



## PERAN NAA, $GA_3$ , KARBON AKTIF, DAN SUKROSA DALAM KULTUR EMBRIO ZIGOTIK KLON OG HYBRID (*Elaeis guineensis* JACQ. X *Elaeis oleifera*) OPEN POLLINATED

### THE ROLE OF NAA, $GA_3$ , ACTIVATED CHARCOAL, AND SUCROSE ON ZYGOTIC EMBRYOS CULTURE OF HYBRID OG OPEN POLLINATED CLONE (*Elaeis guineensis* JACQ. X *Elaeis oleifera*)

Ernayunita, Hernawan Y. Rahmadi, Iman Yani Harahap, dan Abdul Razak Purba

**Abstrak** OG *hybrid* kelapa sawit memiliki potensi genetik dari segi vegetatif dan generatif di antaranya pertumbuhan meninggi yang lambat dan kompak, serta kandungan asam lemak tak jenuh dan beta karoten tinggi. Namun material OG *hybrid* juga memiliki kelemahan dalam perbanyakan karena perkecambahan benihnya rendah. Oleh karena itu diperlukan alternatif perkecambahan benih, salah satunya dengan kultur embrio zigotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan NAA,  $GA_3$ , karbon aktif, dan sukrosa dalam keberhasilan kultur embrio zigotik dan media terbaik untuk kultur embrio klon OG *hybrid open pollinated* menggunakan beberapa modifikasi pada media dasar protokol kultur jaringan kelapa sawit. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 16 ulangan yang masing-masing ulangan terdapat 4 embrio, dengan 6 perlakuan di antaranya: A1 = M129 (kontrol); A2 = M129 + karbon aktif; A3 = M129+ karbon aktif + sukrosa; A4 =  $\frac{1}{2}$  M129 + karbon aktif + sukrosa; A5 = M129 +  $GA_3$ ; dan A6 = M129 +  $GA_3$  + NAA. Hasil penelitian menunjukkan media terbaik untuk kultur klon OG *hybrid open pollinated* yaitu Media 129 dengan penambahan  $GA_3$  dan NAA (perlakuan A6)

yang berperan dalam meningkatkan perkecambahan embrio zigotik secara in vitro hingga 14,06% dan menghasilkan planlet kelapa sawit dengan kualitas vegetatif planlet yang baik yaitu jumlah daun dan jumlah akar primer yang tinggi.

**Kata kunci:** zat pengatur tumbuh, karbon aktif, sukrosa, klon OG *hybrid*, kultur embrio zigotik, kelapa sawit

**Abstract** Oil palm OG *hybrid* genetic potentials are high in term of vegetative and generative traits, such as: low height increment, compact palm, high free fatty acid and high carotenes. However, OG *hybrid* reproduction is hindered due to its low germination rate. So, alternative method for germination is needed, which is in vitro embryo zygotic culture. This study objective was to reveal the best medium composition for OG *hybrid* embryo culture by modified several oil palm basic medium from oil palm tissue culture protocol and to understand the role of plant growth regulators, activated charcoal, and sucrose on in vitro growth and development of OG *hybrid* embryo. The design used was Completely Randomized Design (CRD) with 16 replication and 4 embryos for each replicates, while the treatments were: A1 = M129 (control); A2 = M129 + activated charcoal; A3 = M129+ activated charcoal + sucrose; A4 =  $\frac{1}{2}$  M129 + activated charcoal + sucrose; A5 = M129 +  $GA_3$ ; and A6 = M129 +  $GA_3$  + NAA. From the study we found that the best medium for OG *hybrid*

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

*open pollinated clone's embryo culture was M129 with GA<sub>3</sub> and NAA (A6). This medium gave percentage of in vitro germination up to 14.06%, and later on the plantlets from this medium gave the best vegetative growth performance such as high number of leaves and primer roots.*

**Key words:** *plant growth regulator, activated charcoal, sucrose, OG hybrid, zygotic embryo culture, oil palm*

## PENDAHULUAN

OG hybrid kelapa sawit merupakan hasil persilangan antara *Elaeis oleifera* dengan *Elaeis guineensis*. Kedua spesies tersebut disilangkan untuk diperoleh kombinasi genetik unggul dari kedua tetuanya seperti pertumbuhan meninggi yang lambat dan kompak (Rahmadi *et al.*, 2014; Barcelos *et al.*, 2015), kandungan asam lemak tak jenuh dan beta karoten tinggi (Hormaza *et al.*, 2012; Acton, 2013), serta parsial resisten terhadap penyakit *bud rot* yang menyerang perkebunan kelapa sawit di Amerika (Barba *et al.*, 2014; Hormaza *et al.*, 2012). Namun, perbanyakan benih material tersebut secara konvensional masih terkendala, diantaranya perkecambahan benihnya rendah dan buah yang dihasilkan seringkali abortus (Angelo *et al.*, 2011).

Salah satu alternatif perbanyakan non konvensional yang dapat dilakukan yaitu dengan kultur jaringan melalui kultur embrio zigotik. Komposisi media kultur yang digunakan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan perkecambahan zigotik embrio secara *in vitro*. Media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa NAA, BAP, GA<sub>3</sub> serta dengan penambahan sukrosa dan karbon aktif berbagai konsentrasi (Alves *et al.*, 2011a; Angelo *et al.*, 2011; Suranthran *et al.*, 2011) telah digunakan untuk mengecambahkan embrio OG hybrid secara *in vitro*. Alves *et al.*, (2011b) juga menyatakan bahwa adanya perbedaan varietas akan berpengaruh terhadap kecepatan dan persentase perkecambahan benih OG hybrid. Oleh karena itu, dari sumber benih yang berbeda tentu diperlukan penelitian untuk mendapatkan komposisi media yang optimal untuk kultur embrio zigotik OG hybrid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan zat pengatur tumbuh khususnya NAA dan GA<sub>3</sub>, karbon aktif, serta sukrosa dalam kultur embrio OG hybrid. Selain itu juga mengetahui perlakuan komposisi media terbaik untuk kultur embrio zigotik OG hybrid.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian dimulai pada November 2014 hingga Juli 2015. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan dan pembibitan kultur jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Marihat, Sumatra Utara.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu benih dari klon OG hybrid (*E. oleifera* x *E. guineensis*) open pollinated kelapa sawit dari MK 311, 8 media kultur embrio menggunakan MS modifikasi (ZPT NAA dan GA<sub>3</sub>, karbon aktif, sukrosa) sesuai perlakuan, larutan hipoklorit 1%, air steril, alkohol 70%, dan kertas. Alat yang dibutuhkan yaitu bas untuk pemecah cangkang benih, scalpel, petridish, Laminar Air Flow (LAF), bunsen, pinset, plakon, aluminium foil, plastic wrap, alat tulis, mistar, jangka sorong, kamera Canon G16, dan mikroskop stereo Olympus tipe Gx21.

### Metode Penelitian

#### Uji Viabilitas Benih Klon OG hybrid

Uji viabilitas dilakukan untuk mengetahui viabilitas atau daya hidup benih menggunakan larutan Tetrazolium. Metode pengujian menggunakan larutan Tetrazolium 1% (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) dengan inkubasi benih dalam larutan tersebut selama 6-8 jam (Fondom *et al.*, 2010). Viabilitas benih ditentukan dari pola pewarnaan pada benih sesuai dengan metode yang dipublikasikan oleh Maquiné (2014) dengan ketentuan pewarnaan kelas 1: Vigor Sangat Tinggi, yaitu seluruh embrio berwarna homogen (merah atau merah muda) warnai 100%, kelas 2: Vigor Tinggi, yaitu embrio berwarna homogen sebesar 75%, kelas 3: Vigor Medium, yaitu embrio berwarna homogen sebesar 50%, kelas 4: Tidak Vigor, yaitu embrio hanya berwarna sangat sedikit bahkan tidak berwarna. (Gambar 1).

#### Kultur Embrio Klon OG hybrid

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 16 ulangan yang masing-masing ulangan terdapat 4 embrio. Perlakuan yang digunakan yaitu komposisi media embriogenesis protokol kultur



jaringan PPKS (Harahap, 2010) dan modifikasinya dengan penambahan karbon aktif sebesar 2,5 g/liter, sukrosa 3 g/l, dan ZPT (NAA, GA<sub>3</sub>) 5 mg/l pada media protokol embriogenesis tersebut sebagai perlakuannya. Rincian perlakuan media yang digunakan yaitu :

A1 = M129

A2 = M129 + karbon aktif (M129 + CA)

A3 = M129+ karbon aktif + sukrosa (M129 + CA + S)

A4 = ½ M129 + karbon aktif+ sukrosa (½ M129+CA+S)

A5 = M129 + GA<sub>3</sub>

A6 = M129 + GA<sub>3</sub> + NAA.

Benih yang telah dinyatakan *viable* berdasarkan uji viabilitas embrio adalah benih yang layak digunakan untuk kultur embrio. Tahapan yang dilakukan yaitu benih dipecah cangkangnya dan dipisahkan bagian intinya untuk selanjutnya disterilisasi secara aseptis di LAF. Sterilisasi menggunakan protokol Alves *et al.*, (2011a) dengan modifikasi yaitu pencucian benih dengan deterjen sebanyak 3 kali, alkohol 70% selama 20 menit kemudian dilanjutkan menggunakan larutan hipoklorit 1% selama 10 menit. Setelah itu, inti benih diambil embrionya menggunakan pinset dan *scalpel* dengan hati-hati kemudian dikulturkan pada media sesuai dengan perlakuannya. Selama 1 minggu, kultur ditutup menggunakan aluminium foil dan diletakkan di ruang kultur dengan suhu 26-27°C, kelembaban 70-80%, dan intensitas cahaya 2500 lux. Setiap hari selama 1 minggu dilakukan pengamatan kontaminasi, apabila ada kultur yang terkontaminasi maka segera diafkir. Setelah 1 minggu, aluminium dibuka sehingga kultur mendapatkan cahaya yang cukup.

Embrio yang telah berkecambah sempurna (telah berakar dan berdaun) kemudian dipindahkan ke media perkembangan tunas dan akar protokol kultur jaringan PPKS (Harahap, 2010) hingga planlet memenuhi kriteria aklimatisasi dengan tinggi minimal 5 cm dan telah berakar (Ernayunita dan Rahmadi, 2015). Aklimatisasi planlet kelapa sawit menggunakan standar yang telah dipublikasikan oleh Hidayat *et al.*, (2011), menggunakan campuran tanah, kompos, dan pasir dengan perbandingan 10:3:1. Setelah itu, dilanjutkan dengan tahap pembibitan di *pre nursery* (PN).

Pengamatan dilakukan terhadap waktu perkecambahan embrio, persentase perkecambahan, pengamatan panjang tunas dan akar kecambah, pengamatan vegetatif planlet yang meliputi jumlah daun, tinggi tanaman dan diameter batang, pengamatan vegetatif pasca aklimatisasi yang meliputi jumlah daun, tinggi tanaman, diameter batang serta jumlah akar primer dan sekunder, persentase daya hidup planlet dari kultur embrio klon OG hybrid di fase ramet, dan PN. Pengamatan perkembangan embrio hibrida yang diamati dengan penentuan skor terhadap perkembangan embrio. Skor perkembangan embrio berdasarkan skor yang dipublikasikan oleh Alves *et al.* (2011a) yaitu : skor 0 = embrio tidak berkembang, skor 1 = embrio terlihat membesar, skor 2 = embrio mulai melengkung, skor 3 = embrio melengkung sebagian, skor 4 = embrio telah melengkung seluruhnya, skor 5 = embrio menunjukkan perkembangan awal muncul akar dan tunas, dan skor 6 = embrio dengan perkembangan akar. Pengukuran diameter batang, jumlah akar primer, jumlah akar sekunder, dan tinggi tanaman dilakukan dengan cara mengeluarkan kecambah atau planlet terlebih dahulu dari botol kultur. Diameter batang diukur pada bagian pangkal batang menggunakan jangka sorong. Penghitungan jumlah akar primer dilakukan dengan menghitung satu-persatu akar yang muncul dari pangkal batang secara manual. Sedangkan jumlah akar sekunder dihitung secara manual akar yang muncul dari akar-akar primer. Pengukuran tinggi tanaman diukur menggunakan mistar dari pangkal batang hingga ujung daun terpanjang.

Analisis yang digunakan adalah analisis varian yang apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk membandingkan antar rerata dari semua perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Benih OG hybrid seringkali tidak dapat berkecambah karena tingkat viabilitas benihnya yang rendah (Rahmadi *et al.*, 2014). Benih yang tidak viabel tidak akan mampu berkecambah secara sempurna, oleh karena itu dilakukan sampel uji viabilitas benih menggunakan uji tetrazolium sebelum benih digunakan sebagai sumber eksplan.

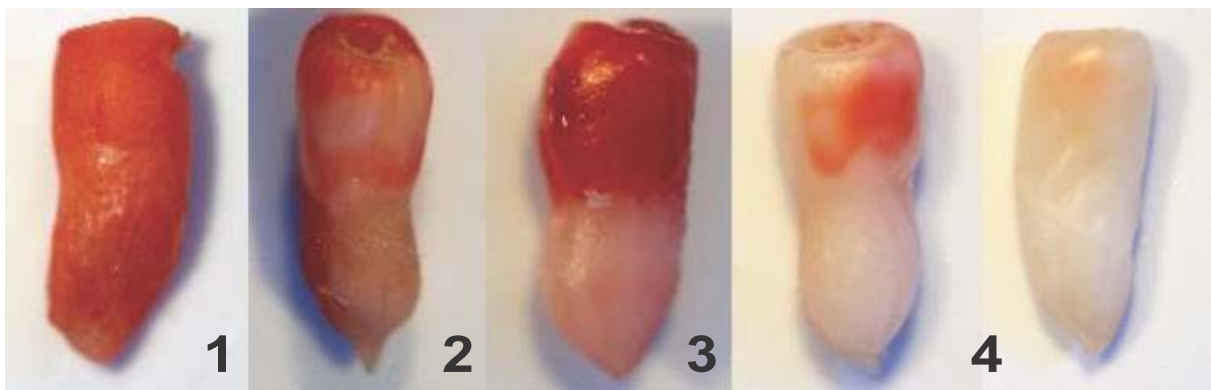
### Hasil Uji Viabilitas Benih Klon OG Hybrid

Berdasarkan hasil uji viabilitas benih klon OG *hybrid open pollinated*, menunjukkan bahwa benih hibrida intrespesifik yang diuji memiliki viabilitas sangat tinggi hingga medium adalah 79,41% dan sisanya merupakan benih yang tidak viabel sebesar 20,59% (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan viabilitas benih klon OG *hybrid open pollinated* yang diujikan tergolong tinggi, menurut hasil penelitian Martine *et.al.*(2009), perkecambahan benih dari beberapa tetua Dura (DA DA3D x 115D) x (115D x DA3D DA) dan (LM404D) x (DA 115D) dengan sumber polen jantan yang tidak diketahui menghasilkan perkecambahan paling tinggi yaitu 70,28%. Sehingga berdasarkan uji viabilitas ini, benih OG *hybrid* yang diuji dari MK 311 dapat digunakan sebagai material

kultur embrio. Hal ini disebabkan benih yang digunakan merupakan benih segar. Penurunan viabilitas benih OG *hybrid* lebih tinggi dibandingkan dengan benih *E. guineensis* (Rahmadi *et al.*, 2014).

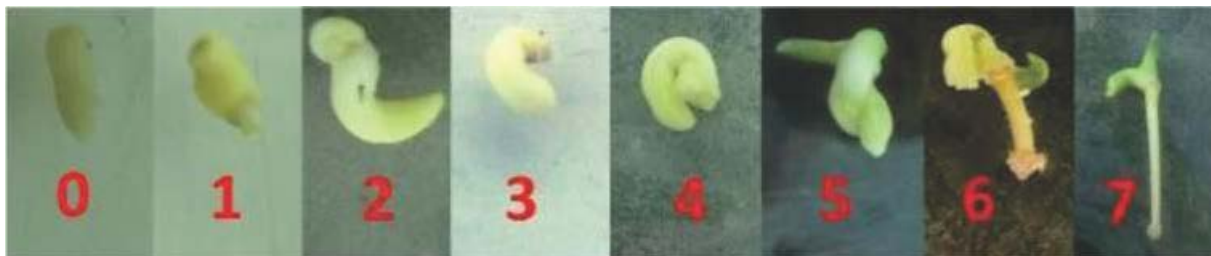
### Perkembangan Embrio Zigotik Klon OG Hybrid Kelapa Sawit yang Dikulturkan Secara *In Vitro*

Embrio zigotik klon OG *hybrid open pollinated* yang dikulturkan pada media kultur jaringan ditunjukkan dengan beberapa tahapan perkembangan yaitu embrio terlihat mulai membesar kemudian melengkung sebagian hingga seluruhnya melengkung, kemudian muncul akar dan tunas kemudian dilanjutkan dengan perkembangan akar (Gambar 2).



Gambar 1. Hasil uji tetrazolium pada embrio zigotik OG *hybrid* kelapa sawit. Skor 1-3 : benih viabel dan skor 4: benih tidak viabel.

Figure 1. Tetrazolium test result of OG hybrid oil palm zygotic embryos. Score 1-3: viable seed and score 4 : non viable seed.



Gambar 2. Tahapan kultur embrio zigotik OG *hybrid* secara *in vitro*.

Figure 2. *In vitro* OG hybrid zygotic embryo culture in different stages.



### Pengaruh penambahan ZPT, karbon aktif, dan sukrosa terhadap kecepatan berkecambah dan persentase perkecambahan embrio zigotik OG hybrid

Berdasarkan keseluruhan hasil penelitian, semua perlakuan media responsif terhadap embrio hibrida yang dikulturkan. Hal ini terlihat dari embrio zigotik dari semua perlakuan yang menunjukkan perkembangan meskipun dengan tingkat perkembangan yang berbeda. Perkembangan respon embrio terhadap perlakuan media ditunjukkan dengan skor nilai perkecambahan. Semakin besar skor yang dihasilkan maka perkecambahan embrio yang dihasilkan juga

semakin cepat. Pada minggu pertama pengamatan, sudah diperoleh embrio dengan skor 2 hingga 4 pada perlakuan A1, A2, A3, dan A4. Hingga minggu ke-4 pengamatan, perlakuan tersebut telah sempurna berkecambah dengan skor 6 yang ditandai dengan telah tumbuh tunas dan akar, serta siap ditumbuhkan pada media perpanjangan tunas dan akar. Sedangkan pada perlakuan A5 dan A6, embrio berakar pada minggu ke-7 yang menunjukkan respon embrio terhadap media kultur lambat (Tabel 1). Hasil perbandingan pertumbuhan planlet hasil kultur embrio zigotik hibrida pada berbagai perlakuan media setelah 4 minggu kultur ditampilkan pada Gambar 3.

Tabel 1. Perkecambahan embrio pada perlakuan media yang berbeda.

Table 1. Embryo germination in different medium.

Perlakuan	Skor perkecambahan embrio zigotik minggu ke- Alves <i>et al.</i> (2011a)			
	I (skor 2-4)	IV (skor 5-6)	VII (skor 5-6)	IX (skor 5-6)
A1= M129	v	v	+	+
A2= M129+CA	v	v	+	+
A3= M129+CA+S	v	v	+	+
A4= ½M129+CA+S	v	v	+	+
A5= M129+GA <sub>3</sub>	v	-	v	+
A6= M129+GA <sub>3</sub> +NAA	-	-	v	+

Keterangan: CA= karbon aktif; S= sukrosa; √ = terdapat perkembangan sesuai skor yang ada pada tiap kolom; - = tidak terdapat perkembangan sesuai skor yang ada pada tiap kolom; + = perkecambahan telah sempurna dan siap dipindahkan ke media perakaran.

Note: CA= activated charcoal; S= sucrose; √ = development based on the score in each column; - = no development based on the score in each column; + = complete development and ready to be transferred to rooting medium.



Gambar 3. Perkembangan embrio semua perlakuan pada 4 minggu setelah tanam

Figure 3. Development of zygotic embryos in 4 weeks after planting



Tabel 2. Panjang akar dan tunas kecambah hasil kultur embrio zigotik umur 4 minggu setelah berkecambah.  
Table 2. Seedling root and shoots length of zygotic embryo culture 4 weeks after germination.

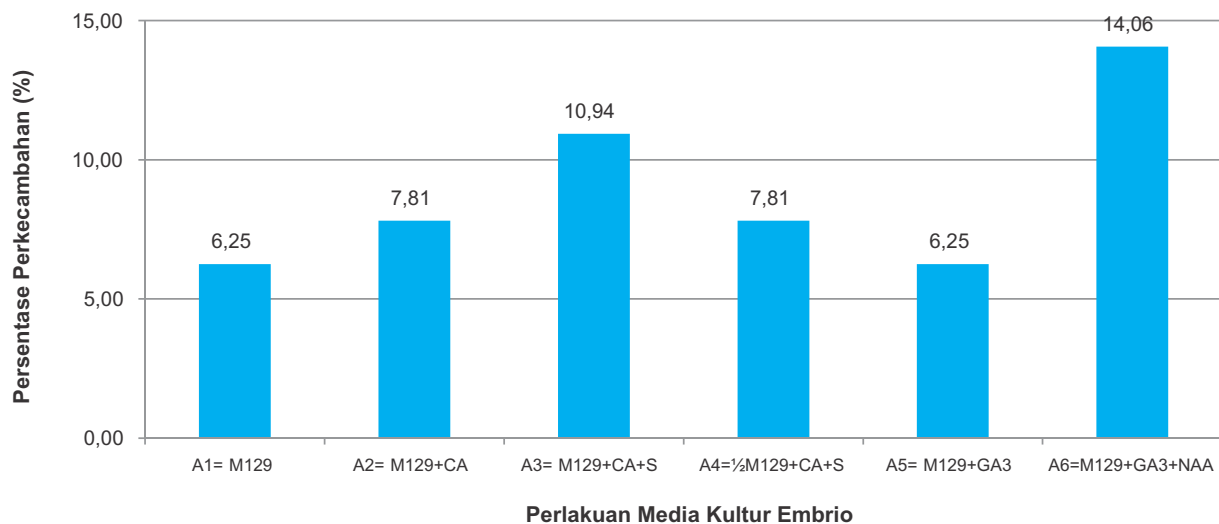
Perlakuan	Rerata Panjang (cm)	
	Akar	Tunas
A1= M129	0,72 b	1,10 a
A2= M129+CA	1,48 a	1,08 a
A3= M129+CA+S	1,02 ab	1,24 a
A4= ½M129+CA+S	1,33 a	0,97 a
A5= M129+GA3	0,70 b	1,18 a
A6= M129+GA3+NAA	0,73 b	1,15 a

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan berdasarkan uji Duncan.

Note :number followed by the same word in the same column were not significantly different using Duncan test.

Rerata panjang tunas kecambah pada 4 minggu setelah berkecambah menunjukkan hasil tidak berbeda nyata antar perlakuan. Perbedaan yang nyata yaitu pada pengamatan panjang akar, akar terpanjang dihasilkan pada perlakuan A2 yaitu 1,48 cm yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan A3, dan A4, namun berbeda nyata dengan perlakuan A1, A5 dan A6 dengan panjang akar kurang dari 1 cm (Tabel 2).

Selain media yang mendukung embrio berkecambah dengan cepat, persentase perkecambahan benih menjadi parameter penting dalam menentukan media yang baik untuk kultur embrio. Setelah 7 minggu kultur, persentase perkecambahan benih tertinggi dicapai pada perlakuan A6 yaitu 14,06% diikuti perlakuan A3 yaitu 10,94% (Gambar 4). Persentase terendah pada perlakuan A1 dan A5 dengan persentase perkecambahan hanya 6,25%.



Gambar 4. Persentase perkecambahan embrio klon OG hybrid open pollinated pada berbagai media kultur.  
Figure 4. OG hybrid zygotic embryo culture germination rate in different culture medium.



### Pengaruh penambahan ZPT, karbon aktif, dan sukrosa pada media perkecambahan kultur embrio terhadap pertumbuhan dan perkembangan planlet

Setelah embrio berkecambah sempurna, dilanjutkan dengan perkembangan tunas dan akar pada media penuaan tunas dan akar untuk menghasilkan planlet yang dapat diaklimatisasi. Hasil analisis pada beberapa variabel pengamatan vegetatif planlet ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil pengamatan jumlah daun menunjukkan bahwa jumlah daun terbanyak diperoleh dari perlakuan A5 dan A6 sebanyak 3 helai daun dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Pada variabel

pengamatan tinggi tanaman menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan yaitu antara 7-10 cm, kecuali perlakuan A4 yang menghasilkan planlet terpendek yaitu hanya 6,15 cm. Diameter batang menunjukkan tidak berbeda nyata pada semua perlakuan, sedangkan jumlah akar primer menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan. Perlakuan A6 menghasilkan jumlah akar terbanyak yaitu 4 akar primer, tidak berbeda nyata dengan perlakuan A5 dan A1 yang masing-masing menghasilkan 3 akar primer, namun ketiga perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 3, Gambar 5).

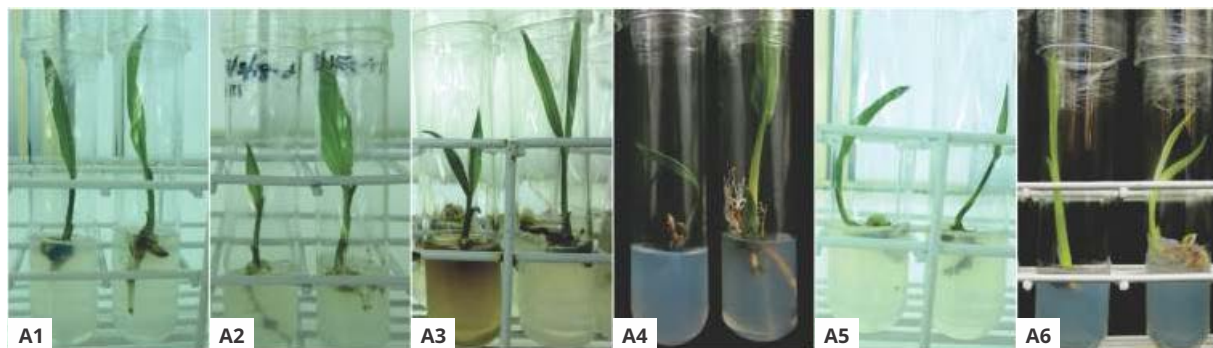
Tabel 3. Pengamatan vegetatif planlet hasil kultur embrio zigotik OG hybrid sebelum di aklimatisasi (umur 3 bulan di media perkembangan tunas dan akar).

Table 3. Vegetative plantlets performance of OG hybrid zygotic embryo before acclimatization (3 months on shoot and rooting medium).

Perlakuan	Pengamatan			
	JD	TT	DB	JAP
A1= M129	2,00 b	10,20 a	0,21 a	2,50 ab
A2= M129+CA	1,67 b	8,20 ab	0,28 a	1,00 b
A3= M129+CA+S	2,00 b	7,71 ab	0,21 a	0,71 b
A4= ½M129+CA+S	1,75 b	6,15 b	0,22 a	1,25 b
A5= M129+GA <sub>3</sub>	3,25 a	9,85 a	0,18 a	3,00 ab
A6= M129+GA <sub>3</sub> +NAA	3,33 a	10,77 a	0,16 a	4,33 a
CV	23,13	23,81	33,20	85,40

Keterangan: JD= jumlah daun; TT: tinggi (cm); DB= diameter batang(cm); JAP: jumlah akar primer. Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan berdasarkan uji Duncan.

Note: JD= number of leaves; TT: height (cm); DB= stem diameter (cm); number followed by the same word in the same column were not significantly different using Duncan test.



Gambar 5. Planlet hasil kultur embrio zigotik OG hybrid pada perlakuan media yang berbeda.

Figure 5. Plantlets of OG hybrid zygotic embryos in different culture medium.

### Pengaruh Perlakuan Media Perkecambahan Embrio Zigotik *OG Hybrid* Terhadap Pertumbuhan Planlet Pasca Aklimatisasi

Pertumbuhan planlet pasca aklimatisasi yaitu fase ramet dan PN menunjukkan hasil yang hampir sama. Jumlah daun ramet dan PN pada perlakuan A6 adalah yang terbanyak, tidak berbeda nyata dengan perlakuan A1 dan A5, namun berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Selain itu, perlakuan A4 menghasilkan jumlah daun paling sedikit. Pada variabel pengamatan tinggi tanaman menunjukkan perlakuan A6 menghasilkan ramet dan bibit PN dengan tinggi tanaman tertinggi berturut-turut 12,00 cm dan 12,70 cm, tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, kecuali perlakuan A4 yang menghasilkan tanaman terpendek yaitu 6,30 cm dan 6,82 cm. Diameter batang planlet terbesar yaitu 0,26 cm di fase ramet dan 0,29 cm di fase PN pada perlakuan A2, tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya namun berbeda nyata dengan perlakuan A6 yang menghasilkan diameter batang terkecil baik di fase ramet maupun PN yaitu 0,14 cm dan 0,16 cm (Tabel 4).

### Pengaruh Penambahan ZPT, Karbon Aktif, dan Sukrosa pada Media Kultur Terhadap Perkecambahan dan Perkembangan Planlet Embrio Zigotik *OG Hybrid*

Secara keseluruhan hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan media kultur mampu menghasilkan planlet dari kultur embrio zigotik *OG hybrid* kelapa sawit. Persentase perkecambahan *OG hybrid* secara *in vitro* terbaik dihasilkan pada perlakuan A6 yaitu sebesar 14,06%. Jika dibandingkan dengan perkecambahan konvensional, hasil perkecambahan kultur embrio *OG hybrid* ini masih tergolong rendah. Berdasarkan hasil penelitian Maquine *et al.* (2014) persentase perkecambahan benih kelapa sawit *OG hybrid* menggunakan metode konvensional hanya 38,99%-52,98%. Persentase perkecambahan benih ini masih tergolong rendah, karena jika melihat hasil uji sampel viabilitas lot benihnya yang mencapai 79,41% (Gambar 1), benih ini memiliki potensi untuk berkecambah dengan persentase yang lebih besar.

Perkecambahan secara *in vitro* yang rendah dapat diakibatkan karena beberapa faktor diantaranya proses sterilisasi eksplan serta kondisi lingkungan

Tabel 4. Pengamatan vegetatif ramet dan *pre nursery* (PN) hasil kultur embrio zigotik *OG hybrid*.

Table 4. Vegetative performance of *OG hybrid* embryo zygotic ramet and *pre nursery* (PN).

Perlakuan	Ramet			PN		
	JD	TT	DB	JD	TT	DB
A1= M129	3,00 ab	10,85 a	0,19 ab	3,00 ab	11,15 a	0,22 ab
A2= M129+CA	2,33 bc	9,40 ab	0,26 a	2,33 b	9,56 ab	0,29 a
A3= M129+CA+S	2,57 bc	9,52 ab	0,20 ab	2,50 b	10,55 ab	0,23 ab
A4= ½M129+CA+S	1,75 c	6,30 b	0,25 ab	2,00 b	6,82 b	0,25 ab
A5= M129+GA <sub>3</sub>	2,75 ab	9,75 ab	0,16 ab	3,75 a	10,32 ab	0,19 ab
A6= M129+GA <sub>3</sub> +NAA	3,5 a	12,00 a	0,14 b	4,00 a	12,70 a	0,16 b
CV	20,56	25,16	29,04	20,37	22,59	25,63

Keterangan: JD= jumlah daun; TT: tinggi (cm); DB= diameter batang(cm); huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan berdasarkan uji Duncan.

Note: JD= number of leaves; TT: height (cm); DB= stem diameter (cm); number followed by the same word in the same column were not significantly different using Duncan test.





kultur yang belum optimal. Benih dapat berperan sebagai pembawa patogen penyebab kontaminasi yang berupa cendawan, bakteri, virus, dan nematode. Patogen dapat mempertahankan diri dalam bentuk miselium atau bentuk lainnya dalam embrio, kulit maupun permukaan benih (Abdelmonem dan Rasmi, 2003). Teknik sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan alkohol dan *calcium hypochlorite* yang merupakan bahan sterilan untuk sterilisasi permukaan, sehingga apabila sumber kontaminan berasal dari dalam embrio maka sterilisasi permukaan menjadi kurang optimal.

Dari segi persentase perkecambahan, perlakuan A6 menghasilkan persentase perkecambahan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Gambar 4), namun kecepatan berkecambah yang paling lambat (Tabel 1, Gambar 3). Persentase perkecambahan yang tinggi disebabkan oleh penambahan zat pengatur tumbuh pada media yang berupa giberelin dan auksin NAA, pemberian ZPT secara tunggal maupun kombinasi berperan positif terhadap perkecambahan (Oliveira *et al.*, 2013). Penggunaan GA<sub>3</sub> maupun NAA telah diteliti untuk kultur embrio kelapa sawit Dura (Suranthran *et al.*, 2011), dan GA<sub>3</sub> juga digunakan untuk perkecambahan tanaman palmae lainnya diantaranya *macaw palm* (*Acrocomia aculeate* Jacq.) (Junior *et al.*, 2013) dan *acai palm* (*Euterpe oleraceae* Mart.) (Oliveira *et al.*, 2013), serta *kentia palm* (*Howea forsteriana*) (Chin *et al.*, 1988). Gardner *et al.* (1991), mengemukakan bahwa benih dari beberapa spesies responsif terhadap GA<sub>3</sub> eksogen karena kandungan GA<sub>3</sub> endogennya yang rendah. GA<sub>3</sub> berperan dalam merangsang perkembangan embrio dan meningkatkan perkecambahan benih kelapa sawit karena adanya mekanisme substitusi cahaya dan kelembaban, produksi hidrolase yang melemahkan struktur lapisan benih dalam pemecahan dormansi benih, serta merupakan ZPT yang penting dalam mengontrol perkecambahan benih secara alami (Copeland dan Mc Donald, 2001).

Hasil penelitian penambahan GA<sub>3</sub> pada perkecambahan embrio kelapa genjah juga menunjukkan hasil yang sama dengan hasil penelitian ini, bahwa semakin tinggi konsentrasi GA<sub>3</sub> menghasilkan persentase perkecambahan tertinggi dan berbanding terbalik dengan kecepatan berkecambahnya (Abdurahman *et al.*, 2012).

Kecepatan berkecambah yang lambat dengan adanya penambahan GA<sub>3</sub> menyebabkan parameter panjang akar pada perlakuan A5 dan A6 menghasilkan akar yang pendek pada fase perkecambahannya. Hal ini juga terjadi pada perlakuan A1 media M129, sehingga dapat dikatakan parameter panjang akar lebih dipengaruhi oleh penambahan karbon aktif dan gula secara tunggal maupun kombinasinya (Tabel 2).

Selain itu hasil penelitian Samarina *et al.* (2010), penggunaan GA<sub>3</sub> yang dikombinasikan dengan NAA dan BAP konsentrasi rendah mampu meningkatkan morfogenesis lemon, kombinasi NAA dan GA<sub>3</sub> pada kultur embrio kelapa sawit Dura mampu berperan dalam meningkatkan inisiasi tunas dan regenerasinya (Suranthran *et al.*, 2011). Oleh karena itu, perlakuan A6 yaitu penambahan GA<sub>3</sub>+NAA tanpa penambahan karbon aktif memiliki persen perkecambahan tinggi namun proses perkecambahannya mengalami waktu yang lambat jika dibandingkan dengan keempat perlakuan lainnya yang mulai bertunas pada minggu ke-4 dan berakar pada minggu ke-7 (Tabel 1 dan Gambar 3).

Adanya penambahan karbon aktif dan gula berupa sukrosa sebagai sumber karbon, mampu mempercepat perkecambahan benih klon OG hybrid open pollinated secara *in vitro*. Penambahan sukrosa sebagai sumber karbon segera dirombak menjadi glukosa dan segera digunakan embrio untuk berkecambah, sedangkan karbon aktif berfungsi dalam menyerap senyawa fenol dari hasil oksidasi jaringan eksplan yang baru saja ditanam, sehingga mengurangi stres pada jaringan sehingga proses perkecambahan lebih cepat. Hilae dan Te-chato (2005) menyatakan penambahan gula pada media kultur jaringan juga berperan sebagai regulasi osmotik dari stress kehilangan air pada kultur. Menurut Padua *et.al* (2014), penambahan sukrosa menghasilkan perkecambahan embrio zigotik *E. guineensis* yang baik, menghasilkan panjang akar terpanjang pada *rescue* embrio zigotik OG hybrid kelapa sawit (Angelo *et al.*, 2011). Pada kultur embrio zigotik tanaman *palm heart* (*Euterpe edulis*), penambahan sukrosa juga mampu meningkatkan persentase perkecambahan benih (Saldanha dan Martins-Corder, 2011). Sehingga dengan adanya penambahan sukrosa, karbon aktif, maupun kombinasi keduanya mengakibatkan perkecambahan embrio zigotik hibrida menjadi lebih cepat dan akar planlet panjang dan berbeda nyata dengan perlakuan penambahan ZPT.

Selain persentase perkecambahan secara *in vitro* yang paling tinggi dalam penelitian ini, pertumbuhan planlet *OG hybrid* pada media selanjutnya yaitu media pendewasaan planlet menunjukkan pertumbuhan vegetatif pada perlakuan A5 dan A6 yang menghasilkan jumlah daun dan jumlah akar primer terbanyak dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan A6 menghasilkan jumlah akar primer dan jumlah daun terbanyak dibandingkan perlakuan lainnya (Tabel 3). Hasil penelitian pada tanaman *red pine* (*Pinus brutia* Ten.) dan *arbor vitae* (*Thuja orientalis* L.) menunjukkan pertambahan jumlah akar tertinggi dengan adanya penambahan  $GA_3$  (Kabar, 1998). Selain itu,  $GA_3$  yang digabung dengan sitokinin atau auksin berperan dalam memberikan efek stimulasi diferensiasi tunas yang sangat bagus (Thorpe, 1981), berpengaruh nyata pada parameter jumlah akar namun tidak memberikan efek pada parameter panjang tunas (Rahmawati, 2008). Oleh karena itu, pada parameter pengamatan tinggi tanaman memberikan hasil tidak berbeda nyata, begitu pula pada parameter diameter batang, dan jumlah akar kecuali jumlah akar primer (Tabel 3).

Efek penambahan zat pengatur tumbuh berupa NAA dan  $GA_3$  pada media kultur juga berdampak pada pertumbuhan vegetatif klon hibrida di fase ramet dan PN. Pada kedua fase tersebut jumlah daun pada perlakuan A6 paling tinggi, namun diameter batang yang dihasilkan paling rendah dibandingkan perlakuan lainnya (Tabel 4). Hasil penelitian Lestari *et al.* (2008) menunjukkan aplikasi  $GA_3$  pada bibit tanaman berperan meningkatkan jumlah daun. Penambahan  $GA_3$  yang mengakibatkan laju pertambahan jumlah daun menjadi tinggi, mengakibatkan pertumbuhan terkonsentrasi pada pertambahan jumlah daun, sehingga dimungkinkan nutrisi untuk perkembangan batang menjadi lebih rendah. Jumlah daun yang tinggi pada fase planlet, ramet, maupun PN bermanfaat dalam proses fotosintesis untuk kecukupan nutrisi tanaman bagi pertumbuhan saat bibit klon sudah tidak mendapatkan asupan nutrisi dari media kultur jaringan lagi.

## KESIMPULAN

$GA_3$  serta NAA yang ditambahkan pada media berperan aktif dalam meningkatkan persentase perkecambahan secara *in vitro* dan menghasilkan planlet klon *OG hybrid open pollinated* kelapa sawit

dengan kualitas vegetatif planlet yang baik, dibandingkan dengan penambahan gula dan karbon aktif. Media terbaik untuk kultur embrio klon *OG hybrid open pollinated* kelapa sawit yaitu Media 129 dengan penambahan  $GA_3$  + NAA. Walaupun demikian masih perlu dilakukan penelitian lanjutan agar sterilisasi embrio dapat dilakukan lebih optimal sehingga tingkat kontaminasi dapat ditekan serendah mungkin dan persentase embrio berkecambah dapat ditingkatkan hingga mendekati potensinya yang mencapai 79% (hasil uji tetrazolium).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman, M.N., M. Nikmah, dan P. Wawan. 2012. Pengaruh giberelic acid terhadap perkecambahan embrio kelapa genjah salak. JATT 1(2), Agustus 2012: 74-80.
- Abdelmonem, A.M. and M.R. Rasmi. 2003. Survey of seed-borne diseases of wood trees in Egypt, in Proceedings of the ISTA Forest Tree and Shrub Seed Committee Workshop. Published by Forestry and Game Management Research Institute Jiloviste-Strnady, CR and Forestry Commision Research Agency, UK. <https://www.seedtest.org/upload/cms/user/FTS.pdf>. Diakses 8 Juni 2016.
- Acton, Q. Ashton. 2013. Issues in agricultural research, 2013 Edition. Published by Scholarly Edition, Atlanta, Georgia. Halaman 40-41.
- Alves, S.A.O., O.F. De Lemos, B. Gomes, and A. Luís. 2011a. In vitro embryo rescue of interspecific hybrids of oil palm (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*). Journal of Biotechnology and Biodiversity, 2(May):1-6.
- Alves, S.A.O., O.F. De Lemos, B. Gomes, and A. Luís. 2011b. In vitro protocol optimization for development of interspecific hybrids of oil palm (*Elaeis oleifera* (H.B.K) Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq.). Journal of Biotechnology and Biodiversity, 2(August):1-6.
- Angelo, P.C da Silva, L.A.C. Moraes, R. Lopes, N.R. Sousa, R.N.V da Cunha, and R.C. Quisen. 2011. In vitro rescue of interspecific embryos from *Elaeis guineensis* x *E. oleifera*. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol) 59(3):1081-1088.



- Barba, J. and Y.M.L. Baquero. 2014. Genetic diversity of oil palm: a source for ecological intensification of oil. In 4<sup>th</sup> International Conference on Oil Palm and Environment (ICOPE). The Stones Hotel-Legian Bali, 12-14 Februari 2014.
- Barcelos, E., S.A. Rios, N.V. Raimundo, R. Lopes, S.Y. Motoike, E. Babychuk, A. Skirycz, and S. Kushnir. 2015. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Frontiers in plant science*, 6(March), p.190.
- Chin, H.F., B. Krishnapillay, and Z.C. Alang. 1988. Breaking Dormancy in Kentia Palm Seeds by Infusion Technique. *Pertanika*, 11(1), pp.137–141.
- Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 2001. Principles of seed science and technology. Fourth edition. Kluwer Academic Publishers. Boston, London.
- Ernayunita dan H.Y. Rahmadi. 2015. Peran NAA dan jumlah pupus dalam induksi akar planlet kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 23(1):1-8.
- Fondom, N.Y., C.E. Etta, and A.M. Mih. 2010. Breaking seed dormancy: Revisiting heat-treatment duration on germination and subsequent seedling growth of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) progenies. *Journal of Agricultural Science*, 2(2), 101–110.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991. Fisiologi tanaman budidaya. UI-Press. Jakarta. 426 hal.
- Harahap, I.Y. 2010. Formulasi media kultur jaringan. Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan. Tidak Dipublikasikan.
- Hidayat, T.C., A.N. Simamora, E. Nazhri, dan I.Y. Harahap. 2011. Aklimatisasi planlet kultur jaringan kelapa sawit. Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit (PTKS) 2011: Kiat Mencapai '35-26' Industri Kelapa Sawit Indonesia. Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan.
- Hilae, A. and S. Te-chato. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 27(August 2005), pp.529–635.
- Hormaza, P., E.M. Fuquen, dan H.M. Romero. 2012. Phenology of the oil palm interspecific hybrid *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*, (August), 275–280.
- Junior, A.G.R., T.G.S. Oliveira, P.P. de Souza, and L.M. Rebeiro. 2013. Water uptake and pre-germination treatments in macaw palm (*Acrocomia aculeata*-Arecaceae) seeds. *Journal of Seed Science*, 35(1), pp.99–105.
- Kabar, K. 1998. Comparative effects of kinetin, benzyladenine, and gibberellic acid on abscisic acid inhibited seed germination and seedling growth of red pine and arbor vitae. *Tr.J.of Botany* 22(1998):1-6.
- Lestari, G.W., Solichatun, dan Sugiyarto. 2008. Pertumbuhan, kandungan klorofil, dan laju respirasi tanaman garut (*Marantha arundinacea* L.) setelah pemberian asam giberelat (GA<sub>3</sub>). *Bioteknologi*, 5(1), pp.1–9.
- Martine, B. M., K.K. Laurent, B.J. Pierre, K.T. Hilaire, and K.Y. Justin. 2009. Effect of storage and heat treatments on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*, 4(10), 931–937.
- Maquiné, T.M., A.Q. Cysne, W. Antônio, and A. De. Lima. 2014. Germination of seeds of Interspecific Hybrid Caiuê x oil palm submitted to the mechanical depulping. *American Journal of Plant Sciences*, 5(September), 2965–2972.
- Rahmadi, H.Y., Y. Yenni, N. Supena, Sujadi, Ernayunita, R. Faizah, S. Wening, dan A.R. Purba. 2014. Progress of *Elaeis oleifera* breeding in IOPRI. International Oil Palm Conference (IOPC) "Agricultural and Biotechnology, Product Development and Process Technology, Sosial Economic and Environment". Bali Nusa Dua, 17-19 Juli 2013.
- Oliveira, T.G.S., G.R.J. Ailton, Patrícia P. de Souza, and M.R. Leonardo 2013. Use of phytohormones in overcoming macaw palm seed dormancy. *Acta Scientiarum. Agronomy Maringa*, 35(4), pp.505–511.



- Pádua, M.S., L.V. Paiva, M.F. Pires, L.G.D.S. Texeira, E.M.D. Castro, and V.C. Stein. 2014. Influence of culture medium and age of zygotic embryos on in vitro germination of *Elaeis guineensis* Jacq. *African Journal of Biotechnology*, 13(14), pp.1515–1523.
- Rahmawati, M.S. 2008. Pengaruh BAP dan GA<sub>3</sub> terhadap perkecambahan *Heliconia caribaea* Lam. secara in vitro. Skripsi IPB. [http://repository.ipb.ac.id/bitstream/123456789/2450/1/A08msr\\_abstract.pdf](http://repository.ipb.ac.id/bitstream/123456789/2450/1/A08msr_abstract.pdf) (Diakses 11 Juni 2016).
- Saldanha, C.W. and M.P. Martins-corder. 2012. In vitro germination and embryogenic competence acquisition of *Euterpe edulis* Martius immature zygotic embryos. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12(2012), pp.171–178.
- Samarina, L.S., T.M. Kolomiets, E.N. Baranova, and E.S. Arutyunova. 2010. Regeneration and micropropagation of lemon cultivars in vitro from nodal explants. *Russ. Agric. Sci.* 36: 417-420.
- Suranthran, P., U.R. Sinniah, S. Subramaniam, M.A. Aziz, N. Romzi, and S. Gantait. 2011. Effect of plant growth regulators and activated charcoal on in vitro growth and development of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Dura) zygotic embryo. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), 10600–10606.
- Thorpe, T.A. 1981. Plant tissue culture methods and applications in agriculture. Academic Press, Inc. Orlando, Florida.