

PENDEKATAN HISTOLOGI DALAM STUDI MORFOGENESIS EMBRIO SOMATIK KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) DALAM KULTUR JARINGAN

Muhammad Ilham*, Ernayunita, dan Hernawan Yuli Rahmadi

Abstrak - Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) adalah tanaman yang terkenal sebagai sumber penghasil minyak kelapa sawit yang berasal dari Afrika dan termasuk dalam kelompok tanaman monokotil. Metode mikropropagasi melalui embriogenesis somatik (ES) dapat digunakan sebagai alternatif untuk multiplikasi dalam kultur jaringan. Kultur jaringan tanaman adalah suatu teknologi yang memerlukan analisis morfologi dan anatomi tanaman secara mendalam melalui pendekatan studi histologi. Pendekatan histologi adalah studi yang membahas struktur sel dan jaringan melalui sediaan preparat yang diamati dengan mikroskop. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fase awal tahapan morfogenezis embrio somatik kelapa sawit menggunakan pendekatan histologi. Proses pembuatan preparat dilakukan dengan metode embedding meliputi tahapan fiksasi, dehidrasi, dealkoholisasi, infiltrasi, *embedding*, *staining*, *mounting*, dan *labeling*. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa embrio somatik kelapa sawit tenera yang berumur 33 bulan berbentuk bulat (globular), sedikit memanjang, warna keputihan, dan konsistensi berair. Hasil identifikasi histologi selama morfogenezis embrio somatik menunjukkan adanya protoderm, untai prokambial (*procambial strands*), suspensor, korteks, zona meristematik, embrio bentuk globular, embrio bentuk hati, jaringan parenkim, koleoptil, serta nukleus yang berlokasi di tengah.

Kata kunci: Anatomi, *E. guineensis* Jacq., Embriogenesis somatik, Metode *embedding*, Histologi

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dikenal sebagai tanaman penghasil minyak yang berasal dari Benua Afrika. *E. guineensis* Jacq. digolongkan ke dalam famili Arecaceae yang terdiri sekitar 2.000 spesies palem lainnya (Weckx et al., 2019). Tanaman ini merupakan tanaman perkebunan tropis yang diproduksi untuk diekstraksi bagian mesokarpnya menjadi *Crude Palm Oil* dan bagian kernel sawit menjadi minyak inti sawit (*Palm Kernel Oil*). Pada tahun 2023, luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia tercatat mencapai 16.833.985 hektar. Produksi CPO di Indonesia pada tahun 2021 menunjukkan angka 2.543.057 ton dengan produktivitas mencapai 3.947 kg/ha (Ditjenbun, 2023). Dewasa ini perkembangan industri kelapa sawit meningkat pesat sehingga diperlukan peningkatan produktivitas dengan menggunakan bahan tanam

yang unggul. *E. guineensis* Jacq. umumnya diperbanyak melalui biji hasil persilangan tetua terpilih melalui teknik perbanyakan konvensional. Perbanyakan alternatif secara non konvensional seperti kultur jaringan melalui embriogenesis somatik (ES) dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk memperbanyak klon (Scherwinski-Pereira et al., 2010). Teknologi alternatif ini sangat bermanfaat untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif dan memiliki potensi yang besar untuk menghasilkan anakan kelapa sawit dalam jumlah besar (Bonetti et al., 2016).

Kultur jaringan digunakan untuk memperbanyak kelapa sawit secara vegetatif yang sangat berpotensi untuk menghasilkan bibit tanaman unggul dengan menekan tingkat kelainan yang minim (Azahra & Ernayunita, 2023). Selain itu, teknologi kultur jaringan dapat digunakan sebagai studi dasar mengenai morfologi dan perkembangan suatu tanaman. Pendekatan histologi dapat digunakan dalam mendeteksi tahapan-tahapan abnormalitas yang terjadi pada embriogenesis kelapa sawit. Selain itu, histologi dalam kultur jaringan bertujuan untuk melihat perubahan yang terjadi dalam perkembangan eksplan yang dapat memberikan pengetahuan mengenai proses seluler dan memberikan informasi analisis lebih

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

Muhammad Ilham* (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158, Indonesia

Email: Ilhambawazier04@gmail.com

lanjut (Karabiyik & Sen, 2023).

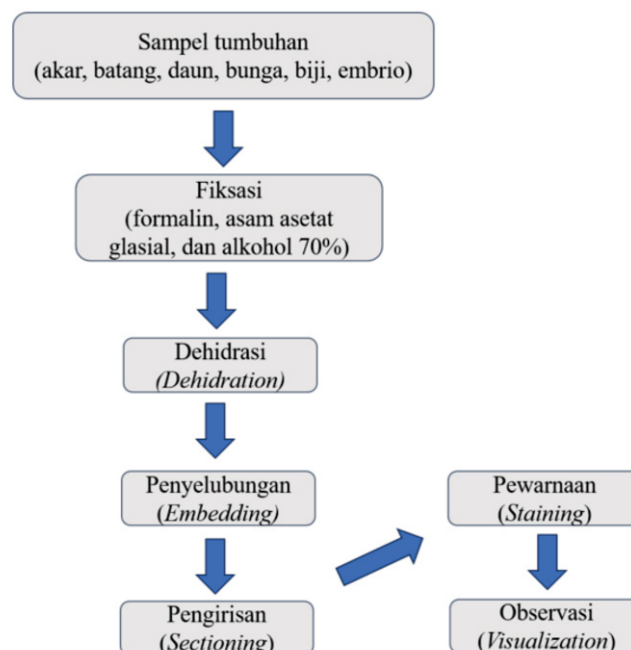
Pendekatan histologi merupakan suatu studi yang membahas tentang jaringan dan sel yang diamati di bawah mikroskop. Pendekatan ini berkaitan erat dengan berbagai bidang ilmu, seperti biologi sel, anatomi tanaman, dan fisiologi tanaman. Studi histologi berkaitan dengan sekumpulan sel dengan bentuk dan struktur yang membentuk sistem yang kolektif untuk melakukan fungsi tertentu yang disebut jaringan. Jaringan tersebut terbentuk dari hasil pembelahan sel secara berurutan (Karabiyik & Sen, 2023). Studi histologi berperan dalam memberikan informasi mengenai perubahan struktural selama peristiwa perkembangan tanaman. Proses histologi tanaman mencakup berbagai macam metode preparasi sampel dan teknik untuk mencapai hasil yang sesuai (Moreno-Sanz et al., 2020). Berbagai teknik preparasi sampel tanaman diantaranya seperti: preparat *smear*, preparat *pollen*, preparat *squash*, preparat *whole mount*, dan *embedding* ataupun pengirisan (Albrechtová et al., 2019).

Pengamatan histologi melalui teknik preparasi sampel tanaman pada proses kultur jaringan, khususnya embriogenesis somatik memiliki peran penting dalam memahami proses embriogenik. Studi mengenai proses embriogenik melalui pemahaman terhadap

perkembangan sel dan jaringan dalam tahap proses yang berbeda telah membantu meningkatkan efisiensi protokol propagasi klon, serta dapat mengidentifikasi perubahan terkait dengan posisi dan aktivitas sel yang memiliki tingkat embriogenik, serta perkembangan ontogenik secara keseluruhan (de Carvalho Silva et al., 2014). Oleh karena itu, melalui pendekatan histologi dapat diketahui fase awal pada tahapan perkembangan morfogenesis embrio kelapa sawit selama proses kultur jaringan, khususnya dalam mengidentifikasi karakteristik seluler terkait tahapan perkembangan embrio kelapa sawit.

ANALISIS HISTOLOGI

Analisis histologi mencakup berbagai metode dan teknik yang dapat digunakan untuk mempelajari sifat morfologi suatu jaringan. Sifat jaringan tersebut secara umum dapat dipelajari di laboratorium histologi untuk memproses jaringan sehingga dapat diamati pada mikroskop cahaya atau elektron. Metode dan teknik analisis histologi dapat disesuaikan dan dimodifikasi sesuai dengan sampel yang digunakan untuk mendapatkan hasil yang optimal dan sesuai (Megías et al., 2023). Tahapan proses histologi tanaman dapat dilihat pada (Gambar 1).



Gambar 1. Proses histologi pada tanaman menurut Megías et al. (2023).

Salah satu metode pembuatan preparat jaringan tanaman adalah menggunakan metode *embedding*. Metode *embedding* adalah suatu metode pembuatan preparat dengan cara penanaman jaringan di dalam blok parafin untuk menghasilkan preparat jaringan tanaman yang tipis. Proses pembuatan preparat penampang dengan metode *embedding*, terdiri dari beberapa tahapan antara lain: tahap fiksasi, dehidrasi, alkoholisasi, *clearing*/dealkoholisasi, infiltrasi, *embedding*, *staining* (pewarnaan), dealkoholisasi, *mounting* (penempelan) dan *labeling* (Chen et al., 2016).

Tahapan proses pembuatan sediaan histologi tanaman diantaranya pertama dimulai dengan proses pengumpulan sampel jaringan. Sampel yang digunakan dapat berupa potongan jaringan langsung dari organ tanaman. Jaringan atau organ yang diambil kemudian direndam dengan larutan fiksasi yang bertujuan untuk menjaga struktur sel tanaman agar tidak berubah. Terdapat dua metode fiksasi dalam pembuatan preparasi spesimen biologi, yaitu metode fiksasi kimia dan fisik. Metode fiksasi kimia adalah pendekatan yang paling umum digunakan dalam pengawetan spesimen. Selain itu, terdapat metode fiksasi fisik menggunakan kriopreservasi dengan gelombang mikro dan suhu rendah untuk menonaktifkan aktivitas seluler. Beberapa tahun terakhir, fiksatif yang biasa digunakan untuk spesimen tanaman adalah etanol, metanol, aseton, formaldehida, glutaraldehida (untuk studi ultrastruktur), osmium tetraoksida (OsO_4), dan formalin-asam asetat-alkohol (FAA) (Huang & Yeung, 2015). Formalin-asam asetat-alkohol (FAA) merupakan larutan fiksatif yang paling umum digunakan untuk metode *embedding*. Kelebihan larutan fiksasi ini mampu menembus jaringan dengan cepat, sehingga menyebabkan penyusutan struktur jaringan yang diimbangi oleh larutan asam asetat yang mampu mempertahankan cairan dalam jaringan. Hal ini karena adanya sifat ikatan silang dengan formaldehida membantu menjaga stabilitas jaringan (Culling et al., 2014). Larutan fiksatif berfungsi untuk mempertahankan karakteristik molekul dan struktur jaringan selama sampel dalam proses histologi secara bertingkat, sehingga susunan sel dan karakteristik sel tetap dipertahankan, dan masih terlihat saat sampel diamati dengan mikroskop (Megías et al., 2023).

Sebelum memasuki tahapan selanjutnya, perlu mempertimbangkan beberapa hal agar mencapai

proses fiksasi kimia dengan kualitas yang baik, antara lain 1) tingkat penetrasi, perlu diperhatikan ukuran sampel yang akan digunakan karena menentukan metode fiksasi yang akan digunakan. Sebagai contoh, larutan FAA adalah bahan penetrasi yang dapat mengikat dengan cepat tanpa membuat jaringan menjadi keras, 2) konsentrasi zat pengikat dan komponen seluler, konsentrasi zat pengikat yang rendah membutuhkan waktu fiksasi yang lama, sedangkan konsentrasi zat pengikat yang tinggi waktu fiksasinya lebih cepat namun dapat merusak aktivitas enzim dan struktur sel. Konsentrasi zat pengikat yang rendah mampu mempertahankan aktivitas enzimatis. Konsentrasi zat pengikat yang tinggi dapat menyebabkan matriks seluler terurai, mengalami difusi enzim, penyusutan ataupun pembengkakan organel sel seperti retikulum endoplasma (RE), 3) waktu fiksasi, waktu fiksasi harus ditentukan dengan memperhatikan kondisi sampel sel/jaringan yang akan digunakan. Rata-rata waktu fiksasi yang digunakan adalah 24 jam, 4) suhu, suhu harus disesuaikan dengan kondisi sampel untuk menghindari efek kejutan pada sel, 5) tonisitas, larutan harus bersifat isotonik sehingga tidak menyebabkan plasmolisis sel. Larutan isotonik mampu memberikan tekanan osmotik yang sama dengan sitoplasma sel (Dykstra et al., 2011).

Setelah dilakukan proses fiksasi, langkah selanjutnya yaitu menanamkan sampel pada matriks lilin untuk mendapatkan potongan jaringan. *Embedding* adalah infiltrasi sampel dengan zat cair yang kemudian dipadatkan oleh parafin atau dengan polimerisasi (resin). Senyawa untuk *embedding* tidak bersifat hidrofilik, sehingga air didalam jaringan harus diganti dengan pelarut lipofilik yang kemudian digantikan dengan senyawa parafin. Parafin adalah zat seperti lilin yang terdiri dari campuran hidrokarbon jenuh, dan memadat pada suhu ruang. Titik lebur parafin berkisar antara 40°C hingga 70°C tergantung dari komposisi campuran hidrokarbon. Parafin yang paling banyak digunakan memiliki titik leleh mendekati 60°C. Setelah jaringan sampel berada dalam parafin, langkah selanjutnya adalah pengirisan. Pengirisan dapat dilakukan berdasarkan ketebalan yang diinginkan, misalnya bagian *ultrathin section* (puluhan nanometer), bagian *semithin section* (0,5-2 μm), dan bagian tipis (3-10 μm) serta tebal (>10 μm). Ketebalan pengirisan disesuaikan dengan tipe jaringan yang akan diproses. Jaringan yang telah diproses kemudian dipelajari dan diamati dengan menggunakan

mikroskop, baik menggunakan mikroskop cahaya maupun elektron sesuai dengan kebutuhan (Megías et al., 2023).

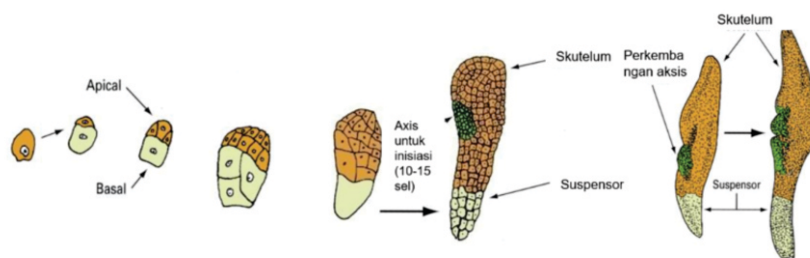
Analisis histologis adalah metode yang efektif untuk mengidentifikasi jenis-jenis jaringan yang terlibat dalam proses morfologi, menjelaskan mekanisme diferensiasi, serta memungkinkan perbandingan struktur internal antara embrio somatik dan embrio zigotik (Abdelbar, 2017). Kegunaan analisis histologi dalam kasus embrio somatik dapat menunjukkan beberapa karakter embrio somatik diantaranya kelainan (malformasi), seperti epidermis yang tidak teratur, parenkim tidak padat, atau adanya senyawa fenolik dalam sel jaringan vaskuler, yang dapat menghambat perkembangan dan diferensiasi embrio somatik (Padhila et al., 2015). Selain itu, analisis histologi memungkinkan untuk menjelaskan aspek – aspek yang berkaitan dengan transisi sel somatik embriogenik, yang masih belum jelas, terutama pada pohon palem (Meira et al., 2019).

MORFOLOGI DAN HISTOLOGI EMBRIOGENESIS SOMATIK KELAPA SAWIT (*E. guineensis* Jacq.)

Embriogenesis somatik adalah suatu proses sel berdiferensiasi untuk membentuk embrio dan siklus sel untuk pembentukan jaringan dalam tahap morfologis yang serupa dengan yang diperoleh dalam embriogenesis zigotik (EZ) (Ree & Guerra, 2015). Pembentukan embrio secara asexual dapat diinduksi secara *in vitro* dari sel yang berasal dari eksplan jaringan vegetal (Loyola-Vargas & Ochoa-Alejo, 2016). Morfologi embriogenesis somatik memiliki sifat totipotensi yang dapat mempengaruhi pensinyalan jaringan yang kompleks, serta pengaturan pola ekspresi gen yang diatur dengan pensinyalan tertentu. Regulasi gen sebagai respons terhadap rangsangan eksogen dapat dihasilkan oleh penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) atau kondisi stres tertentu

seperti suhu rendah maupun tinggi, logam berat, tekanan osmotik atau kekeringan (Fehér, 2019). Istilah "totipotensi" pada dasarnya memiliki dua makna yang berbeda: (1) mampu berkembang menjadi organisme lengkap atau (2) mampu berdiferensiasi menjadi jenis sel apa pun dari suatu organisme (Condic, 2014). Perkembangan embriogenesis somatik meliputi tahap-tahap seperti jantung dan torpedo pada tanaman dikotil, sedangkan bentuk pola embriogenesis somatik kelapa sawit (*E. guineensis*) mengikuti bentuk pola tanaman monokotil. Tahapan embriogenesis somatik tanaman monokotil meliputi : proembrio, fase globular, *scutellar*, dan koleoptilar.

Embriogenesis somatik diawali dengan pembelahan secara asimetris menghasilkan sel dengan pola perkembangan yang berbeda (Smertenko & Bozhkov, 2014). Perkembangan embriogenesis somatik tanaman monokotil dimulai saat sel apikal membelah lebih cepat daripada sel basal, kemudian akan berkembang menjadi proembrio. Proembrio pada tahap globular mirip pada tanaman dikotil. Selain itu, terdapat suspensor berupa sel tunggal atau ganda yang kurang terdiferensiasi. Pada tahap globular akhir, lapisan epidermis luar terlihat jelas dan sekelompok sel di satu sisi proembrio membelah lebih cepat. Proses ini akan berkembang dan memunculkan sumbu embrio. Perkembangan tahap akhir kotiledon dapat dilihat pada tahap perkembangan *scutellar*. Tanaman monokotil telah mereduksi sepasang kotiledon yang diwakili dalam embrio, namun pada tanaman dikotil menjadi satu kotiledon termodifikasi yang disebut *scutellum*. *Scutellum* berperan sebagai jaringan konduktif antara endosperma dan sumbu embrio. Sumbu embrio berdiferensiasi menjadi plumula (pucuk) dan radikula. Pada monokotil, sumbu embrio juga memiliki jaringan khusus yang mengelilingi pucuk dan jaringan akar untuk membantu kemunculannya selama perkecambahan (Gambar 2) (Robert et al., 2023).



Gambar 2. Perkembangan embriogenesis somatik pada tanaman monokotil (Robert et al., 2023).

Tahapan awal pembentukan embrio somatik kelapa sawit dimulai dari penanaman eksplan daun muda yang berasal dari daun pada posisi -4, -5, -6, -7, dan -8 yang diinduksi untuk inisiasi pembentukan kalus. Pembentukan kalus yang muncul setelah proses inisiasi eksplan dinamakan kalus primer kemudian multiplikasi kalus primer untuk

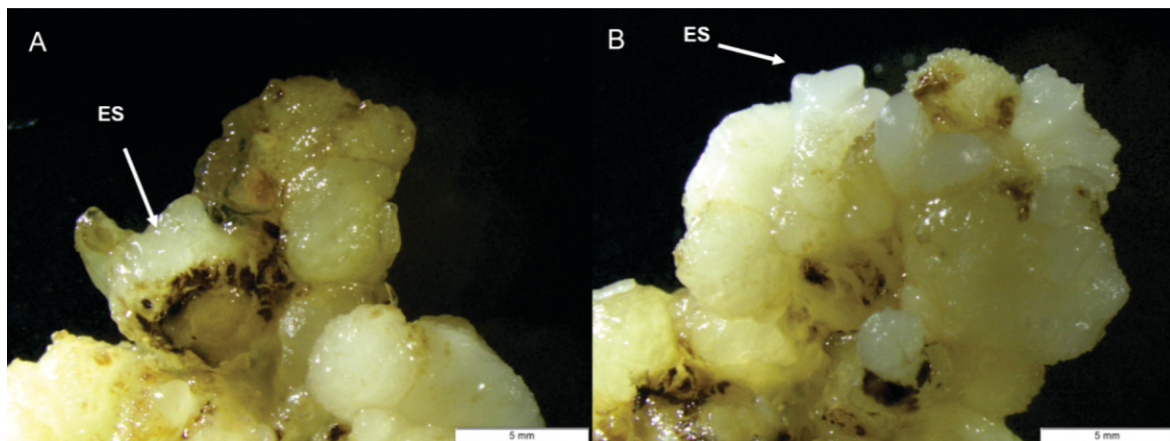
menghasilkan kalus sekunder (Ernayunita et al., 2017). Secara umum, dibutuhkan waktu 1-15 bulan untuk inisiasi kalus, 5-36 bulan untuk proses embriogenesis, 6 bulan untuk proses proliferasi embrio (Corley & Tinker, 2016). Perkembangan kalogenesis kelapa sawit dapat dilihat pada (Gambar 3).



Gambar 3. Perkembangan kalogenesis kelapa sawit. a) eksplan daun muda kelapa sawit, b) pembentukan kalus primer, dan c) pembentukan kalus sekunder.

Embrio somatik kelapa sawit diinisiasi dari pembentukan kalus sekunder yang telah diperbanyak pada media khusus pembentukan embrio. Perkembangan

embrio somatik menunjukkan bentuk morfologi seperti bentuk bulat hingga sedikit memanjang, warna keputihan, konsistensi berair (Gambar 4).



Gambar 4. Morfologi embrio somatik (ES) kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) tipe Tenera (MK 870) dengan perbesaran mikroskop 100 x.

Menurut Silva-Cardoso. (2019), kalus embriogenik memiliki bentuk yang kompak (padat), nodular, berwarna putih kekuningan dengan permukaan halus. Kalus ini menunjukkan zona internal yang luas, terdiri dari sel-sel meristem yang kecil dengan sitoplasma padat, inti sel yang banyak, nukleolus yang jelas, vakuola yang terfragmentasi,

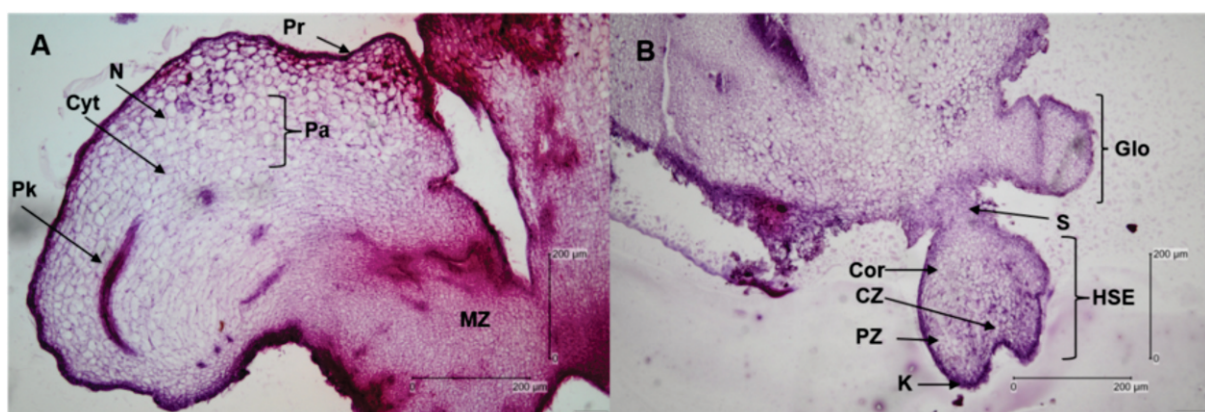
dan intensitas pembelahan sel yang tinggi. Di bagian perifer, terdapat zona yang lebih sempit yang terdiri dari sel-sel parenkim yang memiliki vakuola yang sangat besar.

Proses histologi embrio somatik pada tanaman kelapa sawit pertama kali dilakukan pada perkembangan eksplan daun kelapa sawit yang

telah dilakukan oleh Schwendiman et al. (1988), bahwa pembentukan embrio somatik muncul dari kalus yang telah disub-kultur setiap dua atau tiga minggu. Analisis histologis tersebut menunjukkan bahwa pada kelapa sawit, pembentukan kalus berkembang dari multiplikasi sel perivaskular yang berasal dari lapisan sel meristematis yang dekat dengan xilem. Pembelahan sel mengarah ke zona kambium untuk menentukan proses perkembangan kalus. Kalus berkembang membentuk tonjolan dari zona kambium dan memunculkan nodul-nodul lain yang terhubung dengan yang lainnya secara terus-menerus. Penelitian de Carvalho Silva. (2014), menyebutkan embrio somatik pada tahap lebih lanjut (150 hari) secara histologi menunjukkan embrio di kelilingi oleh protoderm dan menunjukkan proses awal organisasi sel prokambial. Embrio somatik menunjukkan struktur anatomi yang berbeda, yaitu daerah apikal yang terdiri dari haustorium dan daerah basal yang terdapat sumbu embrionik. Thuzar et al. (2012), menyatakan sebagian besar embrio somatik yang terbentuk dengan baik menunjukkan perkembangan berkelanjutan dengan polarisasi lengkap, diilustrasikan dengan adanya untaian prokambial. Analisis histologis menunjukkan bahwa pembelahan sel pertama terjadi pada sel yang dekat dengan jaringan perivaskular, dan proliferasi sel terus berlanjut hingga terbentuknya kalus primer (terdiri dari sel meristematis dan zona meristematis). Sel-sel meristematis membelah

secara intensif selama 2-3 bulan kultur, secara bertahap menghasilkan pembentukan sel-sel embriogenik yang memiliki karakteristik yang sama dengan sel-sel meristematis. Beberapa penelitian mengenai famili palma menunjukkan bahwa pembelahan sel pertama diamati pada sel yang berdekatan dengan jaringan vaskular, dimana hal ini telah ditemukan di beberapa spesies seperti *Cocos nucifera*, *Euterpe edulis*, dan *Phoenix dactylifera*.

Embriogenesis somatik melalui pendekatan histologi dapat memberikan manfaat dalam penggunaan berbagai teknik yang memungkinkan peristiwa yang terjadi ketika spesies tanaman diperbanyak secara *in vitro*. Melalui pengamatan tersebut, dapat diketahui dan diamati perkembangan sel dan jaringan dari bahan tanaman selama berbagai tahapan proses embriogenesis somatik, serta dapat mengidentifikasi jaringan atau sel yang lebih responsif atau bersifat embriogenik (Gomes et al., 2017). Selain itu, analisis histologi dapat menjelaskan aspek - aspek yang terkait dengan transisi sel somatik embriogenik yang perlu dipelajari pada tanaman kelapa sawit (Meira et al., 2019). Hasil identifikasi histologi embrio somatik kelapa sawit menggunakan metode *embedding* dan pengirisan menunjukkan adanya protoderm, untaian prokambial, primordia, *shoot apical meristem* (SAM), embrio globular, embrio seperti bentuk hati, jaringan parenkim, koleoptil, dan nukleus berada ditengah (Gambar 6).



Gambar 6. Histologi embrio somatik kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) tipe Tenera (MK 870) berumur 33 bulan. Keterangan: Pk: untaian prokambial, Cyt: Sitoplasma, N: Nukleus, Pr: Protoderm, Pa : Jaringan Parenkim, MZ: Zona Meristematis, Glo: Globular, S : Suspensor, Cor: Korteks, CZ: Central Zone, PZ : Peripheral Zone, K : Koleoptil, HSE: Heart Shaped-Embryo, Bar= 200 µm.

Hasil identifikasi yang serupa dilaporkan oleh Panggabean et al. (2022), yang menjelaskan bahwa tahapan perkembangan embrio somatik pada kelapa sawit terdiri dari tiga fase: globular, *scutellar*, dan koleoptilar. Pada fase globular, embrio somatik memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan kalus nodular. Embrio globular memiliki ukuran lebih dari 200 µm dan pada fase ini, ciri khasnya adalah pembentukan jaringan epidermis. Jaringan ini muncul sebagai hasil dari diferensiasi lapisan permukaan meristematik yang disebut sebagai protoderm. Embrio somatik berbentuk globular (bulat) menunjukkan struktur protoderm yang memiliki batas tegas, terdiri dari lapisan sel-sel berbentuk persegi panjang yang menyatu dengan inti (Gambar 6). Lapisan ini terbentuk melalui pembelahan periklinal saat peralihan dari fase proembriodik ke fase globular. Zona meristematik (*Meristematic Zone*) yang terbentuk dari sel-sel meristematik kecil ditemukan selama pembentukan kalus nodular. Selanjutnya, massa sel meristematik berkembang menjadi embrio somatik. Pengelompokan ukuran sel yang kecil dan berbeda (bersel dua atau empat) atau agregat proembrio dengan dinding sel yang lebih tebal dinamakan proliferasi proembriogenik kalus yang berkembang dengan cepat. Sebagian besar dinding embrio somatik menunjukkan perkembangan berkelanjutan dengan polarisasi lengkap, yang ditunjukkan dengan adanya untaian prokambial. Perkembangan embrio somatik dimulai dengan proliferasi proembrio yang terus menerus menjadi embrio. Hal tersebut ditandai dengan adanya batas yang jelas yaitu protodermis (*Protoderm*). Hal ini serupa dengan yang dilaporkan oleh Balzon et al. (2013), dalam studi mengenai embriogenesis somatik dari eksplan embrio zigotik *E. guineensis*, bahwa lapisan luar sel meristem yang membentuk proembrio somatik berdiferensiasi dalam protoderm yang dapat mendukung untuk pembentukan embrio somatik. Moura et al. (2008), mengatakan bahwa protoderm merupakan jaringan khas yang melapisi massa sel dalam penyusunan meristem dasar (*ground meristem*), tanpa adanya perkembangan untaian prokambial. Bagian meristem dasar merupakan suatu wilayah yang terdiri dari sekelompok sel meristem yang memiliki dua inti menunjukkan proses pembelahan sel (Gomes et al., 2017).

Teknik histologi memungkinkan untuk memahami serta mengamati pertumbuhan sel dan jaringan

tanaman selama berbagai tahap embriogenesis somatik. Selain itu, dapat mengidentifikasi jaringan atau sel yang lebih responsif dan embriogenik pada awal proses. Selain manfaat tersebut, pendekatan histologis juga dapat mengkaji dengan lebih jelas transisi karakteristik antara sel somatik dan sel embriogenik yang sejauh ini masih kurang dipahami, terutama dalam konteks embriogenesis somatik pada tanaman.

KESIMPULAN

Embrio somatik kelapa sawit memiliki bentuk bulat, sedikit memanjang, warna keputihan, serta konsistensi berair. Studi analisis histologi dapat mengidentifikasi karakteristik morfologi maupun seluler terkait tahapan perkembangan embrio somatik kelapa sawit dengan menggunakan metode *embedding*. Metode ini dapat mengidentifikasi karakteristik seluler perkembangan morfogenesis embrio somatik kelapa sawit yang ditandai adanya protoderm, untaian prokambial (*procambial strands*), suspensor, korteks, zona meristematik, embrio globular, embrio fase hati, jaringan parenkim, koleoptil, dan nukleus yang berada ditengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelbar, O. H. (2017). Histological analysis of the developmental stages of direct somatic embryogenesis induced from in vitro leaf explants of date palm. *Date Palm Biotechnology Protocols Volume I: Tissue Culture Applications*, 145-162.
- Albrechtová, J., Kubínová, Z., Soukup, A., & Janáček, J. (2019). Image analysis: Basic procedures for description of plant structures. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1992). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9469-4_7.
- Azahra, P. S. (2023). UPAYA MEMINIMALKAN ABNORMALITAS PADA KLON KELAPA SAWIT. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 28(1), 55-62.
- Balzon, T. A., Luis, Z. G., & Scherwinski-Pereira, J. E. (2013). New approaches to improve the efficiency of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) from mature zygotic embryos. *In Vitro Cellular and Developmental*

- Biology - Plant*, 49(1), 41–50.
<https://doi.org/10.1007/s11627-012-9479-3>.
- Bonetti, K. A. P., Nesi, J., Quisen, R. C., & Quoirin, M. (2016). Somatic embryogenesis from zygotic embryos and thin cell layers (TCLs) of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis* × *Elaeis oleifera*). *African Journal of Biotechnology*, 15(37), 2028–2037.
- Chen, T. K., Yang, H. T., Fang, S. C., Lien, Y. C., Yang, T. T., & Ko, S. S. (2016). Hybrid-cut: An improved sectioning method for recalcitrant plant tissue samples. *Journal of Visualized Experiments*, 2016(117), 1–11.
<https://doi.org/10.3791/54754>.
- Condic, M. L. (2014). Totipotency: What it is and what it is not. *Stem Cells and Development*, 23(8), 796–812.
<https://doi.org/10.1089/scd.2013.0364>.
- Culling, C. F. A., Allison, R. T., & Barr, W. T. (2014). *Cellular pathology technique Fourth edition*. Elsevier.
- Corley, R. H. V., & P. B. Tinker. 2016. *The Oil Palm*. Edisi kelima. Wiley Blackwell.
- de Carvalho Silva, R., Luis, Z. G., & Scherwinski-Pereira, J. E. (2014). The histodifferentiation events involved during the acquisition and development of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Plant Growth Regulation*, 72(1), 67–80.
<https://doi.org/10.1007/s10725-013-9837-0>.
- Ditjenbun (Direktorat Jendral Perkebunan). (2023). *Buku Perkebunan Unggulan Nasional 2021-2023*. Dikutip dari: <https://ditjenbun.pertanian.go.id/> pada 15 Mei 2023.
- Dykstra, B., Olthof, S., Schreuder, J., Ritsema, M., & Haan, G. De. (2011). Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *Journal of Experimental Medicine*, 208(13), 2691–2703.
<https://doi.org/10.1084/jem.20111490>.
- Ernayunita, H. Y. Rahmadi, & Y. Yenni. 2017. Perbanyak bahan tanam unggul kelapa sawit melalui kultur jaringan di PPKS. *WARTA PPKS* 21(4): 8-14.
- Fehér, A. (2019). Callus, dedifferentiation, totipotency, somatic embryogenesis: What these terms mean in the era of molecular plant biology? *Frontiers in Plant Science*, 10(April), 1–11.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536>.
- Gomes, H. T., Bartos, P. M. C., & Scherwinski-Pereira, J. E. (2017). Dynamics of morphological and anatomical changes in leaf tissues of an interspecific hybrid of oil palm during acquisition and development of somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 131(2), 269–282.
<https://doi.org/10.1007/s11240-017-1282-8>.
- Huang, B. Q., & Yeung, E. C. (2015). Chemical and physical fixation of cells and tissues: an overview. *Plant microtechniques and protocols*, 23–43.
- Karabiyik, S., & Sen. E. (2023). Using Histological Techniques for Plant Tissue Culture Studies Using Histological Techniques for Plant Tissue Culture Studies. December 2022.
- Loyola-Vargas, V. M., & Ochoa-Alejo, N. (2016). Somatic embryogenesis: Fundamental aspects and applications. In *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0>.
- Megías M, Molist P., & Pombal M.A. Atlas of Plant and Animal Histology. Retrieved (15 May 2023) from : <http://mmegias.webs.uvigo.es/index.html> diakses pada 15 Mei 2023.
- Meira, F., Gomes Luis, Z., de Araújo Silva-Cardoso, I. M., & Everson Scherwinski-Pereira, J. (2019). Developmental pathway of somatic embryogenesis from leaf tissues of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) revealed by histological events. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 250(September 2018), 59–67.
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.11.011>.
- Moreno-Sanz, P., D'amato, E., Nebish, A., Costantini, L., & Grando, M. S. (2020). An optimized histological proceeding to study the female gametophyte development in grapevine. *Plant Methods*, 16(1), 1–15.
<https://doi.org/10.1186/s13007-020-00604-6>.
- Moura, E. F., Ventrella, M. C., Motoike, S. Y., De Sá, A.

- Q., Carvalho, M., & Manfio, C. E. (2008). Histological study of somatic embryogenesis induction on zygotic embryos of macaw palm (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(2), 175–184. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9430-9>.
- Padilha, J. H. D., Ribas, L. L. F., Amano, É., & Quoirin, M. (2015). Somatic embryogenesis in *Acrocomia aculeata* Jacq.(Lodd.) ex Mart using the thin cell layer technique. *Acta Botanica Brasiliica*, 29(4), 516-523. <https://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0109>.
- Panggabean, N. H., Nurwahyuni, I., Elimasni, & Basyuni, M. (2022). Histological analysis of somatic embryogenesis from shoot explant of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1115(1), 6 – 11. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1115/1/012073>.
- Ree, J. F., & Guerra, M. P. (2015). Palm (Arecaceae) somatic embryogenesis. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 51(6), 589–602. <https://doi.org/10.1007/s11627-015-9722-9>.
- Robert L. G., Sandra, B, Wilson,. Fred T. Davies, Jr., (2023). Hartmann and Kester's Plant Propagation: Principles and Practices. *Departement of Environmental and Holticulture, University of Florida*. (<https://propg.ifas.ufl.edu/about.html> diakses pada 17 Juni 2023).
- Scherwinski-Pereira, J. E., da Guedes, R. S., Fermino, P. C. P., Silva, T. L., & Costa, F. H. S. (2010). Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 46(4), 378 – 385. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9279-6>.
- Schwendiman, J., Pannetier, C., & Michaux-ferriere, N. (1988). Histology of somatic embryogenesis from leaf explants of the oil palm *Elaeis guineensis*. *Annals of Botany*, 62(1), 43–52. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087634>.
- Silva-Cardoso, I. M. D. A., Meira, F. S., Gomes, A. C. M. M., & Scherwinski-Pereira, J. E. (2019). Anatomical and histochemical studies of the somatic embryogenesis of *Syagrus oleracea* from immature inflorescences. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 19, 444-450. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n4n62>.
- Smertenko, A., & Bozhkov, P. V. (2014). Somatic embryogenesis: Life and death processes during apical-basal patterning. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1343–1360. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru005>.
- Thuzar, M., Vanavichit, A., Tragoonrung, S., & Jantasuriyarat, C. (2012). Recloning of regenerated plantlets from elite oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) cv. Tenera. *African Journal of Biotechnology*, 11(82), 14761-14770.
- 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 (June). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00722>.

