

PERKEMBANGAN PENELITIAN KULTUR JARINGAN PADA TANAMAN PALMA

Farida Oktavia

*Balai Penelitian Tanaman Palma
Jl. Raya Mapanget Manado 95001
Email : faridaoktavia26@gmail.com*

ABSTRAK

Tanaman palma dikenal sebagai *the tree of life* karena hampir seluruh bagiannya dapat diambil manfaatnya bagi manusia. Tanaman palma yang berkembang di Indonesia sebagian besar telah berumur lebih dari 25 tahun sehingga mengalami penurunan jumlah produktivitas. Melalui program peremajaan tanaman tidak produktif, pemerintah mendorong pihak swasta untuk bersama-sama membangkitkan gairah perkebunan rakyat. Program peremajaan dan penataan kembali areal perkebunan tanaman palma mutlak membutuhkan bibit yang sangat banyak. Teknologi kultur jaringan menjadi alternatif yang sangat layak dikembangkan untuk memperbanyak tanaman secara massal, seragam dan dalam waktu singkat. Dimasa mendatang, produksi benih somatik akan lebih mendapat perhatian khususnya bagi tanaman kehutanan dan tanaman berkayu lainnya karena hanya dengan menumbuhkan satu sel somatik pada media tertentu dan dalam keadaan aseptik telah dapat menghasilkan bibit baru yang mempunyai sifat sama dengan induknya.

Kata kunci: Kultur jaringan, embriogenesis somatik, tanaman palma.

PENDAHULUAN

Tanaman palma dikembangkan sebagai bahan pangan, industri, farmasi dan bioetanol. Perkembangan usaha berbasis tanaman palma serta program peremajaan tanaman palma yang sudah memasuki masa kurang produktif meningkatkan permintaan bibit. Perbanyak tanaman secara konvensional sangat sulit untuk memenuhi kebutuhan bibit dalam jumlah banyak, seragam dan dalam waktu yang relatif cepat. Kultur jaringan telah terbukti dapat digunakan sebagai teknologi alternatif mengatasi masalah-masalah tersebut.

Kultur jaringan adalah teknik memperbanyak tanaman yang dilakukan dengan mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik dalam media tertentu. Adanya kultur jaringan dapat membuktikan teori totipotensi, yaitu teori yang menyatakan bahwa setiap sel mempunyai kemampuan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna apabila diletakkan dalam lingkungan dan media yang sesuai.

Faktor lain yang perlu diantisipasi dalam metode *in vitro* adalah penyimpangan genetik. Untuk itu, sebelum melakukan metode *in vitro* ada beberapa hal yang harus dikuasai seperti mekanisme fisiologi, daya aktivitas, laju transportasi, sifat persistensi, daya aktivitas dari berbagai komponen organik dan anorganik penyusun media tumbuh serta faktor lain yang berpengaruh. Tanaman palma termasuk dalam tanaman tahunan berkayu, sehingga sistem regenerasinya lebih rumit dibandingkan dengan tanaman semusim berdingin lunak dan tanaman pangan.

PERBANYAKAN TANAMAN MELALUI KULTUR JARINGAN

Kultur jaringan pada tanaman palma dapat dilakukan melalui organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis mampu membentuk tunas baik adventif maupun aksilar secara langsung maupun tidak langsung (melalui kalus) dengan menggunakan media yang mengandung zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin dan sitokinin. Demikian juga dengan embriogenesis yang dapat dilakukan langsung maupun tidak langsung.

Faktor-faktor penunjang terjadinya keragaman dalam kultur jaringan adalah jenis eksplan, pemilihan kultivar dan umur kultivar, level ploidi, metode dan kondisi spesifik dari kultur termasuk zat pengatur tumbuh, tekanan seleksi, lamanya waktu in vitro dan kecepatan proliferasi (Skirvin *et al.*, 1994). Sedangkan menurut Karp (1995) menyatakan bahwa penyebab keragaman dalam kultur *in vitro* yaitu derajat awal dari pertumbuhan meristematik, konstitusi genetik, zat pengatur tumbuh yang digunakan pada media, dan sumber jaringan.

Teknik kultur jaringan yang banyak dikaji untuk perbanyak tanaman palma yaitu kultur embrio zigotik. Secara sederhana dapat dijelaskan bahwa tujuan kultur embrio adalah untuk mengecambahkan embrio zigotik menjadi tanaman lengkap pada media tertentu dalam kondisi aseptik. Kultur embrio zigotik pertama kali dilakukan oleh Charles Bonnet pada abad ke-18 dengan mengkulturkan embrio tanaman *Phaseolus* dan *Fagopyrum*.

Keberhasilan meregenerasikan tanaman dari embrio dipengaruhi oleh media dan umur embrio yang digunakan. Semakin muda eksplan zigotik yang digunakan, maka semakin lengkap komposisi mediana. Teknik kultur embrio sangat tepat dipilih untuk meregenerasikan tanaman yang mempunyai masa dormansi panjang, embrio zigotik hibrida hasil persilangan antar spesies yang tidak kompatibel dengan endospermanya, embrio zigotik dengan endosperma abnormal serta mengintrogasikan materi genetik pada suatu spesies. Sedangkan dari segi fisiologi perkembangan embrio, kultur embrio dapat digunakan untuk mempelajari perkembangan embrio dan kemampuan regenerasi dari bagian-bagian embrio, sitologi serta filogenetik molekuler (Davey dan Anthony, 2010).

Embriogenesis somatik adalah menumbuhkan embrio (calon tanaman) dari sel somatik atau sel tanpa dibuahi. Keberhasilan embriogenesis somatik ditentukan oleh sel yang digunakan harus bersifat embriogenik yang dicirikan dengan ukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil dan mengandung butir pati. Embriogenesis somatik dicirikan dari strukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem (meristem akar dan meristem tunas). Dengan demikian, perbanyak tanaman melalui embriogenesis somatik lebih menguntungkan daripada pembentukan tunas adventif yang unipolar dan menyerupai embrio zigotik. Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem. Secara garis besar dilakukan dalam dua tahap, yaitu induksi tunas dan multiplikasi tunas.

Zat perangsang tumbuh adalah senyawa organik yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan bagian-bagian tanaman. Pada teknik kultur jaringan, ZPT berfungsi untuk mengarahkan pertumbuhan eksplan. Pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara in

vitro dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi antara fitohormon dan ZPT yang diserap dari media tumbuh. ZPT tanaman terdiri dari lima kelompok, yaitu auksin, sitokinin, giberelin, etilen dan asam absisat yang mempunyai ciri khas masing-masing dan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap proses fisiologis tanaman. Faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan ZPT, diantaranya jenis, konsentrasi, aturan penggunaan, periode masa induksi dalam kultur tertentu, dan kelemahan aktifitasnya. ZPT yang paling sering digunakan sebagai bahan tambahan dalam media tanam adalah dari golongan auksin dan sitokinin.

Auksin berperan dalam pemanjangan sel, pembelahan sel, berpengaruh dalam dominasi apikal, penghambatan pucuk absilar dan adventif serta inisiasi perakaran (Wattimena *et al.*, 1992). Auksin alami yaitu Indole Acetic Acid (IAA), sedangkan auksin sintetik antara lain NAA, IBA, pikloram, NOA, 4-CPA dan 2.4.5-T (Gunawan, 1998). Faktor-faktor yang mempengaruhi daya aktivitas auksin, adalah kemampuan senyawa tersebut untuk menembus lapisan kutikula atau epidermis yang berlilin, sifat translokasi di dalam tanaman, perubahan auksin menjadi senyawa yang tidak aktif di dalam tanaman, perubahan auksin menjadi senyawa yang tidak aktif di dalam tanaman (bersifat destruksi atau pengikatan), interaksinya dengan hormon tumbuh lain, spesies tanaman, fase pertumbuhan, dan lingkungan (Wattimena, 1988).

Sitokinin pertama kali ditemukan oleh Haberlandt (1913). Sitokinin berperan dalam metabolisme asam nukleat dan sintesis protein. Sitokinin mempunyai cincin adenin, yaitu basa purin yang terdapat pada DNA dan RNA. Sitokinin juga berperan untuk mencegah terjadinya penguningan daun yang umumnya timbul pada proses penuaan (*senescence*) yang disebabkan oleh perombakan butir-butir klorofil. Sitokinin yang digunakan dalam kultur jaringan yaitu kinetin, zeatin, BAP atau BA, PBA, 2 Cl-4 PU, dan 2.6-Cl-4 PU, serta thidiazuron.

KULTUR JARINGAN KELAPA SAWIT

Penelitian kultur jaringan kelapa sawit telah dirintis sejak tiga dasawarsa yang lalu oleh ORSTORM-IRHO/CIRAD Perancis (Rebechault *et al.*, 1972) dan Unilever Inggris (Smith dan Thomas, 1973). Sejak saat itu perbanyak tanaman kelapa sawit banyak dilakukan melalui jalur embriogenesis somatik. Keuntungan jalur embriogenesis somatik pada kelapa sawit adalah adanya kepastian hasil yang lebih tinggi dengan mengurangi resiko dihasilkannya *khimera* (Mariska, 2013). Sedangkan kendala yang banyak ditemui adalah adanya abnormalitas yang dikenal sebagai buah bersayap dengan prosentase 5-10% dan berpotensi menurunkan produksi hingga 40%. Menurut Tregear *et al.* (2002) keadaan tersebut dapat kembali normal seiring bertambahnya umur tanaman, dan kondisi ini disebut epigenetik. Waktu yang dibutuhkan untuk pemulihan menjadi fenotipe yang normal membutuhkan waktu hingga 9 tahun (Rival *et al.*, 1997).

Faktor pemacu perubahan sifat genetik yang terjadi pada embriogenesis somatik kelapa sawit disebabkan oleh frekuensi dan umur kalus (Paranjothy *et al.*, 1993; Euwens *et al.*, 2002), jenis eksplan, kecepatan proliferasi kalus (Karp, 1995) serta penggunaan zat pengatur tumbuh (Euwens *et al.*, 2002) pada konsentrasi tinggi. Umur embrioid yang pendek (kurang dari 1 tahun) masa inkubasinya, berpotensi menurunkan persentase buah bersayap

secara drastis. Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang sering digunakan dalam pembentukan kalus adalah 2,4-D.

Tahapan embriogenesis somatik kelapa sawit antara lain produksi kalus embriogenik, tahap pendewasaan kalus, tahap perkecambahan, tahap kotiledon dan pembentukan benih somatik (Mariska, 1997). Pemilihan media dasar yang tepat pada setiap tahap pertumbuhan berpengaruh terhadap tingkat keberhasilan perbanyak tanaman melalui jalur kultur jaringan.

KULTUR JARINGAN KELAPA

Kelapa merupakan tanaman palma yang sangat penting bagi masyarakat di kawasan tropis lembab. Indonesia menjadi negara penghasil kelapa terbesar dengan luas lahan mencapai 3,8 juta hektar dan sebagian besarnya adalah perkebunan rakyat. Produktivitas kelapa di Indonesia sangat rendah dan terus mengalami penurunan karena hampir 2/3 dari jumlah tanaman yang ada telah melewati masa produktif sehingga perlu diganti dengan jenis baru yang sesuai dengan kondisi setempat.

Kultur jaringan kelapa banyak dilakukan dengan menumbuhkan embrio kelapa secara aseptik pada media tumbuh dan jangka waktu tertentu. Media tumbuh yang digunakan berfungsi sebagai pengganti endosperm dalam perkecambahan kelapa secara konvensional. Teknologi ini sangat bermanfaat untuk menyelamatkan embrio kelapa yang mengalami kerusakan endosperm sebagai sumber cadangan makanan bagi embrio seperti halnya pada kelapa kopyor.

Protokol media kultur embrio kelapa yang telah dikembangkan, diantaranya protokol Philippine Coconut Authority (PCA) di Philipina, protokol Central Plantation Crops Research Institute (CPCRI) di India, protokol University of Philippines at Los Banos (UPLB) dan protokol ORSTOM/CIRAD di Perancis. Protokol-protokol yang digunakan selama tahap pengkulturan sebagian besar menggunakan media padat, dan sebagian kecil menggunakan media cair. Sedangkan media yang digunakan adalah media Eeuwens (1976) yang dimodifikasi dan merupakan formulasi ketiga sehingga dikenal dengan istilah media Y3. Beberapa kajian yang telah membandingkan berbagai protokol yang ada, protokol dengan hasil terbaik adalah protokol UPLB dengan persentase embrio berhasil mencapai tahap aklimatisasi di *screen house* mendekati angka 30% (Mashud, 2009).

Mashud dan Manaroinson (2007) melaporkan bahwa kelapa kopyor yang diperbanyak melalui metode kultur jaringan berpotensi menghasilkan buah kopyor hingga 90%. Penambahan GA₃ 0,46 µM ke dalam media cair Eeuwens (Y3) dan 4,6 µM pada media semi solid Y3 merupakan konsentrasi GA₃ optimal dan mampu mengecambahkan masing-masing 80-90% embrio zigotik kelapa (Pech y Aké *et al.*, 2007).

KULTUR JARINGAN SAGU

Tanaman sagu di Indonesia belum dikelola secara optimal karena hanya memanfaatkan hutan sagu yang banyak tumbuh di sepanjang tepian sungai dan rawa. Dari jumlah luasan hutan sagu yang ada, masyarakat hanya memanfaatkan 40% untuk diambil

patinya sebagai sumber makanan pokok pengganti beras. Beberapa hasil penelitian terbaru telah melaporkan bahwa tanaman sagu berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai penghasil bahan industri, seperti bahan kimia industri (alkohol dan bioetanol), perekat, farmasi, kosmetik, pakan ternak, kertas, tekstil dan makanan olahan. Potensi tersebut mulai diminati oleh pengusaha sehingga permintaan bibit sagu mengalami peningkatan.

Tanaman sagu termasuk dalam tanaman monokotil dan mampu berkembangbiak secara generatif maupun vegetatif. Perbanyakkan secara generatif yaitu melalui biji sangat sulit dilakukan karena tanaman sagu di panen sebelum memasuki masa generatif. Perbanyakkan tanaman sagu secara vegetatif dilakukan dengan menumbuhkan tunas anakan (*sucker*). Kelemahan teknik ini, diantaranya proses seleksi membutuhkan waktu yang lama dengan tingkat kerumitan yang relatif tinggi serta biaya besar.

Perbanyakkan sagu melalui kultur jaringan mulai dilakukan secara embriogenesis zigotik oleh Alang dan Krishnapillary (1986). Kajian untuk menghasilkan embrio somatik telah banyak dilakukan dengan menggunakan berbagai eksplan, yaitu daun muda, akar, embrio muda dan infloresen dengan berbagai tingkat keberhasilan. Tahardi *et al.* (2002) melakukan percobaan induksi kalus embriogenik sagu dengan menggunakan eksplan berupa meristem pucuk dari tunas anakan pada media MS modifikasi dengan penambahan 2,4-D 20-200 mg/l dikombinasikan dengan kinetin 0,1-1,0 mg/l. Inisiasi kalus embriogenik sagu yang dihasilkan mencapai 12-28%.

Riyadi *et al.* (2005) mencoba melakukan induksi embriogenesis somatik sagu menggunakan media yang sama dan berhasil 100% dengan penambahan 2,4-D 5-10 mg/l dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l. Kasi dan Sumaryono (2006) menyatakan bahwa penggunaan meristem apikal pada kultur embrio somatik tanaman sagu sudah mencapai tahap aklimatisasi, namun persentase keberhasilannya masih sangat rendah. LRPI (2009) telah berhasil mempatenkan teknologi perakitan bibit sagu melalui jalur embriogenesis somatik dengan nomor paten S-00200200187.

Riyadi (2010) melaporkan kultur embrio somatik fase perkembangan kotiledon tanaman sagu pada media MS modifikasi dapat tumbuh dan berkembang membentuk kecambah serta membentuk embrio somatik sekunder baru fase perkembangan globuler yang kemudian berkembang menjadi embrio dewasa. Peggandaan embrio somatik tertinggi sebesar 94% diperoleh pada perlakuan konsentrasi BAP 0,5 mg/L ditambah ABA 0,01 mg/L, sedangkan tingkat pendewasaan tertinggi sebesar 93,5% didapat pada perlakuan konsentrasi kinetin 1 mg/L ditambah ABA 0,01 mg/L. Perkecambahan tertinggi dicapai pada perlakuan konsentrasi kinetin 2 mg/L ditambah ABA 0,01 mg/L yang mencapai 100%.

KULTUR JARINGAN AREN

Kultur embrio zigotik aren yang ditanam pada media Tisserat dan De Mason dengan penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh berupa kombinasi 2,4-D 22 μ M dan 2-iP 9,8 μ M, kombinasi 2,4-D 50 μ M dan kinetin 10 μ M, kombinasi IAA 100 μ M dan kinetin 10 μ M serta kombinasi NAA 100 μ M dan kinetin 10 μ M menghasilkan pertumbuhan akar dan tunas normal berturut-turut sebesar 86,7%; 80%; 80%; dan 82%. Perkembangan embrio zigotik

aren diawali dengan membengkaknya ukuran embrio zigotik hingga dua kali lipat ukuran awal. Selanjutnya, muncul tonjolan di bagian basal embrio kemudian berkembang menjadi struktur apokol (*cotyledonary petiole*). Apokol yang terbentuk akan semakin memanjang hingga menembus ke dalam media tanam. Hal inilah yang menjadi indikator perkecambahan. Waktu inkubasi yang diperlukan selama proses perkecambahan adalah 1-2 MST. Arsyad *et al.* (2013) melaporkan kemampuan hidup dan perkecambahan embrio zigotik aren terbaik diperoleh pada eksplan embrio zigotik muda (92%) dibandingkan embrio zigotik tua (72%). Keberhasilan kultur embrio zigotik aren hingga menghasilkan planlet masih sangat rendah (di bawah 25%). Putih *et al.* (2003) melakukan kultur tunas aren menghasilkan persentase eksplan hidup dan persentase eksplan berkalus tertinggi dengan penambahan kombinasi NAA 1 ppm dan BAP 1 ppm, meskipun kalus yang diperoleh belum dapat membentuk akar dan tunas.

KULTUR JARINGAN KURMA

Teknik kultur jaringan tanaman kurma mulai dilakukan oleh Tisserat dan DeMason pada tahun 1980 dan setelah itu semakin berkembang. Sharma *et al.* (1996) berhasil melakukan menumbuhkan tunas kurma melalui teknik organogenesis langsung dengan menggunakan eksplan pucuk apikal kurma cv. Khalas pada media MS yang dilengkapi NAA 1 mg/L, BAP 3 mg/L, dan 2-iP 3 mg/L. Kultur jaringan kurma melalui organogenesis menghasilkan tunas yang diinduksi dari eksplan daun dan ditumbuhkan pada media yang mengandung 2,4-D 10 mg/L dan kemudian ditransfer ke media MS solid dengan penambahan NAA 0,04 mg/L, BA 0,2 mg/L dan KT 0,02 mg/L. Waktu inkubasi yang diperlukan hingga terbentuk tunas kurma mencapai 8 bulan.

Embriogenesis somatik menggunakan eksplan daun muda mampu menghasilkan kalus embriogenik setelah diinduksi selama 8 bulan pada media yang ditambah 2,4-D 10 mg/L kemudian ditransfer ke media MS solid dengan penambahan 2,4-D 0,1 mg/L untuk menstimulasi diferensiasi dari kalus embriogenik ke embrio somatik kotiledonari (Othmani *et al.*, 2009). Al-Khateeb (2008) melakukan kultur jaringan kurma menggunakan berbagai konsentrasi dan jenis sumber karbon (sukrosa, fruktosa, glukosa dan maltosa) pada media MS menunjukkan kualitas dan kuantitas pertumbuhan tunas yang optimal pada konsentrasi sumber karbon 30 g/l dan 60 g/l, sedangkan fruktosa menghasilkan berat kering tertinggi dibandingkan jenis sumber karbon lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alang, Z. and B. Krishnapillary. 1986. Studies on the growth and development of embryos of the sago palm (*Metroxylon sp.*) in vitro and in vivo. Proceeding of Third International Sago Symposium, Tokyo pp. 121-129.
- Al-Khateeb. 2008. Regulation of in vitro but formation of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) cv. Khanezi by different carbon source. Bioresource Technol. 99:6550-6555.

- Arsyad MA, Sudarsono, Purwito A, dan Dinarti D. 2013. Pengaruh umur embrio dan jenis media dasar terhadap keberhasilan Embryo Rescue Aren (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) secara in vitro. *Buletin Palma* 14(1):20-27.
- Davey MR. and Anthony P. 2010. *Plant Cell Culture: Essential Methods*. West Sussex (GB): John Wiley&Sons, Ltd.
- Eeuwens, CJ. 1976. Mineral requirements of culture coconut tissue. *Physiol. Plant* 36:23-24
- Eeuwens CJ, Lord S, Donough CR, Rao V, Vallejo G, and Nelson S. 2002. Effects of tissue culture conditions during embryoid multiplication on the incidence of “mantled” flowering in clonally propagated oil palm. *Plant. Cell.Tissue* 3(3):311-323.
- Gunawan LW. 1998. Teknik kultur jaringan. Laboratorium kultur jaringan, PAU bioteknologi. Bogor. Institut Pertanian Bogor: Direktorat Pendidikan Tinggi. 252 hlm.
- Haberlandt G. 1913. Zur physiologie der zellteilung. Sitzber K. Preuss. Akad. Wiss.318.
- Karp, A. 1995. Somaclonal Variation as a Tool For Crop Improvement. *Euphytica*. 185: 295-302.
- Kasi, P.D. dan Sumaryono, 2006. Perkembangan Kalus Embriogenik Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) pada Tiga Sistem Kultur in vitro. *Menara Perkebunan*. 76: 4-6.
- Lembaga Riset Perkebunan Indonesia. 2009. Buku pedoman 2009: Tarif pelayanan dan harga lingkup produk LRPI. Lembaga riset perkebunan Indonesia. Bogor. 65 hlm.
- Mariska. 2013. Inovasi kultur jaringan kelapa sawit. *Sinartani*. 3491:2-16.
- Mashud N. 2009. Pertumbuhan embrio kelapa Dalam Mapanget pada media Y3 yang disubstitusi dengan air kelapa. *Buletin Palma* 37:138-144.
- Mashud N. dan Manarainsong E. 2007. Teknologi kultur embrio untuk pengembangan kelapa kopyor. *Buletin Palma* 33:44.
- Othmani A, Bayoudh C, Drira and Trifi M. 2009. In vitro cloning of date palm *Phoenix dactylifera* L., Cc. Deglet Bey using embryogenic suspension and temporary immersion bioreactor (TIB). *Biotechnol & Biotechnol*. Eq:1181-1188.
- Paranjothy, K.R. Othman, C.C., Tan, G., Wang and Soh, A.C. 1993. Incidence of Abnormalities in Relation to in Vitro Protocols. In Proc the 1993 ISOPB Int. Symp. Recent Development in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology. Kuala Lumpur.
- Pech y Ake´ AE, Maust B, Orozco-Segovia A, and Oropeza C. 2007. The effect of gibberellic acid on the in vitro germination of coconut zygotic embryos and their conversion into plantlets. *In Vitro Cell Dev Plant* 43:247–253
- Putih R, Satria B, dan Thaib R. 2003. Upaya perbanyak vegetatif enau (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) melalui regenerasi tunas secara in vitro. *Stigma* 11:208-212.
- Rabechault H, Martin PP, and Cas S. 1972. Researches sur la culture des tissue de palmier a huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) *Oleagineux* 27:531-534.

- Rival A, Arbelenc-Bertossi F, Morcillo F, Tregear J, Verdeil JL, and Duval Y. 1997. Scalling-up in vitro clonal propagation trough somatic embryogenesis: in case of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Plant tissue cult biotech. 3:227-233.
- Riyadi I. 2010. Perkembangan embrio somatik tanaman sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). Jurnal Agrobiogen 6(2):101-106.
- Riyadi I, Tahardi JS, dan Sumaryono. 2005. The development of somatic embryos of sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) on solid media. Menara Perkebunan. 73(2):35-43.
- Sharma DR, Kaur R. and Kumar. 1996. Embryo rescue in plant: review. Euphytica 89:325-337.
- Skirvin, R.M., Pheeters, K.D and Norton, M. 1994. Sources and Frequency of Somaclonal Variation. Hort Sci 29: 1232-1237.
- Smith WK, and Thomas JA. 1973. The isolation and in vitro cultivation of cells of *Elaeis guineensis*. Oleagineux 28: 123–127
- Tahardi JS, Sianipar NF, dan Riyadi I. 2002. Somatic embryogenesis insago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.): New frontiers of sago palm studies. P.75-81.
- Tregear JW, Morcillo F, Richaud F, Berger A, Singh R, Cheah SC, Hartmann C, Rival A, and Duval Y. 2002. Characterization of a defensin gene expressed in oil palm inflorescences: induction during tissue culture and possible association with epigenetic somaclonal variation events. J. Exp. Bot. 53: 1387-1396.
- Wattimena GA. 1988. Zat pengatur tumbuh tanaman. Bogor (ID): Pusat Antar Universitas(PAU). IPB.
- Wattimena GA, Gunawan LW, Mattjik NA, Syamsudin E, Wiendi NMA, Ernawati A. 1992. Bogor (ID): Pusat Antar Universitas (PAU) IPB.