

PERBAIKAN METODE BUDIDAYA *IN VITRO* KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) MENGGUNAKAN *TEMPORARY IMMERSION SYSTEM* (TIS)

Ernayunita dan Taryono¹

Abstrak - *Temporary Immersion System* (TIS) merupakan salah satu metode perbanyakan berbasis bioreaktor yang menggunakan sistem perendaman sesaat. Sistem perendaman yang hanya sesaat dan secara berkala memfasilitasi sel mendapatkan cukup oksigen, serta membatasi paparan dengan media kultur sehingga mampu menekan abnormalitas. Oleh karena itu, TIS potensial digunakan untuk perbanyakan kelapa sawit melalui budidaya *in vitro* yang secara umum masih terkendala adanya abnormalitas. Selain itu, perbaikan teknik budidaya *in vitro* kelapa sawit menggunakan TIS memungkinkan pergantian medium dilakukan secara otomatis sehingga mampu menekan kontaminasi. Penggunaan TIS juga mampu memberikan dampak positif khususnya dalam perbaikan fisiologis sel berupa peningkatan mutu dan regenerasi kalus, tinggi tanaman dan persentase pembentukan akar yang lebih baik dibandingkan dengan media padat maupun media cair lainnya. Planlet yang dihasilkan dari TIS memiliki laju respirasi yang rendah sehingga planlet tidak mudah mengalami dehidrasi dan mampu beradaptasi di lingkungan aklimatisasi. Selain itu, perbaikan teknik kultur *in vitro* menggunakan TIS dilaporkan mampu menekan abnormalitas planlet beberapa komoditas perkebunan salah satunya kelapa sawit.

Kata kunci: TIS, kelapa sawit, sistem perendaman sesaat, metode budidaya *in vitro*

PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan komoditas yang memiliki kisaran hasil yang luas dan telah memberikan peran yang sangat besar kepada ekonomi Indonesia. Hasil *Crude Palm Oil* (CPO) di Indonesia mencapai 2,92 ton/ha/tahun pada 2019 (Ditjenbun, 2019) dan menjadi komoditas ekspor nomor satu mengungguli migas dan pariwisata pada tahun 2017 (Ditjenbun, 2017). Sebagai penghasil minyak paling efisien, pemanfaatan kelapa sawit sangat luas diantaranya CPO banyak digunakan sebagai industri pangan khususnya minyak goreng, sedangkan *Palm Kernel Oil* (PKO) digunakan di industri kosmetika dan farmasi, biomassa kelapa sawit sebagai bahan baku pembuatan kayu lapis dan nira kelapa sawit untuk pembuatan gula merah (BPDPKS, 2019). Alternatif pemanfaatan minyak sawit yang sangat potensial saat ini adalah sumber energi alternatif pengganti bahan bakar fosil. Kelapa sawit digunakan sebagai campuran bahan bakar B20 yang merupakan campuran 20% biodiesel murni dari

minyak sawit pada tahun 2016-2020 dan diproyeksikan menjadi B30 pada 2025. Bahkan saat ini sudah mulai dikembangkan B50 (IOPRI, 2019) dan B100 oleh Kementerian Pertanian (Kementan, 2019), sehingga kebutuhan minyak sawit di masa yang akan datang untuk bahan bakar sangat besar. Oleh karena itu, komoditas kelapa sawit masih sangat ekonomis dan potensial untuk dikembangkan.

Perbanyakan kelapa sawit biasa dilakukan secara konvensional melalui persilangan tetua terpilih maupun non konvensional melalui klon hasil budidaya *in vitro*. Klon hasil budidaya *in vitro* terbukti mampu memberikan hasil tandan buah segar (TBS) 30-40% lebih tinggi dibandingkan dengan hasil persilangan (Rahmadi dan Ernayunita, 2013). Namun, perbanyakan menggunakan budidaya *in vitro* kelapa sawit dinilai belum efektif karena proses produksinya yang cukup lama, biaya yang tinggi, dan adanya abnormalitas pada fase pembungaan yang dapat menurunkan produktivitas klon per satuan luas lahan. Penggunaan media padat dalam proses budidaya *in vitro* menjadi salah satu kendala hasil klon yang tidak optimal karena rendahnya multiplikasi. Soh et al. (2011) menyatakan dari keseluruhan eksplan kelapa sawit yang ditanam pada media padat, hanya 15% yang berhasil membentuk kalus dan dari kalus yang

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

Ernayunita* (✉)
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia

*Email: ernayunita_25@yahoo.com

¹Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta

terbentuk tersebut hanya 3% yang menghasilkan embrio.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, terdapat alternatif metode budidaya *in vitro* kelapa sawit meliputi kultur cair, semi-padat, *double layer* maupun suspensi sel. Namun, beberapa metode tersebut memiliki kelemahan masing-masing sehingga kurang efisien terutama jika digunakan dalam budidaya *in vitro* secara massal untuk menghasilkan planlet secara komersial. Penggunaan kultur cair yang merendam eksplan secara terus-menerus berpengaruh terhadap morfogenesis yang abnormal (Watt, 2012) dan tingginya vetrifikasi embrio (Pancaningtyas, 2013). Morfogenesis abnormal dan vetrifikasi jaringan mengakibatkan rendahnya hasil yang diperoleh. Oleh karena itu, untuk mengurangi kekurangan-kekurangan dari budidaya padat dan cair dan mengoptimalkan perbanyakan klon kelapa sawit secara *in vitro*, maka diperlukan suatu inovasi teknologi yang mampu meningkatkan multiplikasi, efisien, dan mampu menekan tingkat abnormalitas klon kelapa sawit di lapangan. Teknologi budidaya *in vitro* kelapa sawit menggunakan *Temporary Immersion System* (TIS) merupakan salah satu metode perbanyakan yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan hasil klon kelapa sawit.

Dalam tulisan ini akan dibahas mengenai perbaikan metode budidaya *in vitro* kelapa sawit menggunakan TIS dan dampak positif penggunaan TIS khususnya dalam perbaikan fisiologis sel kelapa sawit dibandingkan dengan budidaya *in vitro* menggunakan media padat pada tahap kalus hingga planlet, serta abnormalitas klon kelapa sawit di lapangan hasil perbanyakan menggunakan TIS.

A. Perbaikan metode budidaya cair menggunakan TIS

Metode budidaya *in vitro* terdiri atas metode budidaya padat, semi padat, dan cair. Budidaya *in vitro* dengan media padat menghasilkan multiplikasi yang rendah, banyak membutuhkan tenaga kerja, serta ruang yang luas dibandingkan dengan budidaya cair (Soh et al., 2011). Oleh karena itu, penggunaan budidaya cair khususnya TIS dinilai lebih efektif dan menjadi pilihan sebagai optimasi budidaya *in vitro* dalam skala besar maupun komersial dibandingkan dengan metode padat maupun semi padat. TIS

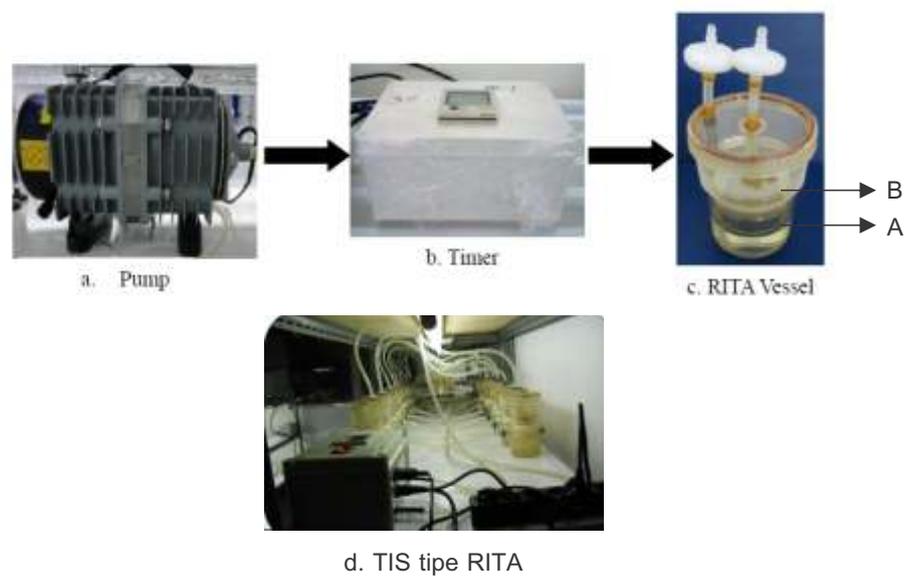
merupakan salah satu jenis bioreaktor yang berbasis budidaya cair yang digunakan sebagai metode perbanyakan budidaya *in vitro* dalam skala massal. Tarmizi et al., (2008) menyatakan bahwa bioreaktor memberikan pertumbuhan sel tumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan suspensi sel, karena bioreaktor dirancang dengan mekanisme penggojokan atau gas untuk mempertahankan budidaya dalam kondisi yang homogen. Terdapat berbagai macam bioreaktor diantaranya tipe B-Braun "Biostat", Biotron, *Sixfors bioreactor*, dan bioreaktor sistem TIS dengan tipe yang berbeda diantaranya RITA (*Reactor for Automatized Temporary Immersion*), Nalgen, Duchefa (Setis, 2018; Riyadi, 2017), dan tipe *Twin-Flask* TIS (Gomez et al., 2016). Jenis TIS yang paling banyak digunakan adalah tipe RITA (Gambar 1 dan Gambar 2).

TIS menggunakan bejana – bejana yang terdiri atas bagian bawah sebagai tempat media dan bagian atas sebagai tempat budidaya. Mekanisme TIS meliputi wadah bagian bawah ditekan dengan udara steril, kemudian medium cair dipompa ke wadah atas sehingga media akan naik ke wadah atas dan menggenangi eksplan dengan lama dan selang waktu perendaman tertentu yang diatur oleh alat *autonic double timer* (Gambar 1 dan 2) (Sumaryono et al., 2008; Marbun et al., 2015).

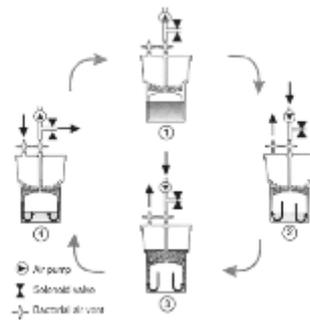
TIS merupakan salah satu jenis bioreaktor yang menggunakan sistem perendaman sesaat. Sistem pada TIS ini memungkinkan terjadinya perendaman secara berkala dan dalam jangka waktu yang singkat, sehingga kalus atau embrio lebih banyak terpapar udara. Dengan kondisi ini maka budidaya akan cukup mendapatkan oksigen. Selain itu, dapat terjadi pergantian medium yang berurutan dan otomatis, menekan kontaminasi, serta biaya yang relatif rendah (Sumaryono et al., 2008). TIS telah banyak digunakan pada berbagai tanaman untuk perbanyakan budidaya jaringan secara massal salah satunya kelapa sawit (Sumaryono et al., 2008; Marbun et al., 2015).

B. Perbaikan fisiologis dan mutu budidaya kelapa sawit menggunakan TIS dibandingkan dengan metode budidaya lainnya

Metode budidaya *in vitro* menggunakan TIS



Gambar 1. Bagian-bagian bioreaktor TIS tipe RITA : a) Pompa; b) Timer; c). RITA Vessel; d) TIS tipe RITA. Sumber foto: Marbun et al. (2015) dan dokumen pribadi.



Gambar 2. Mekanisme kerja *Temporary Immersion System* (TIS) tipe RITA. Sumber : <http://www.setis-sistems.be/about/tis-technology/>; Monja-Mio et al. (2016)

mampu menghasilkan sel embriogenik dengan sifat fisiologis yang baik. Pembentukan sel embriogenik dari sel-sel meristematik lebih banyak dibandingkan dengan budidaya padat. Sel-sel embriogenik secara fisiologis merupakan sel-sel yang potensial dalam proses pendewasaan menjadi embrio sehingga dengan menggunakan TIS akan meningkatkan kemasakan dan keseragaman embrio somatik (McAlister et al., 2005).

Pada budidaya *in vitro* kelapa sawit, kalus yang bersifat embriogenik biasanya dihasilkan pada media padat MS (Murashige dan Skoog,

1962) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D 1 mg/l, kinetin 0,1 mg/l, air kelapa 10%, sukrosa 30 g/l, arang aktif 2 g/l, dan gelrite 2 g/l (Sumaryono et al., 2007). Kalus dari media padat perkembangannya sangat lambat dengan tipe kalus yang masih berbentuk agregat atau noduler dan pemindahan berulang (sub culture) akan menghasilkan tipe kalus yang embriogenik. Namun, dengan menggunakan TIS berbagai jenis kalus dapat digunakan, bahkan dengan menggunakan TIS dapat menghasilkan tipe kalus yang baik yaitu yang embriogenik. Struktur kalus yang awalnya noduler menjadi lebih remah dan

bersifat embriogenik yang berwarna kekuningan hingga putih bening dan bernas (Gambar 3).

Pembentukan kalus embriogenik dalam TIS membutuhkan lama dan selang waktu perendaman yang tepat. Hasil penelitian Marbun et al. (2015) pada kalus kelapa sawit, menunjukkan selang waktu perendaman setiap 3 jam dengan lama perendaman 3 menit memberikan hasil terbaik (Tabel 2). Embriogenik yang dihasilkan pada selang waktu dan lama perendaman ini tidak mengalami *browning* dan menghasilkan embrio dewasa (Gambar 4 dan 5). Perendaman secara periodik dengan selang waktu dan lama perendaman yang tepat akan meningkatkan efisiensi kalus dalam menyerap media. Semua bagian eksplan mampu menyerap media dengan proporsi yang sama secara simultan dan optimal sehingga mampu tumbuh dan berkembang dengan baik.

Marbun et al. (2015) menyatakan bahwa TIS sangat berpotensi untuk mengoptimalkan

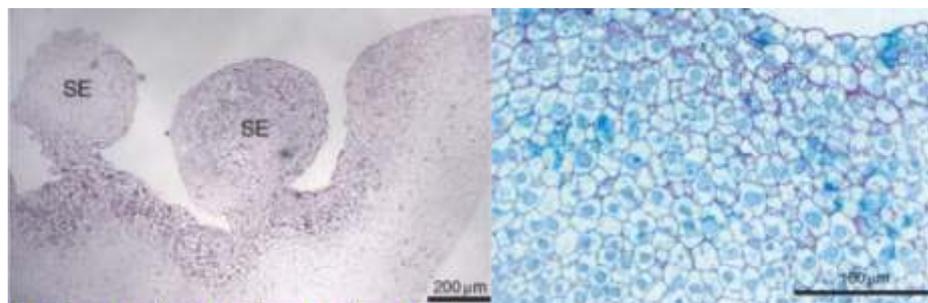
tingkat proliferasi kalus embriogenik. Proliferasi kalus yang dihasilkan dari TIS sangat baik jika dibandingkan dengan hasil perbanyakan menggunakan budidaya padat. Hal ini terlihat dari histologi hasil TIS (Steinmacher et al., 2010) yang menunjukkan bahwa pada embrio somatik sekunder hasil perbanyakan menggunakan TIS menghasilkan akumulasi pati pada mayoritas sel-sel embrio yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan penggunaan media padat, yang menunjukkan hanya beberapa sel saja yang mengandung *amyloplasts* atau pati (Gambar 5). Pada komoditas *palmae* lainnya yaitu *peach palm* (*Bactris gasipaes* Kunth.), juga menunjukkan hal yang sama dimana kandungan pati, protein, dan ADH (*alcohol dehydration activity*) yang tinggi pada kondisi ini *late embryogenesis abundant* (LEA) berasosiasi dengan kondisi stres osmotik yang disebabkan oleh TIS sehingga meningkatkan perkembangan planlet (Heringer et al., 2014).



Gambar 3. Perbandingan kalus kelapa sawit yang dihasilkan dari metode TIS dan budidaya padat: a) Kalus dari budidaya padat yang masih berbentuk agregat/noduler, b dan c) Kalus dari budidaya menggunakan TIS yang bersifat embriogenik. Sumber : Riyadi (2017)



Gambar 4. Morfologi kalus embriogenik setelah dibudidayakan menggunakan TIS dengan interval 1, 3, dan 6 jam. Sumber : Marbun et al. (2015)



Gambar 5. Histologi kalus yang dihasilkan dengan TIS mengandung amiloplas atau pati.
Sumber : Steinmacher et al. (2010).

Sistem perendaman yang hanya sesaat pada TIS, mampu memberikan kondisi cekaman yang mampu meningkatkan keberhasilan pembentukan embrio. Adanya cekaman ini memberikan kondisi stres secara fisiologis. Perendaman sesaat menggunakan TIS tipe RITA juga menyebabkan kondisi stres osmotik. Kondisi stres ini mampu mengaktifkan gen yang mengatur ekspresi perkembangan embrio Nic-Can et al. (2016). Hernandez et al. (2019) menyatakan bahwa adanya stres pada sel kalus menstimulasi *cellular reprogramming* atau terjadinya pemrograman ulang sel dan aktifnya *GTSs family gen* atau kelompok gen yang mengatur pembentukan embrio diantaranya BBM, WUS, SERK, *Pin-Formed*, *Germin Like Protein* (GLP) pada kelapa sawit dan membentuk sel-sel kalus embriogenik yang berpotensi membentuk embrio. *GTSs* diekspresikan pada saat pembentukan embrio somatik pada kelapa sawit.

Pembentukan embrio tertinggi dihasilkan pada selang waktu 6 jam dengan lama perendaman 1 menit yang menghasilkan jumlah embrio 13 kali lebih banyak dibandingkan dengan budidaya padat (Marbun et al., 2015). Kalus mulai berubah menjadi embrio somatik tipe torpedo dengan selang waktu perendaman 6 jam. Pada selang waktu 1 dan 3 jam, perkembangan embrio somatik lebih lambat (Gambar 5). Secara umum, embrio somatik kelapa sawit yang dihasilkan menggunakan TIS lebih tinggi, lebih seragam, dan pertumbuhan dan perkembangan yang lebih baik (Riyadi dan Sumaryono, 2009). Perbandingan antara budidaya padat dengan menggunakan TIS menunjukkan bahwa pada 30 hari dalam media pendewasaan embrio somatik menunjukkan bahwa embrio somatik yang terbentuk lebih banyak dibandingkan dengan sistem budidaya padat, bahkan setelah 30 hari, belum ada yang menghasilkan embrio somatik pada budidaya padat (Steinmacher et al., 2010).



Gambar 6. Morfologi kalus embriogenik yang berubah menjadi embrio somatik kelapa sawit.
Sumber: Steinmacher et al., 2010

Pematangan dan perkecambahan embrio somatik dilakukan dengan intensitas cahaya 30 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{s}$ dan periode pencahayaan 12 jam dan suhu

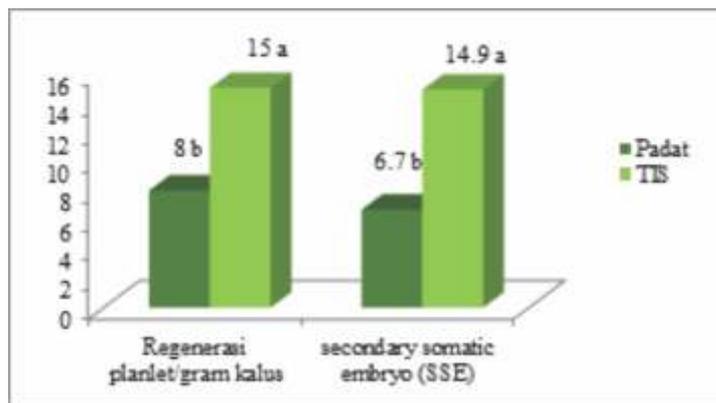
ruang sekitar 25°C. Pembentukan embrio somatik menggunakan TIS mampu menghasilkan 80% embrio somatik dalam waktu periode 24 minggu. Pada tahap

pematangan embrio somatik ini, adanya zat pengatur tumbuh sangat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah embrio yang dihasilkan. Penambahan ABA 0,05 mg/l mampu meningkatkan jumlah embrio dewasa. Selain itu juga membantu menghasilkan perkecambahan yang normal dengan menghasilkan akumulasi cadangan protein, asam lemak, dan pati. Hasil penelitian Sharma et al. (2004), menunjukkan bahwa pemberian ABA pada fase hati mampu meningkatkan kandungan pati, protein, dan total gula terlarut sehingga mampu memperbaiki daya kecambah embrio somatik.

Pembentukan embrio somatik sekunder dan regenerasi kalus menjadi planlet pada TIS jauh lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan budidaya padat (Gambar 7). Pada tahap pertumbuhan tunas, sistem TIS memberikan hasil positif terhadap inisiasi dan pertumbuhan tunas hingga menghasilkan planlet. Tunas yang dihasilkan dari budidaya cair

dengan TIS menghasilkan planlet dalam jumlah banyak dan mutu planlet yang baik dibandingkan dengan budidaya padat (Gambar 8). Pembentukan tunas hingga menjadi planlet dengan mutu yang baik juga berdampak pada kemampuan aklimatisasi planlet yang lebih baik (Gambar 9).

Hasil serupa juga disampaikan oleh Etienne dan Berthouly (2002) yang menyatakan bahwa sistem TIS memungkinkan pertumbuhan tunas secara berkelanjutan dan panen bulanan selama 18 bulan, tanpa diperlukan pemindahan bahan tanaman. Mutu tunas yang dihasilkan lebih baik daripada tunas yang dihasilkan dari media semi padat. Hasil penelitian pada tanaman pisang menunjukkan tingkat proliferasi pada TIS sangat tinggi yaitu hingga lebih dari 5 kali setelah 20 hari pemeraman, jika dibandingkan dengan tunas pada semi padat dan dengan *double layer* yang hanya menghasilkan 2,2 kali perbanyakannya.



Gambar 7. Regenerasi kalus dan pembentukan SSE pada kelapa sawit menggunakan TIS dibandingkan dengan budidaya padat. Sumber: Gomez et al. (2016)



Gambar 8. Perbandingan pertumbuhan tunas kelapa sawit: menggunakan budidaya padat (A), budidaya cair menggunakan TIS tipe RITA (B), budidaya cair dengan Twin-flask TIS. Skala: 1 cm. Sumber foto: Gomez et al. (2016).

Tabel 2. Interval dan lama perendaman optimal pada beberapa fase perkembangan kelapa sawit dan beberapa komoditas *palmae*

Komoditas	Fase perkembangan	Lama dan interval perendaman	Peningkatan propagul	Sumber Pustaka
Kelapa sawit (<i>E. guineensis</i> Jacq.)	Proliferasi embriogenik kalus	3 menit/6 jam	2 kali	Sumaryono et al. (2008)
	Proliferasi embriogenik kalus	3 menit/3 jam	7 kali	Marbun et al. (2015)
	Multiplikasi embrio somatik	1 menit/6 jam	13 kali	Marbun et al. (2015)
	Embrio somatik-tunas	1 menit/6 jam	19,5 kali	Gomez et al. (2016)
Kelapa sawit (<i>E. guineensis</i> Jacq. x <i>E. oleifera</i>)	Kalus	3 menit/6 jam	Tidak menghasilkan embrio	Sumaryono et al. (2018)
	Tunas	5 menit/8 jam	Tidak ada informasi	Othmani et al. (2017)
Kurma (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	Perkembangan embrio	1 menit/4 jam	500 gram embrio menjadi 193 embrio	Al-Mayahi (2015)
	Multiplikasi embrio	3 menit/3 jam	7 kali	Heringer et. al. (2014)
Sagu (<i>Metroxylon sago</i> Rottb.)	Kalus embriogenik	3 menit/6 jam	6,5 kali	Kasi dan Sumaryono (2008)

Permasalahan yang sering terjadi pada budidaya *in vitro* menggunakan media padat yaitu terjadinya *browning* yang dapat menghambat perkembangan tunas. Selain itu, waktu perendaman yang terlalu lama seperti pada budidaya cair akan berdampak pada fisiologis kalus. Othmani et al. (2009), menyatakan vitrifikasi maupun resiko kontaminasi dapat terjadi pada embrio maupun tunas yang menggunakan budidaya cair karena adanya perlakuan perendaman. Perendaman dengan frekuensi 2 – 6 kali setiap hari menghasilkan 64-90%

embrio yang mengalami vitrifikasi. Media padat sangat nyata mengakibatkan vitrifikasi dan nekrosis paling tinggi dibandingkan dengan budidaya cair menggunakan TIS. Lama perendaman 3 menit dengan selang waktu 8 jam mampu meminimalisir rerata vetrifikasi dan nekrosis. Oleh karena itu, dengan metode perendaman sesaat, dapat mengkondisikan tunas atau embrio untuk terpapar media secara periodik dengan waktu tertentu yang umumnya hanya sebentar sehingga mampu mengurangi *browning*, *nekrosis* maupun vitrifikasi jaringan (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata hiperhidrisitas dan nekrosis pada budidaya media cair menggunakan TIS pada berbagai interval dan lama perendaman dibandingkan dengan budidaya padat

Tipe Media	Rerata Hiperhidrisitas	Rerata Nekrosis
Cair-TIS		
fp : 3 menit/8 jam	3.1 d	5.03 b
fp : 5 menit/8 jam	6.0 c	4.96 b
fp : 7 menit/8 jam	10.16 b	7.00 b
Padat	18.00 a	29.66 a

Keterangan: fp = frekuensi perendaman. Sumber: Othmani et al., (2009)

Selang waktu dan lama perendaman yang tepat merupakan salah satu kunci dalam perbaikan metode budidaya *in vitro* menggunakan TIS. Pada tahapan fase perkembangan eksplan yang berbeda, lama dan selang waktu perendaman juga berbeda. Hal ini juga berlaku pada komoditas lainnya dengan perbedaan komoditas juga memiliki selang waktu dan lama perendaman yang optimal yang berbeda pula. Selang waktu dan lama perendaman yang optimal pada beberapa komoditas dari beberapa *palmae* (Tabel 2).

C. Peningkatan sifat fisiologis pada tahap aklimatisasi planlet

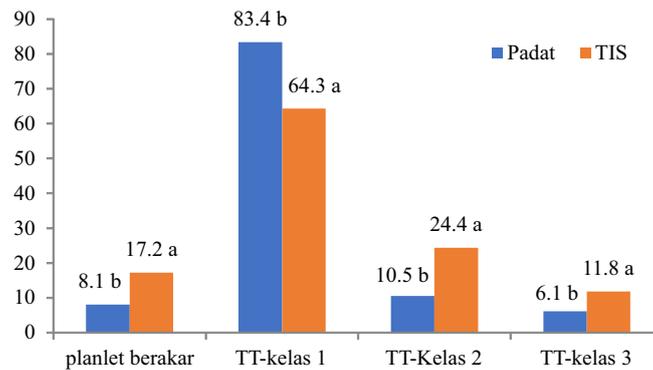
Aklimatisasi planlet yang menggunakan sistem TIS beberapa tanaman *palmae* telah dilaporkan diantaranya pada kelapa sawit (Gomez et al., 2016) dan *peach palm* Steinmacher et al. (2010), sagu (Kasi dan Sumaryono, 2008). Dari beberapa penelitian tersebut khususnya kelapa sawit, menunjukkan bahwa penggunaan TIS mampu meningkatkan tinggi

tanaman dan persentase pembentukan akar dibandingkan dengan menggunakan budidaya padat (Gambar 9), karena secara fisiologis tanaman hasil *in vitro* dari TIS terbiasa dengan kondisi lingkungan tercekam (Watt, 2012). Adanya perendaman dengan selang waktu dan waktu tertentu pada TIS menyebabkan tanaman lebih mampu bertahan pada kondisi lingkungan aklimatisasi dan lebih mudah beradaptasi terhadap perubahan lingkungan *in vitro* ke *ex-vitro*.

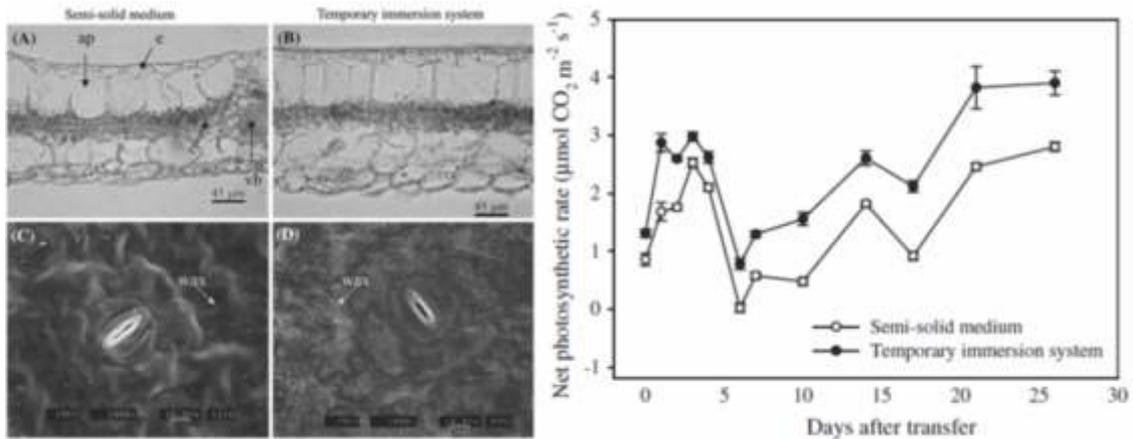
Hasil penelitian pada tanaman *Catathea orbifolia*, menunjukkan tanaman yang dihasilkan dari TIS memiliki luas daun, ketebalan daun, laju fotosintesis, berat segar, dan berat kering tanaman yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang berasal dari kultur semi padat. Secara morfologis, planlet memiliki lapisan lilin lebih banyak dan jumlah stomata lebih sedikit saat dibudidayakan pada TIS (Yang dan Yeh, 2008) dan kondisi pertukaran udara yang tinggi (Gambar 9). Hal ini penting untuk mikropropagasi tanaman yang mudah mengalami cekaman air setelah diaklimatisasi. Kondisi

ini akan mendukung tanaman untuk menekan laju respirasi saat aklimatisasi sehingga planlet tidak mudah mengalami dehidrasi dan mampu beradaptasi di lingkungan aklimatisasi. Watt (2012), menyatakan TIS digambarkan sebagai pendekatan kultur *in vitro* yang

paling alami karena sistem TIS memungkinkan pengendalian kontaminasi, penyediaan nutrisi dan oksigen yang memadai, pemindahan yang relatif jarang, dan mudah melakukan pergantian media sehingga mengurangi kerusakan mekanis.



Gambar 9. Persentase planlet berakar dan tinggi planlet yang dihasilkan dari budidaya jaringan menggunakan media padat dan TIS. Keterangan kelas tinggi planlet : kelas 3 (≥ 5.1 cm), kelas 2 (>2.6 dan <5.0 cm) and kelas 1 (≤ 2.5 cm). Sumber : Gomez et al. (2016)



Gambar 10. Anatomi penampang melintang daun (a,b), keberadaan lapisan lilin (c,d), dan rerata fotosintesis yang dihasilkan dari planlet hasil kultur jaringan dengan metode kultur semi-solid dan TIS. Keterangan : *aquiferous chlorenchyma* (ap), *chlorenchyma* (c), epidermis (e), *vascular bundles* (vb). Sumber gambar : Yang dan Yeh (2008).

Pada tanaman dewasa khususnya kelapa sawit, penggunaan TIS dilaporkan menghasilkan klon kelapa sawit dengan abnormalitasnya kurang dari 1 % (Riyadi, 2017). Hasil yang serupa juga diperoleh dari data fenotipik pengujian lapangan tanaman tebu yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan fenotipik dari klon tebu setelah pengujian selama 2 tahun (Lorenzo et al., 2011). Kajian molekuler menggunakan

AFLP menunjukkan bahwa perbedaannya hanya 0-0,9% dari pita polimorfik antara hasil TIS dan perbandingan menggunakan perbanyakan secara konvensional. Hasil penelitian lain dari komoditas kurma dilaporkan tidak terdapat perbedaan fenotipik dari 400 tanaman hasil perbanyakan menggunakan TIS tipe RITA, jika dibandingkan dengan hasil perbanyakan menggunakan media padat maupun

metode cair lainnya misalnya suspensi sel. Hasil penelitian Heringer et al. (2014) pada tanaman *peach palm* (*Bactris gasipaes* Kunth.) juga menunjukkan metilasi DNA pada hasil TIS paling rendah yaitu 27,5% berbeda nyata dengan sistem budidaya padat maupun suspensi sel, sehingga penggunaan TIS memiliki banyak manfaat selain efisiensi kultur dalam menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, meningkatkan efektifitas kultur dengan tingkat akurasi yang tinggi, automasi kultur sehingga hemat tenaga kerja maupun ruang, dan mampu mereduksi potensi abnormalitas hasil kultur dengan selang waktu dan lama perendaman yang periodik.

KESIMPULAN

Temporary immersion system merupakan salah satu metode kultur *in vitro* yang dapat digunakan untuk mengoptimalkan hasil planlet kelapa sawit melalui perbaikan teknis kultur dan berdampak positif terhadap perbaikan fisiologis planlet. Kultur *in vitro* kelapa sawit menggunakan TIS menghasilkan kalus embriogenik relatif cepat, proliferasi tinggi, dan pendewasaan embrio yang baik. Selain itu juga aklimatisasi kelapa sawit hasil TIS menghasilkan mutu bibit yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Mayahi, AMW. (2015). An efficient protocol for indirect somatic embryogenesis and shoot organogenesis for leaf segments of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) CV. Quntar. *Afr J Agric Res*, 10, 1031-1042. DOI: 10.5897/AJAR2014.9305.

BPDPKS. (2019). Kayu Lapis: Olahan Limbah Replanting Kelapa Sawit, Hasilkan Keuntungan Ekonomi.

<http://www.bpdp.or.id/id/riset/lingkungan/batang-replanting-kelapa-sawit-pun-jadi-kayu-lapis/>, diakses tanggal 10 Mei 2019.

Direktorat Jenderal Perkebunan (Ditjenbun). (2017). Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian, Jakarta.

Direktorat Jenderal Perkebunan (Ditjenbun). (2019).

Statistik Perkebunan Indonesia 2017-2019. d. Kementerian Pertanian, Jakarta.

Etienne H, & M. Berthouly. (2002). Temporary immersion systems in plant propagation. *Plant Cell. Tissue. Organ Cult*, 69, 215-231. DOI:<http://dx.doi.org/10.5010/JPB.2016.43.1.110>.

Gomez, HT., PMC. Bartos, TA. Balzon, & JE. Scherwinski-Pereira. (2016). Regeneration of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis*) using temporary immersion bioreactors. *Industrial Crop and Products*, 89, 244-249. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.05.021.

IOPRI. (2019). CPOPC Mendukung Perkembangan Biofuel Berbasis Minyak Sawit. <https://www.iopri.org/cpopc-mendukung-pengembangan-biofuel-berbasis-minyak-sawit/>, diakses 10 Mei 2019.

Kementerian Pertanian (Kementan). (2019). Kementerian Pertanian berhasil kembangkan biodiesel B100. <http://www.pertanian.go.id/home/?show=news&act=view&id=3628>, diakses 10 Mei 2019.

Hernandez, H.A.M., M. Ledezma-Rodriguez. R.N. Avilez-Montalvo, Y.L. Juarez-Gomez, A. Skeete., J. Avilez-Montalvo, C. De-la-Pena, & V.M. Loyola-Vargas. (2019). Signaling Overview of Plant Somatic Embryogenesis. *Frontiers in Plant Science February*, 10(77), 1-15. DOI: 10.3389/fpls.2019.00077.

Heringer, A.S., D.A. Steinmacher, H.P.F. Fraga, L.N. Vieira, T. Montagna, L.A.P. Quinga, M.G.G. Quoirin, V. M. Jimenez, & M.P. Guerra. (2014). Improved high-efficiency protocol for somatic embryogenesis in Peach Palm (*Bactris gasipaes* Kunth) using RITA temporary immersion system. *Scientia Horticulturae*, 179, 284-292. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.09.041.

Kasi, P.D. & Sumaryono. (2008). Keragaman morfologi selama perkembangan embrio somatik sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). *Menara Perkebunan*, 74(1), 44-52. DOI: <http://dx.doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v74i1.120>.

Lorenzo, J.C., E. Ojeda, A. Espinosa, & C. Borroto. (2011). Filed performance of temporary

- immersion bioreactor-derived sugarcane plants. *In vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 37, 803-806. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0133-8>.
- Marbun, C.L.M., N. Toruan-Mathius, Reflini, C. Utomo, & T. Liwang. (2015). Micropropagation of embryogenic callus of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using temporary immersion sistem. *Procedia Chemistry*, 14, 122-129. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.018>.
- McAlister, B., J. Finnie., M.P. Watt, & F. Blakeway. (2005). Use of the temporary immersion system (RITA) for production of commercial Eucalyptus clone in Mondi Forests (SA). *Plant Cell Tissue Culture and Organ Culture*, 81, 347-358. DOI:10.1007/s11240-004-6658-x.
- Monja-Mio, K.M., M.A.H. Alamillo, & M. L. Robert. 2016. Somatic Embryogenesis in Temporary Immersion Bioreactors. *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*. Springer International Publishing Switzerland. pp 435-454.
- Murashige, T & F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Vol.15. hal 473-497.
- Nic-Can, G.I., J.R. Avilez-Montalvo, R.N. Aviles-Montalvo, R.E. Marquez-Lopez, E. Mellado-Mojica, R.M. Galaz-Avalos, & V.M. Loyola-Vargas. (2016). Chapter 9-The Relationship Between Stress and Somatic Embryogenesis, *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*. Springer International Publishing Switzerland. pp151-170.
- Othmani, A., C. Bayouhd, A. Sellemi, & N. Drira. (2017). Temporary Immersion System for Date Palm Micropropagation. Chapter in *Methods in Molecular Biology*. pp 240-249.
- Pancaningtyas, S. (2013). Evaluasi kuantitas dan hiperdidrisitas embrio somatic kakao pada kultur padat, kultur cair, dan subkultur beruntun. *Pelita Perkebunan*, 29(1), 10-19.
- Rahmadi, H.Y. & Ernayunita. (2013). Kajian abnormalitas dan produktivitas klon kelapa sawit. *Prosiding Pertemuan Teknis Kelapa Sawit*, Jakarta.
- Riyadi, Imron. (2017). Aplikasi Teknik Temporary Immersion System-Teknik Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Bogor.
- Sharma, P., S. Pandey, A. Bhattacharya, P.K. Nagar, P.S. Ahuja. (2004). ABA associated biochemical changes during somatic embryo development in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *Journal of Plant Physiology* 161 (1 1) : 1 2 6 9 - 7 6 . DOI : 10.1016/j.jplph.2004.01.015.
- Setis. (2018). <http://www.setis-sistems.be/about/tis-technology>. Diakses 21 Desember 2018.
- Soh, A C; Wong, G; Tan, C C; Chew, P S; Chong, S P; Ho, Y W; Wong, C K; Choo, C N, Nor Azura, H & Kumar, K. (2011). Comercial-scale propagation and planting of elite oil palm clones: research and development towards realization. *Journal of Oil Palm Research*, 23, 935-952.
- Steinmacher, D.A., M.P. Guerra, K. Saare-Surminski, & R. Lieberei. (2010). A Temporary Immersion Sistem improves *in vitro* regeneration of peach palm through secondary somatic embryogenesis. *Annals of Botany*, 108(8), 1463-1475. DOI: 10.1093/aob/mcr033.
- Sumaryono., I. Riyadi, P.D. Kasi, & G. Ginting. (2007). Pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik dan embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada sistem perendaman sesaat. *Menara Perkebunan*, 75(1), 32-42.
- Sumaryono, I. Riyadi, P.D. Kasi, & G. Ginting. (2008). Growth and differentiation of embryogenic callus and somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Temporary Immersion Sistem. *Indonesian Journal of Agriculture*, 1(2), 109-114.
- Sumaryono, I. Riyadi., R.T. Saptari, H.Y. Rahmadi, & Ernayunita. (2017). Embryogenic callus initiation from leaf explants of *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (OxG hybrids). *International Biotechnology Conference on Estate Crops*, 183, 1-6.

- Tarmizi, A.H., K.R. Samsul, R. Zaiton, & Y. Rosli. (2008). Multiplication of oil palm liquid cultures in bioreactors. *J. Oil Palm Research*, 2008, 44-50.
- Watt, M.P. (2012). The status of Temporary Immersion Sistem (TIS) technology for plant micropropagation. *African Journal of Biotechnology*, 11(78), 14025-14035. DOI: 10.5897/AJB12.1693.
- Yang, Shu-Han & D.M. Yeh. (2008). *In vitro* leaf anatomy, ex vitro photosynthetic behaviors and growth of *Catathea orbifolia* (Linden) Kennedy plants obtained from semi-solid medium and temporary immersion systems. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 93, 201-207. DOI: 10.1007/s11240-008-9363-3.