

PENGARUH GENOTIP TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS PADA KULTUR JARINGAN KELAPA SAWIT

Diana L. Ginting dan Fatmawati

ABSTRAK

Kalus merupakan salah satu tahap yang sangat penting dalam kultur jaringan kelapa sawit. Kemampuan produksi kalus dari ortet kelapa sawit berbeda-beda sesuai dengan genotipenya. Penelitian pengaruh genotipe terhadap pembentukan kalus pada kultur jaringan kelapa sawit telah dilakukan di laboratorium kultur jaringan Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Penelitian telah dilakukan pada 25 ortet kelapa sawit masing-masing 2000 eksplan, berasal dari 5 genotipe yaitu: DS 29D x LM2T, BJ169 D x RS14 P, TI221D x RS4T, LM270D x LM239T dan GB30D x RS44T. Hasil penelitian menunjukkan bahwa genotipe DS 29D x LM 2T menghasilkan kalus terbanyak (3.814 tabung), secara berurut diikuti genotipe BJ169D x RS14P (3.418 tabung), genotipe TI221D x RS4T (1.627 tabung), genotipe LM270D x LM239T (1.406 tabung) dan genotipe GB30 D x RS 44T (662 tabung). Berdasarkan analisis data diketahui bahwa kemampuan produksi kalus pada genotipe DS29DxLM2T berbeda nyata dibandingkan dengan genotipe BJ169DxRS14P dan berbeda sangat nyata dibandingkan dengan genotipe lainnya (TI221Dx RS4T, LM270 D x LM239T, GB30D x RS 44 T). Produksi kalus pada genotipe BJ169DxRS14P berbeda nyata dibandingkan genotipe TI221Dx RS4T dan berbeda sangat nyata dibandingkan genotipe LM270 D x LM239T dan GB30D x RS 44 T.

Kata kunci : genotip, kalus, kultur jaringan

ABSTRACT

Callus formation is an important step in oil palm tissue culture. Development of callus from oil palm ortet is depended on the genotype. An experiment on the effect of genotype to the formation of oil palm callus was done in Indonesia Oil Palm Research Institute, tissue culture laboratory. Experiment used 25 oil palm ortet, each consisted of 2000 explants, derived from 5 genotypes: DS 29D x LM2T, BJ169 D x RS14 P, TI221D x RS4T, LM270D x LM239T and GB30D x RS44T. Results indicated that DS 29D x LM 2T produced 3814 tubes callus, followed by BJ169D x RS14P, TI221D x RS4T, LM270D x LM239T and GB30 D x RS 44T for 3418, 1627, 1406 and 662 tubes, respectively. Results of data analysis showed that the ability of DS29DxLM2T to produce callus was significantly different from BJ169DxRS14P and highly significantly different others (TI221Dx RS4T, LM270 D x LM239T, GB30D x RS 44 T). The ability of BJ169DxRS14P to produce callus was significantly different from TI221Dx RS4T and highly significantly different from LM270 D x LM239T and GB30D x RS 44 T.

Keywords : genotype, callus, tissue culture

PENDAHULUAN

Sejak tahun 1985, Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) mulai mengembangkan kultur jaringan kelapa sawit di Marihat. Prosedur kultur jaringan kelapa sawit melalui tahapan-tahapan : induksi kalus dari eksplan, induksi embrio somatik dari kalus, induksi pupus dari embrio somatik dan penumbuhan akar pada pupus (planlet). Setiap tahap menggunakan medium spesifik dengan komposisi dasar dari medium Murashige & Skoog (MS 1962) yang telah dimodifikasi sesuai dengan tahapan kulturnya (3). Sebagaimana disebutkan di atas bahwa tahap awal kultur jaringan kelapa sawit adalah induksi kalus dari eksplan. Keberhasilan kultur jaringan kelapa sawit sangat dipengaruhi oleh keberhasilan produksi kalus. Secara umum sumber eksplan pada tanaman berasal dari bagian-bagian vegetatif yang bersifat meristematis sehingga sel-selnya dapat tumbuh dan berkembang (1, 2, 3). Pertumbuhan dan perkembangan sel-sel dilakukan dalam medium dengan kondisi lingkungan yang mendukung (2, 4). Pada kelapa sawit eksplan dapat berasal dari daun muda, ujung akar dan bunga (*inflorescence*). Sumber eksplan ini masing-masing mempunyai keunggulan dan kelemahan (3, 5). Eksplan dari daun muda mempunyai keunggulan yaitu dapat diperoleh dalam jumlah banyak (2000 s/d 3000 eksplan per ortet), eksplan relatif steril karena masih terbungkus oleh pelepah daun. Kelemahannya adalah merusak ortet dan pemulihannya membutuhkan waktu lama yaitu: 1,5 s/d 2 tahun. Eksplan dari bunga keunggulannya tidak terlalu

merusak ortet, permukaannya steril karena masih terbungkus pelepah bunga. Kelemahannya jumlah eksplan yang diperoleh sedikit (200-300 eksplan per ortet) dan induksi kalus membutuhkan waktu lebih lama (l.k 1 tahun). Eksplan ujung akar keunggulannya tidak merusak ortet. Kelemahannya kontaminasi mencapai 90-95% dan ada kemungkinan keliru dengan ortet yang terpilih karena akar tanaman simpang siur di dalam tanah. Oleh karena itu PPKS memilih eksplan yang berasal dari daun muda.

Titik tumbuh kelapa sawit hanya satu, untuk penyelamatan ortet langkah awal yang perlu dilakukan adalah menentukan letak titik tumbuh tersebut sehingga terhindar dari kesalahan pemotongan titik tumbuh. Kelapa sawit dewasa titik tumbuhnya terdapat pada bagian dalam pangkal pelepah daun nomer 17. Penentuan daun nomer 17 dapat diketahui dengan melihat 2 lingkaran sebelah bawah daun tombak, tegak lurus terhadap daun tombak (rumus $\text{phylo-taxis} = 1/8$). Berdasarkan jenis pisifera yang digunakan, DxP PPKS yang telah dirilis secara komersial adalah DxP Dolok Sinumbah, DxP Bah Jambi, DxP Marihat, DxP SP540T, DxP LaMe, DxP Yangambi, DyxP Sungai Pancur 1 dan DxP Sungai Pancur 2. Ortet yang dipilih berasal dari jenis DxP tersebut di atas yang memenuhi kriteria 5 % terbaik dalam satu populasi. Induksi kalus dari eksplan menggunakan medium standar (Mi:034) terdiri dari: unsur hara makro, hara mikro, glukosa, vitamin dan hormon auksin (2,4-D dan 2,4,5-TCPP). Auksin sangat penting digunakan pada tahap induksi kalus secara *in-vitro* (5, 6, 7). Sedangkan sitokinin menghambat

induksi kalus dan pada konsentrasi rendah ($10^{-9}M$) menyebabkan kalus berwarna kecoklatan (5). Secara histologi dapat dijelaskan bahwa kalus terjadi dari hasil perbanyakan sel *perivascular*. Sel ini menghasilkan 4 sampai 5 sel baru yang mudah membelah bersifat meristematik, letaknya berdekatan dengan *xylem*. Pembelahan sel berlangsung secara terus menerus sehingga terbentuk daerah seperti *cambium* (*zone like cambium*) yang menghasilkan kalus primer (1, 3, 4). Kalus primer bersifat *massif*, berwarna kuning kecoklatan berbentuk bulat, berhubungan antara satu dengan lainnya secara bersambungan (7). Kalus primer umumnya terbentuk di sekitar lidi dan sebagian muncul sepanjang pembuluh daun bekas irisan. Sub-kultur yang dilakukan secara berulang-ulang dapat mengubah kalus primer menjadi kalus sekunder. Pengamatan secara visual dapat dibedakan antara kalus primer dengan kalus sekunder. Kalus sekunder jaringannya lebih lembut (*soft*), berwarna kuning keputihan dan diduga akan menghasilkan tanaman abnormal di lapangan (2, 7). Pada awalnya kalus masih bersifat *endogenoous* selanjutnya tumbuh dan berada diluar epidermis daun (4). *Genotipe* diduga berpengaruh terhadap keberhasilan induksi kalus dari eksplan karena respon jaringan terhadap medium berbeda antara satu *genotipe* dengan lainnya (2, 5, 6).

BAHAN DAN METODE

Bahan:

Penelitian dilakukan pada 5 *genotipe* kelapa sawit, dari setiap *genotipe*

diambil 5 ortet masing-masing 2000 eksplan. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap non faktorial, *genotipe* sebagai perlakuan dan ortet sebagai ulangan. Ortet yang digunakan masing-masing dari *genotipe* DS 29 D x LM 2 T (MK: 16, 31, 86, 106, 181), *genotipe* BJ 169 D x RS 14 P (MK:10, 19, 230, 236, 240), *genotipe* TI 221 D x RS 4 T (MK:21, 22, 26,107, 111), *genotipe* LM 270 D x LM 239 T (MK: 33, 42, 50, 68, 220) dan *genotipe* GB 30 D x RS 44 T (MK: 93, 366, 398, 400, 442).

Metode:

Pupus dipotong 30 cm di atas titik tumbuh, dipilih daun -4, -5, -6, -7 dan -8. Setiap daun diiris menjadi 25 blok lebar 1 cm dan dari tiap blok diambil 20 eksplan sehingga dari 1 ortet diperoleh 2000 eksplan ($25 \times 4 \times 20$). Eksplan disterilisasi dalam larutan kalsium hipoklorit (3,5 %) selama 20 menit dan dicuci dengan air gula. Pada kondisi aseptik eksplan di masukkan ke dalam medium induksi kalus (medium standar MI:034). Eksplan dikultur dalam ruang gelap pada temperatur $27^{\circ}C$ dengan kelembaban nisbi udara 50-60%. Pengamatan kalus dilakukan pada saat eksplan umur 3 bulan, 4 bulan dan 5 bulan. Peubah yang diamati adalah kalus yang dihasilkan dari masing-masing ortet sesuai dengan periode waktu pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan fisik eksplan mulai terjadi 5-7 hari setelah dikultur di dalam ruang gelap. Jaringan eksplan me-

manjang dan pada bagian pinggir/ sepanjang irisan mengering tetapi ada bagian tertentu yang berubah bentuk menjadi jaringan lunak. Selain pada bagian pinggir jaringan lunak juga terdapat dibagian *vena* eksplan. Setelah 4-6 minggu dalam ruang kultur, jaringan lunak menghasilkan sel-sel yang membelah secara cepat membentuk gumpalan-gumpalan seperti tumor, berwarna kuning muda. Sel-sel yang terkumpul dalam gumpalan-gumpalan ini adalah kalus. Sedangkan bagian eksplan disekitar kalus mengering dan membusuk sehingga kalus mudah dilepaskan dari eksplan. Hasil induksi kalus umur 3 bulan, terdapat perbedaan yang nyata pada setiap ortet baik dalam satu *genotipe* maupun dengan *genotipe* lainnya. Hal yang sama juga terjadi pada kultur umur 4 dan 5 bulan. Ortet yang paling banyak menghasilkan kalus pada kultur umur 3 bulan adalah MK:16, sedangkan kultur umur 4 dan 5 bulan kalus paling banyak pada MK: 181. Kedua jenis klon ini berasal dari *genotipe* DS 29DxLM2T. Ortet yang paling sedikit menghasilkan kalus adalah MK: 366, MK:400, MK:398, MK:93 dan MK:442, semuanya termasuk *genotipe* GB 30D x RS 44T. Secara umum kalus paling banyak diperoleh dari MK: 181 dan secara berurut diikuti MK:16, MK:236, MK:86, MK:240, MK:230, MK:10, MK:106, MK:142, MK:19, MK:22, MK:107, MK:33, MK:21, MK:42, MK:50, MK:220, MK:68, MK:111, MK:26, MK:442, MK:93, MK:398, MK:400 dan MK:366.

Hasil induksi kalus dari eksplan umur 3, 4 dan 5 bulan pada semua *genotipe* atau 25 ortet disajikan pada Tabel 1.

Genotipe ternyata sangat berpengaruh terhadap produksi kalus pada kelapa sawit. *Genotipe* DS29D x LM2T menghasilkan kalus yang paling banyak =3.814 tabung (rerata 38,14%), berbeda nyata dibandingkan dengan *genotipe* BJ 169 D x RS 14 P =3.418 tabung (rerata 34,18%) dan berbeda sangat nyata dibandingkan dengan *genotipe* lainnya yaitu: TI 221 D x RS 4 T =1.627 tabung (rerata 16,27%), LM 270 D x LM 239 T =1.406 tabung (rerata 14,06%) dan GB 30 D x RS 44 T =662 tabung (rerata 6,62%). Perbandingan produksi kalus masing-masing *genotipe* disajikan pada Tabel 2.

Genotipe BJ169D x RS14 P menghasilkan kalus ranking kedua terbanyak dan hasilnya berbeda sangat nyata dibandingkan *genotipe* TI221D x RS4T, LM270D x LM 239T dan GB30D x RS44T. Produksi kalus *genotipe* TI221D x RS4T berbeda nyata dibandingkan dengan *genotipe* LM270D x LM239T dan berbeda sangat nyata dibandingkan dengan *genotipe* GB30D x RS44T. Sedangkan produksi kalus pada *genotipe* TI221D x RS4T berbeda sangat nyata dibandingkan dengan *genotipe* GB30D x RS44T. Perbedaan produksi kalus pada tiap *genotipe* disebabkan perbedaan respons jaringan tanaman terhadap media standar (MI:034) yang digunakan.

Tabel 1. Hasil induksi kalus umur 3, 4 dan 5 bulan pada 25 ortet

Genotipe	Klon (MK)	Produksi Kalus (Tabung)			Jumlah Kalus (Tabung)
		3 bulan	4 bulan	5 bulan	
DS 29 D x LM 2 T	16	659	167	110	936 (2)
	31	142	230	178	550 (9)
	86	204	345	240	789 (4)
	106	79	229	282	590 (8)
	181	88	384	477	949 (1)
	Jumlah:	1.172	1.355	1.287	3.814
BJ 169 D x RS 14 P	10	178	280	216	674 (7)
	19	142	292	88	522 (10)
	230	130	60	517	707 (6)
	236	75	452	277	804 (3)
	240	325	118	268	711 (5)
	Jumlah:	850	1.202	1.366	3.418
TI 221 D x RS 4 T	21	153	35	139	327 (14)
	22	110	115	229	454 (11)
	26	89	48	71	208 (20)
	107	30	78	315	423 (12)
	111	20	80	115	215 (19)
	Jumlah:	402	356	869	1.627
LM270 D x LM 239 T	33	142	122	65	329 (13)
	42	12	66	210	288 (15)
	50	37	94	155	286 (16)
	68	42	37	151	230 (18)
	220	18	93	162	273 (17)
	Jumlah:	251	412	743	1.406
GB 30 D x RS 44 T	93	0	100	53	153 (22)
	366	13	38	27	78 (25)
	398	24	78	45	147 (23)
	400	15	14	61	90 (24)
	442	58	81	55	194 (21)
	Jumlah:	110	311	241	662

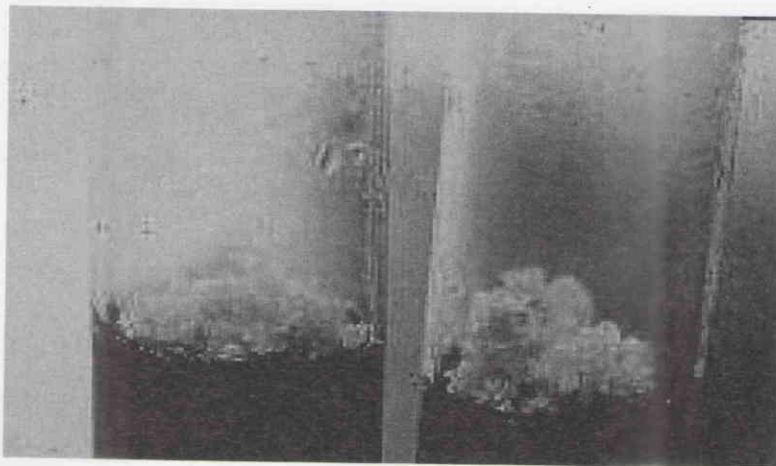
Keterangan : MK = Marihat Klon, DS = Dolok Sinumbah, LM +LaMe, BJ = Bah Jambi, RS =Rispa, TI = Tinjowan, GB = Gunung Bayu, () = ranking keberhasilan pembentukan kalus

Tabel 2. Perbandingan produksi kalus pada tiap *genotipe* umur 3, 4 dan 5 bulan

Genotip	Produksi Kalus (Tabung)						Total Kalus (T)	
	3 bulan		4 bulan		5 bulan		x	1%
	x	1%	x	1%	x	1%		
DS 29 D x LM 2 T	1.172 (234,4)	e	1.355 (267)	e	1.287 (257,4)	e	3.814 (762,8)	e
BJ 169 D x RS 14 P	850 (170)	de	1.202 (240,4)	e	1.366 (273,2)	e	3.814 (683,6)	e
TI 221 D x RS 4 T	402 (80,4)	c	356 (71,2)	bc	869 (173,8)	cd	1.627 (325,4)	c
LM 270 D x LM 239 T	251 (50,2)	b	421 (84,2)	c	743 (148,6)	cd	1.406 (281,2)	bc
GB 30 D x RS 44 T	110 (22)	a	311 (62,5)	ab	241 (48,2)	ab	662 (12,4)	a

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,01.

() = Rata-rata produksi kalus pada tiap genotip



Gambar 1. Kalus kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq)

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan pada 25 ortet yang berasal dari 5 *genotipe* menunjukkan adanya perbedaan pada kemampuan produksi kalus. Ortet yang berasal dari *genotipe*

yang sama, jumlah akhir kalus tidak berbeda nyata. Perbedaan kemampuan produksi kalus yang sangat menonjol terjadi antar*genotipe*. *Genotipe* DS29D x LM2T adalah yang terbanyak produksi kalusnya mencapai 3.814 tabung, sedangkan *genotipe* GB30D x RS44T

paling sedikit menghasilkan kalus, hanya 662 tabung. Berarti kemampuan pembentukan kalus pada *genotipe* DS29D x LM2T sebanyak 5,7 x lebih tinggi dibanding *genotipe* GB30D x RS44T.

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam memproduksi klon kelapa sawit pada skala komersial.

DAFTAR PUSTAKA

1. BRACKPOOL, A. L., R. L. BRANTON and J. BLAKE. 1986. Regeneration in oil palm. In cell culture and somatic cell genetics of plant, Academic Press, Vol.3. pp:207-222.
2. GINTING, G., FATMAWATI, F. SALMAN dan SUBRANTO. 1994. Mana-jemen produksi planlet kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq). Berita Pusat Penelitian Kelapa Sawit Vol. 2 No.1. hal: 17-24.
3. GINTING, G. dan FATMAWATI. 1997. Suspensi sel pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq). Jurnal Penelitian Kelapa Sawit Vol.5 No 3. Hal: 153-160.
4. GINTING, G. dan FATMAWATI. 1999. Upaya menurunkan biaya produksi kalus kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) melalui penggunaan media cair. Warta Pusa Penelitian Kelapa Sawit Vol. 7 No.3. hal: 109 - 114
5. ROHANI, O., 1996. Tissue culture in oil Palm . In oil palm plantation management course. Selected readings, PORIM- Malaysia. pp: 34-43.
6. RUSLAN, A. 1993. Large scale propagation of clonal palms, some limitations, common problems and progress. Proceedings of the 1993 PIPOC, PORIM Malaysia. pp:112-13.
7. SCHWENDIMAN, J., C. PANNETIER and F. N. MICHAUX. 1988. Histologi of somatic embryogenesis from leaf explants of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). Annual of Botany 62. pp: 43-52.