

## Pengaruh jenis penutup botol kultur terhadap pertumbuhan planlet kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

*Effect of different culture vessel closures on the growth of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) plantlets*

Masna Maya SINTA, Imron RIYADI & SUMARYONO

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Jl. Taman Kencana No.1, Bogor 16151, Indonesia

Diterima 10 Februari 2011/Disetujui 26 April 2011

### Abstract

*Microenvironment inside the culture vessel such as temperature, light intensity, relative humidity, and aeration affect growth and development of plantlets. This experiment was conducted to determine the effect of different culture vessel closures on microenvironmental conditions inside the vessel and on growth of plantlets of oil palm. Shoots of oil palm derived from somatic embryos were cultured on DF medium for eight weeks in transparent culture bottles covered with five different vessel closures e.i. screw cap with plastic wrap, screw cap, plastic wrap, aluminum foil, and autoclavable plastic. The culture vessels were placed in the culture room with light intensity 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$  for 12 hours photoperiod, at room temperature 26°C. Parameters observed on plantlet growth were shoot height, biomass fresh weight, leaf number, and leaf color grade, while on microenvironment were temperature and light intensity. At the end of experiment, the volume and fresh weight of the remaining medium were measured to determine evaporation rate of each treatment. Results show that the use of different culture vessel closures affected the microenvironment inside the vessel, the volume of the remaining medium, and the growth of the plantlets. The closure increased the temperature by 1.6 – 2.6°C and decreased the light intensity by 1.7 – 8.7  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$  inside the culture vessels depends on the culture vessel closures. Culture vessels with aluminum foil closure had the lowest temperature (28.9°C) and the lowest light intensity (10.8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ ) gave the best result in the growth of the plantlets. Better plantlets growth was also observed in the culture vessel with autoclavable plastic closure that less expensive, therefore it can be used as an alternative vessel closure for the growth of oil palm plantlets.*

[Key words: *Elaeis guineensis*, microenvironment, in vitro culture]

### Abstrak

Lingkungan mikro di dalam botol kultur seperti suhu, intensitas cahaya, kelembaban nisbi dan aerasi mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan planlet. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan penutup botol kultur yang berbeda terhadap kondisi lingkungan mikro di dalam botol kultur dan pertumbuhan planlet kelapa sawit. Planlet kelapa sawit asal embrio somatik dikulturkan dalam botol kultur bening berisi medium DF selama delapan minggu dan ditutup menggunakan lima jenis penutup botol yang berbeda yaitu

tutup ulir dengan plastik wrap, tutup ulir, plastik wrap, aluminium foil dan plastik tahan diautoklaf. Kultur diletakkan dalam ruang kultur, di bawah lampu TL dengan intensitas cahaya 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  dan suhu ruang 26°C. Parameter pertumbuhan planlet yang diamati adalah tinggi planlet, bobot basah, jumlah daun dan kelas warna daun, sedangkan lingkungan mikro adalah suhu dan intensitas cahaya. Pada akhir eksperimen, volume dan bobot basah medium yang tersisa diukur untuk mengetahui tingkat penguapan pada setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan penutup botol yang berbeda berpengaruh terhadap lingkungan mikro, volume medium tersisa dalam botol kultur dan pertumbuhan planlet. Penutup botol meningkatkan suhu 1,6 – 2,6°C dan menurunkan intensitas cahaya 1,7 – 8,7  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  di dalam botol tergantung pada jenis penutup botol yang digunakan. Botol kultur dengan penutup berbahan aluminium foil mempunyai intensitas cahaya terendah (10,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ ) dan suhu terendah (28,9°C) memberikan hasil terbaik pada pembesaran planlet kelapa sawit. Pertumbuhan planlet yang baik juga terdapat pada botol kultur dengan penutup plastik tahan diautoklaf yang lebih murah, sehingga penutup ini dapat digunakan sebagai pilihan untuk pembesaran planlet kelapa sawit.

[Kata kunci: *Elaeis guineensis*, lingkungan mikro, kultur in vitro]

### Pendahuluan

Kelapa sawit merupakan tanaman tahunan penghasil minyak komersial yang paling penting di Indonesia. Perbanyakan kelapa sawit pada umumnya menggunakan benih hibrida Tenera, yaitu hasil persilangan antara jenis Dura dan Pisifera. Perbanyakan kelapa sawit secara *in vitro* melalui teknik embriogenesis somatik telah banyak dilakukan (Kancanapoom & Chourykaew, 1998; Rival, 2000; Sumaryono *et al.*, 2008). Keuntungan teknik kultur jaringan adalah produksi bibit secara klonal sehingga secara genetik seragam, dilakukan dalam skala besar dan bibit bebas dari hama dan penyakit. Persyaratan yang diperlukan dalam kultur jaringan tanaman adalah (1) ketersediaan hara, air dan zat pengatur tumbuh (2) lingkungan mikro yang sesuai dan, (3) bebas dari kontaminan (Ahloowalia & Savangkar, 2002).

Kultur *in vitro* di laboratorium seperti miniatur “rumah kaca”. Lingkungan mikro pada kultur *in vitro* merupakan lingkungan yang dibatasi oleh suatu wadah yang menyebabkan kultur menjadi terpisah dari lingkungan luar. Wadah yang digunakan umumnya adalah botol kaca atau plastik dengan bentuk bulat atau kotak (Chen, 2003). Lingkungan mikro yang mempengaruhi pertumbuhan planlet antara lain suhu, kelembaban udara, iradiasi, pertukaran udara, karbon dioksida, dan etilen (Chen, 2003; 2004; Huang & Chen, 2005; Chen *et al.*, 2006).

Persyaratan botol yang digunakan dalam kultur *in vitro* adalah dapat melewati cahaya, mampu mengisolasi medium dari kehilangan air, mencegah kontaminasi, memungkinkan pertukaran udara dan menyediakan area tumbuh yang mencukupi (Smith & Spomer, 1995). Penutup botol kultur yang digunakan umumnya sangat rapat terutama untuk mencegah kontaminasi dari luar. Penggunaan penutup yang terlalu rapat dapat menghalangi pertukaran udara luar dan dalam botol, meningkatkan kelembaban, dan meningkatkan kandungan etilen yang dapat mempengaruhi pertumbuhan planlet (Jackson, 2003). Lingkungan di luar botol dan kondisi botol kultur mempengaruhi lingkungan mikro kultur *in vitro*. Penguapan juga dapat terjadi pada medium, yang lajunya dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara dan iradiasi (Chen, 2004). Suhu di dalam botol kultur dapat lebih tinggi hingga 3°C dibanding di luar botol (Chen, 2003). Laju fotosintesis planlet dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikro, sirkulasi udara antara lingkungan di dalam kultur dan di luar kultur, konsentrasi karbon dioksida dan konsentrasi gula dalam medium (Ibaraki, 2006).

Penutup botol menentukan daya hidup dan perkembangan planlet serta mencegah terjadinya kontaminasi pada kultur *microcutting* karet (Nurhaimi-Haris *et al.*, 2009). Penggunaan tutup botol yang berbeda akan mempengaruhi intensitas cahaya yang masuk ke dalam kultur. Spektrum cahaya yang diterima planlet dipengaruhi oleh bahan botol dan tutup botol kultur (Huang & Chen, 2005). Lingkungan mikro kultur *in vitro* yang tidak sesuai dapat memberikan dampak negatif terhadap pertumbuhan planlet seperti rendahnya lapisan kutikula epidermis sel, disfungsi stomata, *hyperhidricity* planlet yang menyebabkan rendahnya daya hidup planlet pada saat aklimatisasi (Cassel & Walsh, 1994; Lucchesini & Mensuali-Sodi, 2004; Hazarika, 2006). Beberapa penelitian mengenai lingkungan mikro telah dilakukan untuk mendapatkan planlet dengan kualitas tinggi. Tutup botol berventilasi biasa digunakan untuk mengurangi *hyperhidricity* pada planlet serta meningkatkan daya hidup planlet (Casells & Walsh, 1994; Lai *et al.*, 2006).

Teknik kultur *in vitro* membutuhkan biaya yang cukup tinggi. Penghematan produksi bibit melalui

kultur *in vitro* perlu dilakukan sesuai prinsip efisiensi biaya kultur *in vitro*. Prinsip kultur *in vitro* adalah produksi planlet secara hemat baik dari segi teknis maupun bahan peralatan yang digunakan tanpa mengurangi kualitas planlet yang dihasilkan (Savangikar, 2002). Penutup botol kultur merupakan salah satu komponen bahan yang mahal terutama dalam produksi benih skala besar.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan penutup botol terhadap lingkungan mikro serta pertumbuhan planlet kelapa sawit.

## Bahan dan Metode

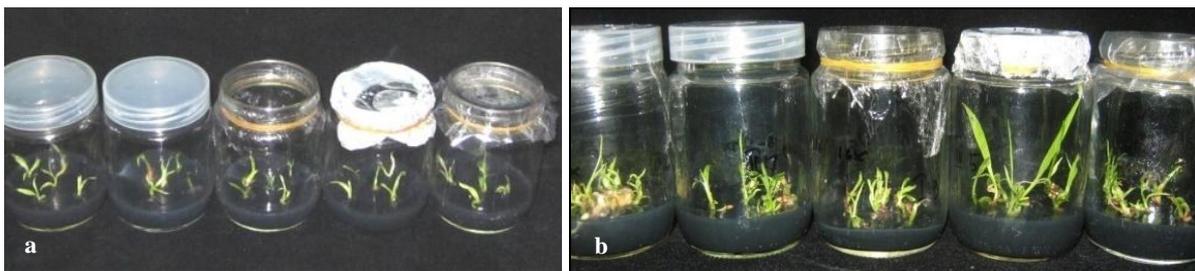
### *Bahan tanam dan kondisi kultur*

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biak Sel & Mikropropagasi, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor. Bahan tanam yang digunakan berupa tunas (planlet tanpa akar) kelapa sawit yang berasal dari embrio somatik dengan tinggi rata-rata 1 cm dan memiliki dua daun (Gambar 1a). Embrio somatik tersebut merupakan hasil induksi dari kalus noduler yang diinisiasi dari daun pupus kelapa sawit klon MK 649 berasal dari Balai Penelitian Marihat, Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan.

Planlet terpilih dikulturkan dalam botol berisi medium DF (de Fossard, 1974) yang ditambahkan sukrosa 30 g/L (3 %), arang aktif 1 g/L, BA 0,5 mg/L, dan GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L. pH medium diatur 5,7, kemudian ditambahkan gelrite 3 g/L. Medium disterilisasi dalam autoklaf dengan tekanan 1 atm pada suhu 120°C selama 20 menit. Medium tersebut dituangkan dalam botol kaca bening dengan ukuran tinggi 9 cm dan diameter 5,5 cm, dengan volume 45 mL per botol. Setiap botol berisi lima planlet kelapa sawit dikulturkan di dalam ruang terang 13 cm di bawah lampu TL 36 watt dengan periode penyinaran 12 jam dan suhu ruangan 26 ± 1°C.

### *Perlakuan*

Perlakuan jenis penutup botol yang diuji adalah (1) Tutup ulir dan plastik *wrap* (tutup ulir berwarna putih berbahan polipropilen dibalut plastik *wrap* pada daerah pertemuan antara tutup dan botol), (2) Tutup ulir (tutup ulir berwarna putih berbahan polipropilen), (3) Plastik *wrap* (potongan dua lembar plastik *wrap* berbahan polivinil klorida dengan ketebalan 0,01 mm yang diikat dengan karet gelang), (4) Aluminium foil (potongan satu lembar aluminium foil *heavy duty* dengan ketebalan 0,02 mm yang diikat karet gelang), dan (5) Plastik tahan diautoklaf (potongan dua lembar plastik transparan tahan perlakuan sterilisasi dalam autoklaf yang diikat dengan karet gelang).



Gambar 1. Kultur *in vitro* planlet kelapa sawit (a) Kondisi awal planlet kelapa sawit di botol kultur dengan lima tutup berbeda, dari kiri ke kanan berurut-turut: tutup ulir dengan plastik *wrap*, tutup ulir, plastik *wrap*, aluminium foil dan plastik tahan diautoklaf. (b) Kondisi planlet dan medium delapan minggu setelah tanam.

Figure 2. *In vitro* culture of oil palm plantlets (a) Initial condition of oil palm plantlet in culture vessel with five different closures from left to right: screw cap and plastic wrap, screw cap, plastic wrap, aluminum foil, and autoclavable plastic, respectively, (b) Plantlets and media condition eight-weeks old after planting.

### Intensitas cahaya dan suhu

Intensitas cahaya pada permukaan medium di dalam botol kultur diukur dengan menempatkan sensor kuantummeter dari alat lightmeter LI-COR 250 pada tiap botol sesuai perlakuan. Botol kultur ditempatkan di ruang kultur di bawah dua lampu TL 36 watt dengan suhu ruangan 26°C. Pengukuran intensitas cahaya dalam botol tanpa tutup juga dilakukan sebagai perbandingan. Pengukuran intensitas cahaya dilakukan pada sembilan titik lokasi di bawah lampu sebagai ulangan. Suhu di dalam botol diukur dengan menempatkan ujung sensor dari termometer digital HI-9040 dalam botol kultur yang berisi planlet. Pengamatan suhu dilakukan selang satu jam selama sepuluh jam untuk mengetahui perubahan suhu di dalam botol kultur selama periode pencahayaan.

### Pertumbuhan planlet

Pengamatan pertumbuhan planlet dilakukan pada minggu ke-8 setelah kultur untuk mengetahui kondisi kultur dengan parameter tinggi planlet, bobot basah dan kelas warna daun. Kelas warna daun ditentukan dengan menggunakan bagan warna daun yang dikeluarkan IRRI dengan skala dua (hijau muda) sampai dengan lima (hijau tua).

### Perubahan bobot dan volume medium

Bobot dan volume medium pada akhir penelitian pada masing-masing perlakuan diukur untuk mengetahui kecepatan pengeringan medium. Medium padat pada awal dan akhir penelitian ditimbang untuk mengetahui bobot basah. Pengukuran volume medium dilakukan dengan cara memasukkan medium ke dalam air 50 mL pada gelas ukur, peningkatan volume air merupakan volume medium.

### Analisis statistik

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pertumbuhan planlet sawit dilakukan dengan 50 ulangan (10 botol masing-masing lima planlet) dan 10 ulangan untuk kecepatan pengeringan medium. Data hasil penelitian diolah dengan analisis ragam. Perbedaan antar perlakuan ditentukan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf uji  $\alpha = 5\%$ .

### Hasil dan Pembahasan

#### *Pengaruh tutup botol terhadap suhu dan intensitas cahaya*

Penggunaan dua lampu TL 36 watt meningkatkan suhu di lingkungan bawah lampu. Suhu di dalam botol lebih tinggi dibandingkan suhu lingkungan ruang kultur di luar botol (Tabel 1). Selisih suhu antara lingkungan luar botol dan lingkungan mikro di dalam botol berkisar antara 1,6 – 2,6°C. Botol dengan tutup ulir berbalut plastik *wrap* mampu menahan panas paling baik (suhu 30°C). Terbatasnya sirkulasi udara dari dan ke dalam botol menyebabkan suhu di dalam botol menjadi lebih tinggi. Hasil yang tidak berbeda terdapat pada botol dengan tutup ulir tanpa plastik *wrap* (29,8°C). Suhu di dalam botol bertutup aluminium foil paling rendah dibandingkan suhu pada perlakuan lain, yaitu 29°C. Hal ini terjadi karena rendahnya intensitas cahaya yang diterima oleh planlet dalam botol kultur, yaitu sebesar 10,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  (Tabel 1). Iradiasi dilaporkan mempengaruhi suhu di dalam botol (Chen, 2003). Aluminium foil lebih sulit ditembus cahaya, permukaan aluminium foil yang mengkilap memantulkan cahaya. Suhu di dalam botol dengan tutup plastik *wrap* lebih rendah dibandingkan

dengan suhu di dalam botol bertutup ulir meskipun intensitas cahaya yang diterima kedua tutup tersebut sama. Hal ini disebabkan masih terdapatnya pori yang dapat dilalui udara, sehingga masih terdapat sirkulasi udara yang lebih besar pada tutup berbahan plastik *wrap* ini. Pertukaran udara dengan lingkungan luar menurunkan suhu udara dalam botol (Chen, 2003). Hasil yang sama terdapat pada botol bertutup plastik tahan diautoklaf. Kekedapan dan tebalnya tutup botol ini menyebabkan air yang sudah menguap tidak bisa keluar. Hal ini menyebabkan munculnya embun di dalam botol sehingga suhu di lingkungan ini menjadi lebih rendah dibandingkan pada botol bertutup ulir.

Intensitas cahaya yang diterima planlet dalam botol kultur dengan dua lampu TL 36 watt relatif rendah yaitu antara 10,8 - 17,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  (Tabel 1). Penggunaan tutup botol menghalangi masuknya cahaya ke dalam botol kultur antara 1,7-8,7  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  (selisih intensitas cahaya antara di luar dan di dalam botol). Penggunaan botol kaca juga mengurangi intensitas cahaya yang masuk sebesar 3,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ . Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Huang & Chen (2003) bahwa iradiasi yang diterima oleh planlet dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan bahan botol serta penutup yang digunakan.

Fluktuasi suhu di dalam dan di luar botol selama sembilan jam periode pencahayaan dapat dilihat pada Gambar 2. Pagi hari sebelum lampu dinyalakan, suhu udara di ruang kultur adalah 26°C, sedangkan suhu di dalam botol lebih tinggi 1 – 2°C. Peningkatan suhu dengan tajam terjadi pada satu jam pertama setelah lampu dinyalakan dengan peningkatan rata-rata mencapai 2,1°C, selanjutnya peningkatan suhu menurun pada jam berikutnya. Dua jam setelah

penyinaran, suhu di dalam botol relatif konstan sepanjang periode cahaya (Gambar 2).

#### *Pengaruh penutup botol terhadap medium*

Bobot basah dan volume medium di dalam botol bertutup plastik tahan diautoklaf dan aluminium foil paling tinggi, yaitu sebesar 39,4 g dan 39,5 mL (Tabel 2). Hasil terendah terdapat pada medium di dalam botol bertutup plastik *wrap*, yaitu bobot 15,9 g dan volume 16,3 mL (Gambar 1b). Bobot basah dan volume medium pada botol bertutup ulir berbalut plastik *wrap* dan botol bertutup aluminium foil tidak berbeda nyata. Bobot basah dan volume medium pada botol bertutup ulir sedikit lebih rendah. Perbedaan bobot basah dan volume medium pada botol dengan tutup yang berbeda setelah delapan minggu menunjukkan perbedaan penggunaan air oleh planlet dan perbedaan tingkat penguapan media di dalam botol kultur. Botol bertutup plastik tahan autoklaf memiliki bobot dan volume yang tinggi karena tutup botol ini bersifat kedap, sehingga uap air tidak bisa keluar dari botol kultur. Hasil yang sama juga terjadi pada botol bertutup aluminium foil dan tutup ulir dengan balutan plastik *wrap*. Berdasarkan data pada Tabel 1, terlihat bahwa penutup dengan bahan aluminium foil lebih sulit meneruskan cahaya, sehingga intensitas cahaya yang diterima medium pun lebih rendah. Hal ini menyebabkan laju penguapan dari medium menurun. Volume medium pada botol bertutup ulir lebih rendah dibandingkan dengan botol bertutup ulir yang dibalut plastik *wrap* karena masih adanya sedikit rongga sepanjang ulir yang mampu ditembus uap air. Volume medium tersisa yang terendah terdapat pada botol bertutup

Tabel 1. Pengaruh penutup botol terhadap suhu dan intensitas cahaya di dalam botol kultur  
 Table 1. Effect of culture vessel closure on the temperature and light intensity in the vessel

Perlakuan tutup <i>Closure treatment</i>	Suhu <i>Temperature</i> (°C)	Intensitas cahaya ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ ) <i>Light intensity (<math>\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}</math>)</i>
Tutup ulir dan plastik <i>wrap</i> <i>Screw cap and plastic wrap</i>	30,0 a*	16,8 a
Tutup ulir ( <i>Screw cap</i> )	29,8 a	17,6 a
Plastik <i>wrap</i> ( <i>Plastic wrap</i> )	29,5 b	17,8 a
Aluminium foil <i>Aluminum foil</i>	29,0 c	10,8 b
Plastik tahan diautoklaf <i>Autoclavable plastic</i>	29,6 ab	17,3 a
Di luar botol <i>Outside bottle</i>	27,4 d	19,4 a

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

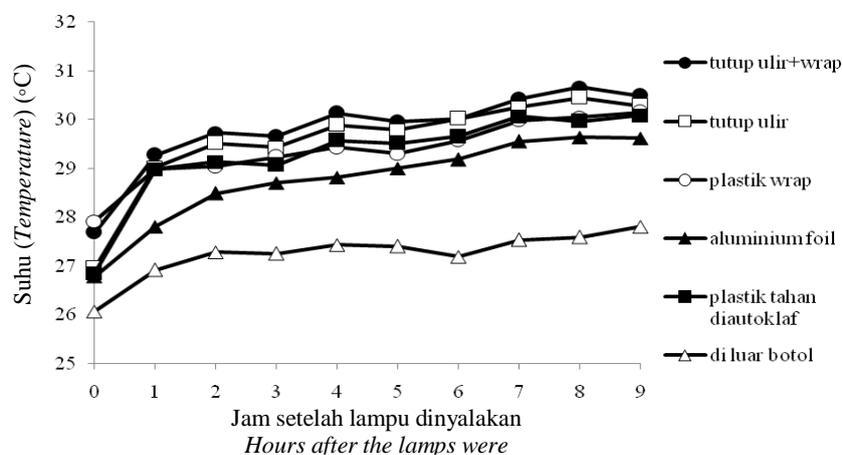
\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ .

plastik wrap (Tabel 2), hal ini diduga karena adanya pori-pori pada plastik wrap yang masih dapat melewatkan uap air. Tingginya penguapan pada medium dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan aerasi. Semakin tinggi intensitas cahaya dan aerasi pada medium, semakin tinggi laju penguapan medium keluar dari botol kultur (Huang & Chen, 2005).

*Pengaruh penutup botol terhadap pertumbuhan planlet kelapa sawit*

Hasil pengamatan pertumbuhan planlet kelapa sawit pada medium DF dalam botol kultur dengan berbagai jenis penutup disajikan dalam Tabel 3. Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penutup botol secara statistik berpengaruh nyata terhadap ke-

ragaman planlet kelapa sawit. Planlet paling tinggi terdapat pada botol dengan tutup aluminium foil dengan tinggi rata-rata mencapai 2,40 cm, sedangkan yang terendah terdapat pada botol dengan tutup plastik wrap dengan tinggi 1,81 cm. Planlet pada tutup ulir baik yang dilapisi oleh plastik wrap maupun tanpa dilapisi plastik wrap dan plastik tahan diautoklaf menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Tinggi planlet berkorelasi positif ( $r= 0,93$ ) dengan bobot basah planlet. Jumlah daun planlet sawit pada tutup ulir dengan lapisan plastik wrap menunjukkan hasil yang paling tinggi. Hasil sebaliknya terdapat pada perlakuan tutup ulir tanpa lapisan plastik wrap. Kelas warna daun planlet kelapa sawit paling tinggi terdapat pada botol dengan penutup aluminium foil, sedangkan terendah pada botol dengan tutup ulir.



Gambar 2. Fluktuasi suhu di dalam botol dengan berbagai jenis penutup dan di luar botol kultur pada periode pencahayaan.

Figure 2. Temperature fluctuation inside and outside the bottle with different vessel closures during light period.

Tabel 2. Pengaruh jenis penutup botol terhadap bobot basah dan volume media  
Table 2. Effect of culture vessel closure on fresh weight and volume of medium

Perlakuan tutup Closure treatment	Bobot basah medium Medium fresh weight (g)	Volume medium Medium volume (mL)
Tutup ulir dan plastik wrap Screw cap and plastic wrap	39,0 ab*	38,5 ab
Tutup ulir (Screw cap)	38,0 b	38,0 b
Plastik wrap (Plastic wrap)	15,9 c	16,3 c
Aluminium foil Aluminum foil	38,9 ab	38,5 ab
Plastik tahan diautoklaf Autoclavable plastic	39,4 a	39,5 a

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ .

Dari parameter pertumbuhan planlet kelapa sawit yang diamati terlihat bahwa pertumbuhan planlet terbaik terdapat pada botol dengan penutup aluminium foil. Intensitas cahaya yang diterima oleh planlet pada penutup aluminium foil paling rendah di antara perlakuan yang dicoba yaitu sebesar 10,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  (Tabel 1). Hasil tersebut sama dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Marks & Simpson (1999) dan Eun-Jo *et al.* (2008) yang menunjukkan bahwa pertumbuhan planlet terbaik diperoleh pada intensitas cahaya yang rendah, yakni 11, 15 dan 30,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  untuk tiga spesies tanaman yang berbeda.

Eun-Jo *et al.* (2008) melaporkan terjadi penurunan kandungan klorofil a dan b pada saat intensitas cahaya tinggi pada *Alocasia amazonica*, sedangkan pertumbuhan pada *Disanthus* dan *Rhododendron*, planlet dan kandungan klorofil daun mengalami penurunan seiring dengan peningkatan intensitas cahaya (Mark & Simpson, 1999). Namun, hasil yang agak berbeda dilaporkan oleh Soontornchainaksaeng *et al.*, (2001). Pertumbuhan planlet *Phaius tankervilleiae* dan *Vanda coerulea* terbaik pada intensitas cahaya yang cukup tinggi (74  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ ), tetapi pertumbuhan planlet menjadi terhambat pada intensitas cahaya yang lebih tinggi. Intensitas cahaya yang tinggi memacu terjadinya fotooksidasi dan destruksi klorofil. Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kebutuhan cahaya untuk pertumbuhan planlet berbeda pada spesies tanaman yang berbeda. Pertumbuhan planlet dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikro di dalam botol kultur. Suhu ruang yang digunakan di ruang kultur umumnya adalah 25 – 27°C, tetapi adanya

lampu sebagai sumber cahaya meningkatkan suhu di sekitar lingkungan kultur. Botol kultur terbuat dari kaca atau plastik bening sehingga cahaya dapat menembus ke dalam botol yang tertutup rapat menyebabkan terjadi “efek rumah kaca”. Planlet kelapa sawit masih dapat tumbuh dengan baik pada suhu 30°C. Pertumbuhan planlet terbaik dari penelitian ini adalah dari botol dengan tutup botol aluminium foil dengan suhu rata-rata di dalam botol paling rendah yaitu 28,9°C dan intensitas cahaya paling rendah yaitu 10,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ .

Tutup berbahan plastik *wrap* bersifat porous, memungkinkan terjadinya sirkulasi udara dari dan ke dalam botol. Sirkulasi ini juga menyebabkan terjadinya penguapan air dari medium ke luar botol kultur sehingga medium menjadi kekurangan air. Diduga pori-pori dalam plastik *wrap* cukup besar untuk melewati udara dan uap air. Banyaknya air yang keluar dari botol kultur menyebabkan medium menjadi pekat. Hal ini akan mempengaruhi tingkat penyerapan medium oleh planlet, sehingga menghambat pertumbuhan planlet kelapa sawit. Dari penelitian ini terlihat bahwa penutup berbahan aluminium foil paling baik untuk pembesaran planlet kelapa sawit *in vitro*, disusul oleh tutup ulir dengan lapisan *wrap*, penutup plastik tahan diautoklaf dan tutup ulir. Tutup berbahan plastik *wrap* kurang sesuai digunakan untuk pembesaran planlet sawit karena sifatnya yang tidak mampu mencegah hilangnya air dari medium dan planlet yang dihasilkan pun lebih jelek dibandingkan dengan pada perlakuan tutup botol lainnya.

Tabel 3. Pengaruh penggunaan penutup botol yang berbeda terhadap tinggi planlet, bobot basah, jumlah daun dan kelas warna daun planlet kelapa sawit.

Table 3. The effect of different vessel closures on height, fresh weight, leaf number and leaf color grade of oil palm plantlets.

Perlakuan tutup <i>Closure treatment</i>	Tinggi planlet <i>Plantlet height</i> (cm)	Bobot basah planlet <i>Plantlet fresh weight</i> (g)	Jumlah daun <i>Leaf number</i>	Kelas warna daun <i>Leaf color grade</i>
Tutup ulir dan plastik <i>wrap</i> <i>Screw cap and plastic wrap</i>	2,21 ab	0,139 a*	4,80 a	2,27 ab
Tutup ulir ( <i>Screw cap</i> )	2,25 ab	0,126 ab	3,80 b	1,96 b
Plastik <i>wrap</i> ( <i>Plastic wrap</i> )	1,81 b	0,093 b	3,80 b	2,10 ab
Aluminium foil <i>Aluminum foil</i>	2,40 a	0,142 a	4,60 ab	2,40 a
Plastik tahan diautoklaf <i>Autoclavable plastic</i>	2,14 ab	0,113 ab	4,40 ab	2,18 ab

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ .

### Analisis ekonomi

Ditinjau dari segi biaya, penutup berbahan aluminium foil paling mahal dan penutup berbahan plastik *wrap* paling murah. Harga penutup berbahan aluminium foil mencapai Rp 97,- per tutup setiap satu kali pemakaian. Penutup dari bahan ini dapat digunakan sebanyak tiga kali pemakaian. Tutup ulir dari bahan polipropilen dapat digunakan berulang kali. Dengan asumsi penutup jenis ini dapat digunakan untuk 100 kali pemakaian, dan ditambah dengan biaya pencucian dan sterilisasi penutup botol, maka harga penutup botol menjadi Rp 43,- per tutup setiap satu kali pemakaian untuk tutup ulir dengan balutan plastik *wrap* dan Rp 42,- per tutup setiap satu kali pemakaian untuk tutup ulir tanpa plastik *wrap*. Penutup dari bahan plastik *wrap* paling murah, dengan tambahan karet sebagai pengikat untuk mencegah terlepasnya plastik seperti pada tutup berbahan aluminium foil dan plastik tahan diautoklaf, harga tutup ini sebesar Rp 12,- per tutup setiap satu kali pemakaian, namun pertumbuhan planlet kelapa sawit lebih jelek. Penutup berbahan plastik tahan diautoklaf lebih mahal dari plastik *wrap*. Penutup ini dapat digunakan sebanyak dua kali pemakaian, dengan harga mencapai Rp 19,- per tutup setiap satu kali pemakaian. Harga ini lebih rendah daripada harga tutup ulir serta aluminium foil, dan planlet yang dihasilkan pada perlakuan ini memiliki kualitas yang setara dengan planlet yang dihasilkan dengan aluminium foil, oleh karena itu penutup plastik tahan diautoklaf dapat digunakan untuk pembesaran planlet kelapa sawit.

Prinsip biaya-rendah kultur *in vitro* penting untuk produksi bibit kultur jaringan tanaman secara massal. Modifikasi dapat dilakukan untuk mengurangi biaya produksi dengan memperhatikan kebutuhan planlet terhadap medium dan lingkungan mikro kultur *in vitro*, misalnya dengan menggunakan agar, sukrosa dan bahan lain yang lebih murah, botol yang lebih ekonomis, serta meningkatkan efisiensi penggunaan listrik dan air (Levin & Tanny, 2002, Savangikar, 2002; Kacar *et al.*, 2010). Namun, semua upaya penghematan tersebut tidak boleh menurunkan secara nyata mutu dari kultur tanaman *in vitro*.

### Kesimpulan

Penggunaan penutup yang berbeda mempengaruhi secara nyata kondisi lingkungan mikro di dalam botol kultur dan pembesaran planlet kelapa sawit. Suhu di dalam botol kultur lebih tinggi 1,6 – 2,6°C dibandingkan suhu di luar botol kultur. Penggunaan penutup botol mengurangi intensitas cahaya yang masuk sebesar 1,7 – 8,7  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$  tergantung pada jenis penutup botol. Penutup berbahan aluminium foil memberikan lingkungan mikro yang paling sesuai untuk pembesaran planlet kelapa sawit.

Dengan hasil yang tidak jauh berbeda dengan perlakuan tutup aluminium foil, plastik tahan diautoklaf dapat digunakan sebagai penutup botol yang lebih murah.

### Daftar Pustaka

- Ahloowalia BS & VA Savangikar (2002). Low cost option for energy and labour: Low cost option for tissue culture technology in developing countries. *In: Proc Internat Atomic Energy Agency*. p. 41-45.
- Cassells AC & C Walsh (1994). The influence of gas permeability of the culture lid on calcium uptake and stomatal function in *Dianthus* microplants. *Plant Cell Tiss Org Cult* 37, 171-178.
- Chen C (2003). Development of heat transfer model for plant tissue culture vessels. *Biosys Engin* 85 (1), 67-77.
- Chen C (2004). Humidity in plant tissue culture vessels. *Biosys Engin* 88 (2), 231-241.
- Chen U, C Hsia, DC. Agrawal & HS Tsay (2006). Influence of ventilation closures on plant growth parameters, acclimation and anatomy of leaf surface in *Scrophularia yoshimurae* Yamazakia medicinal plant native to Taiwan. *Bot Stud* 47, 259-266.
- De Fossard RA, A Myint & ECM Lee (1974). A broad spectrum tissue culture experiment with tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) pith tissue callus. *Physiol Plant* 30, 125-130.
- Eun-Jo A, RK Tewari, EJ Hahn & KY Paek (2008). Effect of photoperiod and light intensity on *in vitro* propagation of *Alocasia amazonica*. *Plant Biotechnol Rep* 2, 207-212.
- Hazarika BN (2006). Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Sci Hort* 108, 105-120.
- Huang C & C Chen (2005). Physical properties of culture vessel for plant tissue culture. *Biosyst Engin* 91(4), 501-511.
- Ibaraki Y (2006). Evaluation of photosynthetic capacity in micropropagated plants by image analysis. *In: SD Gupta & Y Ibaraki (eds.) Plant Tissue Culture Engineering*. Netherlands, Springer. p. 15-29.
- Jackson MB (2003). Aeration stress in plant tissue culture. *Bulg J Plant Pysiol* 28, 96-109.
- Kacar YA, B Bicen, I Varol, YY Mendi, S Serce & S Cetiner (2010). Gelling agents and culture vessel effect in *in vitro* multiplication of banana plantlets. *Gen Mol Res* 9(1), 416-424.
- Kanchanapoom K & B Chourykaew (1998). Somatic embryogenesis from cell suspension cultures of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *J Sci Soc Thailand* 24, 241-250.

- Lai CC, HM Lin, SM Nalawade, W Fang & HS Tsay (2006). Hyperhydricity in shoot cultures of *Scrophularia yoshimurae* can be effectively reduced by ventilation of culture vessels. *J Plant Physiol* 162, 335-361.
- Levin R & G Tanny (2002). Bioreactors as a low cost option for tissue culture. *In: Proc Internat Atomic Energy Agency*. p.47-53.
- Lucchesini M & A Mensuali-Sodi (2004). Influence of medium composition and vessel ventilation on *in vitro* propagation of *Phillyrea latifolia* L. *Sci Hort* 100, 117-125.
- Marks TR & SE Simpson (1999). Effect of irradiance on shoot development *in vitro*. *Plant Growth Reg* 28, 133-142.
- Nurhaimi-Haris, Sumaryono & MP Carron (2009). Pengaruh bahan pra-sterilan, tutup tabung kultur, dan musim terhadap tingkat kontaminasi eksplan pada kultur *microcutting* karet. *Menara Perkebunan* 77(2), 84-93.
- Rival A (2000). Somatic embryogenesis in oil palm. *In: SM Jain, PK Gupta & RJ Newton* (eds.) *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. Netherlands, *Kluwer Acad Publisher*. p.249-290.
- Savangikar VA (2002). Role of low cost option in tissue culture. *In: Proc Internat Atomic Energy Agency*. p. 11-13.
- Smith M & L Spomer (1995). Vessels, gels, liquid media, and support system. *In: J Aitken-Christie, T Kozai & ML Smith* (eds.) *Automation and Environmental Control in Plants Tissue Culture*. Netherlands, *Kluwer Academic Publishers*. p. 371-404.
- Soontornchainaksaeng P, S Chaicharoen, M Sirijuntarut & M Kruatachue (2001). *In vitro* studies on the effect of light intensity on plant growth of *Phaius tankervilleae* (Banks ex L'Herit.) BI and *Vanda coerulea* Griff. *Sci Asia* 27, 233-237.
- Sumaryono, I Riyadi, PD Kasi & G Ginting (2008). Growth and differentiation of embryogenic callus and somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in temporary immersion system. *Indonesian J Agric* 1(2), 109-114.