

Pengaruh Umur Embrio dan Jenis Media Dasar Terhadap Keberhasilan *Embryo Rescue* Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) secara *In Vitro*

MIRZA ARSIATY ARSYAD, SUDARSONO, AGUS PURWITO, DAN DINY DINARTI

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB
Jalan Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia
E-mail: mirza_arsyad@yahoo.com

Diterima 28 Januari 2013 / Direvisi 29 April 2013 / Disetujui 13 Mei 2013

ABSTRAK

Tanaman aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) adalah salah satu jenis palma yang bernilai ekonomi tinggi. Salah satu aspek penting dalam pengembangan tanaman aren adalah penyediaan bibit. *Embryo rescue* diharapkan dapat menjadi alternatif solusi penyediaan bibit aren. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk 1) mengetahui pengaruh umur embrio zigotik terhadap perkecambahan serta perkembangan kecambah dalam *embryo rescue* aren, dan 2) untuk menguji efektifitas dua komposisi media dasar yang digunakan dalam kultur embrio zigotik aren secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Molekuler Tanaman, IPB dari Oktober 2011 sampai Oktober 2012. Penelitian disusun dalam bentuk percobaan faktorial menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan. Embrio zigotik yang berasal dari buah aren muda (± 15 bulan) dan tua (± 30 bulan) dikultur pada media dasar Y3 dan WPM tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kemampuan hidup dan perkecambahan embrio zigotik aren terbaik diperoleh pada eksplan embrio muda (92%) dibandingkan embrio tua (72%). Komposisi media dasar (Y3 dan WPM) tidak berpengaruh nyata terhadap perkecambahan embrio aren. Haustorium dan apokol dalam kultur *in vitro* ada yang berkembang menjadi bentuk-bentuk abnormal dengan persentase hingga 32% untuk haustorium dan 26% untuk apokol. Perkembangan haustorium dan apokol abnormal tidak berpengaruh terhadap planlet yang terbentuk dari embrio zigotik. Persentase planlet yang terbentuk dari embrio zigotik aren berkisar 6%-25% pada umur embrio zigotik dan jenis media yang diuji.

Kata kunci : Aren, embrio muda, embrio tua, WPM, Y3.

ABSTRACT

Influence of Embryo Age and Type of Basal Medium to The Success of In Vitro Embryo Rescue of Sugar Palm (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)

Sugar palm is one of the palms that has high economic value. Provision of seedling is one of important aspect to develop plant, include sugar palm (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) for cultivation and breeding program. Embryo rescue is expected to be an alternative solution on provision of sugar palm seedlings. The objectives of the experiment were 1) to evaluate the effect of zygotic embryo age on germination and development of sugar palm rescued zygotic embryo and 2) to evaluate the effect of basal medium composition on sugar palm embryo culture. The experiment was conducted at Plant Molecular and Biology Laboratory of IPB, from October 2011 to October 2012. The experiment was compiled in the form of factorial experiment using Completely Randomized Design (CRD) with five replications. Zygotic embryos derived from immature (± 15 months) and mature sugar palm fruit (± 30 months) were cultured on Y3 and WPM medium in absence of plant growth regulators. The result showed that the best viability and germination of zygotic embryo obtained on immature zygotic embryo (92%) compare to the mature embryos (72%). The composition of the basal medium (Y3 and WPM) did not significantly affect on embryo germination. There was evidence that haustorium and cotyledonary petiole in *in vitro* culture that grown into abnormal shapes with percentages up to 32% and 26% respectively. Abnormality of haustorium and cotyledonary petiole development did not affect on plantlets derived zygotic embryos. Percentage of plantlets obtained from zygotic embryos was 6%-25% at the age of zygotic embryo and types of basal medium that were tested.

Keywords : Sugar palm, immature embryo, mature embryo, WPM, Y3.

PENDAHULUAN

Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) merupakan jenis palma yang tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia dan berpotensi untuk dikembangkan karena tanaman ini menghasilkan berbagai produk pangan maupun non pangan. Dari tanaman

aren dapat dipanen nira yang dapat diolah menjadi bahan bakar nabati (BBN) (Effendi, 2010), gula aren (Baharuddin *et al.*, 2007) dan cuka (Baharuddin *et al.*, 2009), dari batangnya dipanen tepung sebagai sumber karbohidrat (Setyabudi, 2013), buahnya untuk campuran makanan dan minuman (Siregar *et al.*, 2013) dan akarnya sebagai bahan herbal (Hasibuan,

2011). Selain itu, tanaman aren dapat berfungsi sebagai tanaman konservasi tanah dan air (Rivaie, 2012). Meskipun pemanfaatannya sangat luas, penelitian dan pengembangan tanaman aren masih relatif sedikit dibandingkan dengan tanaman palma lainnya, seperti kelapa sawit, kelapa atau kurma.

Penyediaan bahan tanam (bibit) menjadi salah satu kendala dalam pengembangan aren di Indonesia (Widyawati *et al.*, 2009). Perkecambahan benih aren secara alami membutuhkan waktu 1 hingga 12 bulan, atau bahkan 24 bulan akibat adanya dormansi pada *testa* benih yang menghambat imbibisi air untuk perkecambahan embrio. Selain dormansi, benih aren juga membutuhkan waktu yang relatif lama untuk mencapai masak fisiologis, yaitu sekitar 36 bulan setelah penyerbukan (BSP) (Haris, 1994). Kedua faktor ini menjadi penghambat utama dalam pengadaan bibit untuk budidaya dan pemuliaan aren di Indonesia.

Embryo rescue merupakan teknik untuk menumbuhkan embrio muda pada kondisi lingkungan optimal secara *in vitro* (Taji *et al.*, 2002). Teknik *embryo rescue* telah digunakan untuk memperoleh bibit dari hasil persilangan tanaman antar spesies (Kukharchyk dan Kastrickaya, 2006), benih tanpa endosperm (Arsyad, 2008), benih dengan endosperm abnormal (Sukendah *et al.*, 2008) atau benih dengan dormansi panjang (Uma *et al.*, 2011; Ning *et al.*, 2007). Kelebihan utama *embryo rescue* ialah mempercepat perolehan bibit tanaman karena bahan tanaman yang digunakan adalah embrio muda. Oleh karena buahnya dipanen muda, *embryo rescue* secara tidak langsung berpotensi memperpanjang umur produktif pohon induk penghasil benih sehingga pohon induk dapat produktif dalam jangka waktu yang lebih lama. Berdasarkan penjelasan di atas, maka penerapan *embryo rescue* pada tanaman aren dapat menjadi alternatif untuk memperoleh bibit aren dalam waktu singkat.

Keberhasilan penerapan *embryo rescue* sangat dipengaruhi oleh umur embrio zigotik dan komposisi media dasar yang digunakan. Hasil studi pada tanaman jarak pagar menunjukkan bahwa penggunaan eksplan yang semakin muda semakin meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro* (Al-Hafiih, 2012). Gebologlu *et al.* (2011) melaporkan *embryo rescue* tomat yang berumur 28-32 hari setelah polinasi (HSP) mampu berkecambah lebih baik dibandingkan embrio yang berumur 20, 24 dan 36 HSP. *Embryo rescue* pada kelapa makapuno yang dilakukan oleh Islam *et al.* (2009) menggunakan embrio zigotik umur 9, 10 dan 11 BSP menunjukkan respon yang berbeda. Binott *et al.* (2008) juga melaporkan bahwa umur embrio berpengaruh nyata terhadap perkembangan eksplan embrio jagung dalam kultur *in vitro*.

Komposisi media dasar yang digunakan juga berpengaruh terhadap perkembangan eksplan. Embrio muda yang ditumbuhkan secara *in vitro* membutuhkan media dengan kandungan garam-garam organik lebih lengkap dibandingkan embrio tua (Taji *et al.*, 2002). Selain itu, komposisi media dasar berpengaruh terhadap kemampuan mematahkan dormansi embrio *Prunus avium* ketika dilakukan *embryo rescue* meskipun dalam penelitian tersebut diberi penambahan ZPT (Kukharchyk dan Kastrickaya, 2006). Dalam penelitian yang lain, Muniran *et al.* (2008) melaporkan bahwa pembentukan akar pada embrio muda kelapa sawit Dura dipengaruhi oleh komposisi media dasar. Pembentukan perakaran terbaik diperoleh dengan menanam embrio muda pada media berbasis Eeuwens (Y3) dan kurang baik jika menggunakan media N6 dan Murashige dan Skoog (MS).

Tujuan dari penelitian ini adalah 1) untuk mengetahui pengaruh umur embrio zigotik terhadap perkecambahan serta perkembangan kecambah dalam *embryo rescue* aren, dan 2) menguji efektifitas dua komposisi media dasar yang digunakan dalam kultur embrio zigotik aren secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2011 sampai dengan Oktober 2012 di Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor. Eksplan yang digunakan berupa embrio zigotik aren yang diperoleh dari pertanaman di sekitar Bogor (Cinangneng dan Cihideung).

Embrio zigotik diisolasi dari buah aren muda (± 15 BSP) dan buah aren tua (± 30 BSP). Karakteristik buah aren muda (± 15 BSP) yang digunakan, adalah: kulit buah berwarna hijau, endosperma bertekstur kenyal berwarna putih transparan dan kulit biji berwarna kuning dan tipis. Karakteristik buah aren tua (± 30 BSP) yang digunakan, adalah: kulit buah berwarna hijau kekuningan, endosperma bertekstur keras berwarna putih dan kulit biji berwarna coklat dan tebal.

Penelitian disusun dalam bentuk percobaan faktorial menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan. Faktor pertama adalah umur embrio zigotik, yang terdiri atas embrio zigotik muda dan embrio zigotik tua dan faktor kedua adalah dua jenis media dasar, yang terdiri atas media Y3 dan media WPM. Unit percobaan terdiri atas lima botol masing-masing berisi satu embrio zigotik. Jumlah eksplan yang digunakan dalam percobaan ini sebanyak 100 embrio zigotik.

Pengamatan dilakukan enam minggu setelah tanam (MST) dan pada umur 24 MST. Peubah yang diamati setelah enam MST, meliputi :

a. Persentase pembentukan apokol, dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ pembentukan apokol} = \frac{(x)}{(y)} \times 100\%$$

Keterangan : x = jumlah eksplan membentuk apokol,

Y = jumlah eksplan total yang ditanam.

b. Perkembangan haustorium dan apokol (bentuk dan warna), diamati menggunakan sistem skoring.

Peubah yang diamati pada umur 24 MST adalah jumlah planlet yang terbentuk.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F pada taraf nyata α 5% dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Data skoring (bentuk dan warna) dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis. Semua analisis data dilakukan dengan menggunakan *Statistical Analysis System* (SAS) versi 9.0 atau *Minitab* versi 15 (Mattjik dan Sumertajaya, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkecambahan embrio zigotik aren

Kecambah yang berkembang dari benih aren terdiri atas dua bagian utama, yaitu haustorium dan apokol. Haustorium pada aren dan palma lainnya berperan sebagai organ penyerapan dan penyimpanan cadangan makanan selama proses perkecambahan embrio. Apokol merupakan bagian kecambah tempat berkembangnya radikula dan plumula pada benih aren.

Perkembangan embrio zigotik aren diawali dengan bertambahnya ukuran embrio zigotik hingga ukurannya menjadi \pm dua kali ukuran awal. Penambahan ukuran embrio zigotik ini diduga disebabkan oleh imbibisi air ke dalam jaringan selama proses perkecambahan. Embrio zigotik aren dalam penelitian ini berkembang lebih lanjut hingga muncul tonjolan dari bagian basal embrio dan berkembang menjadi struktur apokol (*cotyledonary petiole*). Apokol yang terbentuk akan tumbuh memanjang hingga menembus ke dalam media tanam *in vitro*. Apokol yang terbentuk menjadi indikator bahwa embrio zigotik telah berkecambah.

Dalam penelitian ini proses perkecambahan embrio zigotik mulai terlihat satu minggu setelah tanam (MST). Eksplan embrio zigotik muda dan tua mampu berkembang membentuk apokol dalam media *in vitro* yang digunakan. Pada akhir enam MST seluruh embrio zigotik yang ditanam belum dapat

membentuk planlet. Asikin dan Puspitaningtyas (2000) melaporkan perkecambahan embrio aren secara *in vitro* mulai terjadi satu hingga dua MST. Pemanjangan apokol sebagai awal perkecambahan embrio secara *in vitro* seperti dalam penelitian *embryo rescue* aren ini.

Pembentukan Apokol

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan apokol mempunyai pola yang sama untuk masing-masing umur embrio pada dua jenis media *in vitro* yang berbeda (Tabel 1). Dalam dua jenis media yang digunakan, yaitu Y3 dan WPM, embrio zigotik muda menghasilkan apokol lebih banyak dibanding embrio zigotik tua (Tabel 1). Hasil ini mengindikasikan bahwa embrio zigotik muda memiliki kemampuan regeneratif yang lebih baik dibanding embrio tua. Hasil ini sejalan dengan penelitian Mirici *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa embrio zigotik muda memiliki aktifitas pembelahan sel, perkembangan organel serta kemampuan regeneratif yang tinggi dibanding dengan embrio yang lebih tua. Selain itu, kemampuan regeneratif yang tinggi, kandungan hormon endogen juga mempengaruhi proses perkecambahan embrio muda. Fu *et al.* (2006) melaporkan telah mendeteksi keberadaan hormon endogen auksin (IAA), asam absisat (ABA), giberelin (GA₃ dan GA₄), dan sitokinin (DHZR, IPA, ZR) pada embrio muda jagung. Penggunaan embrio muda sebagai eksplan dapat meningkatkan jumlah planlet yang dihasilkan (Uranbey, 2011). Oleh sebab itu, pemanfaatan embrio muda sebagai eksplan pada *embryo rescue* aren merupakan alternatif yang tepat terkait dengan upaya penyediaan bibit aren secara berkelanjutan.

Dari hasil pengamatan, diduga embrio aren membutuhkan jenis media dasar dengan komposisi senyawa anorganik sederhana untuk perkecambahannya. Meskipun media WPM memiliki komposisi media lebih sederhana, tetapi untuk sejumlah hara makro, mikro dan vitamin, media WPM memiliki konsentrasi lebih tinggi dibanding media Y3. Jika kedua media dibandingkan, ternyata konsentrasi kalsium (Ca), Magnesium (Mg), Sulfur (S), Boron (B), Mangan (Mn), Zinc (Zn) dan vitamin B (Pyridoxine-HCl, Thiamine-HCl, Nicotinic acid) pada media WPM lebih tinggi dibandingkan media Y3. Meitram dan Sharma (2006) melaporkan bahwa pertumbuhan planlet hasil kultur embrio *Calamus latifolia* Roxb. dan *Calamus tenuis* Roxb. terbaik diperoleh pada media WPM dibandingkan media Y3 atau MS, meskipun dalam penelitian tersebut diberi penambahan ZPT. Hasil percobaan ini berbeda dengan hasil yang diperoleh dari penelitian kultur jaringan palma lain. Media dasar Y3 merupakan salah

satu media dasar yang umum digunakan dalam kultur jaringan palma, antara lain: kelapa (Sukendah et al., 2008), kurma (Asemota et al., 2007) dan kelapa sawit (Muniran et al., 2008).

Tabel 1. Pengaruh umur embrio zigotik aren dan jenis media dasar terhadap rata-rata pembentukan apokol pada 6 MST.

Table 1. Effect of zygotic embryo age and basal medium on average of cotyledonary petiole, at 6 weeks after planting (WAP).

Umur Embrio Embryo age	Pembentukan apokol (%) Formed apocol (%)		Rataan Average
	Y3	WPM	
Muda/Young	88	96	92 ^a
Tua/Mature	68	76	72 ^b
Rataan/Average	78	86	82

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata.

Note: Numbers followed by different letter in the same column are significantly different.

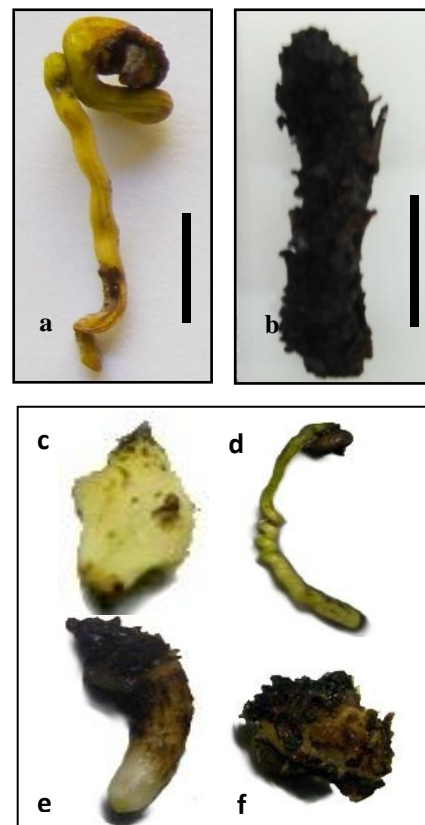
Abnormalitas Perkembangan Apokol

Apokol yang berkembang dari embrio zigotik aren yang dikulturkan dalam media Y3 dan WPM digolongkan sebagai apokol normal dan abnormal. Apokol normal memiliki tekstur permukaan mulus dengan diameter 1-2 mm (Gambar 1a), sebaliknya, apokol abnormal ditandai dengan adanya retakan-retakan pada permukaan apokol. Diameter apokol abnormal umumnya lebih besar dan lebih pendek dari apokol normal (Gambar 1b).

Hasil uji Kruskal-Wallis (Tabel 2) menunjukkan bahwa umur embrio zigotik dan jenis media dasar tidak berpengaruh nyata terhadap bentuk apokol. Rekapitulasi persentase bentuk apokol (Tabel 3) memperlihatkan bahwa bentuk normal mendominasi bentuk apokol. Bentuk apokol normal tertinggi terdapat pada embrio muda (88%), sedangkan terendah pada embrio tua (60%). Untuk media Y3 dan WPM, persentase apokol normal berturut-turut sebesar 66% dan 82%. Bentuk apokol abnormal tertinggi diperoleh pada media Y3, yaitu sebesar 34%, sedangkan terendah diperoleh pada embrio zigotik muda (12%). Perbedaan kedua bentuk apokol ini mengindikasikan terjadinya aktifitas elongasi dan pembelahan sel selama proses perkecambahan. Seiring dengan meningkatnya aktifitas pembelahan dan diferensiasi sel, maka tekanan pada subepidermal ikut meningkat. Peningkatan tekanan ini menyebabkan terbentuknya celah atau retakan-retakan pada lapisan epidermis (Ribeiro et al., 2012).

Selain bentuk, apokol juga memperlihatkan adanya perbedaan warna. Warna apokol terdiri atas

empat yaitu putih, kuning kehijauan, coklat muda dan putih, serta coklat (Gambar 1c). Dari hasil uji Kruskal-Wallis diketahui bahwa warna apokol sangat dipengaruhi oleh umur embrio zigotik tetapi tidak dipengaruhi oleh jenis media dasar (Tabel 2). Apokol didominasi oleh warna kuning kehijauan pada semua perlakuan (Tabel 3). Pada media Y3 dan embrio muda, apokol yang berwarna coklat paling sedikit, sedangkan pada media WPM dan embrio tua adalah warna coklat muda dan putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa apokol berbentuk normal umumnya berwarna kuning kehijauan. Perbedaan warna pada apokol aren diduga disebabkan oleh akumulasi senyawa fenolik. Pencokelatan tidak hanya terjadi pada kultur jaringan tanaman palma dan tidak hanya menghambat perbanyakan tanaman palma secara *in vitro*, tetapi juga tanaman lain secara *in vitro*. Embrio yang mengalami pencokelatan mengalami hambatan dalam perkecambahan dibanding dengan embrio yang tidak mengalami pencokelatan.



Gambar 1. Bentuk apokol, normal (a) dan abnormal (b). Warna apokol, putih (c), kuning kehijauan (d), coklat dan putih (e) dan coklat (f).

Figure 1. Shape of cotyledonary petiole, normal (a) and abnormal (b). Colours of cotyledonary petiole (c-f), white (c), greenish-yellow (d), brown and white (e) and brown (f).

Tabel 2. Uji Kruskal-Wallis bentuk dan warna apokol aren pada 6 MST.
 Table 2. Kruskal-Wallis test on shape and colour of cotyledonary petiole, at 6 WAP.

Perlakuan/Treatment		n	Median	Z	Nilai P
Bentuk					
Umur embrio	Muda	46	1	-0.95	0.064 ^{tn}
Embryo age	Tua	36	1	0.95	
Jenis media	Y3	39	1	0.84	0.104 ^{tn}
Kind of media	WPM	43	1	-0.84	
Warna/Color					
Umur embrio	Muda	46	2	-2.42	0.002 ^{**}
Embryo age	Tua	36	2	2.42	
Jenis media	Y3	39	2	-1.30	0.089 ^{tn}
Kind of media	WPM	43	2	1.30	

Keterangan: Uji Kruskal-Wallis, tidak nyata (tn) P>0.05, berbeda sangat nyata (***) pada P<0.01.
 Note: Kruskal-Wallis, not significantly different (tn) P>0.05, extremely significantly different (***) P<0.01.

Tabel 3. Rekapitulasi persentase bentuk dan warna apokol pada 6 MST.
 Table 3. Recapitulation percentage of shape and colour cotyledonary petiole at 6 WAP.

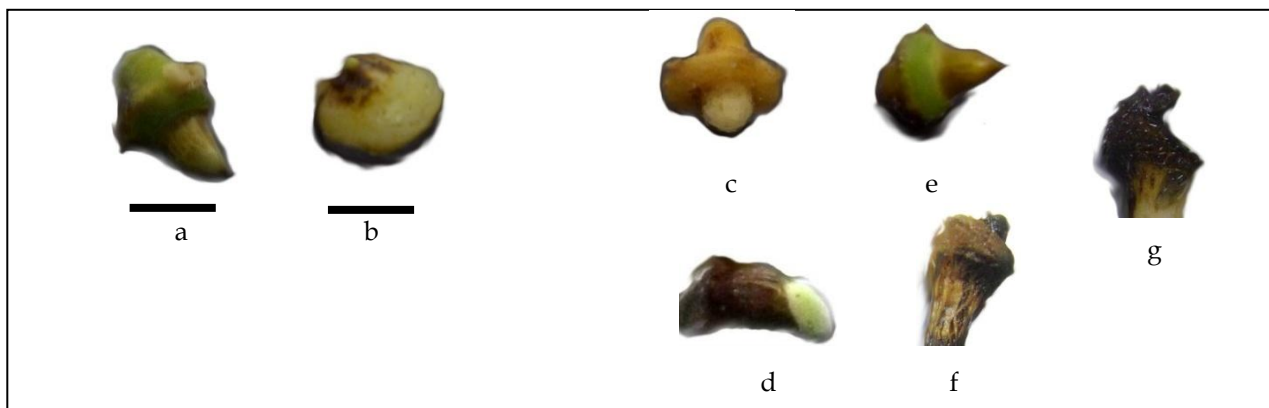
Perlakuan Treatment	Apokol/Apocol (%)					
	Bentuk/Shape		Warna (skor)/Color (scor)			
	Normal/Normal	Abnormal/Abnormal	1	2	3	4
Media/Media :						
Y3	66	34	0	32	5	2
WPM	82	18	0	29	5	9
Rataan/Average	74	26	0	61	10	11
Umur/Age :						
Muda/Young	88	12	0	40	5	1
Tua/Mature	60	40	0	21	5	10
Rataan/Average	74	26	0	61	10	11

Keterangan: Warna apokol, putih (1), kuning kehijauan (2), coklat dan putih (3) dan coklat (4).
 Note: Colours of cotyledonary petiole, white (1), greenish-yellow (2), brown and white (3) and brown (4).

Abnormalitas Haustorium

Haustorium yang menjadi bagian dari embrio zigotik aren menunjukkan respon berbeda. Haustorium yang diamati terdiri atas dua bentuk yaitu bentuk normal (Gambar 2a) dan abnormal

(Gambar 2b). Haustorium normal berbentuk kerucut, sedangkan haustorium abnormal menunjukkan perubahan bentuk menjadi tidak beraturan dan terdapat retakan pada permukaannya.



Gambar 2. Bentuk haustorium, normal (a) dan abnormal (b). Warna haustorium (c-g), putih (c), kuning kehijauan (d), coklat dan putih (e), coklat muda (f) dan coklat (g).
 Figure 2. Shape of haustorium, normal (a) and abnormal (b). Colours of cotyledonary petiole (c-g), white (c), greenish-yellow (d), brown and white (e) and light brown (f) and brown (g).

Hasil uji Kruskal-Wallis (Tabel 4) menunjukkan bahwa jenis media dasar tidak berpengaruh terhadap bentuk haustorium, sedangkan umur embrio zigotik berpengaruh terhadap bentuk haustorium. Bentuk normal mendominasi bentuk haustorium dari embrio zigotik aren yang dikulturkan. Bentuk haustorium normal tertinggi diperoleh pada embrio tua yaitu 78%, sedangkan terendah pada embrio muda (58%). Sugimuma dan Murakami (1990) melaporkan bahwa selama proses perkecambahan kelapa terjadi perubahan struktur pada haustoriumnya. Perubahan ini berkaitan dengan fungsinya sebagai organ absorpsi dan penyimpanan cadangan makanan.

Uji Kruskal-Wallis menunjukkan warna haustorium sangat dipengaruhi oleh umur embrio zigotik tetapi tidak dipengaruhi oleh jenis media dasar (Y3 dan WPM) (Tabel 4). Warna haustorium yang terlihat setelah 6 MST berbeda pada setiap eksplannya. Haustorium dari embrio muda atau tua berwarna putih, kuning kehijauan, putih dan cokelat, cokelat muda dan cokelat (Gambar 2c-g). Rekapitulasi warna haustorium (Tabel 5) menunjukkan bahwa haustorium sebagian besar berwarna cokelat muda,

kecuali pada embrio zigotik tua. Warna haustorium paling banyak adalah cokelat muda (39%), sedangkan warna haustorium paling sedikit adalah kuning kehijauan (4%). Akumulasi senyawa fenolik menyebabkan terjadinya pencokelatan (*browning*) eksplan yang terlihat lebih jelas pada bagian haustorium. Ribeiro *et al.* (2012) melaporkan pembelahan sel secara intensif pada jaringan meristematik menyebabkan pecahnya lapisan sel subepidermal, sehingga senyawa fenolik pada bagian tersebut terdorong ke lapisan epidermis. Akumulasi senyawa-senyawa ini di bagian epidermis menyebabkan perubahan warna menjadi lebih gelap (cokelat) pada eksplan.

Regenerasi Planlet

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecambah yang dipindahkan ke dalam media Y3 dengan penambahan air kelapa 100 ml/l dan 150 ml/l menghasilkan regenerasi planlet tertinggi, yaitu masing-masing 2% (tiga planlet), sedangkan air kelapa 200 ml/l dan BAP 5 ppm hanya mampu menghasilkan planlet masing-masing sebesar 1% (satu

Tabel 4. Uji Kruskal-Wallis bentuk dan warna haustorium aren pada 6 MST.
Table 4. Kruskal-Wallis test on shape and colour of haustorium, at 6 WAP.

Perlakuan/Treatment		n	Median	Z	Nilai P
Bentuk/Shape					
Umur embrio	Muda	50	1	1.72	0.033*
<i>Embryo age</i>	Tua	50	1	-1.72	
Jenis media	Y3	50	1	1.03	0.201 ^{tn}
<i>Kind of media</i>	WPM	50	1	-1.03	
Warna/Colour					
Umur embrio	Muda/Young	50	2	-0.95	0.002**
<i>Embryo age</i>	Tua/Mature	50	2	0.95	
Jenis media	Y3	50	2	0.84	0.104 ^{tn}
<i>Kind of media</i>	WPM	50	2	-0.84	

Keterangan: Uji Kruskal-Wallis, tidak nyata (tn) $P > 0.05$, berbeda nyata (*) pada $0.01 < P < 0.05$, berbeda sangat nyata (**) pada $P < 0.01$.

Note: Kruskal-Wallis, not significantly different (tn) $P > 0.05$, significantly different (*) $0.01 < P < 0.05$, extremely significantly different (**) $P < 0.01$.

Tabel 5. Rekapitulasi persentase bentuk dan warna haustorium pada 6 MST.
Table 5. Recapitulation percentage of shape and colour haustorium at 6 WAP.

Perlakuan Treatment	Haustorium (%)						
	Bentuk/Shape		Warna (Skor)/Colour (Scor)				
	Normal/Normal	Abnormal/Abnormal	1	2	3	4	5
Media/Media :							
Y3	62	38	9	2	5	20	14
WPM	74	26	8	2	8	19	13
Rataan/Average	68	32	17	4	13	39	27
Umur/Age :							
Muda/Young	58	42	5	4	11	23	7
Tua/Mature	78	22	12	0	2	16	20
Rataan/Average	68	32	17	4	13	39	27

Keterangan: Warna haustorium, putih (1), kuning kehijauan (2), cokelat dan putih (3) dan cokelat (4).

Note: Colours of haustorium, white (1), greenish-yellow (2), brown and white (3), light brown (4) and brown (5).

Tabel 6. Rekapitulasi planlet aren 24 MST.
 Table 6. Recapitulation of sugar palm planlet at 24 WAP.

Perlakuan awal Pre treatment	Media subkultur/Subculture media				Total Total
	AK1 (x)	AK2 (x)	AK3 (x)	BAP5 (x)	
Muda/Young Y3	- (3)	1 (5)	- (6)	- (6)	1
Muda/Young WPM	2 (5)	1 (3)	- (3)	- (4)	3
Tua/Mature Y3	- (-)	1 (3)	1 (3)	- (1)	2
Tua/Mature WPM	1 (4)	- (2)	- (1)	1 (5)	2
Total	3 (12)	3 (13)	1 (13)	1 (16)	8 (54)
Persentase (%)	25	23	8	6	

Keterangan: AK1= air kelapa 100 ml/l, AK2 = air kelapa 150 ml/l, AK3 = air kelapa 200 ml/l, BAP5 = BAP 5 ppm. X = jumlah total yang ditanam.

Note: AK1 = coconut water 100 ml/l, AK2 = coconut water 150 ml/l. AK3 = coconut water 200 ml/l, BAP5 = BAP 5 ppm. x = Total number of explan.

planlet). Embrio zigotik muda atau tua dapat membentuk planlet masing-masing sebesar 2% (empat planlet), sedangkan embrio yang ditanam dalam media WPM atau Y3 sebelum di subkultur pada media yang disuplemen dengan ZPT dapat membentuk planlet masing-masing 3% (lima planlet) dan 2% (tiga planlet).

Planlet yang diperoleh pada penelitian ini belum dapat diaklimatisasi, karena pertumbuhannya belum mencapai pertumbuhan optimal sehingga dikhawatirkan planlet tidak dapat bertahan hidup selama tahap aklimatisasi (Gambar 3). Dalam penelitian ini terdapat embrio yang tidak mengalami perkembangan (stagnan) (17%) meskipun telah disubkultur ke dalam media yang disuplemen dengan ZPT.



Gambar 3. Planlet aren pada 24 MST.
 Figure 3. Sugar palm planlet at 24 WAP.

KESIMPULAN

1. Eksplan embrio zigotik muda membentuk apokol terbanyak (92%) dibanding embrio zigotik tua (72%). Hasil ini mengindikasikan bahwa embrio muda memiliki kemampuan hidup yang terbaik. Embrio zigotik muda tanaman aren dapat digunakan dalam *embryo rescue*.

2. Jenis media dasar (Y3 atau WPM) tidak berpengaruh nyata terhadap perkecambahan embrio zigotik aren.
3. Apokol dan haustorium yang berbentuk normal berturut-turut adalah 74% dan 68%, sedangkan bentuk abnormal 26% dan 32%.
4. Warna apokol didominasi oleh warna cokelat muda (39%), sedangkan warna kuning kehijauan mendominasi warna apokol (61%). Jenis media dasar yang digunakan tidak berpengaruh terhadap bentuk dan warna apokol dan haustorium aren. Umur embrio memberikan pengaruh nyata terhadap bentuk haustorium, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap bentuk apokol. Persentase planlet yang terbentuk setelah kecabah disubkultur pada media yang mengandung air kelapa atau BAP berkisar 6-25%.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Hafiih, E. 2012. Studi induksi dan pendewasaan embrio somatik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan berbagai jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Arsyad, M.A. 2008. Pertumbuhan anak semai anggrek *Dendrobium* yang berasal dari protocorm kultur polong hijau pada berbagai media Secara *In Vitro*. Universitas Hasanuddin. Makassar

Asemota, O., C.R.Eke, J.O.Odewale. 2007. Date palm (*Phoenix actylifera* L.) *in vitro* morphogenesis in response to growth regulators, sucrose and nitrogen. Afr. J. Biotechnol. 6:2353-2357.

Asikin, D., D.M.Puspitaningtyas. 2000. Studi perkecambahan biji aren (*Arenga pinnata* (Wurm) Merr.) secara *in vitro* dan *in vivo*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III. Cibinong. Maret 2000

Baharuddin, M. Muin, H. Bandaso. 2007. Pemanfaatan nira aren (*Arenga pinnata* Merr) sebagai bahan pembuatan gula kristal. J. Perennial 3:40-43.

- Baharuddin, Syahidah, N. Yatni. 2009. Penentuan mutu cuka nira aren (*Arenga pinnata*) berdasarkan SNI 01-4371-1996. J. Perennial, 5:31-35.
- Binott,J.J., J.M. Songa, J.Ininda, E.M.Njagi, J.Machuka. 2008. Plant regeneration from immature embryos of Kenyan maize inbred lines and their respective single cross hybrids through somatic embryogenesis. Afr. J. Biotechnol. 7:981-987.
- Eeuwens,C.J. 1976. Mineral requirements of culture coconut tissue. *Physiol. Plant*36:23-24.
- Effendi,D.S. 2010. Prospek pengembangan tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.) mendukung kebutuhan bioetanol di Indonesia. *Perspektif* 9:36-46.
- Fu,F.L., Z.L.Feng, B.Y.Qu, W.C.Li. 2006. Relation between induction rate of embryonic callus and endogenous hormones content in Maize. J. Nuclear Agr. Sci. Tersedia pada:http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-NXB200601003.htm
- Gebologi,N., S.Bozmaz, M.Aydin, P.Cakmak. 2011. The role of growth regulators, embryo age and genotypes on immature embryo germination and rapid generation advancement in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Afr. J. Biotechnol. 10:4895-4900
- Haris,T.C.N. 1994. Developmental and germination studies of the sugar palm (*Arenga Pinnata* Merr.) seed. University pertanian Malaysia. Malaysia.
- Hasibuan,M.A. 2011. Etnobotani masyarakat suku Angkola (Studi kasus di Desa Padang Bujur sekitar Cagar Alam Dolok Sibual-buali, Kabupaten Tapanuli Selatan, Sumatera Utara). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Islam,M.N., M.L.O.Cedo, L.O.Namuco, T.H.Borromeo, E.A.Aguilar. 2009.Effect of fruit age on endosperm type and embryo generation of Makapuno coconut. J. Gene Conserve32:708-722.
- Kukharchyk,N., M.Kastrickaya. 2006. Embryo rescue techniques in *Prunus* L. J. Fruit Ornament. Plant Res. 14:129-135.
- Lloyd,G., B.McCown. 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Prop.Soc. 30:421-426.
- Mattjik,A.A.,I.M.Sumertajaya. 2006. Perancangan percobaan dengan aplikasi SAS dan Minitab. IPB press. Bogor.
- Meitram,B., G.J.Sharma. 2006. *In vitro*zygotic embryo germination of *Calamus latifolius* Roxb. and *Calamus tenuis* Roxb.J. Food, Agr. Env.4:306-309.
- Mirici,S., I.Parmaksiz, S.Ozcan, C.Sancak, S.Uranbey, E.O.Sarihan, A.Gumuscu, B.Gurbuz, N.Arslan. 2005. Efficient *in vitro* bulblet regeneration from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 80:239-246.
- Morel,G., R.M.Wetmore. 1951. Fern callus tissue culture. *Am. J. Bot.*38:141-143.
- Muniran,F.,S.Bhore, F.Shah. 2008. Micro-propagation of *Elaeis guineensis* Jacq. Dura: Comparison of three basal media for efficient regeneration. *Indian J. Exp. Bio.* 46:79-82.
- Ning,G.G., S.P.Bai, M.Z.Bao, L.Liu.2007. Factors affecting plantlet regeneration from *in vitro* cultured immature embryos and cotyledons of *Prunus mume* "Xue mei". *In vitro Cell Dev. Biol. Plant* 43:95-100.
- Ribeiro,L.M., D.M.T.Oliveira, Q.D.S.Garcia. 2012. Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) during *in vitro* germination. *Trees* 26:851-863.
- Rivaie. 2012. Potensi dan pengembangan aren (*Arenga pinnata* (Wurmb.) Merr.) sebagai komponen ketahanan pangan dan konservasi lahan berbelereng di Maluku. Seminar Nasional Aren. Balikpapan, September 2012.
- Setyabudi,A. 2013. Pengembangan mi glosor instan dari tepung sagu aren dengan substitusi tepung labu kuning sebagai alternative untuk diversifikasi pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Siregar,A.W., A.Purwoko, T.Martial. 2013. Analisis financial dan pemasaran buah aren (*Arenga pinnata*) di Desa Simantin, Kecamatan Pematang Sidamanik, Kabupaten Simalungun. *J. Peronema Forestry Sci.* 2:152-159.
- Sugimuma,Y., T.Murakami. 1990. Structure and function of the haustorium in germinating coconut palm seed. *Jarq.* 24:1-14.
- Sukendah, Sudarsono, Witjaksono, N.Khumaida. 2008. Perbaikan teknik kultur embrio kelapa kopyor (*Cocos nucifera* L.) asal Sumenep Jawa Timur melalui penambahan bahan aditif dan pengujian periode subkultur. *Bul.Agron.*36:16-23.
- Taji,A., P.Kumar, P.Lakshmanan. 2002. *In vitro* plant breeding. Haworth. United State of America.
- Uma,S., S.Lakshmi, M.S.Saraswathi, A.Akbar, M.M.Mustaffa. 2011. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*105:105-111.
- Uranbey. 2011. *In vitro* bulblet regeneration from immature embryos of endangered and Endemic *Muscari azureum*. *Arch. Biol. Sci.* 63:209-215.
- Widyawati,N., Tohari, P.Yudono, I.Soemardi. 2009. Permeabilitas dan perkecambahan benih aren (*Arenga pinnata* (Wurmb.) Merr.). *J. Agron. Indonesia* 37:152-158.