

“Akselerasi Hasil Penelitian dan Optimalisasi Tata Ruang Agraria untuk Mewujudkan Pertanian Berkelanjutan”

Identifikasi Genotipe Embrionik pada Kultur Jaringan Kelapa Sawit (*Elaeis guinnensis* Jacq) untuk Mendukung Program Pemuliaan Berkelanjutan

Retno P. Astari^{1,3}, M. Basyuni^{2,5}, Lutfi A. M. Siregar⁴, Revandy I. M. Damanik⁴, dan Indra Syahputra³

¹ Program Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

² Departemen Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

³ PT. Socfin Indonesia, Jl. K. L. Yos Sudarso No. 106, Medan 20244, Sumatera Utara, Indonesia

⁴ Prodi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

⁵ Pusat Unggulan Iptek (PUI) Mangroves, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesia

Email: m.basyuni@usu.ac.id

Abstrak

Kelapa sawit merupakan tanaman tropical penting penghasil minyak nabati sebagai sumber devisa Indonesia. Keberadaan benih unggul kelapa sawit sangat dibutuhkan untuk meningkatkan produktivitas. Kultur jaringan menjadi satu-satunya perbanyakan vegetative yang dapat dilakukan pada kelapa sawit untuk mempertahankan materil unggul yang digunakan dalam program pemuliaan berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genotipe kelapa sawit embrionik guna meningkatkan efisiensi proses kultur jaringan. Penelitian ini menggunakan metode somatic embryo, eksplan daun muda dengan 34 aksesori genotipe. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dan uji beda rata-rata Tukey 5%. Hasil penelitian pembentukan kalus per genotipe berbeda nyata, genotipe berpengaruh terhadap embryogenesis. Penelitian berhasil mengidentifikasi genotipe embrionik yaitu pada aksesori genotipe G-A1 s/d G-A5 dan genotipe G-B1 s/d G-B7 dengan persentase kalus dan embrio terbentuk tinggi, sedangkan genotipe non-embrionik teridentifikasi pada aksesori genotipe G-C1s/d G-C6 dan G-D1 s/d G-D7 karena tidak adanya embrio terbentuk.

Kata kunci: identifikasi, genotipe, kelapa sawit, embrionik

Pendahuluan

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman tropis penghasil minyak nabati tinggi penting (Zou *et al.*, 2019), sekitar 45-50% dari daging buah atau mesokarp (Owoyele dan Owolabi, 2014). Kelapa sawit termasuk tanaman, *monoecious*, family *Arecaceae* yang berasal dari Afrika dan menyebar ke beberapa negara. Hampir keseluruhan bagian tanaman kelapa sawit dapat dimanfaatkan menjadi produk olahan pangan maupun non pangan

(Pratiwi, 2020). Komoditas kelapa sawit memberikan sumbangan devisa terhadap negara sangat besar, rata-rata pertahun US\$ 22-23 miliar. Bahkan ditahun 2021, devisa yang dihasilkan dari ekspor komoditas kelapa sawit mencapai US\$ 30 miliar, rekor tertinggi selama ini (Dirjenbun, 2021). Kebutuhan benih kelapa sawit unggul terus meningkat peningkatan kebutuhan minyak. Kelapa sawit memiliki periode tanam panjang untuk satu generasi, mengakibatkan proses pemuliaan benih sangat lambat (Abdullah *et. al.*, 2005). Perbanyak tanaman dengan kultur jaringan vegetative dapat membantu pemulia menghasilkan tanaman karakter elit tertentu yang duplikat dengan induknya sehingga dapat mempersingkat proses seleksi. Tanaman kelapa sawit merupakan tanaman monokotil, satu-satunya perbanyak vegetatif yang dapat diterapkan hanya dengan teknik kultur jaringan seperti dengan somatik embriogenesis (Bonetti *et. al.*, 2016). Klon hasil kultur jaringan tersebut berguna untuk mempertahankan tanaman unggul, sehingga dapat digunakan lebih dari satu siklus tanam. Hal tersebut sangat membantu pemulia kelapa sawit dalam menjaga kelestarian material unggul sebagai sumber pokok induk terstandart untuk mendukung program pemuliaan berkelanjutan. Sebagai contoh untuk menduplikat tanaman standart persilangan untuk perakitan varietas tahan penyakit ganoderma, standart persilangan produksi tinggi, serta program pemuliaan lainnya.

Somatik embryogenesis (SE) adalah suatu pembentukan embrio dari bagian somatik tanaman yang bukan termasuk sel zygotik seperti daun. Pembentukan embrionik menjadi penting karena merupakan indikator keberhasilan kultur jaringan. Induksi pembentukan embrio merupakan tahap kritis dalam kultur jaringan melalui somatik embrio. Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh komposisi media kultur, kondisi kultur, genotipe serta pertumbuhan tanaman donor. (Gandonou *et al.*, 2005; Bai *et al.*, 2018).). Diantara faktor tersebut, genotipe menjadi faktor penting mempengaruhi keberhasilan, beberapa genotipe lebih mudah dikulturkan dibandingkan genotipe lainnya (Delporte *et al.*, 2001).

Kultur jaringan pada tanaman gandum menggunakan eksplan, umur tanaman dan kombinasi hormon sama, hasil pertumbuhan kalus dan regenerasi tanaman diketahui tergantung pada genotipe tanaman (Ting *et al.*, 2013; Hoque dan Mansfield, 2004). Hasil yang sama dilaporkan pada kultur gandum (Arzani dan Mirodjagh, 2009), bunga primula Schween, 2003, padi (Zale, 2004), pada kelapa sawit tenera pada koleksi genotipe Deli x Ekona, Deli x Ghana (Correa, 2016), serta kopi (Hapsoro *et al.*, 2020). Hal tersebut diduga karena perbedaan sifat embriogenik sel setiap genotipe tanaman. Efek genotipe pada induksi kalus dan embrio juga dilaporkan pada tanaman tebu (Gandonou *et al.*, 2005), bawang putih (Mostafa *et al.*, 2020).

Kultur jaringan memerlukan waktu yang lama, tingkat pembentukan kalus dan embrio juga sangat rendah. Rata-rata kalus yang dihasilkan adalah sebesar 15% dari total eksplan yang ditanam. Sebanyak 80% kalus yang dihasilkan bersifat embriogenik, namun kurang dari 25% yang mampu berdiferensiasi dan berproliferasi menjadi planlet (Kushairi *et al.*, 2010). Evaluasi genotipe kelapa sawit embrionik sangat penting diketahui untuk meningkatkan efisiensi proses kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genotipe kelapa sawit embrionik guna meningkatkan efisiensi proses kultur jaringan, sehingga bermanfaat untuk mendukung sumber bahan tanam unggul untuk program pemuliaan kelapa sawit berkelanjutan.

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan PT. Socfindo, berlokasi di Bangun Bandar, Serdang Bedagai, Sumatera Utara, Indonesia. Penelitian ini menggunakan eksplan daun muda (umbut) kelapa sawit untuk kultur jaringan melalui somatik embrio. Tahapan penelitian mulai dari pemilihan genotipe, induksi pembentukan kalus dan induksi embrio kelapa sawit. Genotipe yang digunakan dalam penelitian ini koleksi milik PT. Socfindo. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non factorial dengan satu faktor yaitu genotipe. Uji lanjut beda rata-rata dianalisa berdasarkan uji Tukey 5%. Penelitian ini dengan peubah amatan persentasi pembentukan kalus berdasarkan genotipe dan umur tanaman donor eksplan serta kategori pembentukan embrio.

Pemilihan genotipe untuk kultur jaringan. Penelitian di mulai dengan pemilihan genotipe, dipilih dari genotipe yang digunakan dalam program pemuliaan kelapa sawit seperti Ganoderma standart persilangan serta standart persilangann produksi tinggi yang telah dikloning. Jumlah aksesi tanaman yang digunakan sebanyak 34 sampel yang terdiri dari 10 genotipe berbeda dengan umur tanaman eksplan donor 10 sampai 30 tahun (Tabel 1).

Tabel 1. Genotipe kelapa sawit terpilih sebagai sumber eksplan somatik embrio

No	Genotipe	Jumlah aksesi genotipe	Umur (tahun)
1	G-A	5	19-23
2	G-B	7	12-23
3	G-C	6	16-27
4	G-D	7	17-28
5	G-E	3	16-19
6	G-F	1	19
7	G-G	2	16-17
8	G-H	1	30
9	G-I	1	10
10	G-J	1	11

Induksi pembentukan kalus. Induksi kalus menggunakan media kultur padat dengan formula nutrisi terdiri dari makro, mikronutrien, vitamin, gula, dan agar gel berdasarkan Murashige and Skoog (1962) yang dimodifikasi. Media dengan pH 5.7 ± 0.1 . Lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit pada tekanan 1,5 atm dengan suhu 121°C . Untuk pembentukan kalus digunakan suplemen 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4- D) $800 \mu\text{M}$ (Correa *et al.*, 2016). Eksplan daun muda kelapa sawit yang telah disterilisasi kemudian letakkan pada media ini induksi kalus. Lalu diletakkan diruang gelap dengan suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Observasi kalus dimulai setelah 3 bulan induksi dan dilakukan setiap bulan dengan observasi maksimal 12 bulan setelah induksi. Kalus yang terbentuk lalu ditransfer ke media pembentukan embrio.

Induksi pembentukan embrio kelapa sawit. Kalus terbentuk ditransfer ke media pembentukan embrio terdiri dari, makro, micronutrient, vitamin, mio inositol, glycine, sukrosa dan agar gel dengan komposisi berdasarkan Murashige and Skoog (1962) yang dimodifikasi. Media dengan pH 5.7 ± 0.1 . Lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit pada tekanan 1,5 atm dengan suhu 121°C . Botol kultur diinkubasi pada ruang terang dengan suhu $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Observasi embrio terbentuk dilakukan setiap bulan selama 12 bulan.

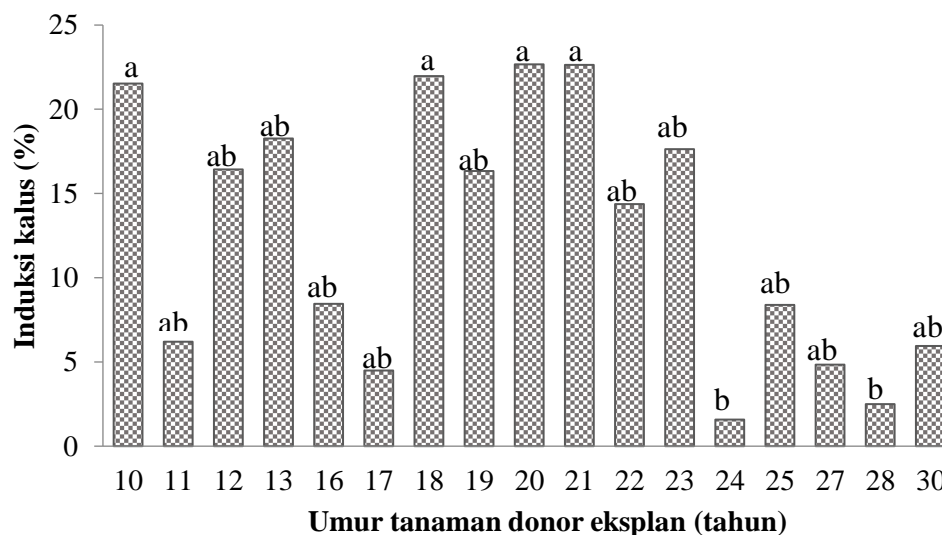
Identifikasi genotipe embrionik. Genotipe embrionik diidentifikasi berdasarkan persentasi kalus terbentuk dan kemampuan multiplikasi line embrio terbentuk. Kategori kemampuan multiplikasi line embrio terbentuk dibagi menjadi 3 yaitu: null yaitu genotipe tidak membentuk embrio, rendah yaitu genotipe membentuk embrio line meningkat dua kali dari embrio terbentuk dan tinggi yaitu genotipe membentuk embrio line dengan multiplikasi hingga lima kali (Correa *et al.*, 2016).

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi genotipe berdasarkan kalus terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan pembentukan kalus berbeda nyata berdasarkan aksesi genotipe tersaji pada Tabel 2. Persentasi kalus terbentuk tertinggi pada Genotipe G-B (DA 115 D x DA 115 D), tepatnya pada G-B4 sebesar 27,62% dan terendah pada Genotipe G-C (DA 5 D x DA 3 D)x(LM 404 D x DA 10 D), tepatnya pada G-C4 sebesar 0,45%. Berdasarkan penelitian tersebut teridentifikasi genotipe potensial embrionik pada aksesi genotipe G-B1 s.d G-B7 berdasarkan persentasi pembentukan kalus tinggi di atas rata-rata pada umumnya yaitu berkisar antara 16,45% - 27,62% . Hal ini sesuai dengan Kushairi *et al.* (2010) yang menyatakan rata-rata kalus yang dihasilkan adalah sebesar 15% dari total eksplan yang ditanam. Sedangkan aksesi genotipe G-C1 s.d. G-C6 teridentifikasi non-embrionik, hal ini berdasarkan rendahnya persentasi kalus terbentuk.

Sejalan dengan penelitian Delporte *et al.* (2001), melaporkan beberapa genotipe lebih mudah dikulturkan dibandingkan genotipe lainnya. Sejalan dengan hasil penelitian Ting *et al.* (2013); Hoque dan Mansfield (2004), menyatakan hasil pertumbuhan kalus dan regenerasi tanaman diketahui tergantung pada genotipe tanaman.

Hasil penelitian pada pengamatan persentasi rata-rata kalus terbentuk per umur tanaman donor disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan analisa hasil penelitian tersebut diketahui persentasi kalus terbentuk berbeda nyata terhadap umur tanaman donor. Persentasi kalus tinggi pada umur 10, 18, 20 dan 21 tahun. Berdasarkan data tersebut diketahui umur tanaman 21 tahun juga dapat menghasil persentasi kalus yang tinggi, karena eksplan yang digunakan bersifat meristematik. Hasil tersebut menunjukkan pula genotipe tanaman kultur memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap keberhasilan kultur jaringan. Hal ini sejalan dengan laporan Delporte *et al.* (2001) yang menyatakan diantara faktor tersebut, genotipe menjadi faktor penting mempengaruhi keberhasilan, beberapa genotipe lebih mudah dikulturkan dibandingkan genotipe lainnya.



Gambar 1. Persentasi rata-rata kalus terbentuk per umur tanaman donor dengan uji beda rata-ratan Tukey 5% (notasi huruf berbeda menunjukkan signifikansi)

Identifikasi genotipe embrionik. Berdasarkan hasil penelitian genotipe-genotipe dikategorikan berdasarkan kemampuan membentuk embrio data. Berdasarkan data tersebut data tersebut terdapat 50% embrio dengan kemampuan multiplikasi embrio tinggi yaitu genotipe dan genotipe yang tidak menghasilkan embrio sebesar 38,2% (Tabel 3). Keberhasilan somatik embrio sangat ditentukan oleh terbentuk embrio yang terbentuk. Sejalan dengan laporan Gandonou *et al.* (200) dan Bai *et al.* (2018) menyatakan bahwa Pembentukan embrionik menjadi penting karena merupakan indikator keberhasilan kultur jaringan. Induksi pembentukan embrio merupakan tahap kritikal dalam kultur jaringan melalui somatik embrio.

Tabel 2. Persentasi pembentukan kalus kultur jaringan kelapa sawit pada 34 aksesi genotipe

Aksesi Genotipe	Genetik Background	Kalus (%)
G-A1	(DA 10 D x DA 115 D)x(DA 10 D x DA 115 D)	23.12 a
G-A2	(DA 10 D x DA 115 D)x(LM 2 T x SI 10 T)	13.95 abcd
G-A3	(DA 10 D x DA 3 D)x(DA 10 D x DA 3 D)	8.95 bcd
G-A4	(DA 10 D x DA 3 D)x(LM 10 T)	20.69 abcd
G-A5	(DA 10 D x DA 3 D)x(LM 10 T)	16.67 abcd
G-B1	(DA 115 D x (DA 3 D x DA 5 D))x(LM 10 T x LM 5 T)	16.42 abcd
G-B2	(DA 115 D x (DA 3 D x DA 5 D))x(LM 10 T x LM 5 T)	18.28 abcd
G-B3	(DA 115 D)x(DA 115 D)	26.33 a
G-B4	(DA 115 D)x(DA 115 D)	27.62 a
G-B5	(DA 115 D)x(LM 10 T x LM 5 T)	22.68 abc
G-B6	(DA 115 D)x(LM 10 T)	22.63 abc
G-B7	(DA 115 D)x(LM 10 T)	18.62 abcd
G-C1	(DA 5 D x DA 3 D)x(BB 126 D x BB 150 D)	4.98 cd
G-C2	(DA 5 D x DA 3 D)x(DA 115 D)	4.59 cd
G-C3	(DA 5 D x DA 3 D)x(DA 5 D x DA 3 D)	7.28 bcd
G-C4	(DA 5 D x DA 3 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	0.45 e
G-C5	(DA 5 D x DA 3 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	5.88 bcd
G-C6	(DA 5 D x DA 3 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	6.04 bcd
G-D1	(LM 404 D x DA 10 D)x(DA 5 D x DA 3 D)	6.03 bcd
G-D2	(LM 404 D x DA 10 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	2.70 de
G-D3	(LM 404 D x DA 10 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	18.12 abcd
G-D4	(LM 404 D x DA 10 D)x(LM 404 D x DA 10 D)	2.50 de
G-D5	(LM 404 D)x(DA 5 D x DA 3 D)	3.61 de
G-D6	(LM 404 D)x(LM 404 D)	5.95 bcd
G-D7	(LM 404 D)x(LM 404 D)	17.59 abcd
G-E1	(LM 718 T x LM 238 T)x(LM 718 T x LM 238 T)	4.75 bc
G-E2	(LM 718 T x LM 238 T)x(LM 718 T x LM 238 T)	2.81de
G-E3	(LM 718 T x LM 238 T)x(LM 718 T x LM 238 T)	17.22 abcd
G-F1	(LM 2 T)x(LM 2 T)	7.25 bcd
G-G1	(LM 7 T x LM 2 T)x(LM 7 T x LM 2 T)	13.31 abcd
G-G2	(LM 7 T x LM 2 T)x(LM 7 T x LM 2 T)	4.72 cd
G-H1	(YA 1)x(YA 1)	5.96 bcd
G-I1	(5.2153 D x 5.368 D) x PO 1890 D) x LM 5448 T)x(LM 10 T)	21.52 abcd
G-J1	(BB 126 D x BB 150 D) x (DA 3 D x DA 5 D))x(LM 718 T)	6.20 bcd

Tabel 3. Klasifikasi genotipe embrionik berdasarkan kemampuan membentuk embrio

Kategori multiplikasi line embrio terbentuk	Persentasi genotipe (%)	Genotipe
Null	38.2	G-C1; G-C2; G-C3; G-C4; G-C5; G-C6; G-D1; G-D2; G-D3; G-D4; G-D5; G-D6; G-D7
Rendah	-	-
Sedang	11.8	G-E1; G-E2; G-E3; G-J1
Tinggi	50.0	G-A1; G-A2; G-A3; GA4; G-A5; G-B1; G-B2; G-B3; G-B4; G-B5; G-B6; G-B7; G-F1;G-G1; G-H1; G-I1

Keterangan: Null yaitu genotipe tidak membentuk embrio, rendah yaitu genotipe membentuk embrio line meningkat dua kali dari embrio terbentuk dan tinggi yaitu genotipe membentuk embrio line dengan multiplikasi hingga lima kali.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan penelitian ini diketahui bahwa genotipe embrionik teridentifikasi pada aksesori genotipe G-A1 s/d G-A5 dan genotipe G-B1 s/d G-B7 dengan persentasi kalus dan embrio terbentuk tinggi, sedangkan genotipe non-embrionik teridentifikasi pada aksesori genotipe G-C1s/d G-C6 dan G-D1 s/d G-D7 karena tidak adanya embrio terbentuk. Saran penelitian ini, diperlukan penelitian lanjutan dengan embrio yang dihasilkan dalam penelitian ini untuk mengidentifikasi genotipe terbaik terhadap regenerasi plantlet hasil kultur jaringan.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini dibiayai dengan skema Penelitian Disertasi Doktor No. 51/UN5.2.3.2/PPM/KP DRPTPM/TI/2022 dari Direktorat Jendral Riset, Teknologi dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Kementerian Pendidikan Kebudayaan, Riset dan Teknologi Republik Indonesia. Serta terima kasih kepada PT. Socfindo yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian.

Daftar Pustaka

Abdullah, R. A. Zainal, W. Y. Heng, L. C. Li, Y. C. Beng, L. M. Phing, S. M. Sirajuddin, W. Y. S. Ping and J. L. Joseph. 2005. Immature embryo: A useful tool for oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) genetic transformation studies. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458. Vol.8 No.1, Issue of April 15, 2005. © 2005 by Pontificia Universidad Católica de Valparaíso – Chile.

- Bai, B., Y. J. Zhang, L. Wang, M. Lee, Rahmadsyah, B. Q. Ye, Y. Alfiko, S. Purwantomo, A. Suwanto and G. H. Yue. 2018. Mapping QTL for leaf area in oil palm using genotyping by sequencing. *Tree Genetics & Genomes* 14:31 <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1245-1>
- Chia G S, Lopes R, Cunha R N V, Rocha R N C and Lopes M T G 2009 *Acta Amaz* 39 249
- Correa, T. R., S. Y. Motoike, A. P. S. Andrade, S.M. Coser, V. Queiroz, M. M. C. Granja, D. D. N. Caetano, C. N. M. Pena and E. A. T. Picoli. 2016. Accelerated in vitro propagation of elite oil palm genotypes (*Elaeis guineensis* Jacq.) by substituting cytokinin with putrescine. *Academic journals*. Vol. 15(50), pp. 2767-2775, 14 December 2016.
- Delporte F, Mostade O, Jacquemin JM. 2001. Plant regeneration through callus initiation from thin mature embryo fragments of wheat. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 67: 73-80.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2021. Statistik perkebunan Indonesia, kelapa sawit. Sekretariat Direktorat Jendral Perkebunan.
- Gandonou, C.H. T. Errabii, J. Abrini, M. Idaomar, F. Chibi and S. Senhaji. 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharus* sp.). *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (11), pp. 1250-1255, November 2005 Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB> ISSN 1684–5315 © 2005 Academic Journals.
- Hapsoro, D., R. Hamiranti dan Y. Yusnita. 2020. In vitro somatic embryogenesis of superior clones of robusta coffee from Lampung, Indonesia: Effect of genotypes and callus induction media. *Biodiversitas*. Volume 21. ISSN: 1412-033X, E-ISSN: 2085-4722. Doi: 10.13057/biodv/210849.
- Hoque M E, Mansfield J.W. 2004. Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root derived callus of indica rice genotypes. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 78 (3): 217-223.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Owoyele, B., and G.O. Owolabi. 2014. Traditional oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) and its medicinal uses : A review. *TANG Humanitas Medicine* 4(3): 1-8
- Pratiwi, D. R., S. Wening, Nanang, S., Retno, D. S. dan Yurna Y. 2020. Kultur Jaringan Kelapa Sawit: Tantangan dan Peluangnya. *Warta PPKS*. 25(1):1-10.
- Ting, A.C. Z. Ishak, J. Nagapan, S.G. Tan. 2013. Identification of QTLs associated with callogenesis and embryogenesis in oil palm using genetic linkage maps improved with SSR marker. *Research gate*. DOI: 10.1371/journal.pone.0053076 · Source: PubMed. Article in *PLoS ONE* · January 2013.
- Zale J.M, Borchardt-Wier H, Kidwell K.K, Steber C.M. 2004. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 76: 277-281
- Zou J, Zhang Q, Zhu Z, Gao L, Zheng Y and D Li 2019 *Scientia Horticulturae* 245 125.