

KONSERVASI SUMBER DAYA GENETIK PISIFERA: KALOGENESIS KELAPA SAWIT KETURUNAN SP540T YANG BERUMUR 41 TAHUN *CONSERVATION OF PISIFERA GENETIC RESOURCES: CALLOGENESIS OF 41 YEARS OLD SP540T - DERIVED OIL PALM*

Ernayunita*, Sri Wening, Hernawan Y Rahmadi, Yurna Yenni, dan Taryono¹

Abstrak Kelapa sawit turunan SP540T telah banyak digunakan untuk tujuan pemuliaan maupun produksi komersial varietas unggul kelapa sawit. Oleh karena itu, konservasi sumber daya genetik SP540T sangat diperlukan, salah satunya melalui kultur jaringan yang dapat menghasilkan tanaman yang *true to type*. Media kultur jaringan yang digunakan dalam penelitian ini adalah modifikasi MS diantaranya media MS+110,5 mg/l 2,4-D, media MS+110,5 mg/l 2,4-D+karbon aktif, dan media MS modifikasi Protokol Kultur Jaringan PPKS sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan pembentukan kalus primer dan sekunder terbaik teramati pada perlakuan MS+110,5 mg/l 2,4D+karbon aktif yaitu sebesar 13,00% dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Berdasarkan hasil penelitian ini, media tersebut dapat digunakan untuk perbanyakan maupun konservasi sumber daya genetik SP540T.

Kata kunci: Pisifera SP540T, konservasi sumber daya genetik, media induksi kalus, kelapa sawit

Abstract *Pisifera from SP540T descendants has been widely used for breeding purposes and commercial seed production due to their superior characteristics. However, the reproduction rate of this material was*

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Ernayunita* (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamsno No. 51 Medan 20158
Email: ohoney.erna@gmail.com; ernayunita_25@yahoo.com

¹Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta

quite low. Therefore, genetic resource conservation of SP540T-derived Pisifera is very important. Tissue culture technology which enables to produce true to type clone is one of the conservation methods. The objective of this work was to know the best tissue culture medium to induce callogenesis of SP540T-derived Pisifera. This experiment used young leaves as the explants and MS medium in the form of MS+110,5 mg/l 2,4-D, MS+110,5 mg/l 2,4-D+activated charcoal, and MS modification of PPKS's Tissue Culture Protocol medium as a comparison. The results showed that MS+110,5 mg/l 2,4-D+activated charcoal produced 13.00% calli, which was the highest percentage of callogenesis and was significantly different than the other treatments. Based on the results, the medium can be used for multiplication and conservation of Pisifera from SP540T descendants

Keywords: *Pisifera SP540T, germplasm conservation, callogenesis medium, oil palm*

PENDAHULUAN

Sumber daya genetik merupakan salah satu kunci utama dalam kegiatan pemuliaan tanaman karena dari keanekaragaman sumber daya genetik dapat dibentuk suatu populasi tertentu dan diseleksi untuk mendapatkan tetua terpilih. Varietas unggul kelapa sawit saat ini merupakan persilangan antara tetua Dura dan Pisifera terpilih hasil eksploitasi dari koleksi sumber daya genetik dari berbagai latar belakang genetik dan pengujian keturunan yang berkesinambungan. Oleh karena itu, konservasi sumber daya genetik sangat penting dilakukan.

Kelapa sawit jenis Pisifera khususnya keturunan SP540T merupakan sumber polen unggul dalam pemuliaan kelapa sawit yang wajib dikonservasi. Pisifera keturunan SP540T menghasilkan tandan buah segar 3% lebih besar dibandingkan dengan Pisifera keturunan AVROS famili 1391. Salah satu keturunan SP540T yang populer digunakan dalam berbagai program pemuliaan yaitu AVROS melalui persilangan Deli x AVROS (Noh et al., 2012; Corley dan Tinker, 2015).

Konservasi sumber daya genetik kelapa sawit dapat dilakukan secara konvensional dan non konvensional. Konservasi Pisifera secara konvensional dengan menggunakan biji (*seed bank*) jarang dilakukan karena sulitnya melakukan persilangan sendiri dan rendahnya keberhasilan pembentukan benih (Corley dan Tinker, 2013). Dengan demikian, alternatif konservasi yang dapat dilakukan adalah konservasi non konvensional salah satunya melalui teknologi kultur jaringan.

Konservasi sumber daya genetik dengan kultur jaringan mampu menghasilkan tanaman yang memiliki sifat yang sama dengan tanaman sumber eksplannya. Namun, konservasi secara kultur jaringan sangat bergantung pada regenerasi setelah konservasi yang dipengaruhi oleh media kultur yang digunakan yang mampu menginduksi dan memperbanyak kalus sebagai modal awal perbanyakan untuk menghasilkan planlet. Kajian kultur jaringan kelapa sawit jenis Pisifera sangat terbatas, karena Pisifera yang

digunakan sebagai induk jantan tidak diperbanyak secara massal walaupun perannya sangat penting. Kalogenesis Pisifera dari eksplan embrio zigotik dilaporkan oleh Nwanko dan Krikorian (1983) dan Latif (1992) dengan hasil kalogenesis yang rendah hanya 2,95%.

Tantangan lain dalam konservasi sumber daya genetik khususnya koleksi Pisifera biasanya umur tanaman yang sudah sangat tua. Soh et al. (2011) menyatakan umur ideal kelapa sawit yang digunakan untuk sumber eksplan adalah 5-10 tahun. Meskipun terdapat perbedaan umur pohon sumber eksplan yang digunakan, namun untuk keperluan konservasi hal ini tetap perlu dilakukan. Oleh karena itu, perlu penelitian untuk mengetahui media kultur jaringan untuk konservasi sumber daya genetik kelapa sawit khususnya Pisifera dari turunan SP540T.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Kebun Aek Pancur, Sumatera Utara untuk pengambilan sumber eksplan dan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Marihat, Sumatera Utara untuk proses konservasi secara kultur jaringan. Sumber eksplan diambil dari pohon koleksi Pisifera terpilih yang merupakan keturunan SP540T yang ditanam pada 1973 di Kebun Aek Pancur. Saat pengambilan sumber eksplan tanaman sudah berusia lanjut yaitu 41 tahun, sehingga pengambilan sumber eksplan



Gambar 1. Pengambilan sumber eksplan dari Pisifera keturunan SP540T: a). Penentuan pohon ortet; b). pemotongan pohon ortet; c). pemangkasan pelepah tua; d). pemotongan sumber eksplan berupa daun muda.

Figure 1. Extraction of explant sources from Pisifera derived SP540T: a). Determination of ortet tree; b). cutting the ortet tree; c). pruning of old fronds; d). cutting the source of explants in the form of young leaves.

dilakukan dengan proses penumbangan pohon (Gambar 1).

Bahan lain yang digunakan yaitu media kultur jaringan berbasis MS (Murashige dan Skoog, 1962), bahan sterilisasi eksplan, dan bahan-bahan yang digunakan untuk penanaman eksplan. Bahan sterilisasi eksplan yang digunakan adalah larutan hipoklorit 1% dan untuk sterilisasi alat menggunakan alkohol 70%. Alat yang dibutuhkan yaitu peralatan pengambilan ortet diantaranya parang, *chainsaw*, tali tambang, dan tabung alumunium untuk tempat penyimpanan sumber eksplan. Selain itu juga alat yang digunakan di laboratorium untuk penanaman eksplan yaitu *scalpel*, *petridish*, *Laminar Air Flow* (LAF), bunsen, pinset, plakon, *testube*, rak kultur, *plastic wrap*, ruang kultur dengan kondisi suhu $\pm 26^{\circ}\text{C}$ - 27°C dan kelembaban 60%-80%, alat tulis, timbangan analitik digital merk Sartorius, kamera Canon G16, dan mikroskop stereo Olympus tipe GX21.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan perlakuan yaitu perbedaan komposisi media induksi kalus. Media kultur jaringan yang digunakan yaitu media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang dimodifikasi dengan penambahan auksin dan karbon aktif dan media MS modifikasi Protokol Kultur Jaringan PPKS (Harahap, 2010) sebagai pembanding, sehingga membentuk 3 perlakuan yaitu M1 = MS modifikasi Protokol Kultur Jaringan PPKS (tanpa

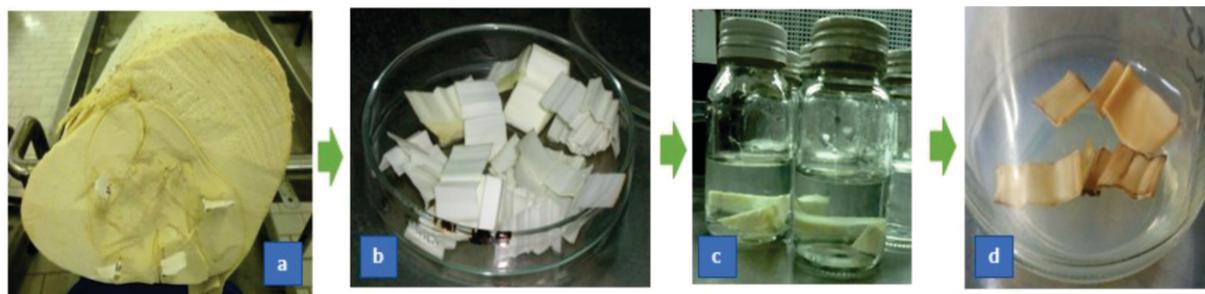
karbon aktif), M2= MS + 110,5 mg/l 2,4-D tanpa karbon aktif, dan M3= MS + 110,5 mg/l 2,4-D + karbon aktif. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali dengan masing-masing ulangan terdiri dari 20 botol kultur dan 4 eksplan tiap botolnya. Potongan eksplan daun yang digunakan berukuran 1x1 cm.

Sterilisasi eksplan menggunakan larutan hipoklorit 1% selama 10 menit. Setelah itu dilanjutkan dengan perendaman di dalam larutan gula selama 30 menit yang berfungsi untuk menyegarkan kembali eksplan setelah sterilisasi. Tahap selanjutnya, eksplan ditanam pada media kultur sesuai perlakuan yang dilakukan dengan kondisi aseptis di dalam LAF (Gambar 2). Eksplan yang sudah ditanam pada media sesuai perlakuannya kemudian diinkubasi di ruang kultur dalam kondisi tanpa cahaya untuk induksi kalus selama 12 bulan. Kalus yang terbentuk kemudian disubkultur pada media multiplikasi kalus protokol kultur jaringan PPKS (Harahap, 2010) dengan interval setiap 3 bulan hingga 3 kali subkultur.

Pengamatan dilakukan terhadap variabel jumlah dan persentase kultur yang mampu menghasilkan kalus primer, lamanya waktu muncul kalus primer, bentuk kalus, warna dan sifat kalus, serta berat kalus primer dan sekunder. Persentase pembentukan kalus primer dan mutiplikasi kalus sekunder menggunakan perhitungan:

Analisis data hasil pengamatan menggunakan analisis

$$\text{Persentase pembentukan kalus} = \frac{\text{jumlah kalus (plakon)}}{\text{total seluruh kultur (plakon)}} \times 100\%$$



Gambar 2. Proses persiapan eksplan: a). daun muda kelapa sawit; b). potongan eksplan daun kelapa sawit; c). sterilisasi eksplan dalam larutan hipoklorit; d). penanaman eksplan pada media kultur jaringan.

Figure 2. Explant preparation process: a) young oil palm leaves; b). pieces of oil palm leaves explant; c). explants sterilization in hypochlorite soluble; d). explants inoculation in tissue culture media

varian, dan apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut beda rerata menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* dengan taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan kalus pada tiap perlakuan yang diuji menghasilkan tanggapan yang berbeda-beda. Hasil pengamatan menunjukkan waktu pembentukan kalus setelah 5 bulan dihasilkan dari perlakuan M3. Perlakuan M1 membutuhkan waktu induksi kalus primer yang lebih lama dibandingkan perlakuan M3 yaitu 6 bulan dan pada perlakuan M2 tidak mampu menghasilkan kalus (Tabel 1). Waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan kalus pada perlakuan M3 tergolong cepat yaitu hanya 5 bulan. Kalus primer dari eksplan daun kelapa sawit terbentuk setelah 7 bulan tanam di media MS modifikasi (Yusnita dan Hapsoro, 2011) dan 9-10 bulan (Constantin *et al.*, 2015).

Lamanya waktu pembentukan kalus primer dari eksplan yang ditanam sangat dipengaruhi oleh komposisi media kultur jaringan yang digunakan. Semakin sesuai komposisi media yang digunakan akan semakin cepat eksplan menunjukkan tanggapan terhadap media yang dimulai dengan bentuk eksplan yang berubah mengembang, timbul kerutan, dan pada akhirnya menghasilkan kalus primer (Gambar 3). Semakin cepat eksplan membentuk kalus semakin baik, karena dapat mempercepat proses kultur jaringan, juga dapat memperkecil abnormalitas. Semakin lama kultur menghasilkan kalus, maka paparan eksplan terhadap media kultur juga semakin lama sehingga dapat memungkinkan terjadinya abnormalitas klon yang sangat dihindari dalam proses kultur jaringan kelapa sawit (Pratiwi *et al.*, 2020). Weckx *et al.* (2019) menyatakan eksplan yang berasal dari daun muda memiliki tingkat diferensiasi yang tinggi dan lebih rentan terjadi variasi somaklonal.

Kalus primer yang dihasilkan pada perlakuan M3, selain cepat menghasilkan kalus, juga mampu memberikan persentase pembentukan kalus tertinggi. Persentase pembentukan kalus primer tertinggi yang dihasilkan dari perlakuan M3 yaitu mencapai 13%. Persentase pembentukan kalus ini jauh lebih tinggi dibandingkan kalogenesis pada perlakuan M1 yang hanya mencapai 3% dan M2 yang tidak menghasilkan kalus hingga akhir

pengamatan (Tabel 1).

Perlakuan M3 dengan penambahan auksin 2,4-D yang cukup tinggi yaitu 110,5 mg/l dengan penambahan karbon aktif mampu mengaktivasi sel-sel eksplan untuk menanggapi media sehingga kalus dapat terinduksi dengan cukup cepat. Perlakuan M2 dengan penambahan 2,4-D pada konsentrasi yang sama dengan perlakuan M3, namun tanpa penambahan karbon aktif tidak mampu menghasilkan kalus. Sedangkan pada perlakuan M1 hanya menghasilkan sedikit kalus (Tabel 1).

Kalogenesis pada perlakuan M3 cukup tinggi yaitu hampir mendekati persentase kalogenesis yang dilaporkan AAR, Malaysia yaitu 15% (Soh *et al.*, 2011) dan sudah mampu meningkatkan persentase pembentukan kalus dibandingkan menggunakan media kontrol yang hanya menghasilkan kalus sebesar 3% (Harahap, 2010; Tabel 1). Namun hasil ini masih lebih rendah dibandingkan dengan pembentukan kalus kelapa sawit lainnya yaitu sebesar 17% di Laboratorium FELDA, Malaysia (Alwee *et al.*, 2010).

Berat kalus primer yang dihasilkan pada perlakuan M3 juga jauh lebih tinggi di bandingkan dengan berat kalus pada perlakuan M1. Berat kalus perlakuan M3 adalah 0,94 gram, dua kali lipat dibandingkan dengan perlakuan M1 yang menghasilkan berat kalus 0,41 gram (Tabel 1). Berat kalus ini juga terkait dengan jenis kalus yang dihasilkan dari kedua perlakuan. Perlakuan M3 menghasilkan kalus yang friabel dan agregat yang banyak mengandung banyak polisakarida dan selulosa yang rendah yang bersifat padat sehingga menghasilkan masa kalus yang lebih berat dibandingkan dengan perlakuan M1 dengan tipe kalus pseudoroot yang ringan.

Selain kecepatan dalam pembentukan kalus, jenis kalus juga sangat penting diperhatikan. Jenis kalus primer yang dihasilkan pada perlakuan M1 adalah kalus tipe *pseudoroot* yang dicirikan dengan pertumbuhan kalus yang menyerupai bentuk akar kelapa sawit (Gambar 3a). Setelah dilakukan subkultur pada perlakuan M1, tipe kalus yang dihasilkan menjadi *pseudoroot* dan agregat (Gambar 4a). Kalus yang terbentuk pada perlakuan M3 adalah kalus dengan tipe agregat dan sedikit filiformis (Gambar 3c). Setelah sub kultur, tipe kalus pada perlakuan M3 menjadi lebih baik yaitu friabel

(Gambar 4a).

Jenis kalus pada perlakuan M3 merupakan kalus friabel yang akan lebih mudah membentuk embrio pada tahap selanjutnya dibandingkan dengan jenis kalus pseudoroot maupun agregat (Gambar 3 dan Gambar 4). Kalus agregat dicirikan dengan bentuk yang kompak dan sulit untuk dipisahkan satu dengan

lainnya. Warna kalus putih, kekuningan, dan terkadang kecoklatan. Kalus dengan bentuk filiformis dapat terbentuk dari kalus primer maupun kalus sekunder hasil sub kultur dari kalus primer. Kalus filiformis lama kelamaan akan berubah menjadi kalus yang granular dan friabel pada tahap lanjut (Ernayunita *et al.*, 2012).

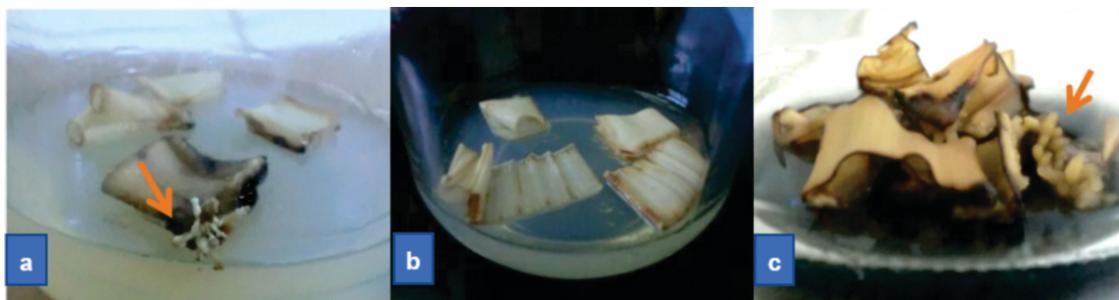
Tabel 1. Kalogenesis dari eksplan daun Pisifera keturunan SP540T pada media kultur yang berbeda

Table 1. *Callogenesis of Pisifera leaves explant derived SP540T on different medium culture*

| Media | Waktu kemunculan kalus primer | Berat kalus primer | Kalogenesis (%) |
|-------|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| | (bulan) | (gram) | |
| M1 | 6 | 0,41 b | 3,00 b |
| M2 | - | 0,00 c | 0,00 c |
| M3 | 5 | 0,94 a | 13,00 a |

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan berdasarkan uji lanjut DMRT taraf 5%

Description: the same letter in the same column shows no significant difference between treatments based on the 5% DMRT test



Gambar 3. a) Kalus primer pada perlakuan M1 dengan tipe pseudoroot; b) Perlakuan M2 yang belum berkalus; c) Kalus primer pada perlakuan M3 dengan tipe kalus semi friabel dan agregat

Figure 3. a) Primary callus on M1 treatment with pseudoroot type; b) M2 treatment without calli; c) Primary callus on M3 treatment with semi-friable and aggregate callus type

Kalus yang telah berhasil diinduksi kemudian disubkultur pada media perbanyak kalus (*callus multiplication*) untuk memperoleh kalus dalam jumlah yang lebih banyak. Hasil pengamatan pada media perbanyak kalus menunjukkan bahwa kalus yang dihasilkan pada perlakuan M1 berbentuk agrerat, *pseudoroot*, dan filliformis (Gambar 4). Kalus sekunder pada perlakuan M1 ini bukan merupakan kalus embriogenik sehingga

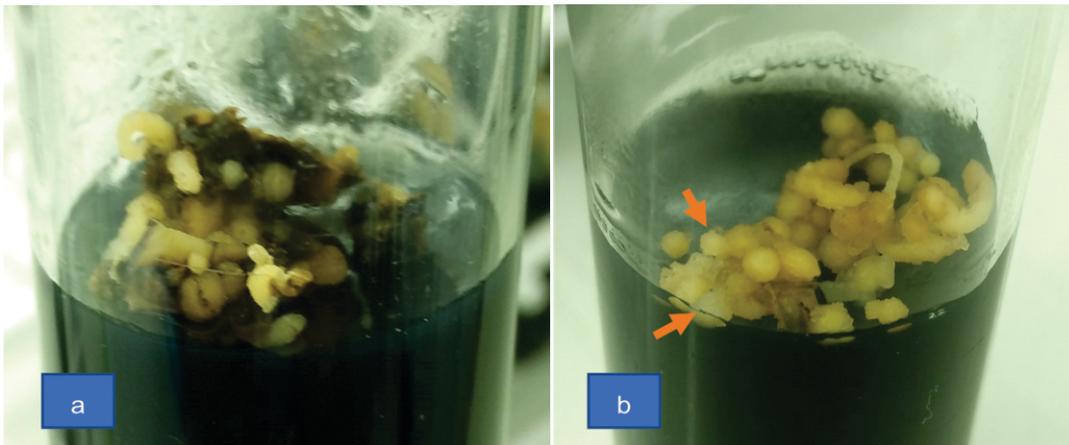
belum siap dilanjutkan pada tahap selanjutnya untuk induksi embrio.

Perlakuan M3 merupakan kalus friabel globular, berwarna kekuningan, dan segar. Kalus friabel ini merupakan tipe kalus yang memiliki sifat mudah dipisahkan satu dengan lainnya dan baik untuk dilanjutkan ke proses selanjutnya yaitu embriogenesis. Pada kalus yang dihasilkan dari perlakuan M3 sudah ada yang mulai menunjukkan

kalus yang bersifat embriogenik dengan ciri kalus yang bulat dan berwarna putih (Gambar 4b). Balzon et al. (2013) menyatakan auksin jenis 2,4-D merupakan auksin yang kuat dan berpotensi mentransisi sel somatik membentuk sel embriogenik pada berbagai jenis tanaman termasuk kelapa sawit.

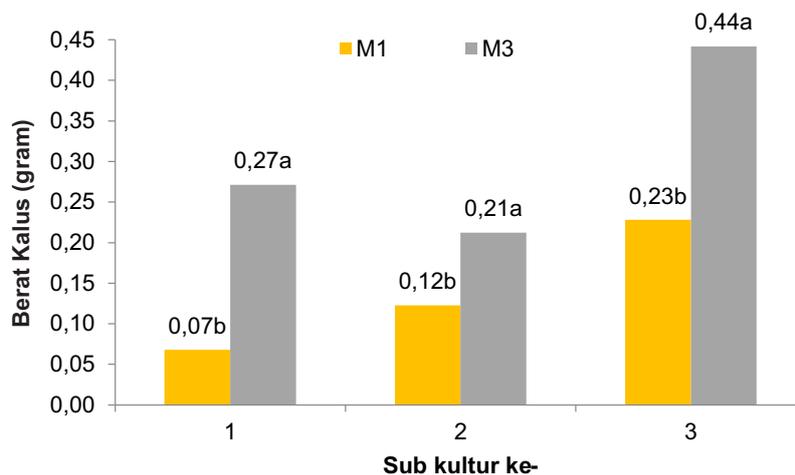
Perkembangan kalus sekunder pada perlakuan M1 dan M3 mengalami peningkatan. Berat kalus yang dihasilkan dari pertama subkultur hingga

ketiga sub kultur menunjukkan pola yang sama yaitu kalus M1 lebih ringan dibandingkan dengan perlakuan M3. Kalus dengan berat terbesar dihasilkan perlakuan M3 pada subkultur ketiga yaitu 0,44 gram (Gambar 5), karena pada awal pembentukan kalus, kalus yang dihasilkan adalah agregat dan semi friabel (Gambar 3a), sehingga kalus lebih mudah berkembang pada tahap subkultur.



Gambar 4. a) Kalus sekunder pada perlakuan M1 dengan tipe kalus kompak (agregat), pseudoroot, dan filliformis; b). Kalus sekunder pada perlakuan M3 yang kompak (agregat) dan semi friabel

Figure 4. a) Secondary callus on M1 treatment with compact callus type (aggregate), pseudoroot, and filliformis; b). Secondary callus on compact M3 treatment (aggregate) and semi-friabel



Gambar 5. Berat kalus (gram) perlakuan M1 dan M3 pada sub kultur pertama hingga ketiga. Rerata yang diikuti dengan huruf yang sama pada waktu subkultur yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata berdasarkan uji lanjut DMRT taraf 5%.

Figure 5. The weight of callus (gram) of M1 and M3 treatments in the first to third subcultures. The average followed by the same letter at the same subculture time showed no significant difference based on the 5% DMRT test.

Perbedaan berat kalus antara kedua perlakuan hampir 2 kali lipat. Hal ini menunjukkan adanya penambahan 2,4-D hingga 110,5 mg/l dengan karbon aktif, mampu menginduksi kalus dengan karakteristik yang baik pada pembentukan kalus primer dan perbanyakannya pada tahap pembentukan kalus sekunder. Penambahan 2,4-D yang cukup tinggi ini dapat memacu pembentukan kalus lebih cepat dan dalam jumlah yang banyak dari sumber eksplan yang berasal dari pohon sumber ortet yang berumur sangat tua yaitu 41 tahun. Penggunaan auksin tunggal dengan konsentrasi 100 – 140 mg/l untuk inisiasi kalus kelapa sawit juga telah dipublikasikan Thuzar *et al.*, 2012 dengan persentase pembentukan kalus yang hampir sama dengan hasil penelitian ini yaitu 11,1-13,9%.

Semakin tua umur pohon sumber eksplan, dimungkinkan kandungan auksin endogen yang dihasilkan akan semakin rendah, sehingga hal ini akan mempengaruhi kemampuan sel untuk dapat menyerap media dan melakukan regenerasi menjadi kalus. Keberhasilan dalam kultur jaringan kelapa sawit khususnya induksi embriogenesis sangat dipengaruhi oleh genotipe dan umur tanaman sumber eksplan (Constantin *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Konservasi sumber daya genetik Pisifera keturunan SP540T menggunakan media dengan penambahan 110,5 mg/l 2,4-D dan karbon aktif (M3) merupakan media terbaik untuk kalogenesis guna konservasi sumber daya genetik keturunan SP540T pada penelitian ini. Media ini menghasilkan keberhasilan pembentukan kalus sebesar 13% dengan berat kalus tertinggi baik pada kalus primer dan sekunder berturut-turut 0,94 gram dan 0,44 gram. Tipe kalus primer dan sekunder yang dihasilkan adalah kalus agregat dan friabel yang merupakan kalus yang baik untuk proses selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwee, S.S.R.S, S.H. Roowi, A.K.Teng, dan A.Z. Othman (2010). Progress of palm oil tissue culture in felda and its challenges. Proceeding on Advances in Palm oil Tissue Culture. ISOPB-IOPRI, Yogyakarta.
- Balzon, T. A., Z.G. Luis, dan J.E. Scherwinski-Pereira (2013). New approaches to improve the efficiency of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) from mature zygotic embryos. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* (2013) 49:41–50
- Ernayunita, R.D. Setiowati, Fakhrollah, dan I.Y. Harahap (2012). Palm oil callus classification of IOPRI's tissue culture laboratory. International Seminar on Advances in Molecular Genetics and Biotechnology for Public Education. Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, 6th-8th June 2012.
- Constantin, M., W.A. Nchu, N.N. Godswill, N.M.A. Wiendi, A. Wachjar, dan N.E.G. Frank. (2015). Induction of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Tenera) callogenesis and somatic embryogenesis from young leaf explants. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 3(04):004-010.
- Corley, R.H.V dan P.B. Tinker (2013). *The Oil Palm Fourth Edition*. Blackwell Publishing Company, Oxford.
- Corley, R.H.V dan P.B. Tinker (2015). *The Oil Palm Fifth Edition*. Blackwell Publishing Company, Oxford.
- Nwanko, B.A. dan A.D. Krikorian (1983). Morphogenetic potential of embryo and seedling-derived callus of *Elaeis guineensis* Jacq. var. Pisifera Becc. *Ann Bot* 51: 65–76
- Harahap, I.Y. (2010). Protokol Kultur Jaringan Kelapa Sawit PPKS. Tidak dipublikasikan.
- Latif, S. dan G. Ginting (1992). Preliminary study on tissue culture of Pisifera. Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Mediterraneennes, Zaragoza (Spain). Institut Agronomique Mediterranee de Saragosse and Universidad Politecnica de Valencia (Spain).
- Murashige, T. dan F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bio essays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* Vol 15: 473-497.
- Noh, A., M.Y. Rafii, G. Saleh, A. Kushairi, dan M.A. Latif (2012). Genetic performance and general combining ability of oil palm Deli dura x AVROS

- Pisifera tested on inland soils. *The Scientific World Journal*, 2012. <https://doi.org/10.1100/2012/792601>.
- Pratiwi, D.R., S. Wening, E. Nazri, dan I.Y. Harahap. (2020). Pengaruh waktu paparan zat pengatur tumbuh terhadap tingkat abnormalitas klon kelapa sawit. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 28(1):29-40.
- Soh, A.C., G. Wong, C.C. Tan, P.S. Chew, S.P.Chong, Y.W. Ho, C.K. Wong, C.N. Choo, K.N Azura, dan K. Kumar (2011). Commercial-scale propagation and planting of elite palm oil clones: research and development towards realization. *Journal of Palm oil Research* 23(2011):935-952.
- Thuzar, M., A. Vanavichit, S. Tragoonrung, dan C. Jantasuriyarat. (2012). Recloning of regenerated plantlets from elite oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) cv. Tenera. *African Journal of Biotechnology* 11(82): 14761-14770.
- Weckx, S., D. Inzé, dan L. Maene (2019). Tissue culture of oil palm: Finding the balance between mass propagation and somaclonal variation. *Frontiers in Plant Science*, 10 (June). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00722>
- Yusnita dan D. Hapsoro (2011). In vitro callus induction and embryogenesis of palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq.) from leaf explants. *Hayati Journal of Biosciences* 18(2):61-65.