

Peran Sumber Ortet, Nomor Daun dan Waktu Inkubasi Terhadap Hasil Kalus Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

*The Role of Ortet Sources, Fronds and Incubation to Callus Production of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)*

Erwin Nazri*, Retno Diah Setiowati, Ernayunita, Hernawan Yuli Rahmadi, dan Yurna Yenni

Abstrak Hasil kalus merupakan tahapan penting dalam memperbanyak bahan tanam kelapa sawit melalui kultur jaringan karena merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan jumlah klon yang akan dihasilkan. Selain media tanam, hasil kalus juga dipengaruhi oleh organ dan latar belakang genetik ortet yang digunakan sebagai sumber eksplan, serta lamanya inkubasi di ruang pembudidayaan. Daun dari empat individu yang berasal dari dua persilangan tetua (DS029D x LM002T dan BJ126D x LM002T) digunakan sebagai sumber eksplan untuk mengetahui pengaruh genetik sumber ortet, urutan daun, dan lamanya inkubasi eksplan terhadap jumlah kalus yang dihasilkan. Daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pada lapisan pelepah ke-4,-5, dst. Adapun peubah yang diamati adalah hasil kalus masing-masing sumber ortet setiap bulannya. Hasil penelitian menunjukkan sumber ortet persilangan BJ126D x LM002T memberikan hasil kalus yang lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan persilangan DS029D x LM002T. Jumlah kalus paling tinggi dihasilkan dari persilangan BJ126D x LM002T (MK 3) pada daun -4 dan waktu inkubasi 0-6 bulan.

Kata kunci: kalus, nomor daun, sumber ortet, inkubasi

Abstract *Callus production is an important key stage to reproduce oil palm through tissue culture in determining the number of produced clones. Callus*

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

Erwin Nazri* (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158 Indonesia
Email: bandak_nazri@yahoo.com

production rate were affected by culture medium, organ, ortet genotypes and incubation time in the culture room. Leaf of four different individuals from two genotype: DS29D x LM2T dan BJ126D x LM2T were used as ortet and only leaf number -4, -5, -6, -7 and -8 were used as an explant. Callus production of each ortet source was observed monthly and used as a parameter to determine the performance of each ortet. The result showed that BJ126D x LM2T as an ortet source had significantly higher callus production compared to DS29D x LM2T. Meanwhile the callus production from different leaf number were not significantly different. The first 6 months of explant incubation was the best time to produce callus

Keywords: *callus, leaf number, ortet genotype, incubation*

PENDAHULUAN

Teori sel Schleiden & Schwan menyebutkan bahwa sel atau jaringan mempunyai sifat untuk dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap dan normal melalui manipulasi terhadap kondisi lingkungan dan nutrisinya. Teori ini telah dikembangkan pada teknik kultur jaringan kelapa sawit, dengan pemilihan bagian tanaman (sel atau jaringan) sebagai sumber eksplan merupakan tahapan sangat penting untuk diperbanyak secara kultur jaringan, karena sel atau jaringan pada bagian tanaman memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam hal pertumbuhan dan perkembangan jaringan untuk menjadi embrio dan organ (Shahzad *et al.*, 2017).

Pada kelapa sawit, produksi klon melalui kultur jaringan untuk menghasilkan bahan tanaman yang bermutu sangat ditentukan oleh keberhasilan induksi kalus. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap

pembentukan kalus pada eksplan yang diinkubasi pada media tanam, diantaranya bahan tanaman dan bagian tanaman yang dijadikan sumber eksplan serta waktu inkubasinya. Secara histologi, kalus terjadi dari hasil perbanyakan sel *perivaskuler* yang menghasilkan 4 sampai 5 sel baru yang mudah membelah dan bersifat meristematik. Pembelahan sel berlangsung secara terus menerus sehingga menghasilkan kalus primer. Subkultur secara berulang-ulang dapat mengubah kalus primer menjadi kalus sekunder (Weckx *et al.*, 2019).

Tanggapan tanaman yang diperbanyak secara kultur jaringan dipengaruhi oleh jenis maupun varietas yang digunakan. Perbedaan persilangan dan genotipe kelapa sawit mengakibatkan perbedaan tanggapan yang terjadi pada eksplan yang dibudidayakan. Tanggapan yang terjadi menghasilkan perbedaan hasil, jenis kalus, pembentukan kalus embriogenik (Sanputawong & Te-Chato, 2012). Eksplan daun tombak kelapa sawit *Elaeis guineensis* Jacq. tenera dan pisifera potensial menghasilkan kalus antara 3%-13% (Thuzar *et al.*, 2012; Emayunita *et al.*, 2020), bahkan mencapai 30,56% (Constantin *et al.*, 2015), sedangkan pada kelapa sawit OxG hybrid menghasilkan rerata pembentukan kalus sebesar 4,54% (Sumaryono *et al.*, 2018). Ortet Deli x La Me diketahui memiliki potensi kalus yang lebih tinggi dibanding Deli x Yangambi atau Deli x NIFOR (Corley & Tinker, 2015).

Pada kelapa sawit, bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber eksplan adalah jaringan muda yang terdapat pada daun muda, jaringan bunga, embrio zigotik, akar, maupun planlet muda (Balzon *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2017; Weckx *et al.*, 2019; Yarra *et al.*, 2019). Corley & Tinker (2015) menyatakan bahwa inisiasi kalus dan embriogenesis kelapa sawit lebih cepat menggunakan eksplan daun daripada eksplan bunga. Selain itu, waktu inkubasi eksplan di ruang gelap juga penting dalam pembentukan kalus. Hal ini bertujuan untuk optimalisasi, efisiensi waktu dan tempat dalam menghasilkan planlet.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sumber ortet, nomor daun dan masa inkubasi yang paling efektif untuk menghasilkan kalus dalam jumlah besar dan diharapkan pada akhirnya akan memberikan dampak positif

terhadap efisiensi menghasilkan biakan melalui pengurangan biaya operasional kultur jaringan kelapa sawit yang tinggi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Marihat, Pematangsiantar. Bahan yang digunakan adalah 4 (empat) bahan tanaman yang dijadikan sebagai sumber ortet (MK) yang terdiri dari dua individu pohon ortet persilangan DS029D x LM002T sebagai MK1 dan MK2, serta dua individu pohon ortet persilangan BJ126D x LM0027 sebagai MK3 dan MK4 (Tabel 1). Eksplan yang berbentuk potongan daun ortet yang diambil dari daun ke -4, -5, -6, -7 dan -8 (daun minus empat hingga minus delapan) dengan ukuran 1x2 cm. Daun minus 4 hingga minus 8 masing-masing diambil sebanyak 100 potong eksplan, sehingga setiap sumber ortet dihasilkan 500 eksplan. Setelah itu, eksplan disterilkan dengan larutan sodium hipoklorit 2% selama 20 menit lalu dibilas menggunakan larutan gula steril. Setelah aseptis, eksplan dikulturkan dalam media MS (Murashige and Skoog) yang telah dimodifikasi dengan penambahan auksin 2,4-D (Harahap, 2010). Eksplan disimpan di ruang inkubasi tanpa cahaya pada suhu 26°C – 27°C dengan kelembaban nisbi udara 60% - 80% selama 24 bulan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 faktor yaitu sumber ortet yang terdiri dari 4 aras, nomor daun yang terdiri dari 5 aras (-4, -5, -6, -7, dan -8) dan masa inkubasi yang terdiri dari 4 aras (0-6 bulan, 7-12 bulan, 13-18 bulan dan 19-24 bulan). Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah eksplan yang menghasilkan kalus setiap bulannya. Parameter yang digunakan adalah banyaknya jumlah eksplan yang menghasilkan kalus dan jumlah kalus yang dihasilkan (dalam satuan kultur). Pengamatan jumlah kalus dilakukan setiap 6 (enam) bulan selama 24 bulan untuk setiap unit percobaan. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis varian, dan uji lanjut beda rerata menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* dengan taraf 5%. Sebelumnya, apabila data tidak berdistribusi normal, dilakukan transformasi data sesuai kebutuhan, diantaranya menggunakan transformasi $\sqrt{(x + 0,5)}$ dan transformasi arc sin.

Tabel 1. Daftar persilangan masing-masing sumber ortet (MK) dan tetuanya

Table 1. Crossing list of each ortet source and parental

MK	Parents		Grand Parents			
	Female	Male	Female GP		Male GP	
1	DS029D	LM002T	533	533	BRT10	(Open polination)
2	DS029D	LM002T	533	533	BRT10	(Open polination)
3	BJ126D	LM002T	63 I36	DS27D	BRT10	(Open polination)
4	BJ126D	LM002T	63I36	DS27D	BRT10	(Open polination)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh sumber ortet terhadap hasil kalus

Hasil kalus masing-masing MK beragam. MK1 dan MK2 memiliki produktivitas yang lebih sedikit

dibandingkan dengan MK3 dan MK4 (Tabel 2). MK 3 memberikan hasil kalus terbaik yaitu 46,6% (Tabel 2). Semakin besar jumlah kalus yang dihasilkan maka persentase hasil kalus juga semakin besar.

Tabel 2. Hasil kalus berdasarkan sumber ortet setelah 24 bulan inkubasi

Table 2. Productivity of callus based on ortet source after 24 months incubation

MK	Jumlah eksplan berkalus	Jumlah awal eksplan	Persentase hasil kalus (%)
1	4	500	0,8 b
2	25	500	5,0 b
3	233	500	46,6 a
4	208	500	41,6 a

Keterangan:

Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT. Sebelum dianalisis, data persentase ditransformasi menggunakan transformasi arc sin.

Note: The same letters in the same column are significantly different at $P < 5\%$ with ANOVA Duncan's multiple range test. Before analyzed, the percentages data was transformed using arc sin transformation

Pengaruh sumber ortet, nomor daun, dan masa inkubasi terhadap jumlah kalus yang dihasilkan

Dari hasil analisis ragam pada jumlah kalus menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara faktor sumber ortet, nomor daun dan waktu inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa antara ketiga faktor saling berpengaruh satu dengan lainnya. Selain itu, hasil lanjut uji Duncan juga menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan yang nyata antara kombinasi perlakuan (Tabel 3).

Jumlah kalus tertinggi dihasilkan pada perlakuan MK 3 dengan daun -4 dan -5 dengan waktu inkubasi 0-6 bulan yaitu 62 dan 53 kalus. Jumlah kalus MK3 pada waktu inkubasi 0-6 bulan, untuk daun -4 dan -5 secara statistik tidak berbeda nyata, namun hal ini tidak berlaku untuk daun -6, -7 dan -8 meskipun berasal dari

sumber ortet dan waktu inkubasi yang sama. Sementara itu perlakuan MK 4 dengan daun -8 dan -7 pada waktu inkubasi 0-6 bulan menghasilkan jumlah kalus yang tinggi dan tidak berbeda nyata. Namun, jumlah kalus tersebut berbeda nyata dengan -7 dan -8 pada MK dan waktu inkubasi yang sama. Perlakuan MK 1 dan MK 2 menghasilkan jumlah kalus yang sangat sedikit bahkan nol (Tabel 2). Pengaruh sumber ortet dalam menghasilkan kalus pada daun -4 s.d. -5 dengan waktu inkubasi 0-6 bulan menunjukkan perbedaan yang nyata antara kedua persilangan tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada persilangan yang sama (Tabel 3). Pada MK 1, hasil kalus hanya terjadi pada enam bulan pertama inkubasi. Pada MK 2, hasil kalus dimulai pada periode enam bulan pertama dan terus meningkat sampai pada periode enam bulan ketiga. Tetapi pada periode enam bulan keempat, kalus tidak terbentuk lagi, sedangkan pada MK 3 dan MK 4, periode enam bulan pertama dan kedua merupakan masa jumlah kalus terbaik dan menurun nyata pada periode enam bulan ketiga dan keempat (Tabel 3).

Hasil kalus tertinggi sangat erat kaitannya dengan latar belakang genetic eksplan. Persentase hasil kalus

cukup tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian terdahulu seperti Rival *et al.* (1999) yang melaporkan bahwa kalus yang diinisiasi dari daun kelapa sawit sebanyak 7-60%. Selain itu, kalus Dura Deli x Lamé menghasilkan kalus yang lebih tinggi dibandingkan Dura Deli x Yangambi atau Dura Deli x NIFOR, meskipun hasil kalus tertinggi dihasilkan oleh Yangambi x Avros (Corley & Tinker, 2015). Di antara persilangan antar tetua menghasilkan kalogenesis yang beragam antara 20%-175% (Rival *et al.*, 1999). Semua perlakuan menggunakan Dura Deli x Lamé yang seharusnya menghasilkan kalus lebih dari 20%, namun hasil yang tinggi hanya teramati pada MK 3 yaitu 46,6% dan MK 4 yaitu 41,6%, sedangkan MK 1 dan MK 2 hasil kalusnya sangat rendah hanya 0,8% dan 5,0% (Tabel 2 dan Tabel 3).

Berdasarkan hasil sidik ragam, perlakuan terbaik yang mampu menghasilkan jumlah kalus tertinggi yaitu pada perlakuan MK 3 dengan daun -4 dan waktu inkubasi 0-6 bulan dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 3). MK 3 menghasilkan jumlah kalus tertinggi yaitu 233 kalus dengan persentase produktivitas kalus 46,6% (Tabel 2), karena daun -4 dan -5 MK 3 paling tanggap terhadap

Tabel 3. Pengaruh nomor daun, sumber ortet dan masa inkubasi terhadap jumlah kalus
Table 3. Effect of frond number, ortet source and incubation time to number callus

Nomor Daun	Masa Inkubasi (bulan)	Jumlah Kalus				Rerata
		MK1	MK2	MK3	MK4	
Daun -4	0-6	1 jk	0 k	62 a	24 ced	21,75
	7-12	0 k	5 ghijk	14 efghij	19 def	9,50
	13-18	0 k	0 k	0 k	0 k	0,00
	19-24	0 k	0 k	1 jk	0 k	0,25
	Rerata	0,25	1,25	19,25	10,75	7,88
Daun -5	0-6	0 k	0 k	53 a	15 efghi	17,00
	7-12	0 k	2jk	5 ghijk	16 defgh	5,75
	13-18	0 k	7 fghijk	0 k	0 k	1,75
	19-24	0 k	0 k	1 jk	0 k	0,25
	Rerata	0	2,25	14,75	7,75	6,19

(continued)

Nomor Daun	Masa Inkubasi (bulan)	Jumlah Kalus				Rerata
		MK1	MK2	MK3	MK4	
Daun -6	0-6	3 ijk	2jk	30 bc	15 efghi	12,50
	7-12	0 k	0 k	12 efghijk	17 defgh	7,25
	13-18	0 k	1jk	0 k	0 k	0,25
	19-24	0 k	0 k	4 hijk	0 k	1,00
	Rerata	0,75	0,75	11,5	8	5,25
Daun -7	0-6	0 k	1jk	37 b	30 bc	17,00
	7-12	0 k	0 k	5 ghijk	14 efghij	4,75
	13-18	0 k	5 ghijk	3 ijk	0 k	2,00
	19-24	0 k	0 k	1 jk	0 k	0,25
	Rerata	0	1,5	11,5	11	6,00
Daun -8	0-6	0 k	0 k	0 k	36 b	9,00
	7-12	0 k	0 k	3 ijk	22 cde	6,25
	13-18	0 k	2jk	0 k	0 k	0,50
	19-24	0 k	0 k	2 jk	0 k	0,50
	Rerata	0	0,5	1,25	14,5	4,06
Rerata		0,20	1,25	11,65	10,40	5,88

Keterangan:

Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT. Sebelum dianalisis, data ditransformasi $\sqrt{(x + 0,5)}$

Note: The same letters in the same column are significantly different at $P < 5\%$ with ANOVA Duncan's multiple range test. Before analyzed, the data was transformed using transformation formula $\sqrt{(x + 0,5)}$

media pada kisaran waktu inkubasi 0-6 bulan.

Persilangan dalam tetua menentukan keberhasilan pembentukan kalus (Rival *et al.*, 1999) maka MK 3 merupakan persilangan yang mampu menghasilkan jumlah kalus tertinggi terutama pada daun -4 dan dalam waktu kurang dari 6 bulan. Rohani (2001) melalui penelitiannya yang menggunakan daun tombak -5 dan -6 dari ortet dura dan pisifera lalu membagi daun menjadi 5 zona berdasarkan jaraknya dari pangkal daun untuk melihat perbedaan pengaruh posisi daun hasil kalus menunjukkan bahwa pada kedua genotipe, zona terjauh dari pangkal menghasilkan kalus lebih banyak. Hasil kalus daun -5

dan -6 tidak berbeda nyata, namun stabilitas embrioid kalus dura jauh lebih baik daripada pisifera. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Sanputawong & Te-chato (2012) yang melaporkan bahwa pertumbuhan kalus embriogenik tergantung pada genotipe dan komposisi media yang digunakan.

Adanya interaksi hormon endogen dan eksogen juga dapat berpengaruh terhadap jumlah dan hasil kalus. Mostafa *et al.* (2020) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh alami yang terkandung di dalam eksplan atau hormon endogen, akan berinteraksi dengan hormon eksogen atau ZPT yang ditambahkan ke dalam media dan berpengaruh terhadap

pembentukan kalus embriogenik pada budidaya jaringan bawang. Selain itu, kandungan hormon endogen yang tinggi juga mampu meningkatkan proliferasi kalus.

Nomor daun juga memberikan pengaruh terhadap pengkalusan. Nomor daun yang berbeda menunjukkan umur daun yang berbeda dan semakin besar nomor daun menunjukkan umur daun yang semakin tua. Secara umum, daun -4 adalah daun yang memiliki potensi tertinggi dalam menghasilkan kalus sedangkan daun -8 memiliki potensi yang terendah walaupun potensi tiap daun dalam menghasilkan kalus tidak berbeda nyata. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Constantin *et al.* (2015), menunjukkan hasil yang sama, dengan daun yang lebih muda menghasilkan kalus lebih banyak dibandingkan dengan daun pada lapisan luar atau daun yang lebih tua. Jaringan daun yang lebih muda memiliki sel-sel meristematik yang lebih banyak dibandingkan dengan jaringan yang lebih tua, sehingga lebih tanggap terhadap media sehingga lebih mudah menghasilkan kalus.

Masa inkubasi sangat berpengaruh terhadap tanggapan munculnya kalus pada eksplan. Seperti nomor daun, tanggapan yang ditimbulkan eksplan terhadap waktu inkubasinya di ruang gelap yang terkondisi juga beragam. Berdasarkan hasil pengamatan, secara umum masa inkubasi enam bulan merupakan masa inkubasi yang sangat baik dan memiliki tanggapan yang tinggi untuk menghasilkan kalus (Tabel 3). Pada MK 1, hasil kalus hanya terjadi pada enam bulan pertama inkubasi. Pada MK 2, hasil kalus dimulai pada periode enam bulan pertama dan terus meningkat sampai pada periode enam bulan ketiga. Tetapi pada periode enam bulan keempat, kalus tidak terbentuk lagi. Pada MK 3 dan MK 4, periode enam bulan pertama dan kedua merupakan masa hasil kalus terbaik dan menurun nyata pada periode enam bulan ketiga dan keempat. Hal ini menjelaskan bahwa secara umum, hasil kalus yang cukup tinggi ini dilaporkan pada enam bulan pertama masa inkubasi. Meskipun pembentukan masih terus berlanjut di enam bulan kedua (7-12 bulan), namun setelah dua belas bulan diinkubasi, kalus yang terbentuk semakin sedikit dan bahkan pada beberapa MK tidak terbentuk lagi. Hasil penelitian induksi kalus dari sumber eksplan daun muda kelapa sawit juga menunjukkan pembentukan kalus primer pertama dengan rentang waktu yang hampir sama dengan hasil

penelitian Ernayunita *et al.* (2020) yang menghasilkan kalus pada masa inkubasi 5 bulan, sedangkan hasil penelitian Constantin *et al.* (2015) melaporkan kalus terbentuk pada 9-10 bulan setelah tanam.

Penurunan hasil kalus pada penelitian ini yaitu setelah 12 bulan inkubasi disebabkan penurunan jumlah nutrisi di dalam media tanam selama masa inkubasi karena tidak ada subkultur selama inkubasi 0-24 bulan.

KESIMPULAN

Sumber ortet, nomor daun, dan masa inkubasi eksplan secara bersama-sama berpengaruh nyata terhadap persentase jumlah kalus yang dihasilkan. Jumlah kalus tertinggi dihasilkan pada perlakuan MK 3 dengan nomor daun -4 dan -5 dan waktu inkubasi 0-6 bulan yaitu 62 dan 53 kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Balzon, T.A., Z. G. Luis, & J.E. Scherwinsky-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. Pl.* 49(1):41-50.
- Constantin, M., W.A. Nchu, N.N. Godswill, N.M.A. Wiendi, A. Wachjar, & 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. & P.B. Tinker. 2015. *The Oil Palm, Fourth Edition*. Blackwell Publishing Oxford.
- Ernayunita, S. Wening., H.Y. Rahmadi, Y. Yenni, & Taryono. 2020. Konservasi sumber daya genetic Pisifera: Kalogenesis kelapa sawit keturunan SP540T yang berumur 41 tahun. *J. Pen. Kelapa Sawit* 29(2):73-80.
- Gomez, HT., PMC. Bartos, TA. Balzon, & JE. Scherwinski-Pereira. 2017. Regeneration of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis*) using temporary immersion bioreactors. *Industrial Crop and Products*, 89: 244-249. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.05.021.

- Harahap, I.Y. 2010. Protokol Kultur Jaringan Kelapa Sawit PPKS. Tidak dipublikasikan.
- Lizawati. 2012. Induksi kalus embriogenik pada eksplan tunas apikal tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan penggunaan 2,4 D dan TDZ. Fakultas Pertanian Universitas Jambi. 1(2):April-Juni 2012.
- Mostafa, H.H.A., H. wag, J. Song, & X. Li. 2020. Effects of genotypes and explants on garlic callus production and endogenous hormones. *Scientific Reports* 10(2020):1-11.
- Rival, A. T. Beule, J. Tregear, F. Aberlenc-Bertossi, Morcillo, F. Richaud, T. Duran-Gasselin, & Y. Duval. 1999. *Scaling-up micropropagation of palms: the example of oil palm*. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-015-9283-3_30#page-1. Diakses 28 Januari 2015.
- Rohani, O. 2001. *Positional effect of leaf explant on callusing and embryogenesis in oil palm (Elaeis guineensis)*. Proceeding of the 2001 PIPOC International Palm Oil Congress, Malaysia pp. 677-685.
- Shahzad, A., Sharma, S., Parveen, S., Saeed, T., Shaheen, A., Akhtar, R., ... & Ahmad, Z. (2017). Historical perspective and basic principles of plant tissue culture. In *Plant biotechnology: principles and applications* (pp. 1-36). Springer, Singapore.
- Sanputawong, Sakulrat & Sompong, Te-chato. 2012. Effect of genotypes of oil palm on callus, embryogenic callus and somatic embryo formation. 1st mae Fah Luang University International Conference, Thailand.
- Sumaryono, Riyadi, I., Saptari, R. T., Rahmadi, H. Y., & Ernayunita. (2018). Embryogenic callus initiation from leaf explants of *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (OxG) hybrids. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 183(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/183/1/012009>
- Thuzar, M., A. Vanavichit, S. Tragoonrung, & 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, & 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>
- Yarra, R., L. Jin., Z. Zhao, & H. Cao. 2019. Progress in tissue culture and genetic transformation of oil palm: an overview. *International Journal of Molecular Sciences* 20 (5353):1-17.

