

EMBRIOGENESIS SOMATIK LANGSUNG PADA TANAMAN KELAPA SAWIT

[Direct Somatic Embryogenesis In Palm Oil]

Ali Husni¹, M. Kosmiatin¹, dan A. Purwito²

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Pertanian. Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Kampus Pertanian Cimanggu-Bogor 16111. E-mail:
ali_houzni@yahoo.com

ABSTRAK

Ketersediaan bibit unggul yang baik dengan harga yang terjangkau merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Pengadaan bibit unggul yang baik dapat dilakukan dengan cara klonal varietas atau kultivar unggul. Klonal pada tanaman kelapa sawit hanya bisa dilakukan melalui bioteknologi kultur jaringan, khususnya melalui embriogenesis somatik (SE). Dengan teknik tersebut dapat dihasilkan klonal bibit unggul yang banyak dan seragam sehingga dapat meningkatkan produktivitas CPO dimasa mendatang. Pada penelitian ini dicoba penggunaan auksin konsentration rendah dalam media untuk menginduksi terjadinya embriogenesis somatik langsung dari embrio somatik primer. Media kultur yang digunakan untuk induksi embriogenesis somatik langsung membentuk embrio somatik sekunder adalah AH1, AH2, dan AH3. Untuk pendewasaan embrio somatik menggunakan media MH1 dan MH2. Sedangkan media perkecambahan untuk menghasilkan pupus adalah GH1 dan GH2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media AH3 merupakan media yang terbaik untuk induksi embrio somatik primer dengan jumlah rata-rata embrio sebanyak 8.8 fase globular dan 2.4 fase torpedo. Media pendewasaan embrio somatik yang terbaik adalah MH2 (93.75%) dan perkecambahan membentuk pupus adalah GH2 68.75%).

Kata Kunci: kelapa sawit, bibit, dan embriogenesis somatik .

ABSTRACT

*The availability of superior seeds good with reasonable price is one way that can be done to improve the productivity of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Superior seed procurement a good can be done by way of superior clonal varieties or cultivars. Clonal on palm oil could only be done through tissue culture biotechnology, in particular through somatic embryogenesis (SE). With this technique can be generated a lot of superior clonal seedlings and uniforms so as to increase the productivity of the CPO period ahead. In this study tested the use of concentrated awareness low in Auxin media to induce the somatic embryogenesis of somatic embryos directly primer. The culture media used for direct somatic embryogenesis induced to form embryos secondary somatic is AH1 AH2 AH3,, and. Somatic embryos medium used for maturations is MH1 and MH2. While the germination medium to generate the GH1 and GH2 is all but extinct. The results showed that the media is media that best AH3 to primary somatic embryo induction with the average number of embryos as much as 5.5 globular and phase 2.4 torpedo phase. Somatic embryo pendewasaan Media is best MH2 (93.75%) and formed the germination is all but extinct GH2 68.75%).*

Keyword: Palm oil, seed, and somatic embryogenesis.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu tanaman monokotil yang dapat menghasilkan CPO (*crude palm oil*). Komoditas ini sudah menjadi komoditi pertanian global yang banyak digunakan dalam sejumlah besar produk pangan dan non pangan, berpotensi sebagai bahan bakar nabati yang menjanjikan (Teoh, 2010). Menurut World Growth, (2011), kebutuhan minyak sawit dunia pada tahun 2020 akan mencapai 60 juta ton. Kebutuhan tersebut akan terus meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dunia yang terus-menerus.

Vibiz Regional Reaserch Center (2011) menyebutkan bahwa Indonesia masih memiliki 24.5 juta hektar lahan yang dapat digunakan untuk pertanaman kelapa sawit sehingga masih dapat meningkatkan produksi CPO melalui ekstensifikasi. Perluasan areal kelapa sawit saat ini dihadapkan dengan berbagai macam isu lingkungan seperti isu pembalakan liar, menurunnya biodiversitas hutan dan emisi karbon. Menurut Gapki, Indonesia sebenarnya memiliki potensi untuk memproduksi CPO lebih banyak dengan luas lahan yang ada saat ini karena kebun yang dikelola dengan sangat baik mampu menghasilkan 7,5 ton CPO per hektar per tahun. Sementara ini rata-rata produktivitas CPO Indonesia hanya sebanyak 3,3-4,5 ton per hektar per tahun. Sedangkan Malaysia mampu menghasilkan 5-6 ton CPO per hektar per tahun sehingga dapat menghasilkan 17,5 juta ton CPO per tahun dari lahan seluas 4 hektar saja. Rendahnya rata-rata produktivitas kebun kelapa sawit di Indonesia disebabkan oleh rendahnya produktivitas CPO kebun petani (rata-rata 1.2 ton CPO per hektar pertahun) jauh dari rata-rata produksi CPO Malaysia yang berkisar antara 5 ton - 6 ton per hektar per tahun. Padahal kebun kelapa sawit yang menggunakan bibit unggul dan dikelola dengan sangat baik mampu menghasilkan 7.5 ton CPO per hektar per tahun (Hamzirwan, 2011).

Ketersediaan bibit unggul yang baik dengan harga yang terjangkau merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas CPO kebun petani. Ketersediaan bibit unggul yang baik dapat dilakukan dengan cara klonal varietas atau kultivar unggul. Klonal pada tanaman kelapa sawit hanya bisa dilakukan melalui bioteknologi kultur jaringan, khususnya melalui embriogenesis somatik (SE). Dengan teknik tersebut dapat dihasilkan klonal bibit unggul yang banyak dan seragam sehingga dapat meningkatkan produktivitas CPO dimasa mendatang. Hal ini sejalan dengan strategi yang diambil pemerintah untuk pencapaian target peningkatan nilai tambah, daya saing dan ekspor, peningkatan kesejahteraan petani melalui revitalisasi perbenihan dan pembibitan serta revitalisasi teknologi pembiayaan petani. Hal ini akan lebih mudah tercapai melalui penerapan inovasi teknologi pertanian yang didukung oleh kegiatan riset yang handal (Suswono, 2011).

Program pengadaan benih melalui kultur jaringan sebenarnya telah mulai dirintis sejak empat dasawarsa yang lalu oleh ORSTORM-IRHO/CIRAD Perancis (Rabechault *et al.*, 1972) dan Unilever Inggris (Smith dan Thomas, 1973). Sejak itu teknologi perbanyakan kelapa sawit banyak dilakukan dengan regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik. Selain untuk produksi benih somatik, embriogenesis somatik juga sangat baik dilakukan untuk mendukung program pemuliaan tanaman seperti rekayasa genetik, fusi protoplas, dan mutasi karena tanaman dapat berasal dari satu sel somatik, sehingga kepastian hasil lebih tinggi dan mengurangi resiko dihasilkannya "khimera" (Husni, 2010).

Induksi embrio somatik tanaman kelapa sawit secara *in vitro* saat ini pada umumnya menggunakan auksin (2,4-D dan NAA) dengan konsentrasi tinggi (antara 40-100 mg/l) sehingga bibit yang dihasilkan dari bioteknologi kultur jaringan dilaporkan banyak menghasilkan tanaman yang abnormal yang diduga disebabkan oleh penggunaan auksin yang tinggi selama proses kultur jaringan. Penyimpangan yang terjadi dapat berupa adanya buah bersayap (*mantled*) yang dapat terjadi sekitar 5 -10% pada populasi bibit asal kultur jaringan (Corley *et al.*, 1986). Bahkan menurut Subronto *et al.*, (1995) dapat menurunkan produksi sampai 40%. Untuk tingkat abnormalitas yang rendah pemulihan menjadi fenotipe yang normal kembali dapat mencapai 100%, dan 50% untuk tingkat abnormalitas yang berat dengan waktu pemulihan

9 tahun (Rival *et al.*, 1998). Perubahan sifat genetik atau epigenetik dapat disebabkan oleh frekuensi subkultur dan umur kalus (Paranjothy *et al.*, 1993; Euwens *et al.*, 2002), jenis eksplan dan kecepatan proliferasi kalus (Skirvin *et al.*, 1984; Karbs., 1995) zat pengatur tumbuh (Euwens *et al.*, 2002).

Untuk menurunkan tingkat abnormalitas hasil kultur jaringan perlu dilakukan perbaikan metodologi dengan cara menggunakan auksin yang lebih rendah (1-5 mg/l) yang dikombinasikan dengan beberapa asam amino sehingga dapat menghasilkan embrio somatik langsung tanpa melalui fase kalus. Penggunaan konsentrasi auksin rendah untuk induksi embrio somatik sekunder secara langsung dari eksplan embrio somatik primer dalam waktu yang cepat

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan Balitbang Biogen dari bulan Agustus - Desember 2011-. Penelitian terdiri dari tiga tahap dilakukan secara bertahap dan berurutan. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah embrio somatik primer yang diperoleh dari hasil induksi embrio somatik dari eksplan embrio zigotik kelapa sawit varietas Tenera.

Induksi embrio somatik primer secara langsung dari embrio somatik primer

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini sebagai eksplan adalah embrio somatik primer. Media dasar yang digunakan adalah MS dengan vitamin MW dengan penambahan kombinasi 0.5 mg/l NAA dan pikloram 1 (AH1), penambahan pikloram 3 mg/l (AH2), dan penambahan pikloram 5 mg/l (AH3). Setiap botol terdiri dari 5 eksplan yang diulang sebanyak 10 kali.

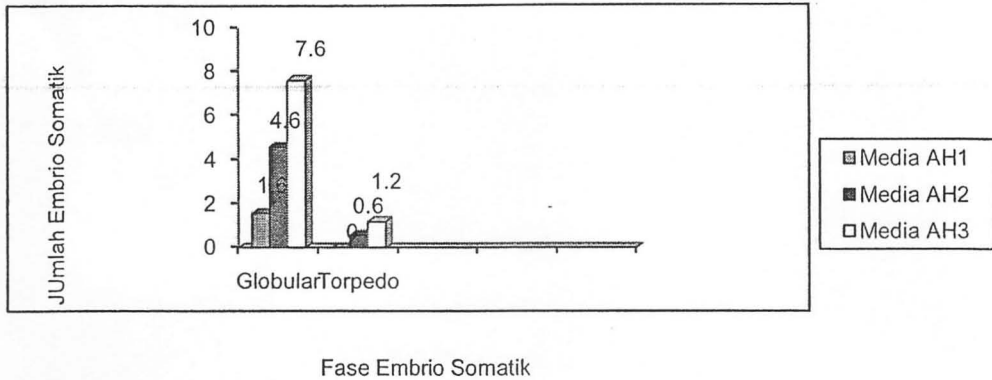
Pengamatan dilakukan terhadap respon eksplan pada setiap media perlakuan dan jumlah dan persentase keberhasilan pembentukan embrio somatik sekunder dari setiap eksplan.

Pendewasaan dan perkecambahan

Untuk mendewasakan dan perkecambahan embrio somatik yang terbentuk dilakukan dengan metode Husni dan Kosmiatin, (2011). Media kultur pendewasaan yang digunakan adalah media MS + vitamin MW dengan penambahan ABA 1.5 mg/l (MH1) dan ABA 2.0 mg/l (MH2). Sedangkan media perkecambahan yang digunakan untuk membentuk pupus menggunakan GA₃ 1.5 mg/l (GH1) dan 2.0 mg/l (GH2).

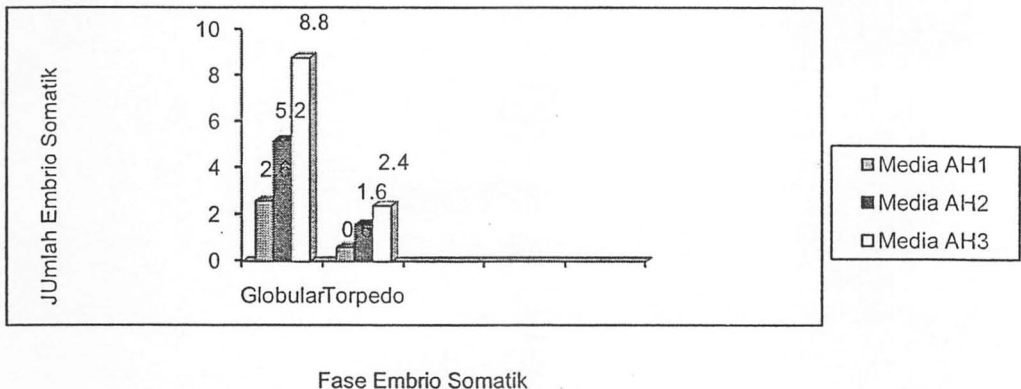
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua media perlakuan untuk induksi embrio somatik sekunder dapat terbentuk secara langsung dari embrio somatik primer yang dikulturkan, baik itu pada media AH1, AH2 maupun AH3 (Gambar 1). Dari gambar tersebut dapat dilihat pada media tersebut diperoleh dua fase pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik, yaitu fase globular dan torpedo. Media induksi embrio somatik sekunder paling baik adalah media tumbuh AH3 yang mengandung kombinasi 5 mg/l pikloram dengan 0.5 mg/l NAA. Rata-rata jumlah fase globular yang diperoleh 4 minggu setelah kultur adalah sebanyak 7.6 dan fase torpedo sebanyak 1.2 embrio somati. Pembentukan embrio somatik dimulai terbentuknya fase globular pada minggu ke 2 setelah kultur pada bagian pinggir embrio somatik primer dipermukaan media dan fase torpedo mulai terbentuk pada pengamatan minggu ke 4 setelah kultur (Gambar 3).



Gambar 1. Rata-rata jumlah embrio somatik yang terbentuk pada media AH1, AH2, dan AH3 umur 4 minggu setelah kultur.

Steinmacher *et al* (2011) melaporkan bahwa penggunaan 10 μ M pikloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) dapat menginduksi embrio somatik dari eksplan embrio zigotik tanaman peach palm. Pembentukan fase globular mulai terbentuk setelah 4-6 minggu dikulturkan dengan keberhasilan pembentukan kalus sebesar 40%. Embrio somatik sekunder juga dapat terbentuk pada media kultur yang digunakan berdasarkan pengamatan histologi dan mikroskopis. Hal yang sama juga dilaporkan Husni dan Kosmiatin, (2011) pada induksi embrio somatik primer dari embrio zigotik tanaman kelapa sawit varietas Tenera. Rata-rata jumlah embrio somatik yang terbentuk pada minggu ke 6, embrio somatik yang terbentuk semakin banyak seiring dengan lamanya waktu kultur (Gambar 2). Rata-rata jumlah embrio somatik yang terbentuk setelah 6 minggu umur kultur adalah sebanyak 8.8 fase globular dan 2.4 fase torpedo.



Gambar 2. Rata-rata jumlah embrio somatik yang terbentuk pada media AH1, AH2, dan AH3 umur 6 minggu setelah kultur.

Pendewasaan dan perkecambahan embrio somatik

Untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik yang diperoleh sehingga menjadi tanaman biasanya disubkultur pada media yang mengandung ABA (abscisic acid) untuk mendewasakan embrio dan penambahan GA_3 (giberelic acid) untuk

pengecambahan. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh bahwa media perlakuan MH1 dan MH2 dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik menjadi embrio dewasa (Tabel 1). Hal ini disebabkan adanya penambahan ABA pada media kultur yang digunakan. Finkelstein (2004) telah membuktikan bahwa adanya akumulasi ABA dalam proses fisiologi pendewasaan embrio somatik. tidaknya ABA pada proses pendewasaan dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik menjadi dewasa menjadi fase torpedo. Aplikasi ABA pada studi ekspresi gen dengan

Tabel 1. Rata-rata jumlah embrio somatik dewasa pada media perlakuan MH1 dan MH2, 4 minggu setelah kultur.

Media kultur	Rata-rata jumlah embrio somatik	Rata-rata jumlah embrio somatik	Efisiensi
	Dewasa	Berkecambah	Pendewasaan (%)
MH1	2.25	0	56.25
MH2	3.75	0	93.75

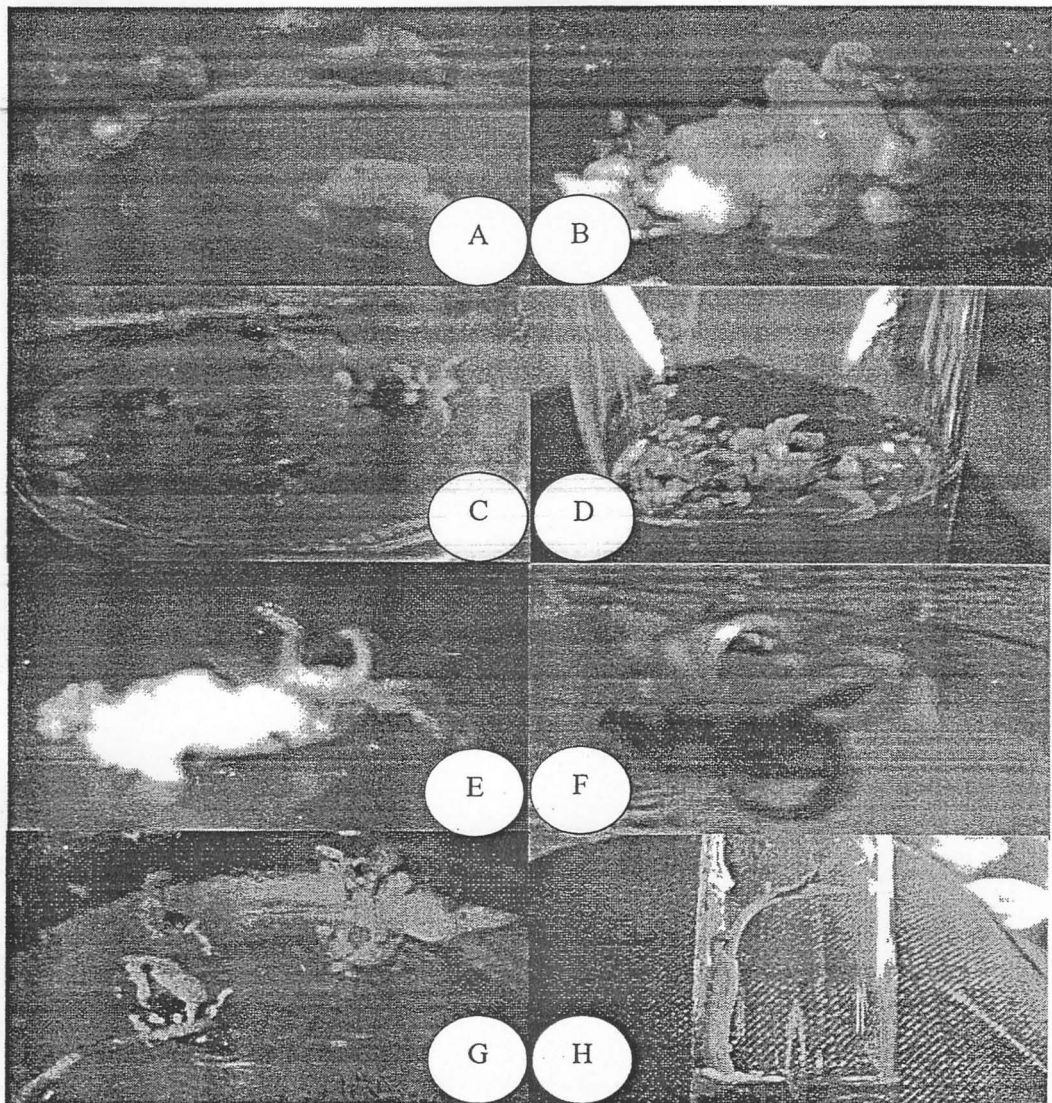
perlakuan ada tidaknya penambahan ABA memperlihatkan bahwa lebih dari 150 gen terinduksi akibat adanya penambahan ABA (Giraudat et al 1994). Rata-rata embrio somatik dewasa paling banyak dihasilkan dari media MH2, yaitu sebanyak 3.75 embrio dengan efisiensi pendewasaan sebesar 93.75 %. Media GH1 dan GH2 juga dapat mendorong perkecambahan embrio somatik sehingga menghasilkan pupus. Rata-rata jumlah embrio somatik yang berkecambah membentuk pupus paling banyak bersal dari media GH2 (Tabel 2). Hal ini dikarenakan konsentrasi GA_3 yang ditambahkan lebih banyak dari pada GA_3 pada media GH1, yaitu 2.5 dan 2 mg/l. Faktor kemasakan embrio sangat berpengaruh dalam kemampuan perkecambahan embrio (Kagan-Zur et al., 1996). Penambahan GA_3 dalam media kultur dapat merangsang perkecambahan embrio yang telah dewasa dengan cara mengaktifkan enzim hidrolitik terutama α -amilase sehingga terjadi perkecambahan (Wodger et al., 2004). Tahapan pembentukan embrio somatik sekunder, pendewasaan dan perkecambahan dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 2. Rata-rata jumlah embrio somatik berkecambah membentuk pupus pada media perlakuan GH1 dan GH2, 4 minggu setelah kultur.

Media kultur	Rata-rata jumlah embrio somatik	Efisiensi
	Berkecambah	Pendewasaan (%)
GH1	2.25	56.25
GH2	2.75	68.75

Kesimpulan

- 1) Embrio somatik primer dapat digunakan sebagai eksplan untuk menghasilkan embrio somatik sekunder.
- 2) Media AH3 dapat menginduksi terbentuknya embrio somatik sekunder langsung dari embrio somatik primer dengan rata-rata jumlah embrio sebanyak 8.8 fase globular dan 2.4 fase torpedo umur 6 minggu setelah kultur.
- 3) Media MH2 dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik menjadi embrio dewasa dengan efisiensi pendewasaan sebesar 93.75%.
- 4) Media GH2 dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik dewasa berkecambah membentuk pupus dengan efisiensi perkecambahan sebesar 68.75%.



Gambar 3. Pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik sekunder. A dan B= Pembentukan embrio somatik sekunder pada media AH. C dan D= Embrio somatik dewasa pada media MH. E, F, G= Embrio somatik membentuk pupus dan akar pada media GH

DAFTAR PUSTAKA

- Euwens, C.J., S. Lord, C.R. Donough, V. Rao, G. Vallejo and S. Nelson. 2002. Effects of tissue culture conditions during embrioid multiplication on the incidence of "mantled" flowering in clonally propagated oil palm. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 70:311-323.
- Giraudat JF, Farcy N, Betauche F, Gosti J, Leung PC, Morris M, Bouvier D, Vartanian N. 1994. Current advances in abscisic acids action and signaling. *Plant Molecular Biology*. 26:1557-1577.
- Suswono, 2011. Sambutan menteri Pertanian Republik Indonesiapada Expo Nasional Inovasi Perkebunan 2011.
- Husni, A. 2010. Fusi Protoplas Interspesies Antara Jeruk Siam Simadu dengan Mandarin Satsuma. Disertasi Sekolah Pascasarjana, IPB.
- Hamzirwan, 2011. Kelapa Sawit "Merawat Emas Hijau". *Harian Kompas*
- Kagan_Zur V, Milss D, Mizrahi Y, 1990. Callus formation from tomato endosperm. *Acta Hortic.* 280:139-142.
- Paranjothy, K., R. Othman, C.C. Tan, G. Wg and A.C. Soh. 1993. Incidence of abnormalities in relation to in vitro protocols. In V. Rao *et al.* (Eds.) *Recent Dev. Oil Palm Tiss. Cult. And Biotech.* Kuala Lumpur. P. 77-85.
- Rabechault, H., J.P. Martin and S. Cas. 1972. Recherches sur la culture des tissus de palmier a huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Oleagineux*. 117:73-76.
- Smith, W.K., and J.A. Thomas. 1973. The isolation and *in vitro* cultivation of cells of *Elaeis guineensis*. *Oleagineux* 28(3):123-127.
- Steinmacher DA, MP.Guerra, K Saare-Surminski, R Lieberei. 2011. A temporary immersion system improves in vitro regeneration of peach palm through secondari somatic embryogenesis. *Annals of Botany*. 1-13.
- Subronto, G. Ginting, A.R. Purba and A.U. Lubis. 1995. Keragaan awal klon kelapa sawit yang dihasilkan PPKS. *Pros. Forum Kom. Kelapa Sawit IV*. P. 11-24.
- Sumaryono, I. Riyadi, P.D. Kasi dan G. Ginting. 2007. Pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik dan embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada sistem perendaman sesaat. *Menara Perkebunan* 75 (1):32-42.
- Teoh. 2010. Persoalan Keberlanjutan kunci dalam sektor minyak kelapa sawit. [http://www.ifc.org/ifcex/agriconsultation.nsf/Attachments By Title/Discussion+paper_Bahasa/\\$FILE/Discussion+Paper_Bahasa.pdf](http://www.ifc.org/ifcex/agriconsultation.nsf/Attachments%20Title/Discussion+paper_Bahasa/$FILE/Discussion+Paper_Bahasa.pdf). [20 September 2011]
- Vibiz Regional Research Centre. 2011. Perkembangan Industri minyak Kelapa Sawit (*Crude Palm Oil*) di Indonesia. <http://beritadaerah.com/admin/images/riset/102/PERKEMBANGAN%20Industri%20MINYAK%20KELAPA%20SAWIT.pdf>. [20 September 2011]
- Woodger F, Jacobsen JV, Gubler F. 2004. Gibberelin action in germinated cereal grains In Davies, PJ. (Eds) *Plant Hormones*. Kluwer Academics Publisher.
- World Growth. 2011. Manfaat minyak sawit bagi perekonomian Indonesia. [http://www.worldgrowth.org/assets/files/WG_Indonesia Palm Oil Benefits Bahasa Report-2_11pdf](http://www.worldgrowth.org/assets/files/WG_Indonesia_Palm_Oil_Benefits_Bahasa_Report-2_11pdf). [20 September 2011].