

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK KELAPA SAWIT PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN 2,4-D DAN AIR KELAPA MUDA

EMBRYOGENIC CALLUS INDUCTION OF OIL PALM
IN MS MEDIUM SUPPLEMENTED WITH 2,4-D AND COCONUT WATER

Titin Setyorini* dan Elisabeth Nanik Kristalisasi

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian INSTIPER Yogyakarta

*E-mail korespondensi: titin@instiperjogja.ac.id

ABSTRACT

Embryogenic callus produced from somatic cells has a significant role in clonal propagation and oil palm breeding (assembly of superior varieties) through tissue culture techniques. Induction and development of embryogenic callus were determined by media composition, vitamins, amino acids, and growth regulators (hormones). This study aimed to determine the role of natural and synthetic hormone which supplemented in MS medium to induce embryogenic callus of oil palm. The research was conducted in laboratory of plant tissue culture, Stiper Agriculture Institute, Yogyakarta from February to May 2019. The explants were inoculated in solid MS medium with three treatments, namely MS medium (Murashige and Skoog), MS + synthetic hormone (2,4-Diclorophenoxyacetate), and MS + natural hormone (young coconut water). The results showed synthetic hormone (2,4-Diclorophenoxyacetate) which supplemented in MS medium can induce embryogenic callus of oil palm explants. However, natural hormone (coconut water) has not been able to induce embryogenic callus.

Keywords: Callus induction, oil palm, 2,4-D, coconut water

PENDAHULUAN

Perluasan perkebunan kelapa sawit yang terus meningkat ditambah kegiatan peremajaan dan rehabilitasi tanaman sebagai bagian dari program revitalisasi sektor perkebunan kelapa sawit memerlukan bibit berkualitas dalam jumlah yang sangat banyak (Anggreany *et al.*, 2016). Bibit kelapa sawit berkualitas yang dibutuhkan antara lain

yang memiliki produktivitas tinggi, tahan ganoderma, dan lebih toleran terhadap cekaman abiotik (misalnya kekeringan). Bibit kelapa sawit unggul pada umumnya diperoleh melalui perbanyakan generatif. Pada tanaman kelapa sawit, perbanyakan generatif akan menghasilkan tanaman yang beragam dan waktu yang dibutuhkan relatif lama.

Titin Setyorini & E. Nanik Kristalisasi : Induksi kalus embriogenik kelapa sawit.....

Teknologi perbanyakan vegetatif atau dikenal dengan perbanyakan klonal melalui kultur jaringan dapat digunakan sebagai teknologi alternatif untuk memenuhi kebutuhan bibit kelapa sawit berkualitas yang banyak dalam waktu singkat. Perbanyakan kelapa sawit melalui kultur jaringan dilakukan dengan regenerasi embriogenesis somatik tanaman elit kelapa sawit yang berproduksi tinggi (Mariska *et al.*, 2013). Selain untuk propagasi tanaman secara vegetatif dalam skala besar, embriogenesis somatik juga berperan penting dalam mendukung program pemuliaan tanaman (rekayasa genetik, fusi protoplas, dan mutasi) karena tanaman berasal dari satu sel somatik sehingga kepastian hasil lebih tinggi dan mengurangi resiko dihasilkannya “chimera” (Husni *et al.*, 2012; Mariska *et al.*, 2013).

Induksi embrio somatik tanaman kelapa sawit berasal dari eksplan daun muda (*umbut* atau *spear*). Embriogenesis somatik diawali dengan pembentukan kalus embriogenik dilanjutkan dengan tahap pendewasaan kalus (bentuk globuler, hati dan torpedo), kotiledon, perkecambahan, dan pembentukan planlet (benih somatik) yang kemudian akan

menjadi bibit (Kasi dan Sumaryono, 2008; Mariska *et al.*, 2013). Setiap tahapan tersebut memerlukan formulasi media yang berbeda. Induksi dan perkembangan kalus embriogenik dipengaruhi oleh komposisi media, vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh (auksin dan sitokinin) (Marbun *et al.*, 2015). Penambahan senyawa organik kompleks (air kelapa muda dan ekstrak buah atau sayuran) dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk induksi kalus embriogenik untuk menekan tingkat abnormalitas pada tanaman kelapa sawit yang berasal dari kultur jaringan.

Pada umumnya kultur jaringan menggunakan media padat untuk semua fase perkembangan dimulai dari induksi kalus sampai proses maturasi embrio (Kasi dan Sumaryono, 2008), termasuk pada tanaman kelapa sawit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi penambahan zat pengatur tumbuh alami (air kelapa muda) dan zat pengatur tumbuh auksin sintetik (2,4-D) pada media dasar MS (*Murashige dan Skoog*) dalam menginduksi kalus embriogenik eksplan kelapa sawit.

Titin Setyorini & E. Nanik Kristalisasi : Induksi kalus embriogenik kelapa sawit.....

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2019 – Mei 2019 di Laboratorium Kultur Jaringan Institut Pertanian Stiper (INSTIPER) Yogyakarta.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah bibit kelapa sawit *main nursery* varietas Simalungun. Bahan kimia yang digunakan antara lain : medium *Murashige dan Skoog* (MS), zat pengatur tumbuh/ZPT (2,4-D/2,4-Diclorofenoksiasetat 1 ppm, air kelapa muda 15%, agar, NaCl, KOH, sukrosa, arang aktif, aquades, alkohol 70%, clorox, spritus, fungisida dan sabun cuci (*tween*).

Alat yang digunakan antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), *autoclave*, kompor listrik, timbangan analitik, botol kultur, petridish, pinset, pisau scalpel, kertas saring, lampu spirtus, gelas ukur, tabung reaksi, pH indikator, spatula, kamera digital, erlenmeyer, kertas payung, botol falkon, pipet tetes, kertas label, kertas tissue dan ATK penunjang penelitian.

Parameter yang diamati dalam penelitian adalah waktu muncul kalus, jumlah eksplan yang berkalus, dan morfologi kalus yang terbentuk. Data yang diperoleh dari pengamatan

kemudian dilakukan *scoring* dan diuraikan secara deskriptif yang disertai dengan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian didahului dengan kegiatan penelitian pendahuluan, yaitu berupa penentuan cara sterilisasi yang tepat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cara sterilisasi eksplan kelapa sawit yang paling optimal adalah dengan langkah-langkah sebagai berikut : (a) Eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih (b) Eksplan direndam dalam larutan detergen dengan konsentrasi 1% selama 5 menit, (c) Eksplan direndam dalam larutan fungisida 1 gr/L selama 24 jam, (d) Eksplan dicuci dengan akuades sebanyak tiga kali, (e) Eksplan direndam dalam larutan clorox dengan konsentrasi 20% selama 5 menit, (f) Eksplan dicuci dengan akuades sebanyak tiga kali, (g) Eksplan direndam dalam larutan clorox dengan konsentrasi 10% selama 5 menit, (h) Eksplan dicuci dengan akuades sebanyak tiga kali (i) Eksplan dicelupkan dalam alkohol 70% selama beberapa detik kemudian dilewatkan pada api bunsen, (j) Eksplan dipotong-potong dengan ukuran 1 cm², (k) Eksplan siap untuk ditanam di

Titin Setyorini & E. Nanik Kristalisasi : Induksi kalus embriogenik kelapa sawit.....

dalam media kultur sesuai dengan perlakuan. Langkah (a) sampai dengan (c) dilakukan di luar LAF, sedangkan langkah (d) sampai dengan (k) dilakukan di dalam LAF.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya perlakuan penambahan ZPT

sintetik (1 ppm 2,4-D) yang menunjukkan adanya induksi kalus. Pengaruh penambahan air kelapa muda dan 2,4-D pada media MS terhadap induksi kalus eksplan kelapa sawit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh penambahan air kelapa muda dan 2,4-D pada media MS terhadap induksi kalus eksplan kelapa sawit

Perlakuan Media Kultur	Scoring
a. MS	0
b. MS + 1 ppm 2,4-D	1
c. MS + 15% air kelapa muda	0

Ket : 0 = tidak muncul kalus

1 = muncul kalus



a

b

c

Gambar 1. Induksi kalus eksplan kelapa sawit pada media MS dengan penambahan air kelapa muda dan 2,4-D

Tabel 1 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan ZPT sintetik 1 ppm 2,4-D pada media MS padat mampu menginduksi kalus eksplan kelapa sawit. Hal ini dikarenakan pemberian 2,4-D yang merupakan golongan ZPT auksin yang kuat pada media padat MS dapat menginduksi kalus embriogenik. Secara umum diketahui

bahwa auksin dalam konsentrasi tinggi mendorong embrio somatik secara efektif. Auksin dapat berperan meningkatkan kuantitas sel-sel embriogenik dengan cara memacu pembelahan sel untuk membentuk massa proembriogenik, serta mencegah inisiasi pertumbuhan yang teratur pada sel-sel tersebut (Lizawati, 2012). Hasil

Titin Setyorini & E. Nanik Kristalisasi : Induksi kalus embriogenik kelapa sawit.....

penelitian Mariska *et al.* (2013) menunjukkan hal yang serupa yaitu media MS yang diperkaya dengan 2,4-D 100 mg/L dapat menginduksi kalus embriogenik kelapa sawit.

Kalus yang terbentuk pada eksplan kelapa sawit yang diinkubasi pada media MS padat dengan penambahan ZPT 1 ppm 2,4-D muncul pertama kali pada tiga minggu setelah tanam. Kalus yang terbentuk berwarna putih yang menutupi hampir semua bagian eksplan kelapa sawit (Gambar 1b). Kalus berwarna putih yang menandakan kondisi kalus yang baik dan bertekstur remah (*friable*) yang menunjukkan kalus terbentuk dari sekumpulan sel yang mudah lepas. Kalus yang berwarna putih dan bertekstur remah (*friable*) menandakan kalus bersifat embriogenik. Menurut Yelnititis dan Komar (2010), penggunaan 2,4-D dengan beberapa konsentrasi berbeda dapat menginduksi pembentukan kalus yang berwarna putih dan mempunyai tekstur remah (*friable*). Jumlah eksplan yang berkalus pada media MS padat dengan penambahan ZPT 2,4-D adalah sebesar 15%.

Akan tetapi, penambahan ZPT alami 15% air kelapa muda belum mampu menginduksi kalus eksplan

kelapa sawit. Hal ini diduga karena kandungan ZPT alami yang terdapat pada air kelapa muda masih terlalu sedikit sehingga belum mampu menginduksi kalus. Hal ini bertolak belakang dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Asrofi (2016) yang menyatakan bahwa penambahan 5% air kelapa muda sudah dapat menginduksi kalus eksplan dandang gendis serta Latifah *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa penambahan 20% ekstrak air kelapa muda yang dikombinasikan dengan 5% filtrat wortel dapat mempengaruhi pertumbuhan eksplan anggrek. Perbedaan hasil penelitian tersebut dikarenakan eksplan tanaman yang digunakan berbeda. Penambahan air kelapa muda pada media MS belum mampu menginduksi kalus dari eksplan tanaman kelapa sawit yang merupakan tanaman tahunan. Thorpe (1981) menyatakan bahwa pemilihan macam eksplan dan ukuran yang tepat akan mempengaruhi terjadinya morfogenesis. Setiap jenis dan jaringan tanaman juga mempunyai respon yang berbeda-beda terhadap pemberian zat pengatur tumbuh. Inisiasi kalus embriogenik sangat tergantung pada genotipe dan komposisi media yang digunakan (Lizawati, 2012).

Titin Setyorini & E. Nanik Kristalisasi : Induksi kalus embriogenik kelapa sawit.....

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan bahan organik (ZPT alami) yang berupa air kelapa muda dengan konsentrasi 15% pada media dasar MS belum mampu menginduksi kalus embriogenik eksplan kelapa sawit. ZPT sintetis 2,4-D mampu menginduksi kalus embriogenik eksplan kelapa sawit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggreany, S., P. Muljono., D. Sadono. 2016. Partisipasi Petani dalam Replanting Kelapa Sawit di Provinsi Jambi. *Jurnal Penyuluh Vol.12 No.1*. Hal 1-14.
- Asrofi, M. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah dan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan *In Vitro* Kalus Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* Lindau). *Skripsi UIN Sunan Kalijaga*. Yogyakarta. (tidak dipublikasi).
- Husni, A., M. Kosmiatin., dan A. Purwito. 2012. Embriogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Kelapa Sawit. Prosiding Seminar Nasional dan Kongres MAKSI 2012. Hal : 412-418.
- Kasi, P.D dan Sumaryono. 2008. Perkembangan Kalus Embriogenik Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) pada Tiga Macam Sistem Kultur *In Vitro*. *Menara Perkebunan* 76 (1) : 1-10.
- Latifah, R., T. Suhermiatin., N. Ermawati. 2017. Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Cattleya* Melalui Kombinasi Kekuatan Media Murashige-Skoog dan Bahan Organik. *Jurnal Agriprima Vol.1 No.1* : 59-68.
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Jurnal Bioplantae Vol.1 No.2*. Hal : 75-87.
- Marbun, C. L. M., N. Toruan-Mathius, Reffina, C. Utomo, dan T. Liwang. 2015. Micropropagation of Embryogenic Callus of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Using Temporary Immersion System. *Procedia Chemistry* 14 (2015) : 122-129.
- Mariska, I., S. Hutami., D. Sukmadjaja., M. Kosmiatin., S. Rahayu., S. Utami. 2013. Inovasi Kultur Jaringan Kelapa Sawit. *Agroinovasi No.3491 Tahun XLIII*. Hal 2-16.
- Thorpe, T.A. 1981. *Plant Tissue Culture Methods and Applications in Agriculture*. Academic Press, Inc. USA.
- Yelnititis dan T.E. Komar. 2010. Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin. *Technical Report ITTO Cites Project*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam, Kementerian Kehutanan. Bogor.