



Perbanyakan Kultur *In vitro* Kelapa Sawit Berbiaya Rendah Melalui Penggunaan Agar dan Gula Curah/Komersil

Low-Cost In vitro Propagation of Oil Palm Through the Use of Bulk/Commercial Agar and Sugar

Arfan Nazhri Simamora*, Taufiq Caesar Hidayat, dan Erwin Nazri

Abstrak Aplikasi perbanyakan secara *in vitro* pada kelapa sawit memiliki berbagai tujuan, seperti perbanyakan varietas klon tenera elit, penyediaan pohon induk dura dan pohon bapak pisifera untuk varietas semi klon dan bi-klon, serta konservasi plasma nutfah. Namun, metode ini memerlukan biaya tinggi terutama untuk media kultur, termasuk sumber karbon (gula), pematat (agar), dan zat pengatur tumbuh. Upaya untuk mengurangi biaya melibatkan penggunaan gula dan agar komersil yang harganya lebih terjangkau daripada mutu analitik. Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan agar dan gula komersil pada media perkembangan kultur menghasilkan pertambahan bobot embrio terbaik sebesar 9,76 gram atau 4,6 kali bobot awal. Perbedaan signifikan terlihat pada faktor tunggal agar dan gula komersil, dengan pertambahan bobot masing-masing sebesar 9,00 dan 8,56 gram. Tidak ada perbedaan pada tingkat nekrosis pada penggunaan agar dan gula analitik maupun komersil, dengan tingkat nekrosis kultur < 25%. Pada kultur tunas, kombinasi agar analitik dan gula komersil menghasilkan pertambahan bobot tunas terbesar, yaitu 10,6 gram atau 5 kali bobot awal. Pertambahan tinggi tunas yang paling signifikan berasal dari penggunaan agar analitik dan gula komersil sebesar 6,39 cm dan pertambahan jumlah helai daun yang paling banyak dicapai dengan menggunakan agar analitik sebanyak 14,7 daun (2,6 kali jumlah awal daun). Penggunaan agar dan gula komersil sebagai pengganti agar dan gula analitik mampu mengurangi

biaya hingga 45,49% untuk agar dan 98,54% untuk gula per liter media. Penerapan agar dan gula komersil secara potensial dapat mereduksi biaya produksi dalam skala massal atau komersial pada upaya perbanyakan *in vitro* tanaman kelapa sawit.

Kata Kunci: agar, biaya rendah, gula, kelapa sawit, kultur *in vitro*

Abstract The *in vitro* propagation application in oil palm serves various purposes, such as the multiplication of elite tenera clone varieties, the provision of dura and pisifera parent trees for semi-clonal and bi-clonal varieties, and the conservation of germplasm. However, this method incurs high costs, especially for culture media, including carbon sources (sugar), solidifying agents (agar), and growth regulators. Efforts to reduce costs involve commercial sugar and agar, which are more affordable than their analytical-grade counterparts. This research indicates that commercial agar and sugar use in culture development media results in the best embryo weight increase of 9.76 grams or 4.6 times the initial weight. Significant differences are observed in the individual factors of commercial agar and sugar, with weight increases of 9.00 and 8.56 grams, respectively. There is no difference in necrosis rates between analytical and commercial agar and sugar, with a culture necrosis rate of < 25%. Combining analytical agar and commercial sugar in shoot cultures produces the most significant shoot weight increase, 10.6 grams or five times the initial weight. The most significant increase in shoot height comes from using analytical agar and commercial sugar, with an increase of 6.39 cm. The highest leaf count increase is achieved using analytical agar, with 14.7 leaves (2.6 times the initial count). Using commercial agar and sugar as substitutes for analytical

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

Arfan Nazhri Simamora* (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamsa No. 51 Medan 20158 Indonesia
Email: arfan.nazhri@gmail.com

agar and sugar can reduce costs by up to 45.49% for agar and 98.54% for sugar per liter of media. The implementation of commercial agar and sugar has the potential to significantly reduce production costs on a mass or commercial scale in vitro propagation efforts for oil palm plants.

Keywords: *agar, low-cost, sugar, oil palm, in vitro culture*

PENDAHULUAN

Teknik perbanyak tanaman secara *in vitro* dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan seperti perbanyak varietas tanaman dengan karakter superior, konservasi plasma nutfah, konservasi dan perbanyak tanaman dengan fungsi generatif rendah maupun produksi kultur dengan metabolit sekunder tertentu. Perbanyak varietas tenera elit terpilih pada tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) melalui kultur *in vitro* dapat meningkatkan kapasitas eksis produksi saat ini, sehingga mengurangi pembukaan lahan pertanaman baru yang sering dikorelasikan dengan kerusakan lingkungan (Weckx *et al.*, 2019). Selain itu, kultur *in vitro* juga dimanfaatkan untuk konservasi plasma nutfah pisifera SP540T (Ernayunita *et al.*, 2021) dan perbanyak hibrida *E. oleifera* x *E. guineensis* (Ernayunita *et al.*, 2016). Salah satu komponen paling penting dalam kegiatan kultur *in vitro* adalah ketersediaan media pertumbuhan kultur, di mana komposisi bahan terbesar yang digunakan adalah gula dan agar.

Gula berperan dalam menyediakan sumber karbon bagi kultur dan agar sebagai agen pembuat gel atau pematat yang berfungsi sebagai tempat kultur diletakkan sekaligus medium difusi nutrisi media dengan kultur. Gula dan agar selalu digunakan di setiap media basal yang umumnya digunakan, seperti media MS, B5 (Gamborg), WPM dan lain-lain. Sayangnya, salah satu kelemahan teknik perbanyak *in vitro* adalah pembiayaannya yang cukup besar yang bersumber dari biaya pembuatan media kultur terutama bahan sumber karbon, pematat dan zat pengatur tumbuh serta alat produksi, listrik dan tenaga kerja (Espinosa-Leal *et al.*, 2018).

Substitusi menggunakan agar dan gula curah/komersil merupakan salah satu alternatif untuk menekan biaya pembuatan media kultur. Beberapa kajian menunjukkan bahwa penggunaan agar maupun

gula curah/komersil tidak menunjukkan perbedaan perkembangan kultur yang signifikan serta mampu menekan biaya pembuatan media kultur secara signifikan mencapai lebih dari 90% (Agrawal *et al.*, 2010; Buah *et al.*, 2011; D. Kadam *et al.*, 2018; Deb & Pongener, 2022; Ramart *et al.*, 2010; Saraswathi *et al.*, 2016). Meskipun demikian, kajian mengenai kesesuaian bahan alternatif agar maupun gula yang akan digunakan tetap harus dilakukan, karena respon spesies tanaman yang akan dikulturkan dan komposisi media yang dipakai berpengaruh terhadap perkembangan kultur (Ebile *et al.*, 2022; Sanchez Cardozo *et al.*, 2019).

Bahan tanaman unggul berbasis klon kelapa sawit memiliki potensi pasar yang menjanjikan karena produktivitas yang lebih tinggi. Selain itu, bahan tanaman bi-klon dan semi-klon kelapa sawit penting untuk menjaga nilai hasil persilangan DxP yang konsisten. Konservasi plasma nutfah juga memiliki peran penting untuk menjaga kelestarian sumber genetik, mengingat cekaman lingkungan yang dihadapi oleh tanaman tua. Namun, tantangan utama adalah bagaimana menghasilkan bahan tanaman klon, seperti tanaman tenera elit, pohon induk dura, dan pohon bapak pisifera secara massal dengan biaya yang terjangkau. Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi pengaruh penggunaan sumber karbon dan pematat jenis mutu curah/komersil dalam media kultur terhadap perkembangan kultur *in vitro* kelapa sawit. Diharapkan bahwa tidak akan ada perbedaan signifikan dalam perkembangan kultur antara penggunaan sumber karbon dan pematat jenis mutu curah/komersil dengan penggunaan jenis mutu analitik. Hal ini memungkinkan pemanfaatan luas agar dan gula jenis mutu curah/komersil dalam formula media perbanyak dan perkembangan kultur kelapa sawit.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Usaha Marihat. Alat yang digunakan adalah botol selai kultur (plakon), autoklaf, laminar air flow cabinet, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, gelas piala, pinset, scalpel dan bunsen. Bahan yang digunakan berupa kultur embrio primer dan agregat tunas kelapa sawit. Agar

dan gula yang digunakan berjenis mutu analitik dan komersil. Media perbanyak embrio dan tunas mengacu kepada protokol Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit berupa media dasar Murashige-Skoog (MS) yang dimodifikasi dengan penambahan casein hydrolisate 1 gram/L pada media perbanyak embrio. Kedua media perbanyak kultur diberi agar dan gula sesuai perlakuan kemudian dimasak dan didinginkan hingga memadat dengan pH diatur sebesar 5.

Metode

Kultur embrio yang berasal dari kalus embriogenik yang telah matang dan kultur tunas yang berasal dari embrio yang telah memunculkan calon tunas digunakan sebagai material percobaan. Kultur yang digunakan merupakan kultur baru yang telah berumur 3 bulan di media perkembangan/perbanyak berasal dari sumber eksplan varietas La Me. Penelitian dilakukan pada media subkultur pertama dan kedua dengan perlakuan kombinasi sumber agar dan gula dengan mutu analitik dan komersil. Kontrol berupa media subkultur dengan penggunaan agar dan gula dengan mutu analitik. Kultur ditanam di media penelitian sebanyak dua kali subkultur dengan durasi

antar subkultur selama 3 bulan, sehingga pengamatan dilakukan selama total 6 bulan.

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 5 ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 20 botol kultur. Faktor terdiri dari agar dan gula dengan tarafnya yaitu jenis mutu sumber agar dan gula (analitik dan komersil). Agar analitik (A1) menggunakan Bacto Agar sedangkan agar komersil (A2) menggunakan Tepung Agar-Agar komersil. Gula analitik (G1) berasal dari Sucrose dan gula komersil,

Pengamatan dilakukan terhadap perkembangan embrio dengan cara menimbang bobot awal dan akhir dari embrio serta membuat klasifikasi terhadap tingkat nekrosis yang terjadi. Sedangkan pada fase tunas diukur pertambahan bobot, tinggi dan jumlah daun kultur. Tingkat nekrosis diklasifikasi berdasarkan adaptasi dari W. Fish *et al.* (2012) dengan cara memberi notasi angka 1 sampai dengan 4 dengan angka 1 = nekrosis >50%; 2 = nekrosis 25 – 50%; 3 = nekrosis < 25% dan 4 = tidak ditemukan nekrosis pada embrio (Tabel 1). Selanjutnya notasi angka ditransformasi dalam bentuk logaritmanya agar dapat dianalisis. Data kemudian dianalisis variannya dan jika berbeda nyata dilakukan uji lanjut Fisher beda nyata terkecil (BNT) dengan $\alpha = 0,05$.

Tabel 1. Skoring tingkat nekrosis pada kultur embrio dengan perlakuan pemberian agar dan gula berjenis mutu analitik dan curah/komersil

Table 1. Necrosis level scoring in embryo culture with treatments involving analytical and bulk/commercial grade agar and sugar

Skor	Tingkat nekrosis kultur
1	> 50%
2	25 - 50%
3	< 25%
4	Tidak ada nekrosis

Keterangan : Skor hasil pengamatan selanjutnya ditransformasikan ke dalam bentuk logaritma untuk dianalisis variannya

Note : The observation scores were further transformed into logarithmic form for variance analysis

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan embrio

Perkembangan embrio diamati dengan mengukur pertambahan bobot embrio dan tingkat nekrosis

setelah subkultur. Peningkatan bobot embrio dipengaruhi secara nyata dan signifikan oleh faktor tunggal agar dan gula maupun kombinasi perlakuannya dengan pertambahan bobot paling signifikan diperoleh dari faktor tunggal agar dan gula komersil serta

kombinasi keduanya. Pertambahan bobot tertinggi berasal dari perlakuan kombinasi antara agar dan gula komersil (A2G2) yaitu sebesar 9,76 gram atau sebanyak 4,6 kali dari rerata bobot awal 2,71 gram (Tabel 2).

Referensi tingkat nekrosis pada embrio dan nilai

setiap perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil analisis varian dan uji lanjut menunjukkan bahwa tingkat nekrosis berbeda nyata pada faktor tunggal gula dan kombinasi perlakuan agar dan gula. Meskipun berbeda nyata, skor tingkat nekrosis pada seluruh faktor perlakuan bernilai ≈ 3 (nekrosis < 25%) (Tabel 2).

Tabel 2. Pertambahan bobot kultur embrio dan tingkat nekrosis terhadap perlakuan pemberian agar dan gula maupun kombinasi keduanya pada media kultur *in vitro*

Table 2. Increase in embryo culture weight in response to the combination of treatments involving agar and sugar in culture medium

Perlakuan	Analisis varian			Uji lanjut BNT		
	Bobot	Nekrosis	Bobot (gram)	Nekrosis (log 10)	Skor nekrosis	
Agar (A)	A1	*	tn	6,94 ± 2,59 b	0,45 ± 0,11	2,82
	A2	*	tn	9,00 ± 2,59 a	0,46 ± 0,08	2,88
Gula (G)	G1	*	*	7,34 ± 2,98 b	0,48 ± 0,09 a	3,02
	G2	*	*	8,56 ± 2,45 a	0,43 ± 0,09 b	2,69
AxG	A1G1	*	*	6,29 ± 2,55 d	0,48 ± 0,1 a	3,02
	A1G2	*	*	7,49 ± 2,50 c	0,42 ± 0,1 c	2,63
	A2G1	*	*	8,29 ± 3,03 b	0,47 ± 0,07 ab	2,95
	A2G2	*	*	9,76 ± 1,74 a	0,45 ± 0,09 bc	2,82

Keterangan : A1 = agar analitik; A2 = agar komersil; G1 = gula analitik; G2 = gula komersil

Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada setiap kolom yang sama tidak berbeda nyata secara signifikan pada uji BNT dengan $\alpha = 0,05$

Note : A1 = Analytical agar; A2 = Bulk agar; G1 = Analytical sugar; G2 = Bulk sugar

Numbers followed by the same lowercase letter in each corresponding column are not significantly different according to the Fisher's Least Significant Difference (LSD) test with $\alpha = 0.05$

Perkembangan tunas

Faktor tunggal agar serta kombinasi penggunaan agar dan gula analitik maupun komersil menghasilkan pertambahan bobot, tinggi dan jumlah helai daun kultur tunas yang berbeda secara nyata. Faktor tunggal gula hanya berbeda nyata pada parameter pertambahan tinggi kultur tunas. Pertambahan bobot tunas paling besar dan berbeda secara signifikan diperoleh dari kombinasi perlakuan agar dan gula komersil (A2G2) sebesar 10,6 gram atau 5 kali dari bobot awal kultur tunas yaitu 2,62 gram.

Pertambahan tinggi kultur tunas dipengaruhi oleh

kombinasi penggunaan agar dan gula. Kombinasi penggunaan agar analitik dan gula komersil (A1G2) memberikan pertambahan tinggi paling besar dan signifikan, yaitu sebesar 6,39 cm atau bertambah 3 kali dari tinggi awal rata-rata yaitu 3,23 cm.

Pertambahan helai daun pada kultur tunas berbeda nyata pada faktor tunggal penggunaan agar dan kombinasi agar dan gula. Pertambahan jumlah helai daun berbeda nyata dan signifikan pada penggunaan agar analitik (A1) sebanyak 14,7 daun (2,6 kali jumlah awal daun) dan kombinasi agar analitik dengan gula analitik (A1G1) maupun

komersil (A1G2) berturut-turut sebanyak 14,6 (2,3 kali jumlah awal daun) dan 14,8 (2,9 kali jumlah awal daun) helai daun. Hasil analisis pertambahan

bobot segar, tinggi dan jumlah daun kultur tunas pada perlakuan pemberian agar dan gula tersaji di Tabel 3.

Tabel 3. Pertambahan bobot segar, tinggi dan jumlah helai daun tunas pada perlakuan pemberian agar dan gula pada media kultur *in vitro*

Table 3. Increase in fresh weight, height, and number of leaf in shoot culture under treatments involving agar and sugar in culture medium

Perlakuan	Analisis varian			Uji lanjut BNT		
	Bobot (gram)	Tinggi (cm)	Daun (helai)	Bobot (gram)	Tinggi (cm)	Daun (helai)
Agar (A)	A1	*	*	6,24 ± 4,34 b	5,50 ± 2,45 a	14,69 ± 7,55 a
	A2	*	*	9,09 ± 3,83 a	4,65 ± 1,93 a	9,03 ± 7,53 b
Gula (G)	G1	tn	*	7,15 ± 4,90	4,62 ± 2,10 b	11,49 ± 7,89
	G2	tn	*	8,39 ± 3,51	5,47 ± 2,26 a	11,82 ± 8,04
AxG	A1G1	*	*	6,71 ± 5,40 bc	4,66 ± 1,87 b	14,57 ± 7,57 a
	A1G2	*	*	5,74 ± 2,79 c	6,39 ± 2,69 a	14,82 ± 7,62 a
	A2G1	*	*	7,54 ± 4,43 b	4,58 ± 2,31 b	8,74 ± 7,19 b
	A2G2	*	*	10,6 ± 2,32 a	4,71 ± 1,48 b	9,31 ± 7,57 b

Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada setiap kolom yang sama untuk masing-masing faktor atau kombinasi faktor tidak berbeda nyata secara signifikan pada uji BNT dengan $\alpha = 0,05$

Numbers followed by the same lowercase letter within each column for treatment or treatment combination are not significantly different according to the LSD test with $\alpha = 0.05$

Hasil analisis dan uji lanjut data pengamatan kultur embrio dan tunas yang ditanam pada media yang menggunakan agar dan gula komersil, menunjukkan nilai yang lebih baik dibandingkan media dengan agar dan gula analitik pada beberapa parameter pengamatan. Penggunaan agar dan gula komersil memberikan pertambahan bobot kultur embrio dan tunas paling besar dan signifikan. Di sisi lain, penggunaan agar analitik memberikan pengaruh yang paling besar terhadap pertambahan tinggi dan jumlah daun kultur tunas.

Agar merupakan agen pembentuk gel/pemadat yang berperan dalam menjaga konsistensi media kultur *in vitro* sekaligus medium kontak langsung antara kultur dengan sumber nutrisi (Nery *et al.*, 2021). Konsentrasi dan tipe agar akan berpengaruh terhadap karakteristik difusi media kultur yang juga akan mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan

kultur yang ditanam di dalamnya (Das *et al.*, 2015; Mohamed *et al.*, 2021). Namun di lain pihak, keberadaan agar di media *in vitro* dapat menyebabkan hidrasi berlebih terhadap kultur yang dikenal sebagai hiperhidrasi atau vitrifikasi yang berakibat kultur menjadi rapuh, kerdil dan berwarna pucat (Amer & Omar, 2019). Hiperhidrasi merupakan gejala fisiologis yang kompleks sehingga penanganannya komprehensif dan berbeda-beda antar spesies tanaman (Polivanova & Bedarev, 2022).

Pada penelitian ini, jenis agar yang berbeda menghasilkan perkembangan kultur yang berbeda. Ditengarai komposisi agar yang diuji juga berbeda sehingga respon kultur terhadap tingkat perkembangannya juga berbeda. Agar analitik biasanya tersedia dalam bentuk kemurnian mencapai 97%, sedangkan agar komersil cenderung tersedia dalam bentuk agar dan bahan tambahan. Bahan

Penambahan berupa mineral atau sumber karbon ini ditengarai memberikan pengaruh positif terhadap perkembangan kultur. Perbedaan perkembangan kultur, terutama anatomi dan morfologi daun dijumpai pada perbandingan penggunaan agar dengan Phytigel pada kultur *Polygala paniculata* (Nery *et al.*, 2021) dan *Aloe polyphylla* (Ivanova & Van Staden, 2011). Hasil yang sedikit berbeda diperoleh oleh (Mohamed *et al.*, 2021) pada kultur padi di mana penggunaan agar dan bacto agar *versus Gelrite* dan *Phytigel* tidak menghasilkan perkembangan yang berbeda pada induksi kalus dan akar, namun berbeda secara signifikan pada perkembangan tunas. Perkembangan embrio, tunas dan perakaran pada kultur *in vitro* kelapa sawit tidak berbeda nyata pada substitusi agar murni dengan agar teknis (Ernayunita & Samosir, 2013). Tampaknya efek agen pematid berbeda untuk setiap spesies (Ivanova & Van Staden, 2011).

Sumber karbon berperan dalam memodulasi perkembangan siklus sel akibat stimulasi lingkungan dan arah metabolisme mitokondria (Siqueira *et al.*, 2018). Fotoasimilat karbon dari sukrosa berperan sebagai sumber energi dan kerangka karbon bagi sel (Kalve *et al.*, 2014). Gula dalam bentuk sukrosa juga berperan dalam meningkatkan massa segar kultur dalam kaitannya sebagai aktivator pembelahan sel (Dantas *et al.*, 2021; Praveena & Veeresham, 2014). Penggunaan gula sebagai sumber energi belum dapat digantikan. Kajian mengenai penggunaan cahaya dan suplemen CO₂ sebagai alternatif pengganti sumber karbon menunjukkan bahwa pengaruh pemberian gula tetap signifikan dalam perkembangan dan perbanyakan tunas dari kultur kastanye (Gago *et al.*, 2022).

Keberadaan sukrosa juga terkait regulasi ekspresi gen yang berhubungan dengan respon perkembangan dan metabolisme tumbuhan (Sakr *et al.*, 2018). Sukrosa juga mempengaruhi level fitohormon tanaman, seperti level sitokinin alami trans-zeatin pada fase perkembangan tunas kultur (Kolrabi Ćosić *et al.*, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan gula komersil lebih baik dibandingkan dengan penggunaan gula analitik sebagai sumber karbon terhadap pertambahan bobot dan tingkat nekrosis embrio serta pertambahan bobot dan tinggi tunas. Gula reduksi selain sukrosa dan elemen-elemen mineral seperti besi, posfor, kalium dan sodium dalam jumlah kecil yang terkandung pada sumber karbon komersil/curah, ditengarai meningkatkan laju pemanfaatan karbon yang mendorong pertumbuhan kultur (Buah *et al.*, 2011; Demo *et al.*, 2008; Yaseen *et al.*, 2013). Sejalan dengan hasil di atas, Buah *et al.* (2011) menyatakan bahwa penggunaan gula tebu cair alternatif memberikan jumlah daun dan pertambahan tunas yang lebih baik dibandingkan penggunaan gula analitik pada kultur pisang. Penggunaan gula merah sebagai alternatif sumber bahan organik juga memberikan perakaran yang lebih baik secara signifikan pada kultur kentang (Demo *et al.*, 2008). Di samping itu, biaya sumber bahan organik dapat mereduksi biaya pembuatan media kultur kentang sebesar 34 – 51% dibanding penggunaan sukrosa analitik (Demo *et al.*, 2008) serta mencapai 97% pada kultur pisang (D. Kadam *et al.*, 2018). Perbandingan biaya per liter media menggunakan agar dan gula analitik dengan media menggunakan agar dan gula komersil dirangkum di dalam tabel 5.

Tabel 5. Penurunan biaya per liter media kultur *in vitro* pada penggunaan agar dan gula komersil
Table 5. Cost reduction per liter of *in vitro* culture media using bulk/commercial agar and sugar

Bahan	Harga/kg (Rp.xxx.000)	Konsentrasi/L (% w/V)	Harga/L (Rp)	% Penurunan biaya
Gula analitik	1.027,2	3 - 6	30,8 - 61,6	98,54
Gula komersil	15	3 - 6	0,45 - 0,90	
Agar analitik	1.311,6	0,4 - 1	5,2 - 13,1	45,49
Agar komersil	715	0,4 - 1	2,9 - 7,2	

Penyediaan media kultur secara kontinu merupakan salah satu komponen biaya yang cukup besar pada usaha perbanyakan tanaman secara *in vitro* berskala massal. Penggunaan agar pada media solid/semi solid sebesar 0,4 – 1% dan penggunaan gula mencapai 3 – 5% per satu liter media, sehingga penggunaan agar dan gula curah/komersil sebagai pengganti agar dan gula analitik dapat mereduksi biaya produksi secara signifikan. Selain melalui substitusi agar dan gula, penggunaan teknik perendaman sesaat (*TIS*, *Temporary Immersion System*) juga dilaporkan dapat mengurangi penggunaan media dan mereduksi biaya produksi mencapai 20% dan menghasilkan regenerasi tunas dua kali lipat dibandingkan dengan penggunaan media solid/semi solid (Bello-Bello *et al.*, 2021; Nongdam *et al.*, 2023). Penggunaan agar dan gula komersil pada kultur *in vitro* memberikan hasil yang cukup baik terhadap perkembangan kultur pada beberapa spesies yang telah diteliti, seperti padi, kentang, pisang, akar wangi dan kelapa sawit. Walaupun demikian, substitusi agar dan gula tetap harus diuji dan diverifikasi pada setiap protokol yang digunakan dalam usaha perbanyakan tanaman secara *in vitro*.

KESIMPULAN

Penggunaan agar dan gula komersil sebagai sumber bahan organik pada media kultur *in vitro* menghasilkan perkembangan kultur embrio dan tunas yang tidak berbeda, bahkan lebih baik pada beberapa parameter pengamatan dibandingkan dengan perkembangan kultur di media dengan agar dan gula analitik. Kebutuhan *gelling agent* pada media per liter dapat direduksi biayanya sebesar 45,49% melalui penggunaan agar komersil. Di sisi lain, penggunaan gula komersil memberikan penghematan biaya sebesar 98,54%. Penggunaan agar dan gula komersil dapat menekan biaya produksi pada usaha perbanyakan *in vitro* tanaman kelapa sawit dalam skala massal atau komersial.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, A., Sanayaima, R., Tandon, R., & Tyagi, R. K. (2010). Cost-effective *in vitro* conservation of banana using alternatives of gelling agent (isabgol) and carbon source (market sugar). *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(4), 703–711.

<https://doi.org/10.1007/s11738-009-0450-9>

- Amer, A., & Omar, H. (2019). *In-vitro* propagation of the multipurpose Egyptian medicinal plant *Pimpinella anisum*. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(3), 254. https://doi.org/10.4103/epj.epj_12_19
- Bello-Bello, J. J., Schettino-Salomón, S., Ortega-Espinoza, J., & Spinoso-Castillo, J. L. (2021). A temporary immersion system for mass micropropagation of pitahaya (*Hylocereus undatus*). *3 Biotech*, 11(10), 437. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02984-5>
- Buah, J. N., Tachie-Men, J. W., Addae, G., & Asare, P. (2011). Sugarcane Juice as an Alternative Carbon Source for *in vitro* Culture of Plantains and Bananas. *American Journal of Food Technology*, 6(8), 685 – 694. <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.685.694>
- Ćosić, T., Motyka, V., Savić, J., Raspor, M., Marković, M., Dobrev, P. I., & Ninković, S. (2021). Sucrose interferes with endogenous cytokinin homeostasis and expression of organogenesis-related genes during *de novo* shoot organogenesis in kohlrabi. *Scientific Reports*, 11(1), 6494. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85932-w>
- D. Kadam, D., A. Chhatre, A., A. Lavale, S., & A. Shinde, N. (2018). Low-Cost Alternatives for Conventional Tissue Culture Media. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(04), 2523–2529. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.288>
- Dantas, L. A., Faria, P. S. A., Dário, B. M. M., Arantes, A. L. M., Silva, F. G., Avila, R. G., Pereira, P. S., & Neto, A. R. (2021). The impact of carbon source on cell growth and the production of bioactive compounds in cell suspensions of *Hancornia speciosa* Gomes. *Scientific Reports*, 11(1), 24315. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03845-0>
- Das, N., Tripathi, N., Basu, S., Bose, C., Maitra, S., & Khurana, S. (2015). Progress in the development of gelling agents for improved culturability of microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00698>
- Deb, C. R., & Pongener, A. (2022). Use of low cost agar alternative for *in vitro* propagation of

- commercially viable orchids is an attractive way for commercialization. *South African Journal of Botany*, 150, 789–796. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.08.028>
- Demo, P., Kuria, P., Kahangi, E., & Nyende, A. B. (2008). Table sugar as an alternative low cost medium component for in vitro micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 7, 2578–2584.
- Ebile, P. A., Opata, J., & Hegele, S. (2022). Evaluating suitable low-cost agar substitutes, clarity, stability, and toxicity for resource-poor countries' tissue culture media. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 58(6), 989–1001. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10285-6>
- Ernayunita, E., Rahmadi, H. Y., Harahap, I. Y., & Purba, A. R. (2016). The Role of NAA, GA3, Activated Charcoal, and Sucrose on Zygotic Embryos Culture of Hybrid OG Open Pollinated Clone (*Elaeis guineensis* Jacq. X *Elaeis oleifera*). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 24(3), 115–126. <https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v24i3.15>
- Ernayunita, E., & Samosir, Y. (2013). Substitusi agar murni dengan agar teknis terhadap pertumbuhan embrio somatik, tunas, dan akar kultur kelapa sawit. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 21(2).
- Ernayunita, E., Wening, S., Y Rahmadi, H., Yenni, Y., & Taryono, T. (2021). Konservasi Sumber Daya Genetik Pisifera: Kalogenesis Kelapa Sawit Keturunan SP540T yang berumur 41 tahun. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 29(2), 73–80. <https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v29i2.147>
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., & García-Lara, S. (2018). In vitro plant tissue culture: Means for production of biological active compounds. *Planta*, 248(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2910-1>
- Gago, D., Bernal, M. Á., Sánchez, C., Aldrey, A., Cuenca, B., Christie, C. B., & Vidal, N. (2022). Effect of Sucrose on Growth and Stress Status of *Castanea sativa* x *C. crenata* Shoots Cultured in Liquid Medium. *Plants*, 11(7), 965. <https://doi.org/10.3390/plants11070965>
- Gaspar, T. (1991). Vitrification in Micropropagation. In Y. P. S. Bajaj (Ed.), *High-Tech and Micropropagation I* (Vol. 17, pp. 116–126). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76415-8_7
- Ivanova, M., & Van Staden, J. (2011). Influence of gelling agent and cytokinins on the control of hyperhydricity in *Aloe polyphylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104(1), 13–21. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9794-5>
- Kalve, S., De Vos, D., & Beemster, G. T. S. (2014). Leaf development: A cellular perspective. *Frontiers in Plant Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00362>
- Mohamed, G. M., Amer, A. M., Osman, N. H., Sedik, M. Z., & Hussein, M. H. (2021). Effects of different gelling agents on the different stages of rice regeneration in two rice cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5738–5744. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.003>
- Nery, L. A., Batista, D. S., Rocha, D. I., Felipe, S. H. S., Queiroz, M. D. C., Silva, P. O., Ventrella, M. C., & Otoni, W. C. (2021). Leaf development and anatomy of in vitro-grown *Polygala paniculata* L. are affected by light quality, gelling agents, and sucrose. *Vegetos*, 34(1), 19–28. <https://doi.org/10.1007/s42535-021-00192-3>
- Nongdam, P., Beleski, D. G., Tikendra, L., Dey, A., Varte, V., El Merzougui, S., Pereira, V. M., Barros, P. R., & Vendrame, W. A. (2023). Orchid Micropropagation Using Conventional Semi-Solid and Temporary Immersion Systems: A Review. *Plants*, 12(5), 1136. <https://doi.org/10.3390/plants12051136>
- Polivanova, O. B., & Bedarev, V. A. (2022). Hyperhydricity in Plant Tissue Culture. *Plants*, 11(23), 3313. <https://doi.org/10.3390/plants11233313>
- Praveena, C., & Veeresham, C. (2014). Multiple shoot regeneration and effect of sugars on growth and nitidine accumulation in shoot cultures of *Toddalia asiatica*. *Pharmacognosy Magazine*, 10(39), 480. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.139777>
- Ramart, E. J. L. A., Puchoo, D., & Khoyratty, S. S. S. (2010). Local Sugars Alternatives for Tissue

- Culture of Dendrobium Hybrid CV. Sonia. *University of Mauritius Research Journal*, 16, 345–364. <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.1117227>
- Sakr, S., Wang, M., Dédaldéchamp, F., Perez-Garcia, M.-D., Ogé, L., Hamama, L., & Atanassova, R. (2018). The Sugar-Signaling Hub: Overview of Regulators and Interaction with the Hormonal and Metabolic Network. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2506. <https://doi.org/10.3390/ijms19092506>
- Sanchez Cardozo, J. A., Ruiz Pardo, R. Y., Quintanilla Carvajal, M. X., & Acosta Gonzalez, L. A. (2019). Evaluating gelling-agent mixtures as potential substitutes for bacteriological agar: An approach by mixture design. *DYNA*, 86(208), 171–176. <https://doi.org/10.15446/dyna.v86n208.72964>
- Saraswathi, M. S., Uma, S., Kannan, G., Selvasumathi, M., Mustaffa, M. M., & Backiyarani, S. (2016). Cost-effective tissue culture media for large-scale propagation of three commercial banana (Musa spp.) varieties. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(1), 23–29.
- Siqueira, J. A., Hardoim, P., Ferreira, P. C. G., Nunes-Nesi, A., & Hemery, A. S. (2018). Unraveling Interfaces between Energy Metabolism and Cell Cycle in Plants. *Trends in Plant Science*, 23(8), 731–747. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.05.005>
- W. Fish, W., D. Bruton, B., & W. Popham, T. (2012). Cucurbit Host Range of *Myrothecium roridum*; Isolated from Watermelon. *American Journal of Plant Sciences*, 03(03), 353–359. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.33042>
- Weckx, S., Inzé, D., & Maene, L. (2019). Tissue Culture of Oil Palm: Finding the Balance Between Mass Propagation and Somaclonal Variation. *Frontiers in Plant Science*, 10, 722. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00722>
- Yaseen, M., Ahmad, T., Sablok, G., Standardi, A., & Hafiz, I. A. (2013). Review: Role of carbon sources for in vitro plant growth and development. *Molecular Biology Reports*, 40(4), 2837–2849. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2299-z>

