

# Transplantasi Embrio Kelapa *Coconut Embryo Transplantation*

Nurhaini Mashud dan Yulianus Matana

Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado  
*Indonesian Coconut and Palmae Research Institute*

## RINGKASAN

Transplantasi embrio kelapa adalah suatu teknik baru yang dilakukan untuk menghasilkan tanaman baru dari embrio zigotik. Teknik ini menggunakan embrio yang diisolasi secara aseptik dari *donor nut* dan ditransplantasikan pada *surrogate nut*. Transplantasi embrio kelapa telah dilakukan di School of Land and Food Science, University of Queensland. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik embrio maupun silinder endosperm yang berisi embrio dapat ditransplantasikan ke *surrogate nut*. Namun transplantasi dalam bentuk silinder endosperm sulit dilakukan, karena *cork borer* (alat pengambil silinder endosperm) yang berisi endosperm akan masuk ke dalam *surrogate nut*. Keadaan ini menyebabkan mudah terjadinya kontaminasi dan tidak terjadi kontak yang baik antara silinder endosperm dari *donor nut* dengan endosperm dari *surrogate nut*. Teknik ini dapat menjadi alternatif dan mempunyai peluang dimanfaatkan dalam kegiatan koleksi dan pertukaran plasma nutfah kelapa nasional dan internasional yang selama ini menggunakan teknik kultur embrio yang masih menghadapi beberapa masalah, terutama pada kondisi *ex vitro* dan tingginya biaya teknik *in vitro*. Transplantasi embrio dapat diaplikasikan untuk perbanyakan kelapa mutan, seperti kopyor di Indonesia, Makapuno di Filipina dan Dikiri di Sri Lanka. Dalam kegiatan ini, plasma nutfah dikirim dalam bentuk embrio atau embrio yang terbungkus dengan endosperm (silinder endosperm) yang dipersiapkan secara aseptik menggunakan protokol kultur embrio. Di laboratorium tujuan, *surrogate nut* dipersiapkan untuk menjadi media tumbuh plasma nutfah tersebut baik dalam bentuk embrio maupun *plug endosperm*. Embrio yang ditransplantasi ini akan berkecambah secara alami pada kondisi yang relatif terkontrol.

*Kata kunci: Transplantasi, embrio kelapa, donor nut, surrogate nut.*

## ABSTRACT

Coconut embryo transplantation is a new technique which is done for producing new coconut plant from zygotic embryo. In this technique, the isolated embryo from donor nuts insert to surrogate nuts after removal of its embryos. The coconut embryo transplantation has been done in the University of Queensland, Australia. The result of this research indicated that whether embryo or endosperm cylinder can be transplanted to the surrogate nut. Nevertheless, it is difficult to transplant the endosperm cylinder because cork borer with endosperm inside can go into surrogate nut. It caused contamination and there is not good contact between endosperm cylinder from donor nut and endosperm of surrogate nut. This technique could be an alternative to be used in the national and international collection and exchange of coconut germplasm which is using embryo culture protocol with some problems, especially in *ex vitro* condition and the high cost of *in vitro* technique, so far. This technique can be also utilized to multiply mutant coconut type, such as kopyor (Indonesia), Makapuno (Philippine) and Dikiri (Sri Lanka). The coconut germplasm will be sent in form of embryos or endosperm plugs which are preparing aseptically using embryo culture protocol. At the destination base, the surrogate nuts are prepared aseptically to receive the isolated embryo or endosperm cylinder. The transplanted nut is then let to germinate naturally under room temperature in protected environmental condition.

*Key words: Transplantation, coconut embryo, donor nut, surrogate nut.*

## PENDAHULUAN

Keragaman genetik plasma nutfah kelapa merupakan kekayaan hayati yang dimanfaatkan semaksimal mungkin untuk berbagai tujuan, salah satunya adalah untuk merakit kelapa unggul. Namun dengan adanya perubahan peruntukan lahan menyebabkan terjadinya erosi genetik sehingga plasma nutfah kelapa akan mengalami kepunahan. Untuk melindungi plasma nutfah kelapa dari kepunahan, COGENT (*Coconut Genetic Resources Network*) telah mendirikan lima pusat Konservasi Plasma Nutfah Internasional, Salah satu diantaranya adalah untuk kawasan Asia Tenggara dan Timur (ICG-SEA) yang berkedudukan di Indonesia, yaitu di Sulawesi Utara.

Ukuran buah kelapa yang besar, tidak adanya masa dormansi dan masalah *phytosantary* (Rillo dan Paloma, 1991; Hocker *et al.*, 1994) merupakan masalah dalam kegiatan koleksi plasma nutfah. Ukuran buah yang besar menyebabkan biaya transport menjadi mahal, berat satu buah kelapa ekuivalen dengan 10.000 embrio (Harries dalam Ashburner *et al.*, 1993). Oleh karena itu, dalam kegiatan plasma nutfah kelapa ini digunakan teknik *in vitro* kultur embrio. Teknik *in vitro* telah banyak digunakan untuk tujuan koleksi dan pertukaran plasma nutfah (Engelmann, 1991; Ashburner dan Thompson, 1993; Mashud *et al.*, 2004), penyelamatan tipe kelapa mutan seperti kelapa kopyor dan makapuno (Tahardi, 1997; Rillo, 1997). Biaya transport dapat dihemat, karena dengan teknik *in vitro*, plasma nutfah dikirim dalam bentuk embrio maupun *plug endosperm* (silinder endosperm yang berisi embrio), kemudian embrio-embrio ini ditumbuhkan secara *in vitro* di laboratorium. Setelah terbentuk *plantlet* (calon bibit) yang sempurna, *plantlet-plantlet* tersebut diaklimatisasi pada kondisi *ex vitro* di *screen house*.

Walaupun pada kondisi *in vitro* daya kecambah embrio kelapa biasa cukup tinggi, yaitu  $\geq 80\%$  (Ashburner, 1994; Mashud, 2002) dan kelapa mutan  $\leq 70\%$ , tetapi daya tumbuh *plantlet* pada kondisi *ex vitro* masih rendah, yaitu 0% (Ashburner, *et al.* 1994), 20% (Mashud, 2004), 50% (Engelmann & Batugal, 2002), dan  $> 50\%$  (Rillo, 2005, Komunikasi pribadi). Keadaan ini menyebabkan protokol *in vitro* kultur embrio belum efisien. Banyak aspek fisiologis *plantlet in vitro* diperkirakan sebagai penyebab rendahnya daya adaptasi pada saat aklimatisasi di kondisi *ex vitro*. Aspek-aspek fisiologis ini mencakup system perakaran yang kurang baik, kapasitas fotosintesis yang rendah dan mudah terserang hama atau penyakit.

Buah kelapa yang terbungkus dengan sabut dapat berkecambah secara alami, keadaan yang sama juga terjadi pada buah kelapa yang tidak terbungkus dengan sabut (Foale, 1993). Transplantasi embrio kelapa adalah memindahkan embrio yang diisolasi dari *donor nut* ke *surrogate nut* yang embrionya telah dikeluarkan secara aseptik dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Buah kelapa yang digunakan dalam transplantasi embrio adalah buah tanpa sabut. Metode transplantasi embrio ini telah berhasil dilakukan pada tanaman kurma (*Phoenix dactilifera*) ke biji *Washingtonia filifera* (De Mason *et al.*, 1992). Berdasarkan hasil penelitian ini, maka the School of Land and Food Science, University Queensland, Australia telah melakukan transplantasi embrio kelapa dan sebagai kontrol buah kelapa dikedambahkan tanpa sabut. Penelitian dilakukan secara bertahap, dengan tujuan untuk mengetahui (1) cara yang terbaik untuk mengeluarkan

*shell cup* (2) jenis perekat yang tepat, (3) apakah embrio yang ditransplantasi itu hanya dapat bertumbuh hanya pada air kelapa dari *donor nut* atau dapat bertumbuh pada air kelapa dari *surrogate nut*, (4) apakah embrio kelapa dapat ditransplantasi dalam bentuk silinder endosperm dan (5) apakah embrio kelapa dapat ditransplantasi. Dari serangkaian penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa: (1) cara yang terbaik mengeluarkan *shell nut* adalah menggunakan bor, (2) perekat yang paling tepat digunakan adalah cat kuku (*liquid nail*) dan perekat silikon, (3) embrio yang ditransplantasi dapat tumbuh pada air kelapa dari *donor nut* maupun *surrogate nut*. (4) embrio dapat ditransplantasi dalam bentuk embrio maupun silinder endosperm. Daya kecambah dari embrio yang ditransplantasi ini berkisar 11% - 30%. Rendahnya daya kecambah ini disebabkan buah yang digunakan sebagai benih berasal dari supermarket bermutu rendah.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa embrio dapat ditransplantasi dalam bentuk embrio maupun silinder endosperm. Namun cara yang terakhir ini sulit dilakukan karena silinder endosperm dalam *cork borer* yang berisi endosperm akan masuk ke dalam *surrogate nut*. Keadaan ini mengakibatkan terjadinya kontaminasi dan tidak terjadi kontak yang baik antara silinder endosperm dari *donor nut* dengan endosperm dari *surrogate nut*.

Pada tahun 2005, Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain (BALITKA) telah melakukan pra penelitian transplantasi embrio menggunakan kelapa Dalam Mapanget (DMT). Dari penelitian tersebut embrio gagal berkecambah. Kegagalan ini disebabkan terjadinya kontaminasi (Gambar 1a), dan retaknya buah kelapa yang digunakan sebagai *surrogate nut* (Gambar 1b). Retaknya buah kelapa ini diduga disebabkan media yang digunakan adalah pasir yang mempunyai sifat menahan air yang rendah sehingga kelembaban media menurun.



Gambar 1. a. Embrio yang ditransplantasi pada *surrogate nut* yang terkontaminasi jamur.  
b. *Surrogate nut* yang retak akibat dehidrasi disebabkan media tumbuh yang digunakan adalah pasir yang mempunyai kapasitas menahan air yang rendah.

Untuk mendapatkan pertumbuhan embrio yang lebih baik, maka digunakan buah kelapa yang berumur 11 bulan. Hasil penelitian kultur embrio menunjukkan bahwa embrio yang berasal dari buah kelapa berumur 11 bulan adalah yang paling

baik pertumbuhannya, karena embrio telah matang tetapi belum berkecambah. Pada umur 12 bulan embrio telah berkecambah sedangkan pada umur  $\leq 10$  bulan embrio belum matang sehingga belum dapat berkecambah kecuali dirangsang menggunakan zat pengatur tumbuh. Selain itu, untuk menunjang perkecambahan embrio pada *surrogate nut*, maka media yang digunakan harus mempunyai kemampuan menahan air (*water holding capacity*) yang tinggi, antara lain, debu sabut dan *vermiculate*.

Transplantasi embrio zigotik merupakan teknik inovatif yang perlu diuji sebagai alternatif dari teknik kultur embrio yang menghadapi masalah dalam hal keberhasilan pertumbuhan bibit pada kondisi *ex vitro* (Samosir dan Adkins, 2004). Dalam teknik kultur *in vitro*, embrio ditumbuhkan pada media tumbuh buatan Y3 media Eeuwens formulasi ketiga), sedangkan dalam transplantasi embrio, embrio atau *plug endosperm* ditanam pada *surrogate nut*. Embrio yang ditransplantasi ini akan berkecambah secara alami pada kondisi yang relatif terkontrol. Beberapa tahap dalam teknik ini sama dengan protokol kultur embrio, baik persiapan embrio atau silinder endosperm maupun penanaman embrio dari *donor nut* ke *surrogate nut*. Oleh karena itu, embrio yang diisolasi dari buah kelapa ini dapat dikirim secara nasional maupun internasional dengan mudah dan aman, selanjutnya embrio-embrio tersebut ditransplantasi ke *surrogate nut* di lokasi koleksi plasma nutfah.

Selain itu, transplantasi embrio dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak tipe kelapa mutan seperti kelapa Kopyor di Indonesia, kelapa Makapuno di Filipina dan kelapa Dikiri di Sri Lanka.

## METODE TRANSPLANTASI EMBRIO KELAPA

Buah kelapa yang akan digunakan dalam transplantasi embrio harus diseleksi, yaitu buah yang matang umur 11 bulan mempunyai *germpore* yang sehat dan tidak cacat. Apabila menggunakan buah dengan *germpore* yang cacat akan menghasilkan bibit yang terkontaminasi dan bibit tersebut mati sebelum menghasilkan akar. *Surrogate nut* harus mempunyai endosperm yang tebal sehingga embrio yang ditransplantasi dapat kontak langsung dengan jaringan endosperm. Oleh karena itu, kelapa Dalam lebih baik digunakan sebagai *surrogate nut* dari pada kelapa Genjah (Samosir dan Adkins, 2004). Untuk menutup celah antara embrio yang ditransplantasi dengan endosperm dapat digunakan media Y3 semi solid.

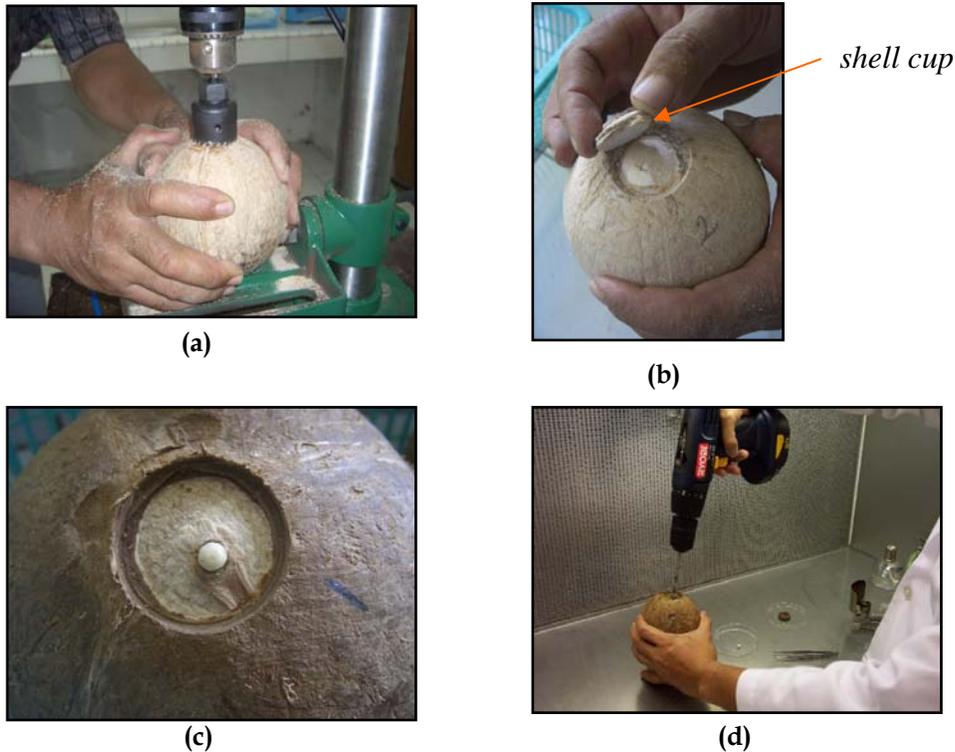
Buah yang mutunya kurang baik mempunyai pengaruh yang nyata terhadap kegagalan embrio yang ditransplantasi bertumbuh menjadi bibit. Selain itu, daya tumbuh embrio yang ditransplantasi ke *surrogate nut* tersebut rendah, seperti halnya penelitian di Australia yang menggunakan buah kelapa yang dijual di supermarket.

Tahapan transplantasi embrio kelapa meliputi:

1. Pengambilan sebagian tempurung (*shell cup*) yang berada di atas *germpore* (salah satu mata pada buah kelapa tempat keluarnya kecambah).

Untuk mempermudah penanaman embrio pada *surrogate nut*, sebagian tempurung yang berada di atas *germpore* (*shell cup*) dikeluarkan menggunakan bor

(Gambar 1a). *Shell cup* disterilisasi secara basah dalam autoclave. Serbuk gergaji yang terakumulasi pada sekitar jaringan testa yang tidak tertutup dengan *shell cup* ini disterilisasi permukaan dengan etanol 70% kemudian dicuci dengan air steril. Embrio dikeluarkan dari *surrogate nut* menggunakan mata bor kecil steril (Gambar 1d).



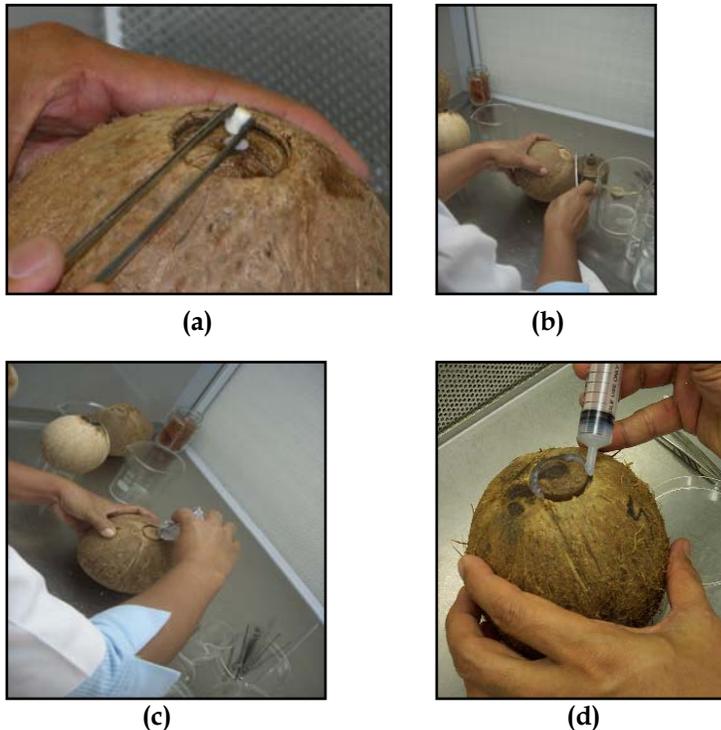
Gambar 1. a. Pengambilan *shell nut* dari *surrogate nut* menggunakan bor.  
 b. *Shell cup* yang telah lepas dari *surrogate nut*.  
 c. Embrio dari *surrogate nut* yang akan dikeluarkan dan diganti dengan embrio dari *donor nut*. Tempat embrio ini disebut *germpore* (Balitka, 2005).  
 d. Pengambilan embrio dari *surrogate nut* menggunakan bor yang kecil dalam LAF (Samosir & Adkins, 2004)

## 2. Persiapan embrio dari *donor nut*.

Persiapan embrio dilakukan menggunakan teknik kultur embrio, yaitu *donor nut* dibelah kemudian diambil silinder endosperm yang berisi embrio dengan *cork borer*. Embrio dikeluarkan dari silinder endosperm, disterilisasi menggunakan sun klin 1% selama 5 menit kemudian dibilas dengan aquades steril.

### 3. Transplantasi embrio

Sebelum transplantasi, *germpore* pada *surrogate nut* dibuat lobang tempat embrio yang akan ditransplantasi menggunakan mata bor yang kecil (Gambar 1d). Embrio dari *donor nut* ditransplantasi ke *surrogate nut* (Gambar 2a dan b), dan celah yang ada diantara embrio dan endosperm ditutup dengan media Y3 semi solid (2c). Selanjutnya ditutup dengan *shell cup* yang telah disterilkan menggunakan perekat silikon (Gambar 2d) . Selama semalam *surrogate nut* ini dibiarkan dalam posisi tegak (Gambar 3a).

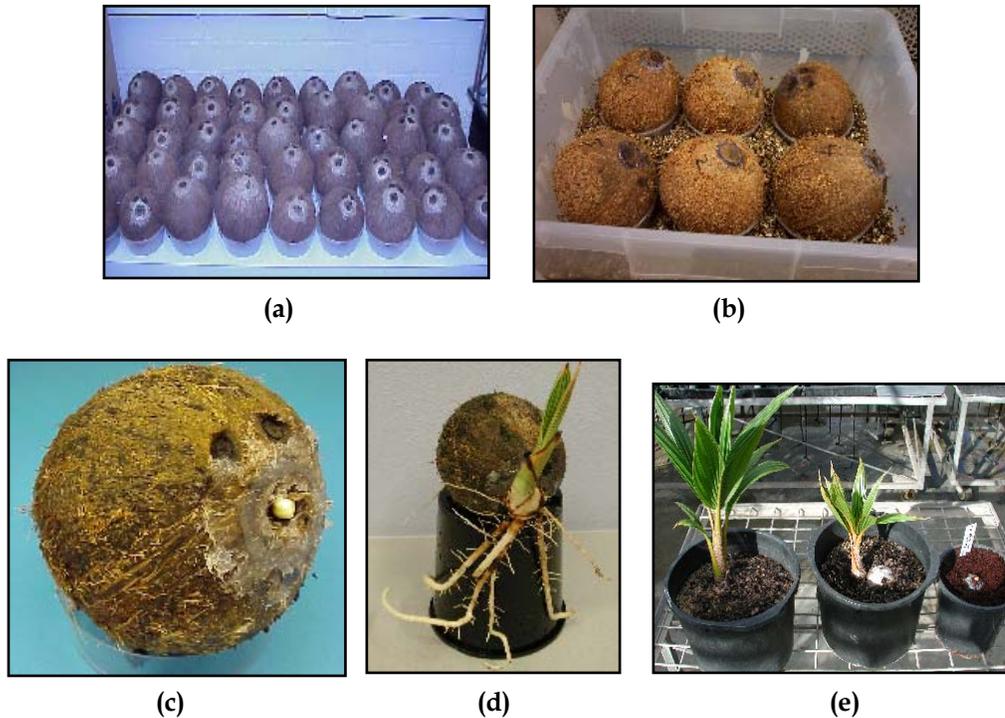


Gambar 2. a. Embrio dari *donor nut* siap ditransplantasi pada *surrogate nut* (Samosir dan Adkins, 2004)  
b. Transplantasi embrio pada *surrogate nut*.  
c. Penutupan celah antara embrio dan endosperm dari *surrogate nut* dengan media Y3 *semi solid* .  
d. Penempatan kembali *shell nut* pada posisi semula dengan perekat silikon (Samosir dan Adkins, 2004)

Pengambilan embrio dari *surrogate nut*, persiapan embrio dari *donor nut*, transplantasi embrio dari *donor nut* ke *surrogate nut* dan penutupan kembali *surrogate nut* dengan *shell cup* dilakukan dalam keadaan steril di *Laminar Air Flow* (LAF).

*Surrogate nut* yang telah ditrasplantasi dengan embrio dari donor nut disemprot dengan fungisida 2 g/l dan diletakkan dalam wadah yang berisi vermiculate, atau debu sabut sebagai media (Gambar 3b) . Kelembaban media dipertahankan sehingga *surrogate nut* tidak mengalami cekaman air yang mengakibatkan retaknya buah kelapa tersebut.

Hasil penelitian dari the School of Land and Food Science, Universitas Queensland, Australia menunjukkan bahwa embrio yang ditransplantasi telah berkecambah dan tumbuh menjadi bibit (Gambar 3c, d dan e).



Gambar 3. a. *Surrogate nut* yang telah ditransplantasi dengan embrio dari *donor nut* dibiarkan semalam dalam posisi tegak (Samosir dan Adkins, 2004) .  
 b. *Surrogate nut* ditumbukkan pada wadah yang berisi media vermiculate (Samosir dan Adkins, 2004).  
 c. *Transplanted embryo* yang telah berkecambah pada *surrogate nut* ( Samosir dan Adkins, 2004).  
 d. *Transplanted embryo* yang telah bertumbuh menjadi calon bibit (Samosir dan Adkins, 2004).  
 e. Pertumbuhan *transplanted embryo* pada *surrogate nut* mulai dari kecambah hingga bibit di green house. ( Samosir dan Adkins, 2004).

## PEMELIHARAAN BIBIT HASIL TRANSPLANTASI EMBRIO

Setelah berkecambah, *surrogate nut* dipindah ke dalam pot yang berisi campuran tanah dan kompos hingga menjadi bibit dan selanjutnya dipindah ke dalam pot yang lebih besar (Gambar 3e), pada saat ini diperlukan pemeliharaan yang lebih serius. Buah yang tidak terbungkus dengan sabut membutuhkan pemberian air yang rutin untuk mempertahankan kelembabannya sehingga bibit tidak mengalami cekaman air. Oleh karena itu, bibit akan bertumbuh baik dan tempurung tidak mudah retak.

Sebagai media tumbuh *surrogate nut* dianjurkan menggunakan bahan yang mempunyai kapasitas menahan air yang tinggi, antara lain seperti debu sabut dan vermiculate. Apabila menggunakan media yang mempunyai kapasitas menahan air yang rendah, seperti pasir *surrogate nut* mudah retak karena mengalami dehidrasi (Gambar 3c).

Pada bibit yang berkecambah secara alami tempurungnya tidak mudah retak karena buah kelapa terbungkus dengan sabut. Sabut berfungsi melindungi benih kelapa dari pengaruh buruk lingkungan, terutama suhu dan kelembaban.

## PENUTUP

1. Transplantasi embrio mempunyai kemungkinan untuk dapat digunakan dalam kegiatan koleksi plasma nutfah kelapa nasional maupun internasional sebagai teknik alternatif dari kultur embrio kelapa.
2. Transplantasi embrio dapat dimanfaatkan untuk perbanyak kelapa kopyor.
3. Buah kelapa yang digunakan dalam transplantasi embrio adalah buah kelapa matang berumur 11 bulan, dan *germporenya* tidak cacat.
4. Transplantasi embrio dilakukan pada tipe kelapa yang sama, yaitu kelapa Dalam dengan kelapa Dalam.
5. Media tumbuh dari *surrogate nut* dianjurkan menggunakan bahan yang mempunyai kapasitas menahan air yang tinggi, antara lain debu sabut dan vermiculate.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ashburner, G.R., W.K. Thompson, and M.G. Faure 1993. ACIAR technical REPORT 36.
- Ashburner, G.R. and W.K. Thompson. 1993. Coconut embryo culture for internasional transfer of germplasm. Proceedings of the International Symposium on Coconut Research and Development II. Kasaragod, India.
- Ashburner, G.R., M.G. Faure, P.R. Franz, D.R. Tomplinsin, P. Pulo, J.M. Burch and W.K. Thompson. 1994. Coconut embryo culture for remote locations. *In*: Ashburner, G.R and M.G. Faure (eds) Termination report: ACIAR Project No. 9025 Coconut improvement (pp25-28). Institute for Horticultural Development. Victoria, Australia.
- De Mason, D.A., D. Widney and J.I. Stillman. 1992. *In vitro* and transplantation experiments with germination of date embryos. Canadian Journal of Botany
- Engelmann, F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm- a review, *Euphytica* 57:227-243.
- Engelmann, F. and P. Batugal. 2002. Background on the development and implementation of the coconut embryo *in vitro* culture project. *In*: Engelmann, F., P. Batugal and J.T. Olivier (eds). Coconut embryo *in vitro* culture part II. IPGRI-APO, Serdang. 1-4.

- Foale, M.A. 1993. The effect of exposing the germ pore on germination of coconut. *In: Nair, M.K., H.H. Khan, P. Gopaldasundaram and E.V.V.B (eds). Advances in coconut research and development. Oxford & IBH, New Delhi. 247-252.*
- Hocher, V., J.L. Verdeil, A. Rival and S. Hamon. 1994. Application of *in vitro* techniques to the conservation and propagation of coconut palms. *In: Oropeza, C., M. Noirot, J.L. Verdeil, G.R. Ashburner, R. Cardena and J.M. Santamaria (eds) 1995. Current Advances in Coconut Biotechnology, Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture.*
- Mashud, N. 2002. Increasing the efficiency of embryo culture technology to promote coconut germplasm collecting, conservation and exchange in Indonesia. *Coconut Embryo In Vitro Culture: Part II.: 80-88.*
- \_\_\_\_\_, N. Lumentut dan V.K. Masing. 2004. Perbanyak kelapa Kenari dan Kopyor melalui kultur embrio. Monograf Agronomi Kelapa : 16-25 . ISBN:979-98976-0-9. badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan alma Lain. Manado.
- \_\_\_\_\_, J. Kumaunang, M. Tulualo, V. Masing, J. Matana, dan E. Manaroinson. 2005. Perbaiki teknik *ex vitro* kultur embrio kelapa kopyor. Laporan Akhir 2005.
- \_\_\_\_\_. 1997. PCA's embryo technique in the mass production of Makapuno coconuts. *In: Batugal, P.A and F Engelmann (eds). 1998. Coconut Embryo In Vitro Culture. Proceedings of the first workshop on Embryo Culture 27-31 October 1997. Banao, Guinobatan, Albay, Philippines.*
- Rillo, E.P and M.B.F. Paloma. 1991. Storage and transport of zygotic embryos of *Cocos nucifera* L. for *in vitro* culture. *FAO IPBGR Plant Genetic Resources Newsletter 86:1-4.*
- Samosir, Y and S. Adkins. 2004. Embryo transplantation and *ex vitro* germination for germplasm exchange and the production of high value, endosperm mutant coconut. *In: Samosir, Y and S. Adkins (eds). Coconut tissue culture for clonal propagation and safe germplasm exchange. ACIAR Annual Report No. CS 1998/061. 89-98. School of Land and Food Science. The University of Queensland, Brisbane.*
- Tahardi, J. S. 1997. Kelapa kopyor sebagai komoditas alternatif agribisnis. *Warta Puslit. Biotek. Perkebunan. III(1):16-21.*