



PENGARUH WAKTU PAPARAN ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP TINGKAT ABNORMALITAS KLON KELAPA SAWIT

THE EFFECT OF EXPOSURE TIME OF PLANT GROWTH REGULATOR TO ABNORMALITY RATE OF OIL PALM CLONES

Dian Rahma Pratiwi, Sri Wening, Erwin Nazri, dan Iman Yani Harahap

Abstrak Salah satu komponen yang sering terdapat dalam media kultur jaringan tanaman adalah Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), yang diperlukan untuk merangsang pertumbuhan kultur tanaman. Pemberian ZPT yang berlebihan dapat memberikan dampak abnormalitas pada tanaman klon hasil kultur jaringan. Diperlukan kajian untuk mengetahui pengaruh waktu paparan ZPT terhadap tingkat abnormalitas klon secara komprehensif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh total waktu paparan ZPT serta waktu paparan beberapa media dengan kandungan ZPT yang berbeda terhadap tingkat abnormalitas tanaman klon kelapa sawit di lapangan. Empat galur tanaman hasil kultur jaringan (klon) kelapa sawit yakni P, Q, R, dan S yang berumur 4 tahun digunakan untuk penelusuran waktu inkubasi kultur di laboratorium dan pengamatan tingkat abnormalitas di lapangan. Hubungan antara peubah dianalisis menggunakan analisis korelasi dan analisis regresi linier berganda serta analisis regresi linier sederhana. Hasil menunjukkan bahwa total waktu paparan kultur pada media yang mengandung ZPT berpengaruh secara nyata pada tingkat abnormalitas klon di lapangan. Semakin lama waktu paparan (lebih dari 171 hari), semakin tinggi tingkat abnormalitas klon. Dari ketiga jenis media kultur yang mengandung ZPT, media yang mengandung 2,4-D dan 2,4,5-TCPP memiliki pengaruh yang signifikan dan hubungan positif yang sangat erat terhadap kejadian abnormalitas klon dibandingkan media yang mengandung 2,4-D dan BAP. Lama waktu paparan dengan NAA tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat abnormalitas klon

di lapangan. Sebaliknya, total waktu inkubasi media kultur yang tidak mengandung ZPT tidak mempengaruhi tingkat abnormalitas klon di lapangan dan hubungannya negatif. Model linier dapat digunakan untuk memperkirakan tingkat abnormalitas klon yang dihasilkan berdasarkan waktu paparan ZPT pada proses *in vitro*.

Kata kunci: Zat Pengatur Tumbuh, klon, kelapa sawit, abnormalitas

Abstract One of components frequently found in plant culture media is plant growth regulator (PGR), which is needed to stimulate plant culture growth. Excessive PGR addition can induce clone abnormality. It is needed comprehensive study to understand the effect of time exposure of PGR to oil palm clone abnormality in the field. This research aims to study the effect of total exposure time of PGR as well as exposure time of each medium containing different PGRs to abnormality rate of oil palm clones in the field. Four lines of oil palm clones aged 4 years (P, Q, R, and S) were used for tracking the incubation time in the laboratory and abnormality rate in the field. The relation between variables was analyzed by using correlation, multiple linear regression and simple linear regression analysis. The results showed that length of PGRs exposure time significantly affected the clone abnormality in the field. Longer the exposure time (more than 171 days), higher the abnormality rate. From the three media containing PGR, medium containing 2,4-D and 2,4,5-TCPP significantly affected and had high significant positive correlation to clone abnormality than medium containing 2,4-D and BAP. Medium containing NAA did not show any correlation with clone abnormality rate. On the contrary, the results showed that length of incubation time in media without any PGR did not affect rate of abnormality significantly and it also had negative

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

Dian Rahma Pratiwi (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email: dianrahmapratiwi@gmail.com

correlation. Linear model can be used to estimate the clone abnormality rate in the field, based on exposure time of PGR during the in vitro process.

Keywords: *plant growth regulator, clone, oil palm, abnormality*

PENDAHULUAN

Perbanyak tanaman kelapa sawit melalui kultur jaringan memanfaatkan sifat totipotensi yang dimiliki oleh sel tumbuhan. Sifat totipotensi adalah kemampuan sel tumbuhan untuk memproduksi embrio menjadi individu baru (Germana dan Lambardi, 2016). Proses perbanyak tanaman melalui kultur jaringan umumnya dapat terjadi melalui dua proses yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan organ tanaman akibat adanya stimulasi yang dapat berasal dari senyawa kimia dalam media kultur, substansi dari eksplan, serta senyawa endogen yang diproduksi oleh tanaman kultur. Regulasi organogenesis dipengaruhi dan dikendalikan secara kimiawi, salah satunya oleh keseimbangan antara auksin dan sitokinin (Thomas dan Davey, 1975). Embriogenesis somatik adalah proses dediferensiasi sel somatik menjadi sel embrionik yang kembali memiliki sifat totipotensi sehingga mampu membentuk embrio somatik dan menghasilkan tanaman utuh tanpa adanya penyatuan gamet (Feher *et al.*, 2003; Guan *et al.*, 2016). Embriogenesis somatik dapat berasal dari satu sel yang unik (uniselular) maupun gabungan beberapa sel (multiselular). Pembentukan embrio secara embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung (*direct embryogenesis*) maupun melalui tahap pengkalusan terlebih dahulu (*indirect embryogenesis*) yang terbagi menjadi beberapa tahap yaitu induksi, ekspresi, multiplikasi, perkembangan, pematangan, perkecambahan, dan perubahan tanaman. Masing-masing tahapan tersebut memiliki karakteristik fisiologi, morfologi dan molekular yang khas (Zavattieri *et al.*, 2010).

Proses organogenesis dan embriogenesis somatik dalam kultur jaringan memerlukan bantuan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Berbeda dengan organogenesis yang memerlukan auksin dan sitokinin yang seimbang, embriogenesis somatik lebih memerlukan auksin untuk menginduksi kalus dan

multiplikasi embrio, meskipun pada beberapa tanaman dibutuhkan juga sitokinin dalam jumlah kecil. Namun penggunaan ZPT khususnya auksin perlu dibatasi karena dapat menjadi penghambat perkembangan tanaman kultur (Pasternak, 2002). Jenis auksin sintetik yang biasa digunakan dalam kultur jaringan kelapa sawit adalah 2,4 *dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D), pikloram (4-*amino-3,5,6-trichloropicolinic acid*), dan *naphthaleneacetic acid* (NAA) (Reflini, 2017; Scherwinski-Pereira *et al.*, 2010). Sedangkan jenis sitokinin yang umum digunakan adalah *benzyl amino purine* (BAP), 2-*isopentenyl adenine* (2-ip), dan kinetin (Weckx *et al.*, 2019).

Pemberian 2,4-D konsentrasi 50 mg/L pada kultur diketahui mampu menghasilkan kalus embriogenik kelapa sawit tertinggi dengan kriteria sel berbentuk isodiametrik dan berwarna kuning kecokelatan (Pádua *et al.*, 2018). Eksplan embrio pada tanaman *Euterpe oleracea* (acaí palm) memproduksi kalus embriogenik sebesar 84,7% dengan pemberian pikloram 450 μM (de Olivera Freitas *et al.*, 2016). Hal tersebut sejalan dengan hasil yang ditunjukkan oleh Scherwinski-Pereira *et al.* (2010), yang menunjukkan bahwa penggunaan pikloram 450 μM efektif menginduksi kalus primer kelapa sawit lebih cepat, yakni 7 hari setelah kultur melalui metode *thin cell layer*. Penggunaan NAA dalam kultur jaringan kelapa sawit kurang memuaskan, namun penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa pemberian NAA dalam konsentrasi kecil 0,5 mg/L memberikan respon yang cukup baik dalam menginduksi kalus embriogenik kelapa sawit (Termizi *et al.*, 2014). Dibandingkan dengan auksin, sitokinin berperan lebih besar dalam proses diferensiasi dan pematangan tunas dan akar (Aslam *et al.*, 2011). Pemberian BAP pada konsentrasi 1 μM mampu meningkatkan perkecambahan dan perkembangan embrio somatik (de Olivera Freitas *et al.*, 2016).

Meskipun banyak kegunaan ZPT untuk mendorong pertumbuhan kultur kelapa sawit, namun akumulasinya yang berlebihan di dalam jaringan tanaman maupun media kultur dapat menyebabkan timbulnya permasalahan abnormalitas pertumbuhan (Weckx *et al.*, 2019). Zat pengatur tumbuh tidak memberikan efek langsung sebagai mutagen namun bertindak tidak langsung melalui stimulasi pertumbuhan tidak teratur yang cepat sehingga menimbulkan pertumbuhan abnormal (Bairu *et al.*, 2011). Akumulasi ZPT yang memacu abnormalitas

dapat terjadi karena panjangnya tahapan yang harus dilalui oleh sel atau jaringan untuk menjadi individu tanaman yang utuh (Sumaryono *et al.*, 2018; Cai *et al.*, 2018). Pada kelapa sawit, rata-rata waktu tercepat yang dibutuhkan sejak awal penanaman eksplan hingga terbentuk ramet adalah 1-2 tahun, dan paling lama dapat mencapai 5 tahun tergantung pada respon genotipe tanaman terhadap media kultur (Corley dan Tinker, 2016; Soh *et al.*, 2017). Walaupun banyak dinyatakan bahwa pemberian ZPT dapat menimbulkan abnormalitas klon kelapa sawit, belum ada laporan yang menjelaskan secara detail hubungan antara lama paparan ZPT dalam setiap tahapan kultur *in vitro* kelapa sawit dengan tingkat abnormalitas yang ada. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis untuk melihat hubungan antara pengaruh lama inkubasi kultur pada semua media yang mengandung ZPT, serta masing-masing media dengan ZPT yang berbeda-beda terhadap tingkat abnormalitas klon kelapa sawit di lapangan. Untuk selanjutnya, abnormalitas yang dimaksud dalam tulisan ini adalah kelainan pada fase berbunga (bunga *androgynous*) dan berbuah (buah mantel dan buah abortus). Diharapkan penelitian ini akan memberikan informasi yang berguna bagi perbaikan protokol kultur jaringan kelapa sawit, sehingga dapat dihasilkan klon yang memiliki tingkat abnormalitas sangat rendah.

BAHAN DAN METODE

Digunakan empat galur tanaman hasil kultur jaringan (klon) kelapa sawit yakni P, Q, R, dan S yang berumur 4 tahun di lapangan. Klon yang digunakan dalam penelitian berasal dari populasi yang beragam. Klon P dan Q berasal dari populasi Dabou x Socfin dengan Yangambi. Klon R dan S berasal dari populasi Dolok Sinumbah dengan LaMe. Klon tersebut ditelusuri datanya dari *database* untuk mengetahui lamanya waktu inkubasi sejak tahapan eksplan hingga aklimatisasi dalam berbagai media kultur jaringan kelapa sawit (media A, B, C, D, E, F, G, dan H), serta jumlah lamanya waktu inkubasi pada media yang mengandung ZPT (A, B, dan F) dan tidak mengandung ZPT/non ZPT (C, D, E, G, dan H) (Tabel 1). Lamanya waktu inkubasi diperoleh dengan menguraikan berapa hari waktu yang dibutuhkan tanaman untuk berpindah dari media pada fase pertama ke media pada fase berikutnya selama keseluruhan proses kultur hingga tahap aklimatisasi. Media A dan B adalah media untuk induksi dan proliferasi kalus, media C untuk embriogenesis, media D dan E untuk induksi dan perbanyak tunas/plantula, media F untuk inisiasi perakaran, serta media G dan H untuk perkembangan akar.

Tabel 1. Komposisi ZPT pada masing-masing media kultur
 Table 1. Plant growth regulator composition in each culture medium

No	Media	Jenis ZPT	Keterangan
1	A	2,4-D dan 2,4,5-TCPP	Auksin
2	B	2,4-D dan BAP	Auksin dan sitokinin
3	C	-	-
4	D	-	-
5	E	-	-
6	F	NAA	Auksin
7	G	-	-
8	H	-	-

Klon kelapa sawit tersebut diamati keragaannya di lapangan untuk mengetahui tingkat abnormalitasnya. Tingkat abnormalitas merupakan banyaknya kejadian tanaman yang menunjukkan kelainan pada fase berbunga dan berbuah. Tingkat abnormalitas dihitung menggunakan rumus :

$$\frac{\text{Jumlah tanaman abnormal}}{\text{Jumlah tanaman yang diamati}} \times 100 \%$$

Pengamatan lapangan dilakukan dari fase vegetatif hingga memasuki fase generatif, yang terdiri dari jumlah tanaman yang menunjukkan gejala abnormalitas, jenis abnormalitas, serta jumlah tanaman yang belum memasuki fase generatif. Analisis korelasi, analisis regresi linier sederhana, dan analisis regresi linier berganda dilakukan terhadap peubah bebas dan peubah terikat menggunakan

program Microsoft Excel 2016 dan R Studio versi 1.2.1335 (RStudio Team, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lama waktu paparan ZPT dipengaruhi oleh jumlah subkultur serta interval waktu subkultur. Secara detil lamanya waktu paparan pada masing-masing media disajikan dalam Tabel 2. Pada protokol kultur jaringan kelapa sawit yang digunakan dalam penelitian, periode subkultur dilakukan setiap 2-4 bulan dengan banyaknya subkultur maksimal enam kali tahap kalus, enam kali tahap embrio, empat kali tahap plantula, empat kali tahap pupus, serta tiga kali tahap akar. Banyaknya jumlah subkultur bergantung pada sulitnya proses induksi dan proliferasi bahan kultur.

Tabel 2. Waktu inkubasi tanaman kultur dalam berbagai media di laboratorium

Table 2. Culture time incubation of various media in the laboratory

ID klon	ID registrasi	Rata-rata lama inkubasi di media (Hari)										Tingkat abnormalitas di lapangan (%)
		A	B	C	D	E	F	G	H	ZPT	non ZPT	
P	1	329	478	329	127	103	0	0	79	807	638	10,86
P	2	329	478	322	127	103	0	0	98	807	650	7,69
Q	1	322	497	191	110	92	0	0	44	819	437	3,57
R	1	171	139	518	217	103	0	0	38	310	876	0
R	2	144	320	393	123	187	0	0	49	464	752	0
R	3	171	139	505	228	254	9	0	73	319	1060	0
R	4	475	502	545	0	118	7	77	0	984	740	10
R	5	144	565	393	123	108	8	68	47	717	739	1,02
R	6	94	277	591	123	79	0	0	49	371	842	9,30
R	7	144	200	561	219	140	14	147	0	358	1067	0
S	1	213	104	411	120	106	9	87	56	326	780	2,85
S	2	302	267	433	132	99	0	0	79	569	743	0

Keterangan : ZPT = jumlah waktu inkubasi pada semua media yang mengandung ZPT, non ZPT = jumlah waktu inkubasi pada semua media yang tidak mengandung ZPT.

Data abnormalitas klon pada kebun penelitian dapat dilihat pada Tabel 3. Rerata abnormalitas tertinggi terjadi pada klon P, sedangkan rerata abnormalitas terendah pada klon S dengan nilai tingkat abnormalitas berturut-turut sebesar 13% dan 1%. Besarnya persentase abnormalitas tersebut merupakan total semua jenis abnormalitas pada fase berbunga dan berbuah, dan tidak ditemukan adanya abnormalitas klon pada fase vegetatif. Jenis abnormalitas yang paling banyak ditemukan adalah buah mantel ringan, diikuti bunga ekor tupai (*androgynous*), bunga banci mantel, dan buah mantel berat (Tabel 3). Beberapa jenis abnormalitas yang ada di lapangan dapat dilihat pada Gambar 1. Pada klon P, ditemukan jenis abnormalitas yang bervariasi di antaranya buah mantel ringan, bunga ekor tupai, bunga banci mantel ekor tupai, dan bunga banci ekor

tupai. Variasi jenis abnormalitas juga ditemukan pada klon R yaitu bunga ekor tupai, buah mantel ringan, dan buah mantel berat. Eeuwens (2002) melaporkan bahwa tingkat abnormalitas meningkat dengan jumlah multiplikasi yang dilakukan. Abnormalitas pembungaan berupa buah mantel tidak terdeteksi pada kultur embrioid fase pertama dan mulai terdeteksi adanya abnormalitas setelah dilakukan multiplikasi berulang kali, yakni tingkat abnormalitas sebesar 25% ditemukan di tahun kedua dan menjadi 90% di tahun ketiga penanaman di lapangan. Jenis abnormalitas lainnya yang ditemukan pada klon kelapa sawit adalah buah partenokarpi, kemandulan buah, perpanjangan masa juvenil, bunga abortus, serta pertumbuhan abnormal vegetatif (Soh *et al.*, 2011; Guzman and Peralta 2010; Ernayunita *et al.*, 2019).

Tabel 3. Jenis-jenis abnormalitas yang ditemukan di lapangan pada klon yang diamati dalam penelitian
 Table 3. *Abnormality types of observed clones found in the field*

ID klon	Jumlah klon yang ada	Rata-rata persentase jumlah klon pada tiap jenis abnormalitas								Tingkat abnormalitas
		Ekor tupai	Banci Mantel	Banci Ekor Tupai	Banci Mantel Ekor Tupai	Mantel Ringan	Mantel Berat	Abortus	Erect	
		%	%	%	%	%	%	%	%	
P	204	2	-	4	1	12	-	-	-	13
Q	42	-	-	-	-	9	-	-	-	7
R	424	0,64	-	-	-	1	1	-	-	2
S	77	-	0,71	-	-	-	-	-	-	1

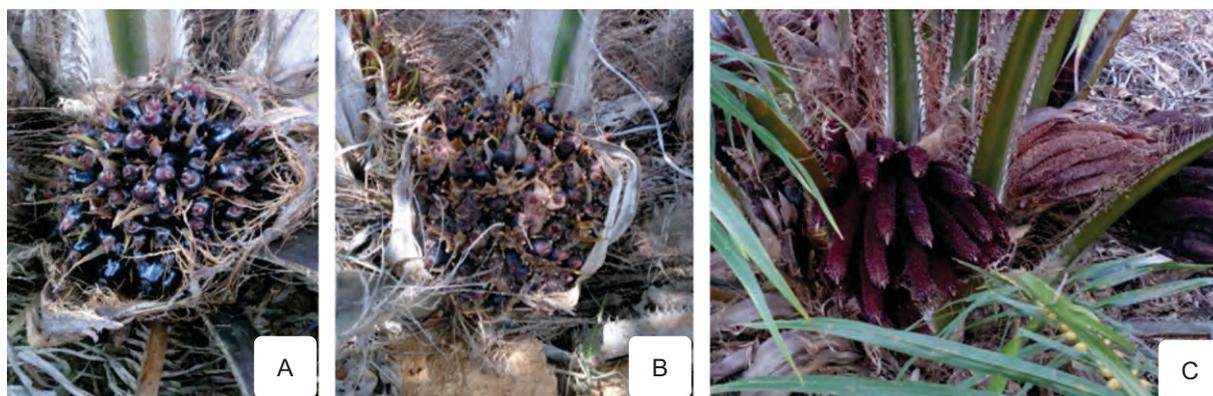
Berdasarkan analisis regresi, hasil menunjukkan bahwa tingkat abnormalitas dapat diperkirakan secara signifikan lebih baik dengan hanya menggunakan informasi waktu paparan ZPT daripada menggunakan informasi waktu paparan ZPT dan non ZPT (Tabel 4 dan Tabel 5). Dari hasil analisis diketahui bahwa total waktu paparan media yang mengandung ZPT memberikan pengaruh secara nyata terhadap tingkat abnormalitas sebesar 65,07% (nilai koefisien determinasi, Tabel 4).

Hubungan erat dan nyata antara peubah media ZPT dan tingkat abnormalitas dimana semakin tinggi waktu paparan dengan media yang mengandung ZPT, maka semakin tinggi tingkat abnormalitas di lapangan (Tabel 6). Hasil serupa ditemukan pada kultur tanaman anyelir yang diberikan perlakuan sitokinin jenis tidiazuron (TDZ). Pada kultur yang diberikan TDZ dalam dosis tinggi dan dalam periode waktu yang lama menunjukkan pertumbuhan tunas yang abnormal. Pertumbuhan yang baik dan normal

diperoleh dengan periode paparan singkat yakni 3-10 hari dilanjutkan dengan subkultur pada media yang tidak mengandung ZPT (Onamu *et al.*, 2003).

Analisis regresi linier berganda dan korelasi juga dilakukan terhadap waktu paparan pada tiap media dengan tingkat abnormalitas klon di lapangan. Analisis regresi linier berganda antara media A, B, dan F dengan tingkat abnormalitas menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p\text{-value} = 0,074$, hasil analisis statistik tidak ditampilkan), artinya model linier dengan tiga peubah ini tidak cukup baik untuk menerangkan pengaruh tingkat abnormalitas. Analisis regresi linier berganda dilanjutkan pada media A dan B dengan tingkat abnormalitas dan menunjukkan bahwa media A memiliki pengaruh yang signifikan terhadap tingkat abnormalitas, sedangkan media B tidak (Tabel 7 dan 8). Lebih lanjut, hubungan erat yang nyata ditunjukkan antara waktu paparan media A yang mengandung 2,4-D dan 2,4,5-TCPP dengan tingkat abnormalitas klon di

lapangan (Tabel 9). Semakin tinggi waktu paparan dengan media A, maka semakin tinggi tingkat abnormalitas klon di lapangan. Hasil tersebut menekankan pula bahwa pengaruh media A lebih besar dibandingkan pengaruh media B terhadap kejadian abnormalitas klon di lapangan. Hal ini dapat dipahami karena kedua ZPT (2,4-D dan 2,4,5-TCPP) yang terdapat pada media A adalah auksin yang merangsang munculnya kalus secara kuat (Garcia *et al.*, 2019; Sogeke 1998). Media B mengandung ZPT berupa auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP), yang keduanya sebenarnya merupakan ZPT yang kuat (Arab *et al.*, 2014; Victório *et al.*, 2012). Tetapi karena media B merupakan media kultur fase pengkalusan, maka ZPT sitokinin (BAP, yang digunakan khususnya untuk merangsang proses diferensiasi kultur) pada media B memiliki dosis yang rendah. Hal ini menyebabkan tingkat stimulasi yang rendah atau dengan kata lain memiliki tingkat toksisitas yang rendah terhadap kultur.



Gambar 1. Beberapa jenis abnormalitas tanaman klon yang diamati pada penelitian. A) buah mantel ringan, B) buah mantel berat, dan C) bunga ekor tupai. (foto diambil oleh Erwin Nazri).

Figure 1. Several types of clone abnormalities were observed in the research. A) light mantled fruits, B) severe mantled fruits, and C) androgynous (squirrel tail-like) flowers. (pictures taken by Erwin Nazri).

Tabel 4. Analisis regresi peubah total waktu paparan pada media ZPT dan non ZPT dengan tingkat abnormalitas klon
Table 4. Regression analysis on total exposure time in media containing plant growth regulator (PGR) and media without PGR with clone abnormality rate

	Koefisien	Standar Error	t-hitung	p-value
Konstanta	0,6438	0,0562	11,455	0,0000
ZPT	0,0001	0,0000	3,192	0,0242
Non ZPT	0,0000	0,0000	0,667	0,5342

Koefisien determinasi (R^2) yang disesuaikan : 0,6507; Standar error : 0,0181; F-hitung : 7,520; dan p-value : 0,0310. Persamaan regresi : $y = 0,6438 + 0,0001x$.

Tabel 5. Analisis regresi pada peubah total waktu paparan pada media ZPT dan tingkat abnormalitas klon
 Table 5. Regression analysis on total exposure time in media containing plant growth regulator (PGR) and clone abnormality rate

	Koefisien	Standar Error	t-hitung	p-value
Konstanta	-4,0868	2,3129	-1,766	0,1276
ZPT	0,014	0,0035	3,980	0,0072

Koefisien determinasi (R²) : 0,7252; Standar error : 2,5783; F-hitung : 15,84; dan p-value : 0,0072. Persamaan regresi : $y = 0,014x - 4,0868$.

Tabel 6. Koefisien korelasi pada peubah total waktu paparan pada media ZPT dan tingkat abnormalitas klon
 Table 6. Regression coefficient on total exposure time in media containing plant growth regulator (PGR) and clone abnormality rate

Parameter	Nilai
Koefisien korelasi (r)	0,8516
Derajat bebas	6
t-hitung	3,980
p-value	0,0036

Tabel 7. Analisis regresi pada peubah total waktu paparan pada media A, dan B dengan tingkat abnormalitas klon
 Table 7. Regression analysis on total exposure time in A and B medium with clone abnormality rate

	Koefisien	Standar Error	t-hitung	p-value
Konstanta	0,6727	0,0016	42,006	0,0000
Media A	0,0002	0,0000	2,246	0,0747
Media B	-0,0000	0,0000	0,473	0,6563

Koefisien determinasi (R²) yang disesuaikan : 0,7063; Standar error : 0,0166; F-hitung : 9,418; dan p-value : 0,0201. Persamaan regresi : $y = 0,6727 + 0,0002x$.

Tabel 8. Analisis regresi pada peubah total waktu paparan pada media A dan tingkat abnormalitas klon
 Table 8. Regression analysis on total exposure time in A medium with clone abnormality rate

	Koefisien	Standar Error	t-hitung	p-value
Konstanta	-5,139	2,235	-2,299	0,061
Media A	0,035	0,008	4,575	0,004

Koefisien determinasi (R²) : 0,7808; Standar error : 0,0155; F-hitung : 21,38; dan p-value : 0,0036. Persamaan regresi : $y = 0,035x - 5,139$.

Meskipun media F juga mengandung ZPT yaitu NAA, namun nilai koefisien determinasi menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh inkubasi

dalam media F terhadap abnormalitas ($R^2 = 0,0096$, $p\text{-value} = 0,817$, hasil analisis statistika tidak ditunjukkan). Hal ini disebabkan inkubasi pada

media F hanya berlangsung selama 5-7 hari. Hasil tersebut juga semakin menekankan bahwa meningkatnya abnormalitas disebabkan semakin lamanya paparan ZPT yang diterima tanaman kultur. Selain itu, Sogeke (1998) menyatakan bahwa NAA merupakan ZPT yang memiliki sifat toksik terhadap tanaman yang rendah.

Hasil analisis memperlihatkan hasil yang kontras, yang menyebutkan bahwa media yang tidak mengandung ZPT (non ZPT) tidak berpengaruh terhadap abnormalitas (Tabel 10). Hasil analisis korelasi pada media yang tidak mengandung ZPT juga menunjukkan nilai koefisien korelasi yang sangat kecil (Tabel 11). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada

pengaruh maupun hubungan antar peubah media non ZPT terhadap tingkat abnormalitas klon di lapangan. Dengan kata lain, semakin lama waktu inkubasi kultur pada media yang tidak mengandung ZPT, semakin rendah tingkat abnormalitas klon di lapangan. Diduga hal ini terjadi karena akumulasi ZPT (khususnya auksin) dalam jaringan semakin berkurang jumlahnya seiring dilakukannya proses transfer ke media non ZPT. Hal ini berkaitan dengan terjadinya proses transfer auksin dalam bentuk tidak aktif (konjugat) saat dilakukan subkultur pada media non ZPT, sehingga yang semula konsentrasi auksin tinggi dalam jaringan akibat terlalu lama terpapar, menjadi berkurang seiring dilakukannya transfer (Machakova *et al.*, 2008).

Tabel 9. Koefisien korelasi pada peubah total waktu paparan pada media A dan tingkat abnormalitas klon
Table 9. Regression coefficient on total exposure time in A medium and clone abnormality rate

Parameter	Nilai
Koefisien korelasi (r)	0,8836
Derajat bebas	6
t-hitung	4,623
p-value	0,0036

Tabel 10. Analisis regresi pada peubah total waktu paparan pada media non ZPT dan tingkat abnormalitas klon
Table 10. Regression analysis on total exposure time in media without plant growth regulator (PGR) and clone abnormality rate

	Koefisien	Standar Error	t-hitung	p-value
Konstanta	13.3705	6.7794	1.9722	0.0960
Non ZPT	-0.0121	0.0089	-1.3617	0.2221

Koefisien determinasi (R²) : 0,2360; Standar error : 4,299; F-hitung : 1,854; dan p-value : 0,2221. Persamaan regresi : $y = 13.3705 - 0,0121x$.

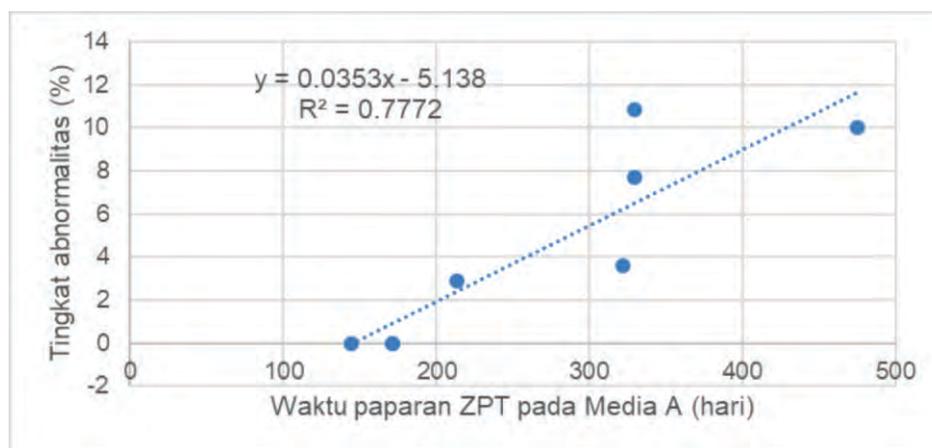
Tabel 11. Koefisien korelasi pada peubah total waktu paparan pada media non ZPT dan tingkat abnormalitas klon
Table 11. Regression coefficient on total exposure time in media without plant growth regulator (PGR) and clone abnormality rate

Parameter	Nilai
Koefisien korelasi (r)	-0,485
Derajat bebas	6
t-hitung	-1,361
p-value	0,222

Hasil analisis regresi menghasilkan model linier yang dapat digunakan untuk memperkirakan tingkat abnormalitas klon pada peubah bebas (waktu paparan media A), yaitu $y = 0,035x - 5,138$ (Gambar 2). Setiap penambahan waktu paparan pada media A akan meningkatkan abnormalitas klon di lapangan sesuai dengan rumus model tersebut.

Jika ditinjau berdasarkan protokol yang ada yakni interval subkultur setiap 2-4 bulan sebanyak 6 kali, dapat diketahui bahwa total waktu paparan ZPT yang terjadi berkisar antara 360-720 hari. Jika dilihat

pada Tabel 2, klon P yang memiliki tingkat abnormalitas tertinggi (10,86%), mengalami total waktu paparan pada media A sepanjang 329 hari, sedangkan klon R yang memiliki tingkat abnormalitas 0%, mengalami total waktu paparan pada media A sepanjang 144-171 hari. Model linier tersebut dapat digunakan untuk menduga berapa lama waktu terpapar ZPT yang boleh diterima tanaman kultur untuk menekan abnormalitas hingga 0%, yaitu perlu dilakukan pemotongan waktu paparan pada media A menjadi maksimum 171 hari.



Gambar 2. Garis regresi waktu paparan ZPT pada media A terhadap tingkat abnormalitas.

Figure 2. Regression line of exposure time in A medium with clone abnormality rate.

Peran ZPT dalam memicu timbulnya abnormalitas sudah lama disampaikan baik pada tanaman lain maupun kelapa sawit secara khusus. Beberapa laporan yang menyebutkan adanya kaitan antara abnormalitas beberapa tanaman dengan paparan ZPT selama kultur di antaranya adalah pada kultur *Vitis vinifera* L yang diberikan BAP sebesar 0,8-3,5 Mm, yang menunjukkan peningkatan abnormalitas embrio hingga 40% (Ji *et al.*, 2017). Abnormalitas embrio juga ditunjukkan akibat pemberian 2,4-D dalam kultur hingga menyebabkan kegagalan berkecambah pada tanaman *Hovenia dulcis* (Yang *et al.*, 2013), *Glycine max* (Shoemaker *et al.*, 1991), serta *Capsicum chinese* Jacq (Garcia *et al.*, 2019). Pada kelapa sawit, dilaporkan bahwa kejadian abnormalitas dipengaruhi oleh genotipe tanaman, jenis dan konsentrasi ZPT, serta jumlah dan interval waktu subkultur (Weckx *et al.*, 2019; Mustafa dan Taha, 2012; Sing dan Agarwal, 2016). Tetapi, pada laporan mengenai jumlah dan

interval waktu subkultur tersebut tidak disampaikan analisis data secara terperinci. Tulisan ini adalah laporan pertama yang menjelaskan pengaruh waktu paparan ZPT yakni jenis auksin dan sitokinin yang digunakan pada suatu protokol terhadap tingkat abnormalitas klon kelapa sawit secara komprehensif. Abnormalitas sebesar 59,99% dilaporkan pada kultur embrio zigotik kelapa sawit di media Y3 yang diberikan perlakuan ZPT jenis GA3, BA, dan NAA 0,2 mg/L. Tingginya tingkat abnormalitas yang terjadi bergantung pada genotipe tanaman yakni genotipe G4 dan G3 memiliki tingkat abnormalitas yang tinggi dibandingkan genotipe yang lain (Sparjanbabu *et al.*, 2018). Hal serupa juga disampaikan oleh Termizi *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pengaruh NAA untuk inisiasi tunas kultur kelapa sawit dipengaruhi oleh genotipe tanaman. Pada penelitian ini, klon yang menunjukkan abnormalitas merata dari kedua populasi (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa

sebenarnya genotipe berpengaruh langsung terhadap respon proses kultur jaringan (Vujovic *et al.*, 2012; Correa *et al.*, 2016), dan bukan berpengaruh langsung terhadap tingkat abnormalitas di lapangan. Semakin responsif suatu genotipe terhadap proses kultur jaringan, semakin singkat waktu yang diperlukan dalam proses pengkulturan. Begitupun sebaliknya, genotipe yang kurang responsif menyebabkan waktu pengkulturan menjadi lebih lama sehingga risiko abnormalitas meningkat. Termizi *et al.* (2014) menyatakan bahwa konsentrasi NAA sebesar 0,5 mg/L memberikan hasil yang baik untuk inisiasi tunas dan fitosterol pada kelapa sawit, sedangkan konsentrasi yang tinggi sebesar 2 mg/L menyebabkan kematian jaringan (nekrosis) serta ekskresi senyawa fenol.

Abnormalitas pada kelapa sawit dijelaskan berkaitan dengan adanya variasi somaklonal yang distimulasi karena pengerjaan kultur jaringan (Rival *et al.*, 2013). Abnormalitas yang terjadi ada yang bersifat sementara dan permanen bergantung pada parahnya abnormalitas yang terjadi. Abnormalitas yang bersifat sementara dan dapat pulih seperti munculnya buah mantel ringan, sedangkan abnormalitas yang sifatnya permanen tidak akan pulih, misalnya munculnya buah abortus dan buah mantel berat (Mgbeze dan Iserhienrhien, 2014). Abnormalitas berupa buah mantel ringan dapat pulih 100% normal seiring waktu, sedangkan buah mantel berat dapat pulih 50% menjadi normal setelah 9 tahun di lapangan (Jaligot *et al.*, 2011). Berdasarkan data diketahui bahwa abnormalitas pada klon yang diamati pada penelitian ini, didominasi oleh buah mantel ringan. Hal tersebut menandakan masih terbuka kesempatan tanaman untuk pulih dan memproduksi normal.

Selain penggunaan ZPT, variasi somaklonal juga dapat disebabkan oleh kondisi tercekam yang dialami oleh jaringan seperti pelukaan, proses sterilisasi, dan medium sebagai tempatnya tumbuh tidak optimal (Weckx *et al.*, 2019). Waktu kultur yang panjang serta interval subkultur yang pendek diketahui meningkatkan abnormalitas klon kelapa sawit. Interval subkultur 2-4 minggu menyebabkan abnormalitas buah mantel diatas 30% dibandingkan subkultur yang dilakukan setiap 8 minggu. Hal tersebut dikarenakan proses subkultur menyebabkan pelukaan pada jaringan sehingga menginduksi sintesis etilen yang terlibat dalam abnormalitas pembungaan (Eeuwens *et al.*, 2002). Namun dari hasil penelitian ini dapat

diketahui bahwa pengaruh di luar waktu paparan ZPT sangat kecil. Hal ini ditunjukkan oleh koefisien determinasi yang signifikan (Tabel 4).

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Total waktu paparan kultur pada media yang mengandung ZPT berpengaruh secara nyata pada tingkat abnormalitas klon di lapangan. Semakin lama waktu paparan, semakin tinggi tingkat abnormalitas klon. Media yang mengandung 2,4-D dan 2,4,5-TCPPP berpengaruh signifikan dan memiliki hubungan positif yang sangat erat dengan tingkat abnormalitas klon di lapangan dibandingkan media yang mengandung 2,4-D dan BAP. Lama waktu paparan kultur dengan NAA tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat abnormalitas klon di lapangan. Sebaliknya, total waktu inkubasi media kultur yang tidak mengandung ZPT tidak mempengaruhi tingkat abnormalitas klon di lapangan dan hubungannya negatif. Model linier antara waktu paparan kultur pada media A dapat digunakan untuk memperkirakan tingkat abnormalitas klon kelapa sawit di lapangan.

SARAN

Pengamatan keragaan klon di lapangan harus terus dilakukan agar diperoleh data terkini guna peningkatan kualitas klon yang dihasilkan dilengkapi dengan data vegetatif dan produksi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya diberikan kepada tim Divisi Kultur Jaringan yang telah membuat sistem *database* untuk tanaman kultur serta tim Kelompok Peneliti Pemuliaan dan Bioteknologi yang telah membantu selama kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Arab, M.M., A. Yadollahi, A. Shojaeiyan, S. Shokri, and S.M. Ghoghah. 2014. Effects of nutrient media, different cytokinin types and their concentrations on in vitro multiplication of GxN15 (hybrid of almond x peach) vegetative rootstock. *Journal*

- of Genetic Engineering and Biotechnology 12: 81-87.
- Aslam, A., A. Ali, N..H. Naveed, A. Saleem, and J. Iqbal. 2011. Effect of interaction of 6-benzyl aminopurine (BA) and sucrose for efficient microtuberization of two elite potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars, Desiree, and Cardinal. African Journal of Biotechnology 10(59): 12738-12744.
- Bairu, M.W., A.O. Aremu, J. Van Staden. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. Plant Growth Regulator.
- Cai, T., X. Meng, X. Liu, T. Liu, H. Wang, Z. Jia, D. Yang, and X. Ren. 2018. Exogenous hormonal application regulates the occurrence of wheat tillers by changing endogenous hormones. Frontiers in Plant Science 9(188): 1-17.
- Correa, T.R., S.Y. Motoike, A.P. de Souza Andrade, S.M. Coser, V. Queiroz, M.M.C. Granja, D.B.N. Caetano, C.N.M. Pena, and E.A. de Toledo Picoli. 2016. Accelerated in vitro propagation of elite oil palm genotypes (*Elaeis guineensis* Jacq.) by substituting cytokinin with putrescine. Academic Journals 15(50): 2767-2775.
- De Olivera Frietas, E., T.R. Monteiro, G.F. Nogueira, J. E. Scherwinski-Pereira. 2016. Somatic embryogenesis from immature and mature zygotic embryos of the açai palm (*Euterpe oleracea*): Induction of embryogenic cultures, morphoanatomy and its morphological characteristics. Scientia Horticulturae 212: 126-135.
- Eeuwens, C.J., S. Lord, C.R. Donough, V. Rao, G. Vallejo, and S. Nelson. 2002. Effects of tissue culture conditions during embryoid multiplication on the incidence of 'mantled' flowering in clonally propagated oil palm. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 70 (3): 311-323.
- Ernayunita, H.Y. Rahmadi, dan Y. Yenni. 2017. Perbanyak bahan tanam unggul kelapa sawit melalui kultur jaringan di PPKS. WARTA PPKS 21(4): 8-14.
- Ernayunita, H. Rahmadi, Y. Yenni, R.D. Setiowati, dan I.Y. Harahap. 2019. Vegetative characterization to identify oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantlet abnormalities. AIP Conference Proceedings 2099 1-8.
- Fehér, A., T.P. Pasternak, and D. Dudits. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. Plant Cell Tissue Organ Culture 74: 201-228.
- Garcia, C., A.F. de Almeida, M. Costa, D. Britto, R. Valle, S. Royaert, J. Marelli. 2019. Abnormalities in somatic embryogenesis caused by 2,4-D: an overview. Plant Cell, Tissue and Culture 137: 193-212.
- Germana, M.A., and M. Lambardi. 2016. In vitro embryogenesis in higher plants. Methods Mol Biol 1359:1-577.
- Guan, Y., S.G. Li, X.F. Fan, and Z.H. Su. 2016. Induction of somatic embryogenesis in woody plants. Frontier in Plant Science. 7:398
- Guzman, N., and F. Peralta. 2010. Advances in tissue culture propagation of compact oil palms clones in Costa Rica. ASD Oil Palm Papers (Costa Rica) 35: 1-6.
- Jaligot, E., S. Adler, E. Debladis, T. Beule, F. Richaud, P. Ilbert, E.J. Finnegan, and A. Rival. 2011. Epigenetic imbalance and the floral developmental abnormality of the in vitro-regenerated oil palm *Elaeis guineensis*. Annals of Botany 108(8): 1453-1462.
- Ji, W., Y. Luo, and R. Guo. 2017. Abnormal somatic embryo reduction and recycling in grapevine regeneration. Journal of Plant Growth Regulator.
- Machakova, I., E. Zazimalova, and E.F. George. 2008. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. Di Dalam : Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. Editor : George, E.F, M.A. Hall, and G.D. Klerk.
- Mgbeze, G.C., and A. Iserhienrhien. 2014. Somaclonal variation associated with oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) clonal propagation: A review. African Journal of Biotechnology 13(9): 989-997.
- Mustafa, N.S., and R.A Taha. 2012. Influence of Plant Growth Regulators and Subculturing on In Vitro Multiplication of Some Fig (*Ficus Carica*) Cultivars. Journal of Applied Sciences Research.. 8(8): 4038-4044.
- Onamu, R., S.D. Obukosia, N. Musembi and M.J. Hutchinson. 2003. Efficacy of Thidiazuron in In

- vitro Propagation of Carnation Shoot Tips: Influence of Dose and Duration of Exposure. *African Crop Science Journal* 11(2): 125-132.
- Padua, M.S., R.S. Santos, C.R.G. Labory, V.C. Stein, E.G. Mendonca, E. Alves, and L.V. Paiva. 2018. Histodifferentiation of oil palm somatic embryo development at low auxin concentration 255(1): 285-295.
- Pasternak, T.P. 2002. The role of auxin, pH, and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of alfalfa. *Plant Physiology* 129:1807-1819.
- Reflini. 2017. Evaluation of 2,4-D and NAA Concentrations for Callus and Somatic Embryos Formation in Oil Palm. *Journal of Advanced Agricultural Technologies* 4(3):215-218.
- Rival, A., P. Ilbert, A. Labeyrie, E. Torres, S. Doubeau, A. Personne, S. Dussert, T. Buele, T. Durand-Gasselin, J.W. Tregear, E. Jaligot. 2013. Variations in genomic DNA methylation during the long-term in vitro proliferation of oil palm embryogenic suspension cultures. *Plant Cell Reports*. 32: 359–368.
- RStudio Team. 2018. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Scherwinski-Pereira, J.E., R.S. da Guedes, P. Cesar, Jr. Fermio, T.L. Silva, and F.H.S. Costa. 2010. Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 46: 378-385.
- Shoemaker, R.C., L.A. Amberger, R.G. Palmer, L. Oglesby, and J.P. Ranch. 1991. Effect of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid concentration on somatic embryogenesis and heritable variation in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 27:84–88.
- Sing, A, and P.K. Agarwal. 2016. Enhanced micropropagation protocol of ex vitro rooting of a commercially important crop plant *Simmondsia chinensis* (Link) Schneider. *Journal of Forest Science*. 62(3): 107-115.
- Sogeke, A.K. 1988. Stages in the vegetative propagation of oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. Through tissue culture. *Journal of Oil Palm Research* 10(2): 1-9.
- Soh, A.C., S. Mayes, and J.A. Roberts. 2017. *Oil Palm Breeding Genetics and Genomics*. CRC Press.
- Soh, A.C., G. Wong, C.C. Tan, P.S. Chew, S.P. Chong, Y.W. Ho, C.K. Wong, C.N. Choo, H. Nor Azura, and K. Kumar. 2011. Commercial-scale propagation and planting of elite oil palm clones: research and development towards realization. *Journal of Oil Palm Research*. 23: 935-952.
- Sparjanbabu, D.S., P.N. Kumar, M.S.R. Krishna, D. Ramajayam, B.K. Babu, and B. Susanthi. 2019. Effect of culture media, plant growth regulators and genotypes on growth and developmental stages of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) zygotic embryos. *Indian Journal of agricultural Research* 53(2): 143-150.
- Sumaryono, I. Riyadi, R.T. Saptari, H.Y. Rahmadi, and Emayunita. 2018. Embryogenic callus initiation from leaf explants of *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (OxG) hybrids. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 183 012009: 1-6.
- Termizi, Z.H., N.J. Sidik, T.A. Hashim, and N. Ahmat. 2014. The effects of different concentrations of NAA on oil palm (*Elaeis guineensis*) embryoid cultures and phytosterols production. *Australian Journal of Crop Science* 8(6): 840-847.
- Victório, C.P., C.L.S. Lage, and A. Sato. 2012. Tissue culture techniques in the proliferation of shoots and roots of *Calendula officinalis*. *Revista Ciencia Agronomica* 43(3):539-545.
- Vujovic, T., Dj. Ruzic, and R. Cerovic. 2012. In vitro shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. *Horticultural Science* 39(3): 101-107.
- Weckx, S., D. Inze, L. Maene. 2019. Tissue Culture of Oil Palm: Finding the Balance Between Mass Propagation and Somaclonal Variation. *Frontier in Plant Science* 10(722): 1-17.
- Yang, J, S. Wu, and C. Li. 2013. High efficiency secondary somatic embryogenesis in *Hovenia dulcis* Thunb. through solid and liquid cultures. *The Science World Journal* 2013:1-6.
- Zavattieri, M.A., A.M. Frederico, M. Lima, R. Sabino, and B. Arnholdt-Schmitt. 2010. Induction of somatic embryogenesis as an example of stress-related plant reactions. *Electron Journal of Biotechnology* 13:1-9.