MULTIPLIKASI EMBRIO SOMATIK KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) MENGGUNAKAN MEDIA PADAT DAN CAIR

Ernayunita dan Yurna Yenni

ABSTRAK

Tingkat multiplikasi kultur dapat dipengaruhi oleh media kultur yang digunakan. Penelitian untuk meningkatkan multiplikasi embrio klon kelapa sawit penting dilakukan karena indeks multiplikasi embrio yang relatif rendah. Multiplikasi embrio pada penelitian ini dilakukan pada kultur cair dan padat. Perlakuan media cair dan padat dengan 30 ulangan dan menggunakan uji T untuk analisis data. Pengamatan yang dilakukan meliputi berat dan kondisi embrio, jumlah pupus, berat segar dan berat kering pupus. Hasil penelitian menunjukkan multiplikasi embrio pada kultur cair lebih baik dibandingkan pada kultur padat dengan peningkatan persentase berat embrio pada kultur cair : kultur padat adalah 165,11%. Selain itu, kultur cair juga mampu menghasilkan pertumbuhan pupus kelapa sawit yang lebih baik..

Kata Kunci: *multiplikasi embrio, kultur padat, kultur cair, klon kelapa sawit*

PENDAHULUAN

Perbanyakan kelapa sawit secara kultur jaringan masih menghadapi kendala secara teknis, antara lain lamanya waktu yang dibutuhkan sejak awal eksplan sampai menghasilkan *planlet* yaitu sekitar 16-24 bulan, serta rendahnya persentase pembentukan kalus dan embrio. Rata-rata pembentukan kalus kelapa sawit dari beberapa laboratorium berkisar 19% (Low *et. al.*, 2008), 3% di PPKS (Harahap *et. al.*, 2010), kalus dari hasil kloning 17% dan rekloning 18,20% di FELDA, Malaysia (Alwee *et. al.*, 2010), dan 15% di AAR, Malaysia (Soh *et. al.*, 2011). Pembentukan kalus akan berpengaruh terhadap embriogenesis kelapa sawit. Rata-rata embriogenesis masih rendah berkisar 3%-6% di FELDA, Malaysia (Low *et. al.*, 2008), dan 24% di PPKS, Indonesia (Harahap *et.al*, 2010).

Multiplikasi embrio kelapa sawit dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan media kultur yang digunakan. Media padat biasa digunakan dalam kultur jaringan tanaman secara umum. Penelitian Ernayunita dan Samosir (2013) menunjukkan media padat mampu mendukung pertumbuhan kultur terutama dalam menyerap unsur hara dan menopang pertumbuhan eksplan, kalus, maupun embrio. Namun, penggunaan media padat memiliki kelemahan yaitu biaya tinggi karena membutuhkan bahan pemadat media seperti agar-agar, phytagel, agarose, dan jenis bahan pemadat media lainnya.

Multiplikasi embrio selain pada media padat juga dapat dilakukan pada media cair. Kultur jaringan menggunakan media cair dapat dilakukan di berbagai tahapan kultur mulai dari kalus hingga *planlet*. Kultur jaringan pada media cair yang di-shaker (suspensi sel) dapat digunakan pada proses kalogenesis (Al-Khayri, 2012), maupun embriogenesis (Fki *et al.*, 2003; Zouine *et al.*, 2005). Embrio adalah modal awal dalam perbanyakan kultur jaringan kelapa sawit sehingga multiplikasi kalus dan embrio yang maksimal akan menguntungkan dalam produksi klon kelapa sawit secara komersial.

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

Ernayunita (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email : ernayunita_25@yahoo.com

Menurut Kasi dan Sumaryono (2008), kultur cair memungkinkan produksi embrio somatik dalam jumlah besar. Hasil penelitian pada kurma menunjukkan dengan menggunakan kultur cair mampu memproduksi embrio 10 kali lebih banyak dibandingkan dengan kultur padat (Iantcheva *et. al.,* 2006). Pengunaan media cair juga akan meningkatkan kontak seluruh bagian sel maupun jaringan pada media kultur. Menurut Sumaryono *et. al.,* (2008), sistem kultur cair memungkinkan kultur lebih seragam, mudah dalam penggantian medium. Kultur cair yang di-shaker juga digunakan pada proses embriogenesis somatik. Merupakan metode yang efisien dan hemat waktu (Etienne dan Berthouly, 2002). Oleh karena itu, dibutuhkan metode untuk memaksimalkan multiplikasi embrio kelapa sawit melalui media yang digunakan.

METODOLOGI

Multiplikasi Embrio

Penelitian multiplikasi embrio dilaksanakan mulai Maret 2012 hingga Mei 2013. Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS). Bahan yang digunakan adalah embrio somatik kelapa sawit, media multiplikasi embrio berupa MS modifikasi (Harahap, 2011) baik padat maupun cair, media perbanyakan pupus berupa MS modifikasi sesuai protokol kultur jaringan kelapa sawit (Harahap, 2011), alkohol 70%, air steril, pupus, dan kapas. Sedangkan alat yang digunakan adalah botol plakon, erlenmeyer ukuran 100 ml, LAF (*Laminar Air Flow*), bunsen, pinset, *scalpel,* spatula, *petri dish, shaker,* timbangan digital, oven, *aluminium foil,* kertas saring, *plastic wrap,* kamera, dan alat tulis.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan multiplikasi embrio menggunakan media cair dan media padat sesuai protokol kultur jaringan PPKS (Harahap, 2011). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 30 kali dan setiap ulangan berisi media 25 ml dengan embrio somatik kelapa sawit yang sehat dan segar ± 0,95 gram. Embrio pada media padat dikulturkan dalam media plakon, sedangkan embrio yang dikulturkan pada media cair di-shaker dengan kecepatan 80 rpm. Kultur diletakkan pada ruang kultur dengan intensitas cahaya 4.000-6.000 lux, suhu 26-27°C, dan kelembapan 70-80%. Pengamatan dilakukan terhadap perkembangan dan kondisi embrio yaitu berat embrio setelah 3 bulan kultur, nekrosis dan kesegaran embrio.

Inisiasi Pupus

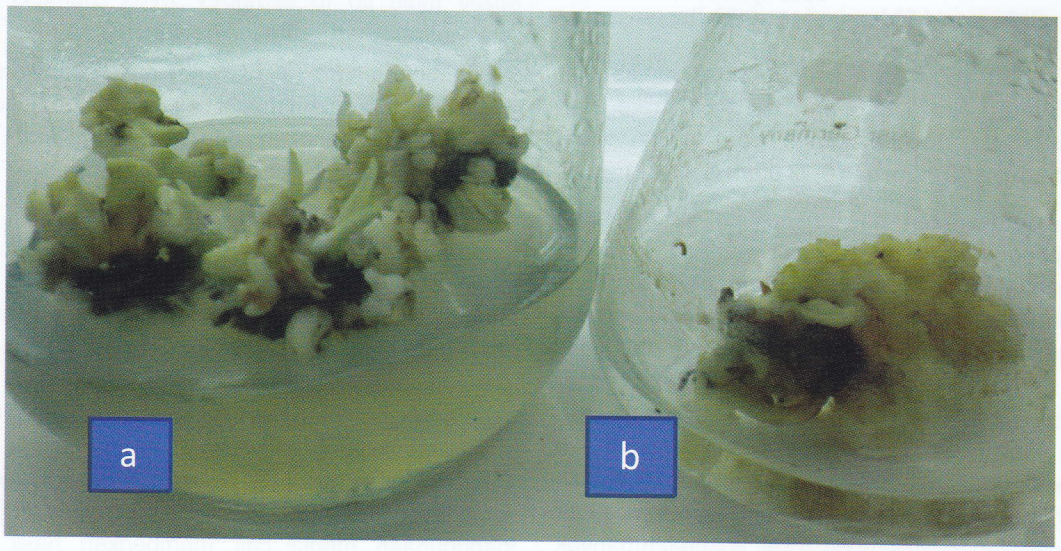
Media inisiasi dan multiplikasi pupus yang digunakan adalah media protokol kultur jaringan PPKS (Harahap, 2011). Embrio pada perlakuan kultur padat maupun cair disubkultur pada media inisiasi dan multiplikasi pupus (media padat). Kultur diletakkan pada ruang kultur dengan intensitas cahaya 4.000-6.000 lux, suhu 26±1°C, dan kelembapan 30-50%. Inisiasi dan multiplikasi pupus dilakukan selama 12 bulan. Setelah itu, pupus dipanen dan dilakukan pengamatan kesegaran pupus, jumlah pupus yang dihasilkan, serta berat segar dan berat kering pupus dengan masing-masing perlakuan terdiri dari 3 sampel. Perhitungan berat segar pupus dilakukan dengan mengeluarkan pupus dari plakon kemudian agar-agar yang menempel dibersihkan. Pupus yang sudah bersih dari agar-agar ditimbang dan dihitung jumlahnya secara terpisah untuk setiap perlakuan. Pupus yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam kantong kertas yang tertutup rapat dan diberi label sesuai perlakuan. Setelah itu, pupus dioven kemudian ditimbang untuk mengetahui berat kering total pupus. Berat Kering Total (BKT) dengan metode yang dirujuk dari Dicson *et.al.,* 1960 cit. Tahapan yang dilakukan yaitu pupus yang sudah bersih dari media tanam dimasukkan ke dalam kantong kertas tertutup kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 600°C selama 72 jam.

Analisis data dilakukan menggunakan ANOVA dan apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji T untuk

Tabel 1. Berat segar embrio (gram) dan persentase peningkatan berat segar embrio dengan media cair dan padat

Perlakuan	Berat segar embrio (gram)		Persentase peningkatan berat embrio (cair:padat)
Media Padat	0,86	b	165,11%
Media Cair	1,42	a	

Keterangan : huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji T.



Gambar 2. Hasil kultur embrio a). menggunakan media padat; b). menggunakan media cair

membandingkan rerata antara 2 perlakuan yang berbeda. Data yang dianalisis yaitu data berat segar embrio (gram), jumlah pupus, berat segar pupus (gram), dan berat kering pupus (gram).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Media Padat dan Cair terhadap Berat Segar Embrio

Berdasarkan hasil analisis data, menunjukkan bahwa perbanyakan embrio pada media cair berbeda nyata dibandingkan dengan media padat. Penggunaan media cair menghasilkan perbanyakan embrio yang lebih besar yaitu 1,42 gram dan pada media padat hanya 0,86 gram (Tabel 1). Peningkatan jumlah embrio 165,11% jika dibandingkan dengan menggunakan media padat. Multiplikasi embrio menggunakan media cair yang di-shaker mampu menghasilkan embrio yang berkualitas baik terlihat dari embrionya yang segar dan berwarna kekuningan seperti halnya pada kultur padat pada akhir pengamatan (Gambar 2a dan 2b).

Pengaruh Media Padat dan Cair terhadap Inisiasi Pupus

Jumlah pupus yang diperoleh dari kedua perlakuan yang secara statistik tidak berbeda nyata yaitu 7,13 gram pada media padat dan 10,83 gram pada media cair. Pengamatan berat segar dan berat kering pupus menunjukkan perbedaan yang nyata,

Tabel 2. Jumlah Pupus, Berat Segar Pupus, dan Berat Kering Pupus

Perlakuan	Pupus		
	Jumlah	Berat Segar (gram)	Berat Kering (gram)
Media Padat	13,47 ns	4,88 b *	0,43 b *
Media Cair	10,83	6,12 a	0,53 a

Keterangan : ns = berbeda tidak nyata berdasarkan ANOVA;
* = beda nyata berdasarkan ANOVA; huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji T.

dimana berat segar dan kering pupus media cair berturut-turut yaitu 6,12 gram dan 0,53 gram, dan berbeda nyata dengan pupus dari media padat berturut-turut 2,58 gram dan 0,23 gram (Tabel 2).

Berdasarkan hasil penelitian ini diperolah hasil penggunaan media cair terbukti mampu meningkatan berat segar embrio yang berbeda nyata dibandingkan dengan media padat dengan persentase peningkatan berat segar embrio sebesar 165,11% atau 1,65 kali (Tabel 1). Peningkatan berat segar embrio hampir 2 kali lipat menggunakan media cair, namun peningkatan ini masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Choi *et.al.,* (1999) yaitu penggunaan media cair menghasilkan jumlah embrio 5 kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan media padat. Peningkatan berat embrio disebabkan karena pembelahan sel yang terjadi di media cair lebih tinggi dibandingkan dengan media padat Gurel *et.al.,* (2002), sehingga pembentukan embrio somatik juga lebih banyak (Ibraheem *et.al.,* 2013). Oleh karena itu, kultur embrio pada media cair menghasilkan embrio dengan berat yang lebih besar.

Jumlah pupus berkaitan dengan embrio yang dihasilkan, yaitu semakin banyak embrio yang dihasilkan maka pupus yang dihasilkan juga akan semakin besar. Pupus dari media cair jumlahnya lebih banyak (Tabel 2) karena berat embrio yang dihasilkan lebih besar (Tabel 1). Selain itu, keberhasilan jumlah embrio dalam berkecambah di media cair juga mempengaruhi jumlah pupus yang dihasilkan. Mohammed *et. al.,* (2013) menyatakan bahwa embrio yang diinisiasi dalam media cair mampu berkecambah hingga 84% sedangkan pada media semi padat hanya 27%.

Kualitas pupus juga dapat dilihat dari warna pupus serta berat segar dan berat keringnya. Pupus dengan berat segar dan berat kering yang tinggi menunjukkan bahwa pupus dapat tumbuh dengan baik dan menghasilkan asimilat yang cukup untuk pertumbuhannya. Embrio yang dikulturkan pada media cair mampu berkembang lebih baik yang terlihat dari beratnya yang lebih tinggi (Tabel 1) sehingga pada tahap kultur selanjutnya, pertumbuhan pupusnya juga lebih baik (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan media cair memberikan hasil positif terhadap multiplikasi embrio dan pertumbuhan pupus kelapa sawit.

KESIMPULAN

Multiplikasi embrio somatik menggunakan kultur cair mampu meningkatkan pembentukan embrio 165,11% dibandingkan bila menggunakan kultur padat, serta mampu menghasilkan berat segar dan berat kering pupus lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Khayri, J.M. 2012. Determination of the date palm cell suspension growth curve, optimum plating efficiency, and influence of liquid medium on somatic embriogenesis. Emir. J. Food. Agric. 24(5):444-445.

Alwee, S.S.R.S, S.H. Roowi, A.K.Teng, and A.Z. Othman. 2010. Progress of oil palm tissue culture in FELDA and its challengers. http://isopb.org/docs/P4Dr%20Siti20Habsah%20FELDA.pdf. Diakses tanggal 14 November 2013.

Choi, Y.E., J.W. Kim, and E.S. Yoon. 1999. High frequency of plant production via somatic embriogenesis from callus or cell suspension cultures in Eleutherococcus senticosus. Annals of Botany 83: 309-314.

Ernayunita dan Y.M.S. Samosir. 2013. Substitusi agar murni dengan agar teknis terhadap pertumbuhan embrio somatik, tunas, dan akar kultur kelapa sawit. Jurnal Penelitian Kelapa Sawit 21(2):49-55.

Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 69:215-231.

Fki., L., Masmoudi, R., Drira, N., and Rival, A. 2003. An optimized protocol suspension cultures of date palm (Phoenix dactylifera L., cv. Deglet Nour). Plant Cell Rep. 21:517-524.

Gurel, S., E. Gurel, and Z. Kaya. 2002. Establishment of cell suspension cultures and plant regeneration in sugar beet (Beta vulgaris L.) Turkish Journal of Botany 26:197-205.

Harahap, I.Y., T.C. Hidayat, and R.D. Setiowati. 2010. Oil palm clon production in IOPRI laboratory. Proceeding on Advances in Oil Palm Tissue Culture 29 May 2010. The International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB).

Harahap, I. Y. 2011. Formulasi Media Kultur Jaringan. Medan: Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Tidak Dipublikasikan.

Iantcheva, A., M. Vlahova, A. Atanassov, A.S. Duque, S, Araujo, D. F. dos Santos, and P. Fevereiro. 2006. Cell Suspension Culture, Medicago truncatula Handbook.www.noble.org/MedicagoHandbook/pdf/CellSuspensionCultures.pdf. Diakses tanggal 17 Maret 2012.

Ibraheem, Y., I. Pinker, and M. Böhme. 2013. A comparative study between solid and liquid cultures relative to callus growth and somatic embryo formation in date palm (Phoenix dactylifera L.) cv. Zaghlool. Emir. J. Food Agric. 25(11): 883-898.

Kasi, P.D. dan Sumaryono. 2008. Perkembangan kalus embriogenik sagu (Metroxylon sagu Rottb.) pada tiga sistem kultur in vitro. Menara Perkebunan 76(1):1-10.

Low, E.T.L, H. Alias., S. H. Boon, E.M. Shariff, C.Y.A. Tan, L.C. Ooil, S.C. Cheah, A.R. Raha, K.L.Wan, and R. Singh. 2008. Oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) tissue culture ESTs: Identifying genes associated with callogenesis and embriogenesis. BMC Plant Biology 8(62):1-19.

Mohammed, N., R. Nyamota, S. Hasim, and J. N. Malinga. 2013. Zygotic embryo in vitro of Cocos nucifera L. (sv. East African Tall variety) in the coastal lowlands of Kenya. African Journal of Biotechnology 12(22):3435-3440.

Sumaryono, I. Riyadi, P.D. Kasi, and G. Ginting. 2008. Growth and differentiation of embryogenic callus and somatic embryos of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) in temporary immersion system. Indonesian Journal of Agriculture 1(2):109-114.

Soh, A.C., G. Wong, C.C. Tan, P.S. Chew, S.P.Chong, Y.W. Ho, C.K. Wong, C.N. Choo, K.N Azura, and K. Kumar. 2011. Commercial-scale propagation and planting of elite oil palm clones: research and development towards realization. Journal of Oil Palm Research 23(2011):935-952.

Zouine, J., M. El-Bellaj, A. Meddich, V. Jean-Luc, and I. El-Hadrami. 2005. Proliferation and germination of somatic embryos from embryogenic suspension cultures in Phoenix dactylifera. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 82:83-92.