidup planlet, telah dilakukan peningkatan kejaguran pupus dan akar planlet melalui *hardening in-vitro*. Kualitas akar planlet dibagi dalam 4 tipe akar yaitu tipe akar A : kualitas akar baik, tipe akar B: kualitas akar cukup, tipe akar C: kualitas akar sedang dan tipe akar D: kualitas akar kurang. Ekspresi akar dilakukan dalam medium standar sebagai kontrol yaitu: medium padat + gula 60 g^l⁻¹ (MD5) dan empat perlakuan masing-masing : medium cair + gula 90 g^l⁻¹ (MD1), medium padat + gula 90 g^l⁻¹ (MD2), medium padat + gula 120 g^l⁻¹ (MD3) dan medium cair + gula 120 g^l⁻¹ (MD4). Hasil *hardening in-vitro* pada MD1 menghasilkan tipe akar A=35,75 %; B=50 %; C=8,57 % dan D=5,71 %. Pada MD2 menghasilkan tipe akar A=21,42 %; B=35,71 %; C=25,71 % dan D=17,14 %. Pada MD3 menghasilkan tipe akar A=32,85 %; B=42,85 %; C=17,14 % dan D=7,14 %. Pada MD4 menghasilkan tipe akar A=38,57 %; B=45,57 %; C=12,86 % dan D=0 %. Hasil perakaran pada semua perlakuan di atas lebih baik daripada menggunakan medium standar (MD5) yang menghasilkan tipe akar A=21,42 %; B=35,71 %; C=25,71 % dan D=17,14 %. Keberhasilan hidup planlet pada tahap aklimatisasi masing-masing 91,42 %; 72,85 %; 84,28 % dan 94,28 % pada perlakuan MD1, MD2, MD3 dan MD4 lebih tinggi dibandingkan MD5 yang hanya 34,14 %. Keberhasilan hidup planlet setelah 3 bulan di pembibitan awal masing-masing 88,57 %; 62,85 %; 75,71 % dan 84,28 % pada perlakuan MD1, MD2, MD3 dan MD4 lebih tinggi dibandingkan MD5 yang hanya 27,14 %. Hasil pengamatan keragaan vegetatif setelah 3 bulan di pembibitan awal, untuk peubah jumlah daun, lebar daun dan diameter batang, tidak ada beda nyata antara perlakuan MD1, MD2, MD3 dan MD4, tetapi berbeda nyata dengan MD5. Untuk peubah panjang daun dan tinggi tanaman, tidak ada perbedaan nyata antara MD1 dan MD4, tetapi berbeda nyata dengan MD2 dan MD3 dan berbeda sangat nyata dengan kontrol.

Kata kunci : planlet, kelapa sawit, *hardening in-vitro*, keragaan vegetatif

PENDAHULUAN

Sejalan dengan peningkatan luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia, maka kebutuhan bahan tanaman juga meningkat. Untuk mendapatkan tanaman yang mempunyai potensi produksi yang tinggi, dibutuhkan bahan tanaman yang unggul. Salah satu cara penyediaan bahan tanaman unggul adalah melalui kultur jaringan,

yaitu memperoleh bahan tanaman yang bersifat *true to type* terhadap pohon induknya. Hasil kultur jaringan dapat meningkatkan produksi minyak sawit mentah 25-39 % per hektar dibandingkan dengan tanaman asal benih (1, 4, 10).

Salah satu kendala yang dihadapi untuk memproduksi planlet kelapa sawit pada skala komersial adalah kegagalan hidup planlet pada tahap aklimatisasi dan

pembibitan awal. Kegagalan hidup planlet dapat mencapai 20-30 % pada tahap aklimatisasi dan sekitar 10 % di pembibitan awal (4). Akibat langsung dari kegagalan hidup planlet pada tahap aklimatisasi dan pembibitan awal adalah kenaikan biaya produksi planlet (11). Kualitas akar yang rendah merupakan salah satu faktor utama dan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan vegetatif maupun kemampuan hidup planlet selama aklimatisasi dan pembibitan awal (7,12). Planlet dengan tipe akar A mampu hidup pada tahap aklimatisasi sebanyak 90-98 %. Selanjutnya planlet dengan akar tipe B, C dan D mampu hidup pada tahap aklimatisasi masing-masing 85-90 %, 60-75 % dan 20-25 % (4).

Berdasarkan kualitasnya, akar planlet kelapa sawit dibedakan menjadi 4 tipe akar (3), yaitu:

1. *Tipe akar A* : akar terdiri atas akar primer, akar sekunder jumlahnya minimal 5 cabang dengan bulu-bulu akar yang penuh.
2. *Tipe akar B*: akar terdiri atas akar primer, akar sekunder jumlahnya 3-4 cabang dengan bulu-bulu akar yang penuh.
3. *Tipe akar C*: akar terdiri atas akar primer, akar sekunder jumlahnya 2 cabang dengan bulu akar yang jarang.
4. *Tipe akar D*: akar hanya terdiri atas akar primer saja.

Pembentukan akar planlet secara spontan jarang terjadi dan oleh karena itu perlu diberikan perlakuan tambahan untuk merangsang tumbuhnya akar (1). Planlet yang telah mendapat perlakuan tambahan untuk merangsang perakaran akan mempunyai sejumlah besar akar adventif sekunder dalam waktu tiga minggu (6). Pembentukan akar lebih mudah jika tunas dipotong dan ditempatkan dalam medium

yang berkadar hara makro-mikro rendah tanpa atau dengan 0.1 uM NAA (5). Menurut Nakamura (8), kecepatan perakaran teh secara *in-vitro* meningkat 30-50 % bila konsentrasi unsur makro diturunkan menjadi 50 % atau 25 %, karena konsentrasi nutrisi makro dan mikro yang tinggi menyebabkan alergi dan *hyperhydric transformation* (2). Modifikasi media dasar sering memacu pertumbuhan yang selanjutnya dapat memperpendek masa kultur (13). Ginting *et al.* (3) menyebutkan bahwa medium Murashige & Skoogs (MS) mengandung konsentrasi hara makro dan mikro tinggi dan penurunan konsentrasi sampai dengan 50 % dapat dilakukan untuk merangsang organogenesis sehingga dapat memperpendek masa kultur. Menurut Ozias *et al.* (9) konsentrasi unsur mikro 10 % dari konsentrasi dasar adalah baik untuk pertumbuhan. Keracunan sel dapat terjadi pada medium yang mempunyai konsentrasi unsur mikro tinggi.

Untuk menanggulangi masalah kegagalan hidup planlet pada tahap aklimatisasi telah dilakukan usaha-usaha perbaikan teknik aklimatisasi dengan mencari parameter yang optimum melalui pengaturan kelembaban nisbi udara, intensitas cahaya, pemupukan, penggunaan berbagai jenis medium pada tahap aklimatisasi maupun pembibitan awal. Namun sampai saat ini belum diperoleh hasil yang memuaskan. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kualitas perakaran adalah dengan perlakuan *hardening in-vitro*, melalui pemotongan ujung akar yang telah terbentuk dan kemudian menanamnya kembali ke dalam medium baru, sehingga dapat merangsang pembentukan akar adventif dan mempertebal kutikula. Pemotongan akar diduga mempengaruhi kebutuhan hara planlet pada tahap *hardening*. Hara yang dibutuhkan, khususnya karbon menjadi

lebih banyak, karena digunakan untuk pemulihan dan untuk pembentukan akar adventif. Sukrosa merupakan sumber karbon selama regenerasi tanaman dan perubahan susunan jaringan. Pada kultur jaringan kelapa sawit, kenaikan kandungan sukrosa dalam medium dapat memperbaiki kepadatan jaringan dan meningkatkan frekuensi dan kecepatan pembelahan sel sehingga menambah potensi pembentukan pupus dan akar.

Penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh jenis media (padat dan cair) dan konsentrasi gula (sukrosa) dalam media terhadap kualitas akar dan pupus. Diharapkan akan diperoleh media yang optimum untuk meningkatkan persentase hidup planlet pada tahap aklimatisasi dan pembibitan awal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian *hardening in-vitro* dilakukan di laboratorium dan pembibitan kultur jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) di Marilah pada bulan Maret – Desember 1997.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pupus kelapa sawit dan bahan kimia pembuat media yang terdiri atas unsur hara makro dan mikro, vitamin serta hormon. Selain itu, digunakan juga peralatan umum seperti laminar air flow, oven, distributor media, timbangan elektronik, autoklaf, pH meter, cawan petri, bunsen, milli-pore, tabung reaksi, polibeg kecil, pasir steril, top soil dan sungkup bibit.

Penelitian *hardening in-vitro* di dalam laboratorium menggunakan 4 perlakuan ~~medium~~ dibandingkan dengan medium standar sebagai kontrol. Sampel yang digunakan masing-masing 10 planlet pada seti-

ap perlakuan dengan 7 ulangan sehingga jumlah sampel 350 planlet. Klon yang digunakan yaitu: MK:237 (DS 029 D x LM 2 T), MK:266 (DS 029 D x LM 2 T), MK:276 (BJ 13 D x LM 7 T), MK:301 (LM 268 D x LM 7 T), MK:313 (TI 221 D x LM 7 T), MK 314 (DA 981 D x DA 128 D Self) dan MK:329 (DS 029 D x RS 011 P). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial dengan 7 ulangan.

Pupus yang panjangnya telah mencapai 5 cm atau lebih dilakukan induksi akar dengan cara dimasukkan ke dalam medium cair selama 5 hari. Ekspresi akar masing-masing dilakukan dalam medium standar sebagai kontrol yaitu media padat + gula 60 g l⁻¹ (MD5) dan empat perlakuan yaitu: medium cair + gula 90 g l⁻¹ (MD1), medium padat + gula 90 g l⁻¹ (MD2), medium padat + gula 120 g l⁻¹ (MD3) dan medium cair + gula 120 g l⁻¹ (MD4). Perakaran dilakukan dalam 2 siklus masing-masing selama 1 bulan pada siklus pertama dan 1 bulan pada siklus kedua. Setelah 1 bulan pada siklus pertama, ujung akar dipotong 1 cm dari pangkal akar dan planlet dimasukkan dalam siklus perakaran kedua. Pengamatan kualitas akar dilakukan pada akhir perakaran siklus kedua dan berdasarkan kualitasnya, akar dikelompokkan menjadi 4 tipe akar yaitu: tipe akar A: kualitas akar baik, tipe akar B : kualitas akar cukup, tipe akar C : kualitas akar sedang, dan tipe akar D : kualitas akar kurang. Planlet dipindah tanam ke tahap aklimatisasi dalam medium pasir steril selama 1 bulan. Selanjutnya planlet ditanam dalam polibeg kecil yang berisi medium campuran top soil : pasir = 3 : 2. Pengukuran vegetatif dilakukan setiap 2 minggu dan diakhiri pada saat bibit telah berusia 3 bulan di pembibitan awal.

Peubah yang diamati pada tahap penelitian di laboratorium meliputi pengamatan kualitas akar (tipe akar A, B, C dan D) pada semua sampel perlakuan dan kontrol. Pada tahap aklimatisasi, pengamatan dilakukan dengan mencatat planlet yang hidup sampai akhir tahap aklimatisasi. Pada saat di pembibitan awal, pengamatan dilakukan dengan mencatat planlet yang hidup dan keragaan vegetatif planlet setelah 3 bulan di pembibitan awal. Pengamatan keragaan vegetatif meliputi: jumlah daun, panjang daun, lebar daun, tinggi tanaman dan diameter batang.

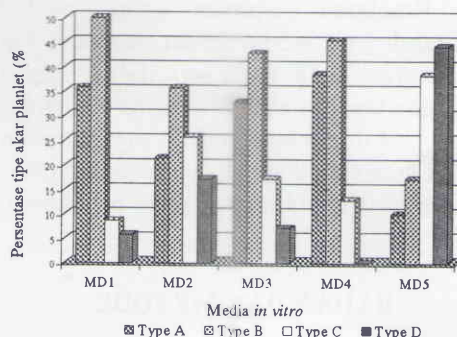
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perakaran planlet

Kandungan sukrosa pada media ternyata sangat berpengaruh terhadap kualitas akar planlet. Sukrosa sebagai sumber karbon dibutuhkan lebih banyak untuk pemulihan luka potong pada ujung akar maupun untuk pembentukan akar adventif. Kualitas akar planlet terbaik diperoleh pada perlakuan MD4 (medium cair + gula 120 gl^{-1}) menghasilkan tipe akar A=27 %, B= 34 %, C=12,86 % dan D=0 %. Selanjutnya secara berurut diikuti perlakuan pada MD1 (medium cair + gula 90 gl^{-1}), MD3 (medium padat + gula 120 gl^{-1}), MD2 (medium padat + gula 90 gl^{-1}) dan kontrol atau MD5 (medium padat + gula 60 gl^{-1}) masing-masing tipe akar A=25 %, B=35 %, C= 8,57 %, D= 5,71 % ; A=23 %, B=30 %, C=17,14 %, D= 7,14 % ; A=15 %, B=25 %, C=25,71 %, D=17,14 %; tipe akar A=10 %, B=17,14 %, C=38,57 %, D=44,28 % (Gambar 1).

Pada medium cair (MD1 dan MD4) dan medium padat (MD2 dan MD3), semakin tinggi konsentrasi sukrosa, semakin baik mutu akarnya. Jika dibandingkan hasil

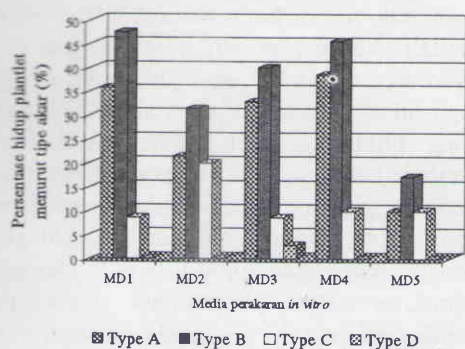
perakaran antara medium cair dengan medium padat ternyata MD1 (medium cair + gula 90 gl^{-1}) yang konsentrasi sukrosanya lebih rendah dari pada medium padat MD3 (medium padat + gula 120 gl^{-1}), hasil perakarannya lebih baik daripada MD3. Hal ini terjadi karena penyerapan karbon oleh tanaman lebih efektif pada media cair dibandingkan media padat.



Gambar 1. Perkembangan akar planlet pada beberapa media perakaran

Keberhasilan hidup planlet pada tahap aklimatisasi

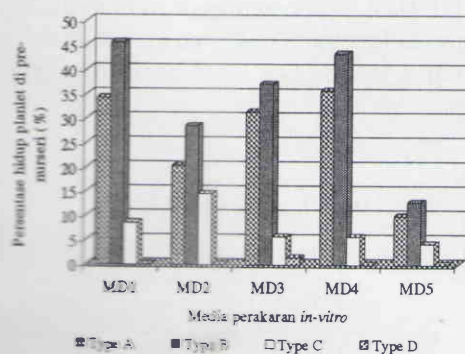
Keberhasilan hidup planlet pada tahap aklimatisasi berhubungan dengan kualitas akar planlet. Planlet yang paling banyak hidup pada tahap aklimatisasi adalah berasal dari perlakuan MD4 yang mencapai 94,28 %, selanjutnya secara berurut diikuti perlakuan MD1, MD3 dan MD2, masing-masing 91,42 %, 84,28 % dan 72,85 %. Semua perlakuan media ini hasilnya lebih baik dibandingkan MD5 atau kontrol yang hanya 34,28 % saja (Gambar 2).



Gambar 2. Keberhasilan planlet hidup pada tahap aklimatisasi

Keberhasilan hidup planlet pada tahap pembibitan awal

Pada tahap pembibitan awal, planlet yang paling banyak hidup adalah yang berasal dari perlakuan MD1 dan MD4 masing-masing 88,57 % dan 84,28 %. Selanjutnya secara berurut diikuti perlakuan MD3, MD2 dan MD5 atau kontrol masing-masing 75,71 %, 63,43 % dan 27,4 % saja. Ada kaitan erat antara mutu akar planlet dalam laboratorium dengan keberhasilan hidup planlet di pembibitan awal. Semakin baik kualitas akar maka semakin banyak planlet yang hidup.



Gambar 3. Keberhasilan hidup planlet pada tahap pembibitan awal

Keragaan vegetatif di pembibitan awal

Pengukuran keragaan vegetatif meliputi jumlah daun, panjang daun, lebar daun, tinggi tanaman, dan diameter batang. Hasil pengamatan keragaan vegetatif setelah 3 bulan di pembibitan awal, untuk peubah jumlah daun, lebar daun dan diameter batang, tidak ada berbeda nyata antara perlakuan MD1, MD2, MD3 dan MD4, tetapi berbeda nyata dengan MD5 (kontrol). Untuk peubah panjang daun dan tinggi tanaman, tidak ada perbedaan nyata antara MD1 dan MD4, tetapi berbeda nyata dengan MD2 dan MD3 dan berbeda sangat nyata dengan kontrol (Tabel 1).

Rerata jumlah daun terbanyak dijumpai pada perlakuan MD1 (6,32 helai) dan secara berurut diikuti pada perlakuan MD4 (5,58 helai), MD2 (5,52 helai), MD3 (5,42 helai) dan MD5 (5,34 helai). Rerata panjang daun yang paling panjang adalah pada perlakuan MD4 (10,92 cm), kemudian secara berurut diikuti MD1 (10,43 cm), MD3 (9,96 cm), MD2 (9,94 cm) dan MD5 (7,41 cm). Rerata tinggi tanaman paling tinggi pada perlakuan MD1 (12,35 cm) dan selanjutnya secara berurutan pada MD4 (11,44 cm), MD2 (10,36 cm), MD3 (9,40 cm) dan MD5 (7,17 cm). Keragaan vegetatif tanaman di pembibitan awal berkaitan erat dengan kualitas akar planlet di dalam laboratorium. Planlet dengan tipe akar A dan tipe akar B mempunyai keragaan vegetatif yang lebih jagur dibandingkan planlet dengan tipe akar C dan tipe akar D. Secara umum, pertumbuhan akar terlihat lebih baik pada medium cair yang diberi sukrosa hingga 90-120 g l⁻¹ dari pada medium padat dengan konsentrasi gula yang sama. Hal ini terlihat dengan meningkatnya persentase akar tipe A dan B pada media cair dibandingkan dengan media padat. Pada media kontrol terjadi hal

sebaliknya yaitu tipe akar C dan D jauh lebih besar dibandingkan tipe A maupun tipe B. Sejalan dengan perbaikan mutu akar, maka persentase hidup planlet pada tahap aklimatisasi dan pembibitan awal juga meningkat. Planlet yang memiliki akar dengan kualitas A dan B ternyata persentase hidupnya pada tahap aklimatisasi dan pembibitan awal juga meningkat. Belum diketahui alasan yang pasti tentang perbaikan mutu akar tersebut. Dugaan sementara adalah absorpsi nutrisi seperti

gula dan unsur hara lainnya akan lebih mudah pada media cair dibandingkan dengan media padat. Kadar gula yang tinggi juga membantu tersedianya sumber energi yang dibutuhkan oleh planlet untuk bertumbuh kembang pada tahap selanjutnya. Pada media cair tidak terlihat perbedaan yang nyata antara pemberian gula 90 gl^{-1} dengan pemberian gula 120 gl^{-1} . Dengan demikian untuk perhitungan ekonomis, pemberian gula 90 gl^{-1} pada medium cair diperhitungkan sudah cukup memadai.

Tabel 1. Keragaan vegetatif tanaman setelah 3 bulan di pembibitan awal

Perlakuan	Jumlah daun			Panjang daun			Tinggi tanaman			Lebar daun			Diameter batang		
	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %
MD1	6,32	c	C	10,43	c	C	12,35	c	C	1,42	c	C	2,20	c	C
MD2	5,52	c	C	9,94	bc	BC	10,36	bc	BC	4,38	c	C	2,09	c	C
MD3	5,42	c	C	9,96	bc	BC	9,40	bc	BC	1,36	c	C	2,12	c	C
MD4	5,58	c	C	10,92	c	C	11,44	c	C	1,46	c	C	2,21	c	C
MD5	5,54	a	A	7,41	a	A	7,17	a	A	1,32	a	A	1,45	a	A

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 (huruf kecil) dan 0,01 (huruf besar)

KESIMPULAN

Hardening in-vitro dengan menggunakan perlakuan MD1, MD2, MD3, dan MD4 telah dapat meningkatkan kualitas akar planlet kelapa sawit di dalam laboratorium dibandingkan dengan MD5 (kontrol).

Kualitas akar planlet kelapa sawit yang baik dapat meningkatkan persentase keberhasilan hidup planlet baik pada tahap aklimatisasi maupun pre nurseri.

Kualitas akar planlet kelapa sawit berhubungan erat dengan keragaan vegetatif, semakin baik kualitas akar maka planlet semakin jagur.

Pada tahap perakaran, disarankan agar mengganti medium standar (MD5) dengan MD1 atau MD4, sehingga jumlah planlet yang hidup baik pada tahap aklimatisasi maupun pembibitan awal dapat ditingkatkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. DUVAL, Y., T.D. GASSELIN., K. KONAN and C. PANNETIER. 1987. *In-vitro* vegetative micropropagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). Strategy and results. Proceedings of the 1987 International Oil Palm/Palm Oil Conferences, Kuala Lumpur. pp. 191-194.

2. GAUTHERET, R.J. 1985. History of plant tissue culture and cell culture in I.K. Vasil (ed). Cell culture and somatic cell genetics of plants vol (2). New York. pp.1-33
3. GINTING, G and FATMAWATI. 1988. Rhyzogenesis in oil palm plantlets. SEAMEO BIOTROP, Bogor Indonesia. pp.149-151.
4. GINTING, G., SUBRANTO, T. HUTOMO, FATMAWATI and A.U. LUBIS. 1995. Early performance of oil palm clones produced by IOPRI. Indon. J. Oil Palm Res. 3(1):11-26.
5. KARTHA, K.K. 1991. Organogenesis dan embryogenesis dalam L.R. Wetter dan Conctabel (eds). Diterjemahkan oleh Mathilda Widi-anto. Metode kultur jaringan tanaman edisi II. ITB Bandung. pp. 14-21.
6. LIORET, C. 1981. Vegetative propagation of oil palm by somatic embryogenesis. The Incorporate Society of Planters. Kuala Lumpur. Vol (1) :163-172.
7. MAHERAN, A. BAKAR, A.K. TENG., A.Z. OTHMAN, and C. C. WENG. 1993. Vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) from laboratory to the Field. Felda's experience. PORIM International Palm Oil Congress, 20-25 September 1993. pp. 1-4.
8. NAKAMURA, Y. 1991. In-vitro propagation techniques of tea plant. JARQ 25 : 185-194.
9. OZIAS, A. P and I.K. VASIL. 1985. Nutrition of plant tissue culture in I.K. Vasil (ed). Cell culture and somatic cell genetics of plant, New-York. vol(2) pp:129-143.
10. PURBA, A.R., R.A. LUBIS. and A.U. LUBIS. 1993. Estimation of the combining ability of the first oil palm *Elaeis guineensis* breeding cycle at Marihat. 1993 PORIM International Palm Oil Congress. Kuala Lumpur.
11. RIVAL, A., Y. DUVAL., J.L. VERDEIL and F.A. ABERLENCE. 1993. Recent advances in oil palm clonal propagation. Application of plant *in-vitro* technology Symposium UPM, 16-18 Nov. pp.156-164.
12. SALMAN, F., E. SYAHPUTRA dan FATMAWATI. 1993. Hubungan antara mutu akar dengan persentase hidup klon kelapa sawit di prenursery. Berita PPKS 1(2) : 149-159.
13. SAMOSIR, Y.M.S. 1991. Pertumbuhan dan perkembangan embrio kelapa pada tiga jenis media kultur *in-vitro*. Buletin Manggar 4(2): 23-26.
14. YITNOSUMARTO, S. 1991. Perancangan percobaan, analisis dan interpretasinya. PT. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.

The improvement of survival rate of oil palm plantlet at pre-nursery through *in-vitro* hardening

Fatmawati, Gale Ginting, and Sjafrul Latif

Abstract

Oil palm planting materials that are produced through tissue culture technique still has a constraint at acclimatization and pre-nursery stages. The survival failure of plantlet at acclimatization stage reached up to 20-30% and at pre-nursery stage up to 10%. This failure has correspondence with the vigorous of plantlet obtained from the laboratory, especially the quality of shoots and roots. To optimize the survival rate, an experiment has been carried out in order to improve the vigorous of shoots and roots through hardening *in-vitro*. Root quality has been grouped in to 4 categories, A: best, B: good, C: fair and D: bad. Root expression was done on standard medium as control i.e.: solid medium + 60 gL⁻¹ sucrose (MD5) and 4 treatments as follow: liquid medium + 90 gL⁻¹ sucrose (MD1), solid medium + 90 gL⁻¹ sucrose (MD2), solid medium + 120 gL⁻¹ sucrose (MD3) and liquid medium + 120 gL⁻¹ sucrose (MD4). The result of *in-vitro* hardening on MD1 showed that the quality of roots could be improved to be root type A=35.75 %; B=50 %; C=8.57 % and D=5.71 %. MD2 could produce root type A=21.42 %; B=35.71 %; C=25.71 % and D=17.14 %, while on MD3 produced root type A=32.85 %; B=42.85 %; C=17.14 % and D=7.14 %. MD4 produced root type A=38.57 %; B=45.57 %; C=12.86 % and D=0 %. All medium treatments showed better results than standard medium (MD5) which was only produce root type A=21.42 %; B=35.71 %; C=25.71 % and D=17.14 %. The survival rate of plantlet at acclimatization stage was 91.42 %; 72.85 %; 84.28 % and 94.28 % on MD1, MD2, MD3 and MD4 higher than control (MD5) was 34.14 %. The survival plantlet after three months at pre-nursery was 88.57 %; 62.85 %; 75.71 % and 84.28 % on the treatment of MD1, MD2, MD3 and MD4 higher than control 27.14 %, respectively. The vegetative performance of plantlet after three months at pre-nursery, for total leaf numbers, leaf width, stem diameter showed no significant different within MD1, MD2, MD3 and MD4 treatments, but has a significant different with control. Leaf length and plant height traits showed no different between MD1 and MD4, but has significant different with MD2 and MD3 and has highly significant different with MD5.

Key words: plantlet, oil palm, hardening *in-vitro*, vegetative performance

Introduction

In line with the increment of oil palm area in Indonesia, the need of planting material was also increase. In order to obtain planting material with high yield potential, an elite variety is needed. Such planting material could be provided through tissue culture technique in order to have a true to type planting material. Oil palm clone has been proved to increase

productivity of crude palm oil (CPO) 25-39 % per hectare compared to the palm derived from seedling (1, 4, 10).

One of the constraints to increase the mass productivity of plantlet at commercial scale was the failure of plantlet at acclimatization and pre-nursery stages. The survival failures of plantlet were up to 20-30 % at acclimatization stage and around 10 % at pre-nursery (4). The direct effect of this failure is the increasing of plantlet cost production (11). Plantlets with A root

type were able to survive at acclimatization up to 90-98 %, while plantlets with B, C and D root types were able to survive at the same stage up to 85-90, 60-75 and 20-25 %, respectively (4). The poor quality of root was the main factor which effect the vegetative growth and the ability of plantlet to survive during acclimatization and pre-nursery stages (7, 12).

Based on their quality, root of plantlet was classified into 4 categories as follow (3) :

1. *A root type* : Roots consist of primary root and secondary root minimum of 5 branches with full hairy root.
2. *B root type* : Roots consist of primary root, secondary root minimum of 3-4 branches with full hairy root.
3. *C root type* : Roots consist of primary root, secondary roots minimum 2 branches with slightly hairy root.
4. *D root type* : Roots consist of primary root only and no hairy root.

A spontaneous root formation of plantlet is rarely occurred and therefore, the plantlets need additional treatment for root stimulation (1). The treated plantlets will produce the amount of adventitious root within three weeks (6). Root formation will be easier when shoots were cut and placed in a medium containing macro and micronutrients at a lower strength with or without 0.1 μ M NAA (5). According to Nakamura (8), the root formation on tea *in vitro* was increased up to 30-50 % if the strength of macro nutrient in the media was decreased to 50 % or 25 %, since high strength of macro and micro nutrients caused allergic and hyperhydric transformation (2). The modification of basal media often accelerates root growth and shortening culture period (13). Ginting *et al.* (3) stated that Murashige & Skoogs

(MS) medium contains high concentration of macro and micro nutrients and the decreasing of the strength up to half (50 %) can stimulate organogenesis and eventually reduce the length of culture period. According to Ozias *et al.*, (9) 10 % of micronutrient was good for growth since the poisoning of cell can occur in the media with high micro nutrient concentration.

In order to avoid the failure of plantlet survival at acclimatization stage, the improvement of acclimatization techniques have been carried out to find the optimum parameter through controlling the relative humidity, light intensity, fertilizer, the use of various medium at acclimatization and pre-nursery stages. However, the results were not satisfied. The effort that could be done for improving of root quality is through *in-vitro* hardening. Through this technique, root tips were cut and the plantlets were replanted in the same and fresh media in order to stimulate adventitious root formation and thickening the cuticulae. Root cutting probably influenced the need of nutrient of plantlets at hardening stage. The nutrient needed, carbon in particular, will increase since carbon are used for recovering and adventitious root formation. Sucrose as a main carbon source during plant regeneration and differentiation of plant tissue structure. On oil palm tissue culture, the increasing of sucrose in medium can increase tissue compactness and frequency and rate of cell division and improve the potency of shoot and root formation.

The aim of this research is to investigate the effect of media type (solid or liquid) and sucrose concentration in media on the quality of root and shoot of plantlet. It is expected to find the optimum media in order to increase the percentage of plantlet

survival at acclimatization and pre-nursery stages.

Materials and Methods

The investigation of *in-vitro* hardening of oil palm plantlet was carried out at Marihat Research Station, Indonesian Oil Palm Research Institute (IOPRI) Plant Tissue Culture Green House and Laboratory during March - December 1997.

The materials have been used in this investigation were shoot of oil palm and the chemicals for media culture. The basic equipment such as laminar air flow, oven, media distributor, test tubes were applied in this experiment.

Four media treatments were applied in *in-vitro* hardening in the laboratory and compared with standard medium as control. Sample consists of 10 plantlets each treatment for 7 clones as replication. The total of 350 plantlets has been used in this experiment. Clones used were MK:237 (DS 029 D x LM 2 T), MK:266 (DS 029 D x LM 2 T), MK:276 (BJ 13 D x LM 7 T), MK:301 (LM 268 D x LM 7 T), MK:313 (TI 221 D x LM 7 T), MK:314 (DA 981 D x DA 128 D Self) and MK:329 (DS 029 D x RS 011 P). Experimental design applied in this experiment was Completely Randomized Design non-factorial with 7 replications.

Shoots having 5 cm in length or more were placed in liquid root induction medium for 5 days. Each root expression was done in MD1, MD2, MD3, MD4 and MD5 as control. MD1 and MD4 were liquid and the others were solid. MD5 was solid medium + 60 gl^{-1} sucrose and 4 treatments as follow: liquid medium + 90 gl^{-1} sucrose (MD1), solid medium + 90 gl^{-1} sucrose (MD2), solid medium + 120 gl^{-1}

sucrose (MD3) and liquid medium + 120 gl^{-1} sucrose (MD4). Root expressions were done in 2 cycles for one month each. after one month at first cycle, the root tips were cut 1 cm from basal part and plantlets were transferred to the same rooting medium for the second cycle. The observation for root quality was done at the end of the second cycle and roots were classified into 4 categories (A, B, C and D) as mentioned previously. Plantlets were transferred into acclimatization medium that consists of sterile sand for one month. Plantlets then were planted in baby polybag containing the mixture of topsoil : sand = 3 : 2. The vegetative measurement was carried out every two weeks and the last observation was done after three months at pre-nursery.

The observation was conducted on laboratory, acclimatization, and pre nursery stage. Variable observed on laboratory stage was root quality (A, B, C and D root types) of plantlet from 4 treatment and control. The survival rates of plantlet were observed on acclimatization stage. On pre nursery stage, variables observed were survival rate and vegetative performance of plantlet after three months. The vegetative performances of plantlets include leaves number, length and wide of leaves, plant height, stem diameter.

Results and Discussions

Rooting of plantlet

Sucrose content in media gave a significant effect on root quality of plantlets. Sucrose as a source of carbon was needed more to recovery and the initiation of adventitious root. The higher sucrose content in media gave better quality of root. The best root quality was obtained from MD4 treatment, where A root type

=27 %. B=34 %. C=12.86 % and D=0 %. This figure was followed by MD1, MD3 and MD2 where root type A=25 %, B=35 %, C= 8.57 %, D= 5.71 %; A=23 %, B=30 %, C=17.14 %, D=7.1 % and A=15 %, B=25 %, C=25.71 %, D=17.14 %, respectively. While control (MD5) gave poor root quality where root type A=10 %, B=17.14 %, C=28.57 %, D=44.28 % (Figure 1).

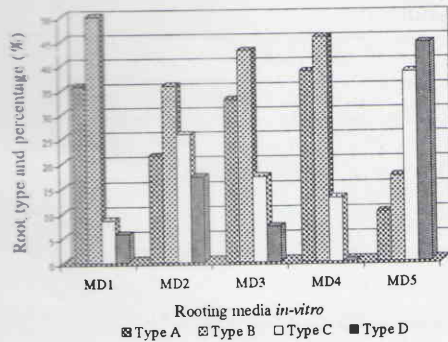


Figure 1. The development of plantlet root on various rooting media

The survival plantlet at acclimatization stage

The survival plantlet at acclimatization stage has a correlation with the quality of plantlet root. The most survival plantlet were obtained from MD4 reached up to 94.28 %, and followed by MD1 (91.42 %), MD3 (84.28 %) and MD2 (72.85 %). All treatments have a significant different with control (34.28 %).

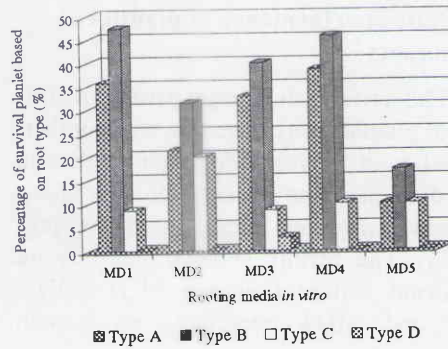


Figure 2. The survival rate of plantlet at acclimatization stage

The survival plantlet at pre-nursery stage

At pre-nursery, the most survival plantlets were obtained from MD1 treatment (88.57 %) followed by MD4 (84.28 %), MD3 (75.71 %) and MD2 (62.85 %), whilst MD5 (control) gave only 27.14 %.

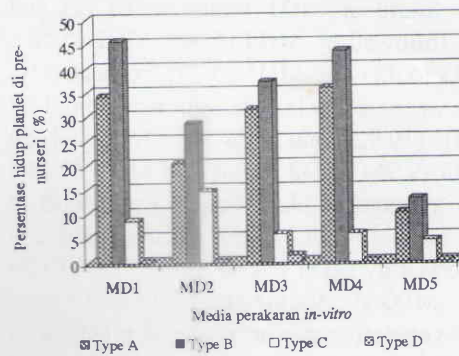


Figure 3. The survival plantlet at pre nursery

Vegetative performance of plantlet at pre-nursery

The criteria for vegetative performance of plantlet were based on leaf number, leaves length, leaves wide, plant height and stem diameter. The observation of vegetative was carried out after 3 months at pre-nursery. The results showed there is no significant different among MD1, MD2, MD3 and MD4 treatments on certain

parameters such as leaves number, leaves wide and stem diameter, but had a significant different with control. For leaves length and plant height parameters, there was no different between MD1 and MD4, but had significant different (5 %) with MD2 and MD3 and had a highly significant different (1 %) with control. The data for vegetative performance of plantlets are presented in Table 1.

Table 1. The vegetative performance of plantlets at pre-nursery

Treatment	Leaves number			Leaves length			Plant height			Leaves width			Stem diameter		
	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %	x	5 %	1 %
MD1	6.32	c	C	10.43	c	C	12.35	c	C	1.42	c	C	2.20	c	C
MD2	5.52	c	C	9.94	bc	BC	10.36	bc	BC	4.38	c	C	2.09	c	C
MD3	5.42	c	C	9.96	bc	BC	9.40	bc	BC	1.36	c	C	2.12	c	C
MD4	5.58	c	C	10.92	c	C	11.44	c	C	1.46	c	C	2.21	c	C
MD5	5.54	a	A	7.41	a	A	7.17	a	A	1.32	a	A	1.45	a	A

Notes: The number followed by the same letter in the same column were not significant different at 0.05 (small letter) and at 0.01 (capital letter)

The most highly average leaf number was found at MD1 treatment (6.32) and was followed by MD4 (5.58), MD2 (5.52), MD3 (5.42) and MD5 (5.34), respectively. The average of leaf length was found at MD1 (10.92) and then was followed by MD3 (9.96), MD2 (9.94) and MD5 (7.41). The average of plant height was found at the most on MD1 (12.35 cm) and the followed by MD4 (11.44 cm), MD2 (10.36 cm), MD3 (9.40 cm) and MD5 (7.17 cm). The vegetative performance of plantlets at pre-nursery has close relation with the root quality of plantlets in the laboratory. Plantlet with A and B root types showed vigorous vegetative performance compared to plantlet with C and D root types. In general, the root growth was found to be the best on liquid medium which contain 90-120 g sucrose per liter compared to

solid media with the same sucrose concentration. This finding can be seen from the increasing of the percentage of A and B root types on liquid media compared to solid media. On control media the opposite response were occurred, C and D root types were higher than A and B root types. In line with the improvement of root quality of plantlet, the percentage of survival plantlet at acclimatization and pre-nursery stages also increase. It has been proven that plantlets with A and B root types were survive at acclimatization and pre-nursery stages at high percentage. It is not known yet the reason on the improvement of root. It is assumed that the absorption of sugar (carbohydrate) and other nutrients by plantlets was much easier from liquid media compared to solid media. High sugar content in media is

useful to provide more energy for further plantlet growth and development. There was no significant different of the addition of sucrose either 90 gl^{-1} or 120 gl^{-1} . Therefore, for economical assessment, the addition of 90 gl^{-1} sucrose to the media is assumed to be sufficient.

Conclusions

In-vitro hardening of oil palm plantlet in MD1, MD2, MD3 and MD4 can improve the quality root compared to control.

Good quality of root can increase the survival rate of plantlet at acclimatization and pre-nursery stages.

Root quality has a correlation with vegetative performance of plantlet. The better the root the more vigorous of plantlets.

At rooting stage, it was suggested to change the standard medium (MD5) with either MD1 or MD4 in order to increase the survival rate of plantlet at acclimatization and pre-nursery stages.

References

1. DUVAL, Y., T.D. GASSELIN., K. KONAN and C. PANNETIER. 1987. *In-vitro* vegetative micropropagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). Strategy and results. Proceedings of the 1987 International Oil Palm/Palm Oil Conferences, Kuala Lumpur. pp. 191-194.
2. GAUTHERET, R.J. 1985. History of plant tissue culture and cell culture in I.K. Vasil (ed.). Cell culture and somatic cell genetics of plants vol (2). New York. pp.1-33.
3. GINTING, G and FATMAWATI. 1988. Rhzyogenesis in oil palm plantlets. SEAMEO BIOTROP, Bogor Indonesia. pp.149-151.
4. GINTING, G., SUBRANTO, T. HUTOMO, FATMAWATI and A.U. LUBIS. 1995. Early performance of oil palm clones produced by IOPRI. Indon. J. Oil Palm Res. 3(1):11-26.
5. KARTHA, K.K. 1991. Organogenesis dan embriogenesis dalam L.R. Wetter dan Conctabel (eds). Diterjemahkan oleh Mathilda Widi-anto. Metode kultur jaringan tanaman edisi II. ITB Bandung. pp. 14-21.
6. LIORET, C. 1981. Vegetative propagation of oil palm by somatic embryogenesis. The Incorporated Society of Planters, Kuala Lumpur. Vol (1) :163-172.
7. MAHERAN, A. BAKAR, A.K. TENG., A.Z. OTHMAN, and C. C. WENG. 1993. Vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) from laboratory to the Field, Felda's experience. PORIM International Palm Oil Congress, 20-25 September 1993. pp. 1-4.
8. NAKAMURA, Y. 1991. In-vitro propagation techniques of tea plant. JARQ 25 : 185-194.
9. OZIAS, A. P., and I.K. VASIL. 1985. Nutrition of plant tissue culture in I.K. Vasil (ed). Cell culture and somatic cell genetics of plant, New-York. Vol (2) pp:129-143.
10. PURBA, A.R., R.A. LUBIS, and A.U. LUBIS. 1993. Estimation of the combining ability of the first oil palm *Elaeis guineensis* breeding cycle at Marihat. 1993 PORIM International Palm Oil Congress. Kuala Lumpur.
11. RIVAL, A., Y. DUVAL., J.L. VERDEIL and F.A. ABERLENCE. 1993. Recent advances in oil palm clonal propagation. Application of plant *in-vitro* technology Symposium UPM, 16-18 Nov. pp.156-164.
12. SALMAN, F., E. SY AHPUTRA dan FATMAWATI. 1993. Hubungan antara mutu akar dengan persentase hidup klon kelapa sawit di prenursery. Berita PPKS 1(2) : 149-159.
13. SAMOSIR, Y.M.S. 1991. Pertumbuhan dan perkembangan embrio kelapa pada tiga jenis media kultur *in-vitro*. Buletin Manggar 4(2): 23-26.
14. YITNOSUMARTO, S. 1991. Perancangan percobaan, analisis dan interpretasinya. PT. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.

ooOoo