

PEMBENTUKAN EMBRIO SOMATIK SEKUNDER PADA TANAMAN KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Arif Rahman^{1,*}, Ali Husni² dan Agus Purwito¹

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

²Staff Peneliti Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, BB-Biogen

*Corresponding author: armanjtr@gmail.com

Abstract

Average productivity of Indonesian crude palm oil (CPO) approximately 3 tonnes/ha/year, while theoretically to the production can reach to 18.2 tonnes/ha/year. An attempt to achieve maximum production is the availability of superior planting materials, which can be obtained through micropropagation of superior palm oil progenies using tissue culture technique. The aim of this study is to find an effective method and medium for the formation of secondary somatic embryos (SE) of palm oil. Primary somatic embryos used for planting material are cultured on MS basal medium supplemented vitamin MW and casein hydrolysate (MSVMW) with amino acids and vitamin treatments. Embryogenic calli and secondary SE was induced directly from the explant 4-8 week after culture on treatment medium. Somatic embryo were formed from globular, heart, torpedo and cotyledonary stages. The best medium for formation of secondary SE is MSVMW medium supplemented biotin and glutamine 0.07 mg/l. The medium that produced the highest percentage of callus formation is MSVMW supplemented arginine and glutamine 0.07 mg/l.

Key Words: *Elaeis guineensis* jacq., secondary somatic embryo, basal medium and amino acid.

PENDAHULUAN

Nilai rata-rata produktivitas minyak sawit nasional sekitar 3 ton/ha/tahun, jauh dari potensi produksi per tanaman kelapa sawit itu sendiri (Saragih, 2012). Kebutuhan dan permintaan minyak nabati dunia saat ini terus meningkat, sedangkan pilihan untuk melakukan perluasan kebun sangat terbatas dengan adanya isu lingkungan seperti perusakan hutan dan emisi karbon. Alternatifnya adalah dengan peningkatan produktivitas tanaman untuk mencapai produksi maksimum. Produksi per satuan luas dipengaruhi oleh potensi produksi bahan tanam yang digunakan, selain juga dipengaruhi oleh lingkungan dan manajemen.

Hasil penelitian menunjukkan plot percobaan mampu menghasilkan CPO 8.6 ton/ha/tahun, progeni pilihan menghasilkan 12.2 ton/ha/tahun, individu tanaman 13.6 ton/ha/tahun dan secara teori kelapa sawit dapat memproduksi minyak hingga 18.2 ton/ha/tahun (Kushairi *et al.*, 2010). Dalam rangka percepatan dan pencapaian produksi maksimal maka dibutuhkan bahan tanam yang unggul. Hal tersebut dapat dicapai dengan cara memperbanyak individu kelapa sawit unggul secara vegetatif melalui kultur jaringan.

Perbanyak bahan tanam kelapa sawit di Indonesia sebagian besar masih dilakukan secara generatif. Bahan tanam untuk pembibitan menggunakan kecambah benih hibrida hasil persilangan antara tetua Dura dan Pisifera (DxP) disebut juga Tenera. Produksi benih pada tahun 2009 mencapai 250 juta kecambah, sedangkan produksi klon kelapa sawit hanya sebesar 0.5 juta klon/tahun (Kushairi *et al.*, 2010).

Teknik kultur jaringan merupakan alternatif memperbanyak tanaman secara vegetatif yang mampu menyediakan bahan perbanyak secara cepat (El-Shiaty *et al.*, 2004). Salah satunya dengan memperbanyak embrio somatik sekunder. Beberapa penelitian berhasil mendapatkan embrio somatik sekunder langsung dari embrio somatik primer yang berasal dari eksplan embrio zigotik tua (Chehmalee and Te-chato, 2008) maupun eksplan daun (Te-chato and Hilae, 2007). Teknik ini dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman ortet unggul maupun tanaman unggul hasil hibridisasi. Menurut Low *et al.* (2008) penggunaan benih dari kultur jaringan diperkirakan dapat meningkatkan produksi hingga 30% dibandingkan tanaman dari benih hasil persilangan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode dan mendapatkan media yang tepat untuk pembentukan embrio somatik sekunder pada tanaman kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Februari-April 2012, di Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor. Bahan tanam yang digunakan adalah embrio somatik primer kelapa sawit yang diinduksi dari embrio zigotik. Bahan lain yang digunakan yaitu larutan stok media komposisi media dasar MS dan vitamin MW, asam amino arginin, asparagin, glutamin, kasein hidrolisat dan vitamin biotin, agar-agar, sukrosa, alkohol, spirtus dan aquades steril.

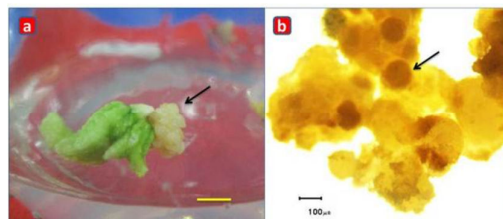
Penelitian ini merupakan percobaan satu faktor yaitu perlakuan jenis asam amino dan vitamin, dengan rancangan lingkungan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Media dasar yang digunakan adalah media MS + vitamin MW + casein hidrolisat 250 mg/l + sukrosa 30 g/l (MSVMW). Pengukuran pH media sebesar 5.7 dengan penambahan NaOH atau HCl 0.1 N sebelum ditambahkan gelrite 7 g/l. Media di autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit. Percobaan merupakan perlakuan faktor tunggal penambahan arginin, asparagin, glutamin dan vitamin biotin 0.07 mg/l (Arg7, Asp7, Glut7 dan Biot7) pada media dasar MSVMW, sebanyak lima ulangan. Total satuan percobaan sebanyak 20 satuan percobaan, setiap satuan percobaan terdiri dari satu botol kultur yang berisi satu buah embrio somatik primer. Kultur diinkubasi dalam ruang berlampu flourescent selama 18 jam periode pencahayaan, dengan suhu rata-rata ruangan sebesar 26±2 °C. Pengamatan dilakukan setelah 4 dan 8 minggu setelah kultur (MSK). Data diolah secara sederhana dengan penghitungan rataan dan persentase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kalus dan Embrio Somatik (ES) sekunder dapat diperoleh dari semua media perlakuan pada umur kultur 4 MSK. Tabel 1 menunjukkan persentase ES primer yang membentuk kalus. Kalus tertinggi terbentuk pada media MSVMW + arginin 0.07 mg/l sebesar 80%, diikuti media MSVMW + glutamin 0.07 mg/l sebesar 60%. Persentase ES primer membentuk kalus pada media MSVMW + biotin 0,07 mg/l dan MSVMW + asparagin 0,07 mg/l lebih rendah yaitu masing-masing 40% dan 20%. Kalus yang terbentuk berwarna putih kecoklatan dengan struktur nodular, hasil ini senada dengan kalus embriogenik hasil penelitian Sumaryono *et al.* (2007). Berdasarkan pengamatan kalus secara mikroskopis, kalus yang diperoleh mengandung jaringan pre embrio (PEM) (Gambar 1).

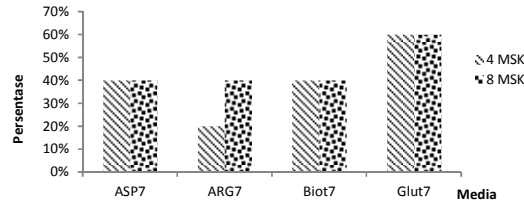
Tabel 1. Persentase eksplan berkalus pada media perlakuan umur 4 MSK

Media Perlakuan	Persentase (%)
Arg7	80
Asp7	20
Biot7	40
Glut7	60



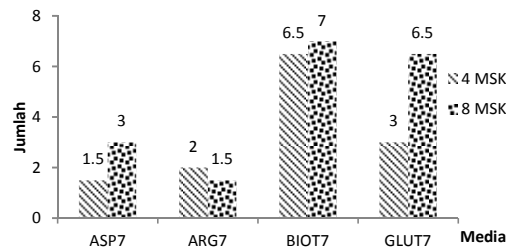
Gambar 1. a) Pembentukan kalus embriogenik; dan b) tanda panah menunjukkan PEM pada kalus embriogenik. Skala bar 5 mm (a) dan 0.1 mm (b).

Embrio somatik sekunder berhasil diinduksi dari semua media perlakuan. Persentase eksplan (ES primer) membentuk ES sekunder tertinggi pada media MSVMW + glutamin 0.07 mg/l sebesar 60% (Gambar 2), sedangkan jumlah rata-rata ES sekunder yang terbentuk per ES primer terbanyak pada media MSVMW + biotin 0.07 mg/l sebanyak 7 ES sekunder/ES primer. Embrio somatik sekunder mulai terbentuk pada 4 MSK, sedangkan hasil penelitian yang dilaporkan Te-chato and Hilae (2007), ES sekunder yang diinduksi dari houstorium ES primer kelapa sawit var. Tenera terbentuk 3 bulan setelah kultur.



Gambar 2. Persentase eksplan ES primer membentuk ES sekunder

Embrio somatik sekunder terbentuk pada bagian disekitar eksplan ES primer dewasa (houstorium), hal tersebut senada dengan hasil penelitian Te-chato and Hilae (2007). Rata-rata jumlah ES sekunder yang terbentuk paling banyak dihasilkan pada media MSVMW + biotin 0,07 mg/l pada umur 4 dan 8 MSK sebanyak 6.5 dan 7 ES sekunder/ES primer, diikuti media MSVMW + glutamin 0.07 mg/l sebanyak 3 dan 6.5 ES sekunder/ES primer. Hasil ini berbeda dengan yang dilaporkan El-Shiaty *et al.* (2004), pada pembentukan embrio somatik tanaman kurma (*Phoenix dactylifera* L.).

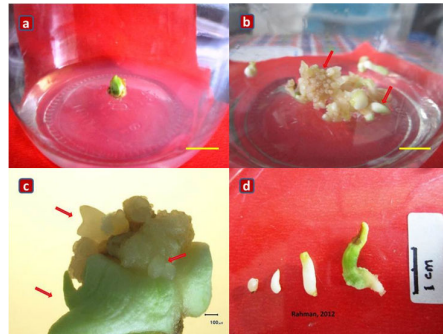


Gambar 3. Rata-rata jumlah ES yang terbentuk per ES primer pada media perlakuan

El-Shiaty *et al.* (2004) melaporkan penambahan glutamin 50 dan 100 mg/l menghasilkan ES tertinggi pada tanaman kurma (*Phoenix dactylifera* L.) diikuti penambahan biotin 5 dan 10 mg/l. Pereira *et al.* (2010) juga menggunakan media dengan penambahan glutamin sebanyak 500 mg/l untuk pendewasaan kalus embriogenik pada tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Hasil tersebut menunjukkan bahwa asam amino dan vitamin berperan penting dalam pembentukan kalus embriogenik menjadi embrio somatik. Vitamin biotin berperan dalam metabolisme asam lemak yang digunakan untuk pembentukan membran sel selama perkembangan sel embrio (Wurtele and Nikolau, 1992). Hasil penelitian Wurtele and Nikolau (1992) melaporkan bahwa aktivitas enzim biotin Acetyl-CoA carboxylase meningkat selama pembentukan embrio somatik pada tanaman wortel, sedangkan akumulasi kandungan biotin yang mengandung polipeptida bervariasi pada setiap tahap perkembangan embrio. Hal tersebut menunjukkan ketersediaan asam amino dan biotin dibutuhkan dalam proses perkembangan embrio.

Embrio Somatik sekunder yang terbentuk ditunjukkan oleh adanya embrio fase perkembangan awal (globular dan hati) berwarna putih, muncul pada bagian pinggir ES primer yang dikulturkan (Gambar 4c), hal ini sejalan dengan hasil penelitian Chehmalee and Te-chato (2008) yang berhasil menginduksi ES sekunder langsung dari ES primer. Fase embrio lanjutan (torpedo dan kotiledon) dan tahap dewasa ditunjukkan Gambar 4d. Fase-fase perkembangan ES sekunder tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dikemukakan oleh Sumaryono *et al.* (2007). Sedangkan menurut Chehmalee and Te-chato (2008) tahap akhir embrio somatik dewasa disebut houstorium embrio.

Berbagai tahap perkembangan ES sekunder yang terbentuk dimulai dari munculnya kalus embriogenik kemudian menjadi embrio somatik fase globular, torpedo, hati dan kotiledon. Hasil pengamatan menunjukkan, tidak semua embrio somatik melalui fase hati, sebagian besar embrio fase globular langsung memanjang membentuk fase torpedo kemudian langsung membentuk fase kotiledon dan dewasa.



Gambar 4. Induksi embrio somatik sekunder dari embrio somatik primer; a) ES primer pada media perlakuan; b) tanda panah menunjukkan kalus embriogenik yang terbentuk dan embrio somatik sekunder; c) fase globular, hati dan dewasa (houstorium embrio); d) dari kiri menunjukkan embrio fase awal (globular), fase lanjutan (torpedo dan kotiledon) dan embrio dewasa (houstorium embrio). Skala bar 10 mm (a,b,d), 0.1 mm (c).

KESIMPULAN

1. Pembentukan ES sekunder tanaman kelapa sawit dapat dilakukan secara langsung dari ES primer.
2. Media yang terbaik untuk pembentukan ES sekunder pada umur 4-8 MSK yaitu media MSVMW dengan penambahan asam amino glutamin dan vitamin biotin sebanyak 0.07 mg/l
3. Jumlah rata-rata tertinggi ES sekunder yang terbentuk dari ES primer sebanyak 7 Embrio/ES primer pada umur kultur 8 MSK

DAFTAR PUSTAKA

- Chehmalee, S. and S. Te-chato. 2008. Induction of somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cultured zygotic embryo of oil palm. *Journal of Agricultural Technology* 4(2): 137-146.
- EL-Shiaty, O.H., S.F.El-Sharabasy and A.H. Abd El-Kareim. 2004. Effect of some amino acids and biotin on callus and proliferation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Sewy cultivar. *Arab J. Biotech.*, Vol. 7, No. (2) July (2004): 265-272.
- Kushairi, A., Tarmizi A.H., Zamzur I., O. Abdullah M., S. Kamal, R., Ooi S.E., and Rajanaidu N. 2010. Production, Performance and Advances in Oil Palm Tissue Culture. Paper presented at the International Seminar on Advances in Oil Palm Tissue Culture, held on 29 May 2010 in Yogyakarta, Indonesia. Organized by the International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). 23 pp.
- Low, E. T. L., H. Alias, S. H. Boon, E. M. Shariff, C. Y. A. Tan, L. C. L. Ooi, 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 embryogenesis. *BMC Plant Biology* 8:62.
- Pereira, J. E. S., R. S. da Guedes, P. C. P. Fermino Jr, T. L. Silva and F. H. S. Costa. Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant* (2010) 46:378–385.
- Saragih, B., Subardjo, B. Wahyono. 2012. Optimasi Kemurnian Benih Kelapa Sawit. Department of Research and Development, PT. Sampoerna Agro Tbk., Jl. Basuki Rahmat 788, Palembang, Indonesia. Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Kongres MAKSI pada 26 Januari 2012 di Bogor, Indonesia. Diselenggarakan oleh Masyarakat Per-Kelapasawitan Indonesia (MAKSI) dan IPB. 9 hal.
- 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.
- Te-chato, S. And A. Hilae. 2007. High-frequency plant regeneration through secondary somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. tenera). *Journal of Agricultural Technology*.3(2): 345-357.
- Wurtele, E. S. and B. J. Nikolau. 1992. Differential accumulation of biotin enzymes during carrot somatic embryogenesis. *Plant Physiol.* (1992) 99, 1699-1703.