

TEKNIK *EMBRYO INCISION* DAPAT MENINGKATKAN PRODUKSI BIBIT KELAPA KOPYOR *TRUE-TO-TYPE*

Sisunandar

Program Studi Pendidikan Biologi,
Universitas Muhammadiyah Purwokerto

ABSTRAK

Kendala utama dalam budidaya kelapa kopyor *true-to-type* (100%) adalah hanya dihasilkan satu tanaman dari setiap embrio yang ditanam, di samping belum optimalnya protokol yang tersedia khususnya pada tahap aklimatisasi (keberhasilan kurang dari 40%). Salah satu alternatif untuk meningkatkan produksi bibit kelapa kopyor adalah melalui teknik *embryo incision*. Teknik tersebut meliputi lima tahap, yaitu (1) embrio toreh (2) *recovery* (3) pembelahan embrio (4) pembesaran bibit dan (5) aklimatisasi. Embrio kelapa kopyor diperoleh dari petani kelapa di Kabupaten Banyumas, Purbalingga dan Banjarnegara. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah kecambah yang dihasilkan dari setiap embrio yang ditanam berhasil digandakan. Teknik terbaik yang diperoleh adalah embrio ditoreh menjadi dua bagian dan ditanam pada medium dasar MS dengan penambahan 40 μ M BAP dan 4 μ M IBA. Dengan teknik tersebut berhasil diperoleh 43 kecambah dari 30 embrio yang ditanam. Kecambah yang dipelihara selama 4 - 5 bulan berhasil diaklimatisasikan selama 3 bulan dengan menggunakan alat *mini growth chamber* dengan tingkat keberhasilan hidup mencapai lebih dari 90%.

Kata Kunci : Kelapa kopyor, Kultur embrio, Aklimatisasi, *Mini growth chamber*.

PENDAHULUAN

Kelapa kopyor merupakan salah satu plasma nutfah bernilai ekonomi tinggi yang dimiliki Indonesia. Harga satu butir kelapa kopyor rata-rata sekitar 25 ribu rupiah atau hampir 10 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kelapa normal (Maskromo *et al.*, 2007). Di Indonesia, pemanfaatan kelapa kopyor pada umumnya masih terbatas untuk es kopyor, es krim kopyor, cocktail, selai kopyor maupun bahan campuran kue. Namun kelapa kopyor memiliki potensi yang sangat tinggi untuk dikembangkan dalam industri farmasi karena kadar galaktomanan yang sangat tinggi seperti yang telah dilaporkan pada kelapa makapuno di Filipina (Samunte *et al.*, 1989). Galaktomanan merupakan senyawa utama untuk pembuatan krim wajah untuk pelembab dan anti penuaan, *hand and body lotion*, bahan utama pembuatan permen bahkan merupakan bahan utama pembuatan *microchip*. Limbah kelapa kopyor yang lain seperti sabut kelapa dan batok kelapa juga banyak dimanfaatkan untuk tali, matras, cocopeat maupun karbon aktif berkualitas tinggi.

Meskipun demikian, budidaya tanaman kelapa tipe ini masih belum optimal. Salah satu kendala yang dihadapi petani adalah belum tersedianya bibit kelapa kopyor dengan kualitas yang memadai dengan harga yang terjangkau. Saat ini perbanyakan kelapa kopyor masih dilakukan secara tradisional, yaitu dengan menanam buah normal dari pohon yang menghasilkan kelapa kopyor. Tanaman kelapa yang dihasilkan dari perbanyakan secara alami tersebut hanya akan menghasilkan buah kopyor antara 3 – 25 % untuk kelapa tipe dalam dan 5 – 50 % untuk kelapa

tipe genjah (Maskromo dan Novarianto 2007).

Satu-satunya alternatif yang tersedia untuk pembibitan kelapa kopyor dengan kualitas tinggi (*true-to-type*) adalah dengan menggunakan teknik kultur embrio. Kultur embrio telah lama diupayakan untuk digunakan dalam penyediaan bibit kelapa kopyor karena berbagai keunggulan diantaranya adalah bibit yang dihasilkan dengan menggunakan teknik ini mampu menghasilkan buah kopyor jauh lebih tinggi (80 – 100 %) dibandingkan dengan pembibitan secara alami yang hanya mampu menghasilkan buah kopyor kurang dari 25 % (Maskromo *et al.* 2007). Namun demikian, aplikasi teknik kultur embrio untuk produksi bibit kelapa kopyor juga memiliki beberapa kendala diantaranya adalah hanya mampu dihasilkan satu buah bibit dari setiap embryo yang ditanam (Nunez 1997).

Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan di atas adalah dengan menggunakan teknik embryo belah maupun embryo toreh. Namun demikian, keberhasilan teknik tersebut masih rendah, yaitu kurang dari 60 % embryo yang dibelah tumbuh menjadi plantlet ataupun akar saja (Sukendah 2009). Hasil yang lebih rendah dilaporkan oleh Mashud (2010) maupun Nunez (1997) dimana hanya dihasilkan dua pasang bibit kelapa berumur 1 – 1,5 bulan. Jika dibandingkan dengan tingkat keberhasilan kultur embryo yang utuh, persentase perkecambahan tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan embryo utuh (100 %; Sukendah, 2008). Kerusakan akibat pembelahan embryo diduga sebagai penyebab utama menurunnya persentase perkecambahan (Sukendah *et al.* 2008).

Teknik embryo toreh adalah suatu teknik perbanyak bibit kelapa dengan cara menoreh atau melukai bagian atas embryo secara horisontal menjadi beberapa bagian dan dipelihara di dalam media kultur jaringan dengan medium tanam yang tepat. Pada penelitian ini teknik embryo toreh berhasil diaplikasikan untuk yang pertama kalinya.

Teknik *embryo splitting* (pembelahan embrio) memungkinkan untuk penyediaan bibit kelapa kopyor secara masal. Teknik tersebut diharapkan dapat meningkatkan jumlah bibit yang dihasilkan dua kali lipat (Mashud 2010; Sukendah 2009). Namun penelitian-penelitian yang telah dilakukan belum memberikan hasil yang menggembirakan, hanya kurang dari 60% embrio yang dibelah dapat tumbuh dengan sebagian besar menghasilkan akar tanpa tunas (Sukendah 2009). Mashud (2010) juga melaporkan bahwa teknik ini belum berhasil digunakan untuk memperbanyak kelapa kopyor secara masal.

Pada penelitian ini dilaporkan teknik menggandakan bibit kelapa kopyor melalui teknik embryo toreh (*embryo incision*).

BAHAN DAN METODE

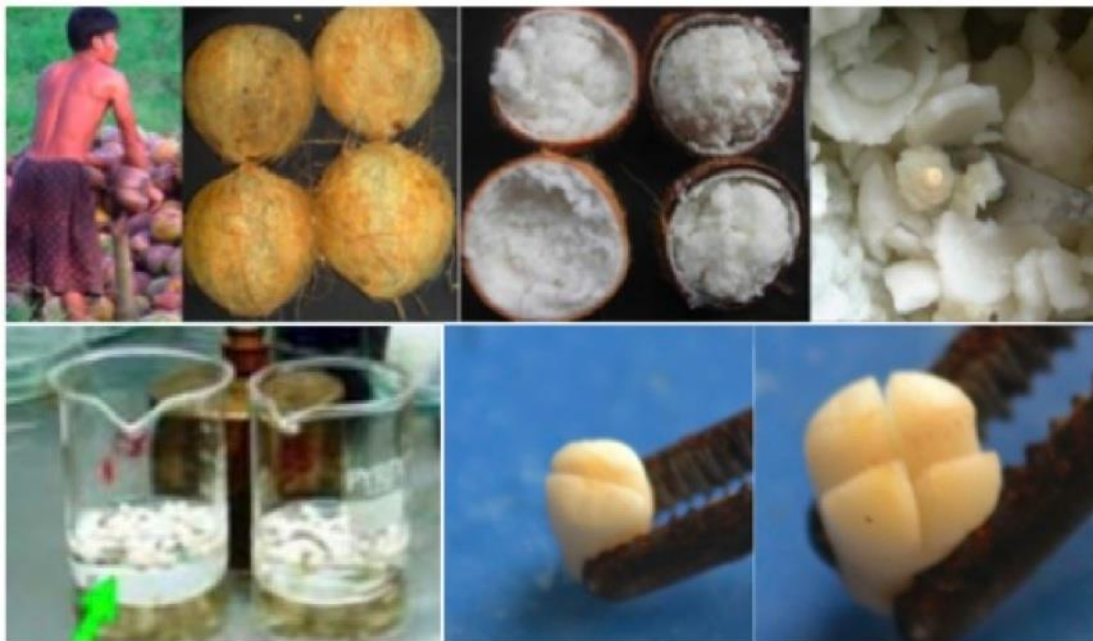
Lokasi dan Bahan Penelitian

Penelitian optimasi protokol *embryo splitting* kelapa kopyor dilakukan di Laboratorium Genetika dan Botani (LGB), Universitas Muhammadiyah Purwokerto (UMP) sejak bulan Februari 2013 sampai Mei 2014. Bahan yang digunakan adalah embrio kelapa kopyor baik tipe dalam maupun tipe genjah yang diperoleh dari Kabupaten Purbalingga dan Banyumas. Kelapa kopyor dari Kabupaten Purbalingga dikumpulkan dari para petani kelapa kopyor di Kecamatan Kejobong untuk kemudian dikirim ke LGB-UMP untuk dilakukan isolasi embrio.

Isolasi dan Sterilisasi Embrio Kelapa Kopyor

Tahap awal sebelum dilakukan optimasi protokol *embryo splitting* adalah dilakukan isolasi embrio. Selanjutnya sterilisasi permukaan agar embryo yang ditanam pada media kultur jaringan tidak terkontaminasi bakteri maupun jamur. Teknik yang digunakan dalam isolasi dan sterilisasi embrio kelapa kopyor merupakan hasil terbaik dari penelitian sebelumnya yang didanai dengan penelitian Endeavour Award, Ministry of Education Australia tahun 2010. Isolasi embrio dilakukan dengan cara sebagai berikut : setelah buah kelapa kopyor dikupas dan dibelah, kemudian embryo diisolasi dari bagian tertentu dari endosperm kelapa, yaitu tepat di bagian salah satu dari tiga 'mata' dari kelapa. Namun sering kali terjadi embrio sudah tidak ditempat semestinya karena sifat endosperm yang kopyor, sehingga embrio harus dicari di antara endosperm yang hancur. Isolasi dilakukan dengan menggunakan sendok makan dengan cara mengambil embrio dengan mengikutkan sebagian endospermnya.

Setelah diisolasi, embrio kemudian dicuci dengan air mengalir dan dicuci dengan cepat menggunakan etanol 95% untuk menghilangkan lipid yang menempel. Di dalam *laminar air flow cabinet* (LAF), embrio diisolasi dari endosperm, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass steril yang telah diisi dengan larutan natrium hipoklorida (2,6%) selama 15 menit. Selanjutnya, larutan tersebut dibuang dan diganti dengan aquadest steril sebanyak 4 kali dan embryo siap digunakan untuk percobaan selanjutnya(Gambar 1).



Gambar 1. Tahapan isolasi dan sterilisasi embrio kelapa kopyor (atas dari kiri ke kanan) dan teknik embrio toreh yang digunakan untuk membelah embrio menjadi dua dan empat bagian (bawah).

Uji Teknik Torehan

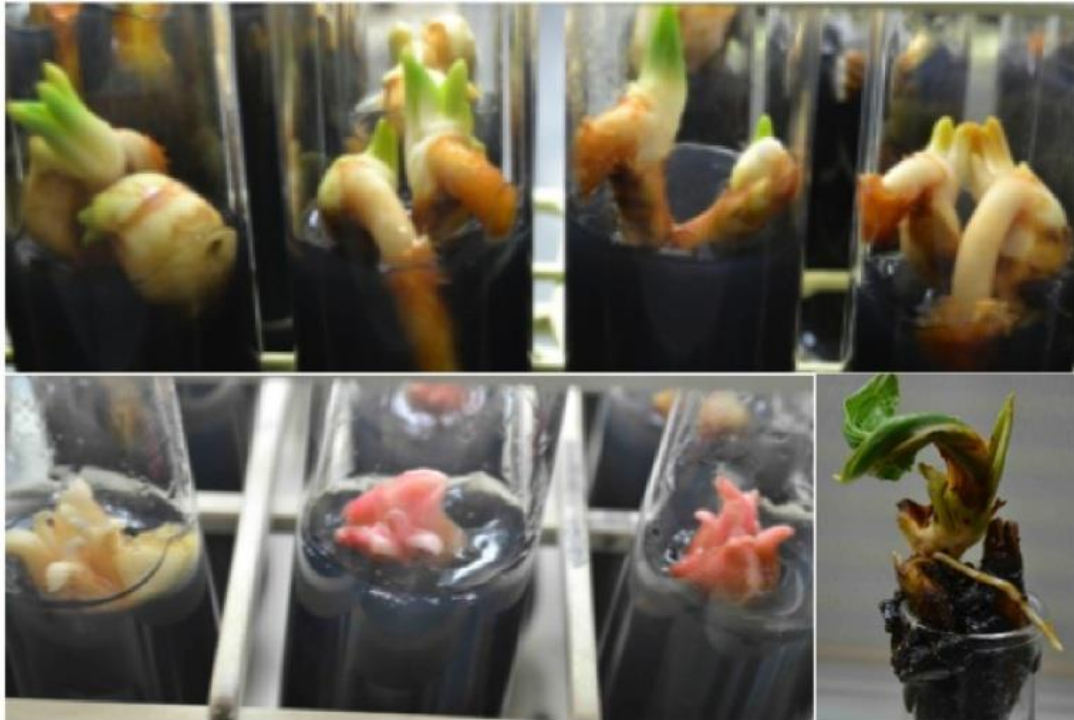
Embrio yang telah disterilkan kemudian ditoreh seperti pada Gambar 1. Jumlah torehan yang digunakan ada dua macam yaitu ditoreh menjadi dua bagian dan empat bagian. Setiap embrio yang telah ditoreh kemudian ditanam pada dua medium dasar yaitu medium MS (Murashige dan Skoog) dan sebagai kontrol digunakan *hibrid embryo culture medium* (HEC; Rillo, 2004). Ke dalam medium perkecambah ditambahkan zat pengatur tumbuh 6-benzilamino purin (BAP) dengan konsentrasi antara 20 - 60 μM yang dikombinasikan dengan asam indol butirat (IBA) dengan konsentrasi antara 2 - 4 μM . Pada tahap ini, media yang digunakan adalah media padat (8 g/l agar) dengan penambahan sukrosa (60 g/l) dan arang aktif (2 g/l). Setiap perlakuan ditanam 30 embrio dan dipelihara di ruang gelap sampai embryo berkecambah. Setiap 4 minggu, embrio disubkulturkan ke media baru dengan komposisi yang sama dengan medium sebelumnya. Setelah berkecambah, embrio dipindahkan ke ruang terang guna pemanjangan. Tahap ini akan memerlukan waktu antara 3 sampai 4 bulan.

Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan software statistik SPSS *release 16 for windows*. Semua data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan perbandingan rata-rata menggunakan *Fisher's Least Significant Differences* (LSD). Data yang tidak memenuhi distribusi normal akan ditransformasi menggunakan *square root transformation* terlebih dahulu sebelum dianalisis.

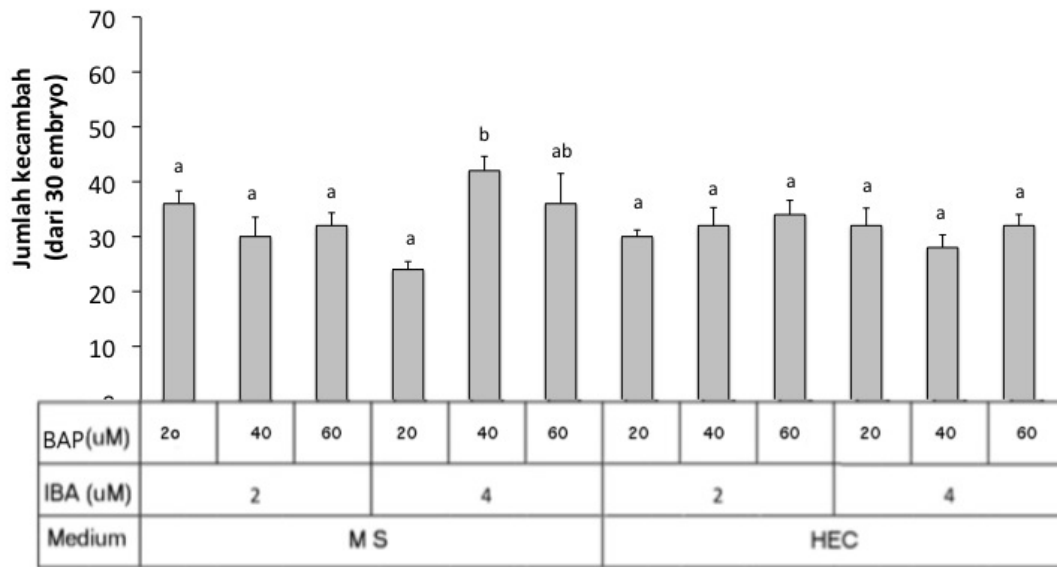
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir seluruh embrio yang ditoreh menjadi dua bagian berhasil dikecambahakan pada medium dasar MS dengan penambahan 40 μM BAP dan 4 μM IBA (Gambar 1). Dari 30 embrio yang ditanam berhasil diperoleh kecambah mencapai 43 kecambah atau sekitar 140%; Gambar 2). Seluruh kecambah yang dihasilkan berhasil diregenerasikan membentuk kecambah yang lengkap dengan akar dan pucuk dengan menggunakan protokol kultur embrio selama 4-5 bulan. Hasil aklimatisasi selama 3 bulan dengan menggunakan alat *mini growth chamber* diperoleh tingkat keberhasilan hidup mencapai lebih dari 90%. Bibit dipelihara di *screen house* selama 1 bulan, kemudian dipindahkan ke kebun pembibitan selama 6 bulan untuk pembesaran bibit dan siap ditanam ke kebun benih.



Gambar 2 Kecambah yang berhasil digandakan dari satu buah embrio yang ditanam dan diberi pelakuan dengan embryo toreh. Atas, embrio yang ditoreh menjadi dua bagian dan dipelihara selama satu bulan dan dipelihara pada medium dasar MS dengan penambahan $40 \mu\text{M}$ BAP dan $4 \mu\text{M}$ IBA. Bawah, embrio toreh empat yang diperoleh pada medium MS dengan penambahan penambahan $40 \mu\text{M}$ BAP dan $4 \mu\text{M}$ IBA berumur 4 minggu (kiri) dan 12 minggu (kanan).

Penggunaan medium dasar yang berbeda (HEC) dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP yang dikombinasikan dengan IBA tidak memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan medium MS. Hasil penelitian menunjukkan medium dasar tersebut tidak mampu meningkatkan persentase keberhasilan induksi kecambah pada embrio yang ditoreh menjadi 2 bagian. Bahkan, penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA ke dalam medium tersebut tidak berpengaruh secara signifikan meningkatkan persentase keberhasilan perkemcambahan (Gambar 3).



Gambar 3. Jumlah kecambah yang dihasilkan dari 30 embrio yang dibelah menjadi dua melalui teknik embrio toreh dan ditanam pada medium dasar Murashige & Skoog (MS) dengan penambahan benzylamino purin (BAP) dan asam indole butirat (IBA) dibandingkan dengan embrio yang ditanam pada medium *hybrid embryo culture* (HEC) dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dengan komposisi dan konsentrasi yang sama

Hasil penelitian dengan menggunakan embrio toreh empat tidak memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan embrio toreh dua. Pada awal pertumbuhan, semua kombinasi medium dasar yang digunakan (MS maupun HEC) dengan penambahan BAP dan IBA menunjukkan hasil yang menggembirakan (Gambar 2), yaitu dari keempat bagian yang ditoreh nampak tumbuh membentuk tunas baru. Namun, dalam perkembangannya hanya satu tunas yang berhasil tumbuh, sedangkan yang lain mati sehingga hanya satu tunas yang berhasil diperoleh.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa embrio yang dibelah menggunakan teknik embryo toreh berhasil dikecambahkan dengan tingkat keberhasilan yang cukup tinggi (Gambar 2 dan 3). Medium dasar terbaik yang digunakan untuk menggandakan kecambah adalah medium dasar MS dengan penambahan 40 μM BAP yang dikombinasikan dengan 4 μM IBA. Pada medium tersebut berhasil diperoleh kecambah sebanyak 43 buah dari 30 embryo yang ditanam (Gambar 3). Hal ini membuktikan bahwa jika pembelahan dilakukan tepat pada titik tumbuh maka akan dihasilkan dua kecambah dari setiap embrio yang ditanam, sedangkan jika pembelahan tidak mengenai titik tumbuh, maka embrio yang ditanam tidak mampu menghasilkan dua kecambah. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa perlukaan pada embrio akan memunculkan titik tumbuh yang baru (George dan Debergh 2008)

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Sukendah (2009) yang melaporkan bahwa pembelahan embrio dapat merusak jaringan sehingga akan memperlambat waktu yang dibutuhkan oleh embrio untuk berkecambah. Menurut George dan Debergh (2008), pembelahan suatu jaringan dapat menyebabkan terjadinya sintesis senyawa-senyawa fenol yang tinggi. Senyawa-senyawa tersebut akan menyebabkan sel – sel yang berada di sekitar jaringan yang dibelah akan mengalami kematian yang ditandai dengan munculnya pencokelatan jaringan (*browning*). Pada penelitian ini, pencokelatan jaringan berhasil dicegah dengan menambahkan karbon aktif ke dalam medium tanam. Penambahan karbon aktif tersebut mampu menyerap senyawa-senyawa fenol yang dihasilkan oleh sel yang terbelah sehingga *browning* berhasil dicegah.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penambahan 6-benzylamino purin (BAP) juga mampu menggandakan jumlah kecambah yang ditanam dari setiap embrio (**Gambar 3**). Kemampuan BAP dalam merangsang induksi perkecambahan diduga karena sebagai salah satu sitokinin, BAP berperan penting dalam aktivitas sintesis RNA, merangsang sintesis protein dan enzim. Aktifitas – aktifitas tersebut memiliki peran yang sangat penting dalam pembelahan sel (George dan Debergh 2008)).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kecambah yang dihasilkan dari embrio kelapa kopyor dapat digandakan dengan cara embrio ditoreh menjadi dua bagian dan ditanam pada medium dasar MS dengan penambahan 40 μM BAP dan 4 μM IBA. Embryo yang ditoreh tidak semua berhasil dikecambahkan dengan menghasilkan dua kecambah, bahkan jika embrio ditoreh menjadi empat bagian tidak memberikan hasil yang lebih baik. Namun penelitian lanjutan masih sangat memungkinkan untuk meningkatkan jumlah kecambah dari setiap embrio yang ditanam. Kemungkinan tersebut juga semakin besar setelah kecambah yang diperoleh berhasil diaklimatisasikan dan tidak menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan dibandingkan dengan kecambah yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada penyandang dana penelitian. Penelitian ini didanai oleh Program Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2013 dengan nomor kontrak A.11-III/263-SPj./LPPM/VI/2013.

DAFTAR PUSTAKA

- George, E. F. and Debergh, P. C. 2008. Micropropagation: Uses and Methods. In *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*, eds. E. F. George, M. A. Hall and G. Jan De Klerk, Vol.1. The Background, pp. 29 - 64. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Mashud, N. 2010. Pengembangan metode kultur embryo kelapa kopyor yang lebih efisien (30 %). Laporan Penelitian Program Insentif Riset Terapan, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado.

- Maskromo, I. dan H. Novarianto, 2007. Potensi genetik kelapa kopyor genjah. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 29: 3-5.
- Maskromo, I., N. Mashud, dan Novarianto, 2007. Potensi pengembangan kelapa kopyor di Indonesia. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. 13: 4-6.
- Nunez, T. C. 1997. Doubling macapuno seedling production thru embryo splitting. *Philippine Journal of Crop Science*. 22 (Supplement no. 1): 64.
- Samunte, J. L., E. M. T. Mendoza, L. L. Ilag, MN. B. De la Cruz, dan D. A. Ramirez, 1989. Galactomannan degrading enzymes in maturing normal and makapuno and germinating normal coconut endosperm. *Phytochemistry*. 28: 2269 - 2273.
- Sisunandar, A. Rival, P. Turquay, Y. Samosir, dan S. W. Adkins, 2010. Cryopreservation of coconut (*Cocos nucifera* L.) zygotic embryos does not induce morphological, cytological or molecular changes in recovered seedlings. *Planta*. 232: 435 - 447.
- Sukendah. 2009. Pembiakan In Vitro dan Analisis Molekuler Kelapa Kopyor. Disertasi Doktor, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sukendah, Sudarsono, Witjaksono dan N, Khumaida, 2008. Perbaikan teknik kultur embrio kelapa kopyor (*Cocos nucifera* L.) asal Sumenep, Jawa Timur melalui penambahan bahan aditif dan pengujian periode subkultur. *Buletin Agronomi*. 36: 16 - 23.