

157369  
4000008943

HADIAH



**REGENERASI EMBRIO KELAPA SAWIT  
DARIPADA KALUS**

**RUDIMAH BINTI AHMADI**

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI  
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH  
SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN**

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**APRIL 2006**

PERPUSTAKAAN UMS



1400008943



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PUMS99:1

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

REGENERASI EMBRIO KELAPA SAWIT DARIPADA KALYS

SARJANA MUDA DENGAN KEPUJIAN - SAINS (BIOTEKNOLOGI)

RUDIMAH BINTI AHMADI  
(HURUF BESAR)

SESI PENGAJIAN: 2003 - 2006

membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.

Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.

Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.

Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh

  
DATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

etap: P.O. Box 1227  
BEAUFORT, SABAH

DR. ZALEHA ABD. AZIZ

Nama Penyelia

06/04/06

Tarikh: \_\_\_\_\_

N:- \*Potong yang tidak berkenaan.

\*\*Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa /organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

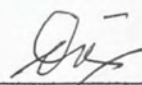
@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



## PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

26 April 2006



---

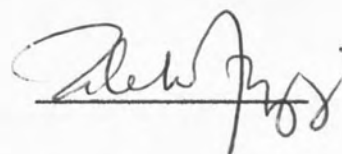
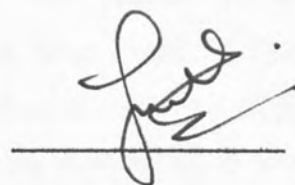
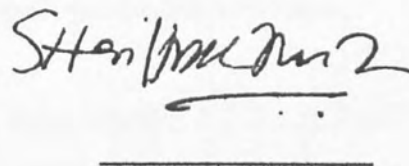
RUDIMAH BINTI AHMADI

HS2003-2781



**DIPERAKUKAN OLEH**

Tandatangan

**1. PENYELIA****(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)****2. PEMERIKSA 1****(DR. JUALANG AZLAN GANSAU)****3. DEKAN****(PROF. MADYA DR. SHARIF A.K. OMANG)**

## PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim..Assalamualaikum w.b.t. Bersyukur saya ke hadrat Ilahi di atas limpah dan kurnia-Nya, akhirnya dapat juga saya menyiapkan laporan projek tahun akhir ini. Pertama sekali, jutaan terima kasih diucapkan kepada penyelia projek saya, Dr. Zaleha Abd. Aziz di atas segala idea, sokongan dan bimbingan yang diberikan sepanjang saya menjalankan projek ini. Tanpa bantuan daripada beliau, tidaklah laporan ini dapat disiapkan dengan lengkap. Hanya Tuhan saja yang dapat membalas jasa beliau.

Tidak lupa diucapkan terima kasih kepada Syarikat Borneo Samudera kerana sudi mengorbankan kelapa sawit untuk digunakan dalam kajian ini. Buat pelajar Master, terutamanya Roseline Baun Ajang, Koo Geck Chin dan Zhelum, terima kasih di atas segala bantuan dan ilmu yang diturunkan sepanjang saya menjalankan kajian ini. Juga buat semua pembantu makmal Bioteknologi yang memberi peluang saya menggunakan semua alat radas dan bahan-bahan yang diperlukan, terima kasih yang tidak terhingga.

Ucapan terima kasih juga ditujukan buat kedua ibu bapa, Ahmadi Ali dan Rubiah Hj. Mutra, dan seluruh ahli keluarga yang sentiasa menyokong dan memberi perangsang agar saya tidak mudah putus asa dalam menghadapi pelbagai dugaan, terutamanya sepanjang kajian ini dijalankan. Doa restu dan keprihatinan dari semua amat saya hargai.

Seterusnya buat Siti Fatimah dan Kuni Masruhati yang sama-sama berjuang dalam kajian kelapa sawit, juga semua teman-teman, dan semua pihak yang sentiasa menyokong dan memberi bantuan, sama ada secara langsung ataupun tidak, jasa anda semua amat saya hargai dan akan dikenang sehingga ke akhir hayat. Akhir kata, terima kasih atas segala-galanya, dan semoga usaha kita semua akan direstui.



## ABSTRAK

Satu sistem regenerasi *in vitro* yang cekap untuk kelapa sawit adalah diperlukan untuk proses transformasi tanaman tersebut. Justeru, kajian ini dijalankan untuk membangunkan satu sistem regenerasi kelapa sawit. Kalus yang diaruhkan daripada embrio tidak matang kelapa sawit digunakan sebagai eksplan untuk menghasilkan embrio somatik. Media MS dengan kombinasi kepekatan hormon 2,4-D sebanyak  $2\text{mg l}^{-1}$  dan NAA sebanyak  $1\text{mg l}^{-1}$  telah digunakan untuk mengaruh pertumbuhan kalus. Seterusnya, embrio somatik diaruhkan dengan pengkulturan kalus pada media MS dengan 24 kombinasi 2,4-D dan NAA yang berbeza. Kepekatan hormon 2,4-D adalah ditetapkan pada  $0\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.5\text{mg l}^{-1}$ ,  $1.0\text{mg l}^{-1}$  dan  $2\text{mg l}^{-1}$ . Hormon NAA pula ditetapkan pada  $0\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.2\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.4\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.6\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.8\text{mg l}^{-1}$  dan  $1.0\text{mg l}^{-1}$ . Walau bagaimanapun, kalus tidak berjaya diaruh pada media pengaruh kalus. Kalus bagaimanapun berjaya diaruhkan pada media MS dengan kombinasi kepekatan hormon 2,4-D dan NAA yang diturunkan. Kombinasi  $2\text{mg l}^{-1}$  2,4-D dan  $0.4\text{mg l}^{-1}$  NAA merupakan kombinasi yang dapat mengaruh kalus pada kadar yang paling tinggi. Namun begitu, tiada pembentukan embrio somatik dapat diperhatikan sepanjang kajian.



## ABSTRACT

An efficient *in vitro* regeneration system for oil palm is a prerequisite for transformation work of the crop. This work was carried out to develop a regeneration system for oil palm. Calli were induced from immature embryos on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with  $2\text{mg l}^{-1}$  2,4-D and  $1\text{mg l}^{-1}$  NAA. For induction of somatic embryos, the calli were cultured on MS media containing 24 different combinations of 2,4-D and NAA. The concentration of 2,4-D were  $0\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.5\text{mg l}^{-1}$ ,  $1.0\text{mg l}^{-1}$  dan  $2\text{mg l}^{-1}$ . While the concentration of NAA were  $0\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.2\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.4\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.6\text{mg l}^{-1}$ ,  $0.8\text{mg l}^{-1}$  dan  $1.0\text{mg l}^{-1}$ . However, no callus was successfully induced on the callus induction medium. Only when explants were transferred on MS medium containing 2,4-D at  $2\text{mg l}^{-1}$  and NAA at  $0.4\text{mg l}^{-1}$  calli were induced on embryos. No formation of somatic embryos was observed throughout this study.



## KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	i
PENGESAHAN	ii
PENGHARGAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
SENARAI KANDUNGAN	vi
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI FOTO	x
SENARAI SIMBOL, UNIT, SINGKATAN, ISTILAH & RUMUS	xi
<b>BAB 1        PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2        ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	<b>4</b>
2.1    Kelapa Sawit	4
2.2    Tisu Kultur	6
2.3    Somatik Embriogenesis	8
2.4    Faktor-Faktor Mempengaruhi Somatik Embriogenesis	8
2.4.1    Sumber eksplan	9
2.4.2    Media	10
2.4.3    Sumber karbon	11
2.4.4    Hormon	12





2.4.5	Aditif (bahan tambahan)	12
2.4.6	Keadaan kultur	13
<b>BAB 3</b>	<b>BAHAN DAN KAEDAH</b>	<b>15</b>
3.1	Penyediaan Sampel Tumbuhan	15
3.2	Penyediaan Larutan Stok MS (Murashige dan Skoog, 1962)	15
3.2.1	Penyediaan larutan stok makronutrien (10X)	16
3.2.2	Penyediaan larutan stok mikronutrien (100X)	17
3.2.3	Penyediaan larutan stok vitamin (100X)	17
3.3	Penyediaan Larutan Stok Hormon Auksin (2,4-D dan NAA)	18
3.4	Penyediaan Media Untuk Regenerasi	19
3.4.1	Penyediaan 1L media MS untuk pertumbuhan kalus	19
3.4.2	Penyediaan 1L media MS untuk regenerasi embrio	20
3.5	Pensterilan Kernel Kelapa Sawit	22
3.6	Pengeluaran Embrio Daripada Kernel Kelapa Sawit	22
3.7	Pengkulturan Kalus Eksplan Pada Media Regenerasi	23
3.8	Data analisis	23
<b>BAB 4</b>	<b>KEPUTUSAN</b>	<b>24</b>
4.1	Pertumbuhan Kalus	24
4.2	Regenerasi Embrio	27
<b>BAB 5</b>	<b>PERBINCANGAN</b>	<b>32</b>
5.1	Pembentukan Kalus	32
5.2	Regenerasi Embrio	35
5.3	Masalah Yang Dihadapi	36



5.4	Cadangan	38
<b>BAB 6</b>	<b>KESIMPULAN</b>	<b>39</b>
	RUJUKAN	40
	LAMPIRAN	45



**SENARAI JADUAL**

No.	Jadual	Muka Surat
3.1	Komposisi larutan stok makronutrien MS (10X)	16
3.2	Komposisi larutan stok mikronutrien MS (100X)	17
3.3	Komposisi larutan stok vitamin MS (100X)	18
3.4	Komposisi bagi media untuk pertumbuhan kalus	20
3.5	Kombinasi kepekatan 2,4-D dan NAA	21
4.1	Min dan sisihan piawai pembentukan kalus pada media MS dengan kepekatan hormon yang berbeza	26



## SENARAI FOTO

No.	Foto	Muka Surat
2.1	Bahagian-bahagian dalam buah kelapa sawit	5
4.1	Perkembangan embrio pada media pengaruh kalus yang mengandungi $2\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $1\text{mg l}^{-1}$ NAA, seterusnya dipindahkan pada media MS dengan kombinasi $2.0\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $0.4\text{mg l}^{-1}$ NAA.	28
4.2	Perkembangan embrio pada media pengaruh kalus yang mengandungi $2\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $1\text{mg l}^{-1}$ NAA, seterusnya dipindahkan pada media MS dengan kombinasi $0.5\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $0.6\text{mg l}^{-1}$ NAA.	29
4.3	Perkembangan embrio pada media pengaruh kalus yang mengandungi $2\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $1\text{mg l}^{-1}$ NAA, seterusnya dipindahkan pada media MS dengan kombinasi $1.0\text{mg l}^{-1}$ 2,4-D dan $0.8\text{mg l}^{-1}$ NAA.	30



**SENARAI SIMBOL, UNIT, SINGKATAN, ISTILAH & RUMUS**

m	meter
kg	kilogram
g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	gram per liter
ml	mililiter
L	liter
v/v	isipadu per isipadu
mgml <sup>-1</sup>	miligram per mililiter
mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	miligram per liter
M	molar
g	gram



## BAB 1

### PENDAHULUAN

Kelapa sawit termasuk dalam genus *Elaeis* dan subfamili *Cocoideae*, dipercayai berasal daripada Afrika Barat. Ia merupakan salah satu daripada 240 genera dalam famili *Arecaceae*. Kelapa sawit mula dikomersialkan di Malaysia pada tahun 1917. Namun begitu, pergerakan kemajuan kelapa sawit adalah lambat dan terhenti seketika ketika Perang Dunia Kedua meletus pada tahun 1940. Pada tahun 1960, penanaman sawit mula berkembang semula. Perkembangan penanaman kelapa sawit memberi impak kepada peningkatan pengeluaran hasil kelapa sawit. Menjelang tahun 2000, Malaysia mempunyai ladang kelapa sawit seluas 3.2 juta hektar dan mampu menghasilkan lebih kurang 9.8 juta tan kelapa sawit.

Sebahagian besar daripada tanaman kelapa sawit masa kini ialah terdiri daripada kacukan *tenera*. *Tenera* mempunyai endokarp yang nipis dan keras. Kacukan diperolehi daripada percantuman baka kelapa sawit jenis *dura* dan *pisifera*. *Dura* mempunyai endokarp yang tebal dan keras, manakala *pisifera* biasanya tidak mempunyai endokarp (Wong *et al.*, 1999).



Kelapa sawit memberi sumbangan yang sangat besar kepada peningkatan ekonomi negara Malaysia. Kelapa sawit adalah salah satu komoditi pertanian utama bagi negara Malaysia. Selain penghasilan minyak kelapa sawit yang tinggi, pengeluaran produk sampingan juga adalah tinggi. Industri makanan berasaskan minyak sawit di Malaysia telah mengalami perkembangan pesat sejak tiga dekad yang lalu. Dari segi produktiviti, purata penghasilan minyak sawit adalah 3.75 tan/hektar/tahun dan 25 peratus pada tahun 2003.

Kultur tisu ialah kaedah penghasilan anak pokok lengkap di dalam tabung uji dengan menggunakan bahagian pokok seperti daun, akar ataupun embrio yang dipanggil eksplan. Eksplan tadi akan dirangsang menggunakan media dan hormon yang tertentu untuk membentuk kalus. Kalus seterusnya akan menghasilkan kalus embriogenik, embrio, poliembriogenik, daun, dan akhirnya akar secara berperingkat, satu demi satu. Pada setiap peringkat perubahan itu, jenis hormon dan kepekatannya akan diubah bersesuaian dengan bahagian pokok yang akan dihasilkan. Semua proses ini dijalankan dalam keadaan bebas kuman iaitu steril (Kyte dan Kleyn, 1996).

Antara kebaikan tisu kultur dalam kelapa sawit adalah proses ini membenarkan penggandaan yang cepat dengan sifat yang dikehendaki. Ini dapat dibuktikan dengan pembentukan buah yang berkualiti dari segi penghasilan minyak dan komposisinya. Sementara itu, salah satu kekurangan dalam proses tisu kultur kelapa sawit adalah prosesnya yang lebih susah dan kurang efisien jika dibandingkan dengan tumbuhan monokotiledon yang lain. Ini disebabkan oleh pertumbuhannya yang lambat dan tahap



regenerasinya yang rendah. Selain daripada perkembangan embrio kelapa sawit yang lambat, terdapat juga sedikit perubahan genotip yang menyebabkan keabnormalan pada klon kelapa sawit (Wong *et al.*, 1999).

Program penyelidikan berjaya meningkatkan hasil minyak sawit berlipat kali ganda berbanding hasil daripada pokok liar di Afrika. Sungguhpun wujud progeneri dan pokok individu dengan hasil minyak melebihi 12 tan sehektar setahun, namun masih wujud ruang yang luas untuk mencapai potensi hasil maksimum 18.2 tan sehektar setahun. Aplikasi teknologi moden dalam bioteknologi untuk meningkatkan pengeluaran sesuatu tanaman dipercayai satu perkara yang relevan dan juga realistik. Ini dapat dibuktikan melalui proses tisu kultur kelapa sawit yang semakin membangun. Untuk membolehkan teknik *in vitro* diaplikasikan dalam program pembiakbakaan kelapa sawit, satu sistem regenerasi yang cekap tanpa menyebabkan ketidaknormalan kelapa sawit berlaku perlu diadakan (Zamzuri *et al.*, 1999). Seterusnya, kelapa sawit yang dihasilkan dalam regenerasi *in vitro* akan dapat digunakan bagi tujuan kajian yang lain, contohnya transformasi dan kriopengawetan. Justeru, dalam projek ini, kajian akan dibuat untuk melihat pengaruh hormon terhadap regenerasi embrio kelapa sawit daripada kalus. Proses regenerasi yang dipilih pula ialah regenerasi melalui somatik embriogenesis.

Objektif kajian ini dijalankan adalah untuk mengkaji kesan perbezaan kepekatan hormon auksin iaitu 2,4-D dan NAA terhadap regenerasi embrio daripada kalus kelapa sawit.





## BAB 2

### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 Kelapa Sawit

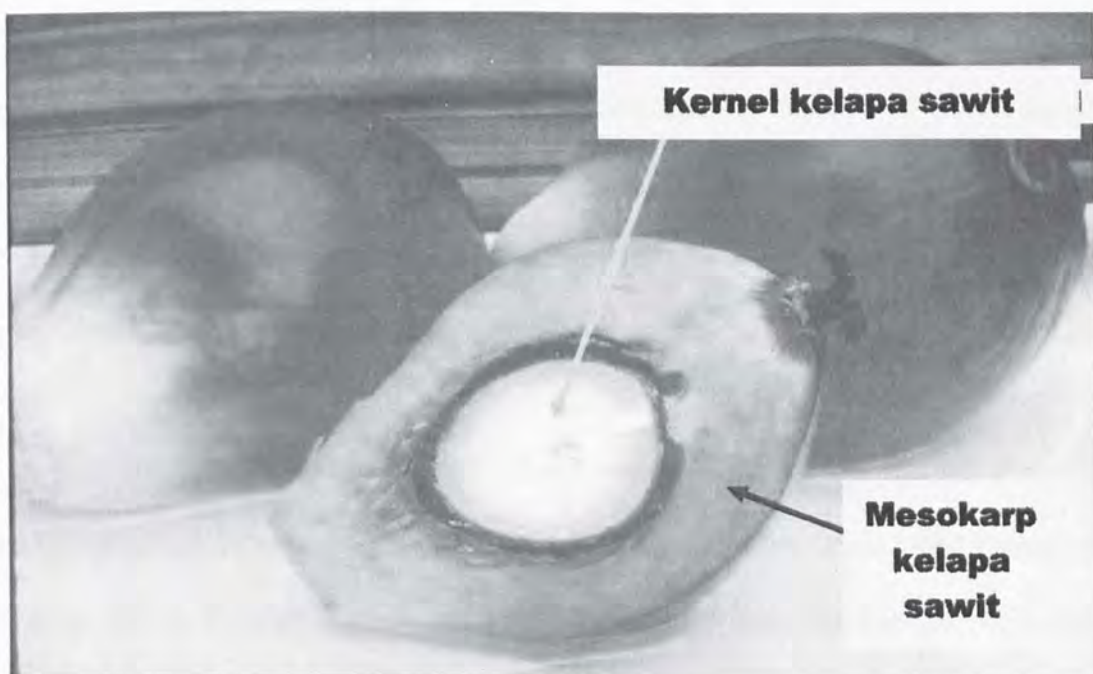
Kelapa sawit merupakan tumbuhan pohon yang berasal daripada famili Aracaceae. Terdapat dua spesis sawit, iaitu *Elaeis oleifera* dan *Elaeis guineensis*. Kelapa sawit termasuk dalam spesis *E. guineensis* (Jones dan Hughes, 1989). Kelapa sawit pertama sekali dijumpai di Guinea, Afrika Barat oleh Nicholas Jacquin pada tahun 1763, lalu dinamakan *E. guineensis* Jacq (Corley *et al.*, 1976).

Kelapa sawit ialah sejenis tumbuhan monokotiledon. Tumbuhan ini boleh membesar sehingga mencapai tinggi 15 meter dan mempunyai jangka hayat sehingga 100 tahun. Kelapa sawit mampu menghasilkan buah yang banyak, dalam lingkungan 10 hingga 40 kilogram setandan. Setiap buah mempunyai bentuk sfera, bujur ataupun memanjang. Kebiasaannya buah kelapa sawit berwarna ungu gelap, bertukar menjadi kehitaman sebelum masak, dan seterusnya apabila masak warnanya menjadi jingga kemerahan. Produktiviti penghasilan buah sawit adalah tinggi sewaktu pokok berumur



dalam lingkungan 20 hingga 30 tahun. Malaysia merupakan pengeluar terbesar minyak sawit di dunia (Zamzuri *et al.*, 1999).

Kelapa sawit merupakan sumber minyak makan yang terpenting di dunia. Dua jenis minyak boleh didapati daripada buah kelapa sawit, iaitu daripada kernel kelapa sawit dan daripada mesokarp kelapa sawit. Ini menjadikan kelapa sawit sebagai tanaman yang sangat berharga bagi rakyat Malaysia. Satu hektar kelapa yang ditanam dalam keadaan yang bersesuaian mampu menghasilkan sehingga 4.5 tan minyak setahun, dengan 0.5 tan minyak dihasilkan daripada kernel manakala 4.0 tan lagi dihasilkan daripada mesokarp. Bahagian kernel dan mesokarp kelapa sawit adalah seperti yang ditunjukkan dalam Foto 2.1.



**Foto 2.1** Bahagian-bahagian dalam buah kelapa sawit (MPOPC, 2004)

Kelapa sawit mengandungi nutrien yang diperlukan bagi keperluan tenaga harian. Minyak sawit merupakan salah satu sumber beta karotena dan vitamin E. Kajian telah dijalankan dan didapati bahawa isomer bagi vitamin E iaitu tokoferol dan tokotrienol yang dijumpai di dalam kelapa sawit adalah antioksidan. Antioksidan ini boleh mengurangkan risiko penyakit jantung dan sesetengah jenis kanser. Selain itu, kelapa sawit juga dapat dipelbagaikan kegunaannya. Antaranya ialah sebagai bahan asas dalam pembuatan aiskrim, penghasilan Pengganti Lemak Koko (CBR) dalam pembuatan konfeksi, penghasilan krim, serbuk santan, serta sosej dan burger (Zamzuri *et al.*, 1999).

## 2.2 Tisu Kultur

Teknologi tisu kultur adalah berasaskan kepada teori totipotensi, iaitu keupayaan satu sel untuk berkembang menjadi satu organisma lengkap. Komponen utama dalam teknologi tisu kultur termasuklah pemilihan eksplan, perkembangan eksplan di dalam medium secara *in vitro*, penyediaan keadaan kultur yang sesuai serta pemindahan planlet daripada persekitaran *in vitro* kepada persekitaran semulajadi. Protokol tisu kultur berbeza bagi setiap spesis tumbuhan, begitu juga dengan spesis yang sama pada variasi yang berlainan.

Pertumbuhan kelapa sawit mengambil masa yang panjang. Hal ini disebabkan oleh faktor tertentu, contohnya kitaran spesis yang panjang serta tabiat hidup kelapa sawit (Tisserat, 1982). Kaedah konvensional bagi penanaman dan penghasilan benih kelapa sawit memakan masa yang lama dan benih yang dihasilkan tidak memiliki keseragaman genetik. Untuk mendapatkan genotip yang baik bagi menghasilkan baka kelapa sawit



yang baik, kelapa sawit perlu dibiakkan secara vegetatif (Zamzuri *et al.*, 1999). Namun begitu, kelapa sawit tidak berupaya menjalankan propagasi vegetatif secara konvensional (Kanchanapoom dan Domyoas, 1999). Teknik tisu kultur telah berjaya digunakan untuk membiakkan spesis tumbuhan yang lain secara komersial, contohnya orkid (Pierik, 1987). Kejayaan ini mendorong organisasi kelapa sawit di dunia, contohnya PORIM untuk menggunakan teknik *in vitro* ini bagi regenerasi kelapa sawit. Terdapat 21 buah makmal di seluruh dunia yang menjalankan kajian terhadap tisu kultur kelapa sawit, dengan Malaysia memiliki makmal yang terbesar di dunia (Rajanaidu *et al.*, 1997). Pada mulanya, sebahagian kelapa sawit yang diklonkan melalui proses tisu kultur menunjukkan keabnormalan. Namun begitu, teknik tisu kultur bagi kelapa sawit telah melalui pembangunan yang berterusan selama lebih kurang 20 tahun. Hasilnya, keabnormalan pada klon kelapa sawit berjaya diminimumkan (Jones *et al.*, 1995; Rival *et al.*, 1998).

Regenerasi adalah kebolehan sel individu, protoplas atau tisu menjadi tumbuhan lengkap. Proses regenerasi dalam tisu kultur yang lebih efisien merupakan langkah pertama ke arah kemajuan dan pembangunan teknologi tisu kultur yang lebih kompleks, contohnya dalam proses transformasi genetik dan pengklonan gen (Venkatachalam *et al.*, 1999). Dalam proses tisu kultur, proses regenerasi adalah melalui dua cara iaitu organogenesis dan embriogenesis. Somatik embriogenesis merupakan teknik yang sesuai digunakan dalam regenerasi kelapa sawit. Ini disebabkan proses ini memberikan potensi penghasilan dan pembiakan kelapa sawit yang tinggi. Kebanyakan regenerasi kelapa



sawit berjaya dijalankan menggunakan kultur kalus soma (Kanchanapoom dan Domyoas, 1999).

### **2.3 Somatik Embriogenesis**

Somatik embriogenesis didefinisikan sebagai pembentukan embrio daripada sel soma. Somatik embriogenesis dikenali sebagai proses yang dapat mengekspreskan totipotensi sel tumbuhan dan merupakan satu elemen penting dalam mikropropagasi. Dalam proses somatik embriogenesis, eksplan yang dipilih akan bertindakbalas dengan media dan hormon yang dibekalkan. Sel soma akan membentuk gumpalan dan melalui fasa-fasa tertentu, iaitu fasa globular, bentuk hati, torpedo, dan seterusnya akan membentuk planlet (Kyte dan Kleyn, 1996).

### **2.4 Faktor-Faktor Mempengaruhi Somatik Embriogenesis**

Pertumbuhan yang seragam diperlukan bagi membolehkan hasil daripada proses somatik embriogenesis diaplikasikan dalam sistem yang lain. Proses regenerasi secara somatik embriogenesis ini juga perlu menunjukkan kebolehan untuk menghasilkan planlet yang menunjukkan ciri-ciri seperti tumbuhan yang ditanam secara konvensional (Venkatachalam *et al.*, 1999). Oleh itu, proses somatik embriogenesis mesti dijalankan dengan berhati-hati.



Terdapat beberapa faktor yang boleh mempengaruhi keberhasilan proses somatik embriogenesis. Antara faktor-faktor tersebut ialah sumber eksplan, media yang digunakan, sumber karbon, hormon yang dipilih, aditif (bahan tambahan), dan juga keadaan kultur.

#### 2.4.1 Sumber eksplan

Pemilihan eksplan yang sesuai adalah sangat penting untuk memastikan kejayaan somatik embriogenesis yang dijalankan. Dalam regenerasi kelapa sawit, eksplan yang berbeza dikulturkan untuk membolehkan kita memahami keperluan nutrisi dan hormon untuk kemandirian kelapa sawit di dalam pertumbuhan *in vitro*. Eksplan yang berbeza juga digunakan untuk menguji ketidakseragaman dan perbezaan di antara hasil pengklonan di tapak semaian (Jones, 1990). Kelapa sawit telah mengalami regenerasi yang lengkap daripada pelbagai jenis eksplan. Ini termasuklah embrio matang dan embrio tidak matang, meristem akar, kultur sel terampai embrio, tisu embrio, kalus yang terhasil daripada biji benih, serta akar dan pucuk (Teixeira *et al.*, 1994). Selain daripada itu, eksplan yang dipilih juga selalunya memiliki bersaiz kecil dan masih muda. Eksplan yang masih muda akan menunjukkan perkembangan yang pesat. Hoque dan Mansfield (2004) mendapati bahawa perkembangan eksplan memainkan peranan yang penting dalam mengaruh pembentukan kalus embriogenik.

Pada peringkat awal proses regenerasi kelapa sawit diperkenalkan, eksplan diambil daripada embrio, cebisan kecil daun dan segmen akar yang didapati daripada



embrio yang dikulturkan pada media tertentu. Pada akhir tahun 1970-an, akar daripada benih kelapa sawit yang dikulturkan pula digunakan untuk pengklonan. Selain itu, akar juga didapati hasil pengkulturan bunga, embrio dan daun pada media tertentu (Wooi, 1995).

Dalam kajian ini, sumber eksplan yang digunakan ialah embrio tidak matang. Eksplan ini digunakan kerana ia memberikan kurang risiko terhadap kontaminasi dan juga tidak meninggalkan kesan toksik ketika pensterilan eksplan dilakukan (Paranjothy, 1986).

#### 2.4.2 Media

Pemilihan media perlulah bersesuaian untuk memastikan keberjayaan proses somatik embriogenesis. Secara umumnya, media bagi pengkulturan tumbuhan terdiri daripada garam inorganik, vitamin, asid amino, hormon, sumber karbon, agar dan air. Pemilihan komponen media adalah pelbagai, bergantung kepada spesis tumbuhan yang hendak dikulturkan. Media yang biasanya digunakan dalam somatik embriogenesis termasuklah media Murashige dan Skoog (MS) (1962). Pada asalnya, formula media ini dicipta untuk tujuan pengkulturan tembakau. Media MS mengandungi kandungan garam inorganik yang tinggi disebabkan oleh kepekatan kalium dan nitrogen yang tinggi. Kandungan garam inorganik ini merupakan salah satu elemen yang penting untuk pertumbuhan sel (Zamzuri *et al.*, 1999). Media-media lain yang turut digunakan dalam proses somatik



embriogenesis termasuklah media Linsmaier dan Skoog (1965), media Gamborg B5 (1968), dan juga media Anderson (1980).

Pemilihan media juga amat penting dalam memastikan nutrien yang sesuai dan mencukupi dapat dibekalkan kepada eksplan yang dikulturkan. Dalam pengkulturan kelapa sawit, media yang selalunya digunakan ialah media MS. Komponen yang terdapat dalam media MS sangat mencukupi untuk mengaruh pertumbuhan kalus kelapa sawit (Paranjothy dan Rohani, 1982).

### 2.4.3 Sumber karbon

Media untuk pengkulturan tumbuhan perlu mengandungi komponen karbohidrat. Karbohidrat yang biasa digunakan ialah sukrosa. Sukrosa bertindak sebagai sumber karbon dan sumber tenaga, dan juga sebagai osmotikum. Sukrosa ialah produk tidak langsung yang dihasilkan semasa fotosintesis. Tumbuhan yang dikulturkan tidak berupaya menjalankan proses fotosintesis secara normal di dalam makmal. Oleh itu, tumbuhan tidak berupaya menghasilkan sepenuhnya sukrosa yang diperlukan. Justeru, sukrosa pada kepekatan tinggi, kebiasaannya 30g per liter dibekalkan pada media pertumbuhan (Kyte dan Kleyn, 1996). Sukrosa juga boleh digantikan dengan komponen karbohidrat yang lain seperti glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa ataupun galaktosa. Namun begitu, sumber karbon yang digunakan dalam kajian ini ialah sukrosa.





## RUJUKAN

- Anderson, W.C., 1980. Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus* and *R. Occidentalis*. *Act. Hort.* **112**, 13.
- Bajaj, Y.P.S, 1986. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 30: Trees I*. Springer-Verlag. Berlin
- Bajaj, Y.P.S., 1992. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 18: High-Tech And Micropropagation II*. Springer Verlag, New York
- Bajaj, Y.P.S, 1995. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 30: Somatic Embryogenesis And Synthetic Seed I*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Jerman
- Bhojwani, S.S. dan Razdan, M.K., 1983. *Plant Tissue Culture: Theory And Practice*. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York
- Bonga, J.M. dan Aderkas, P.V., 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Kluwer Academic Publishers. London
- Caswell, K., Leung, N. dan Chibbar, R.N., 2000. An efficient method for *in vitro* regeneration from immature inflorescence explants of Canadian wheat cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **60**, 69-73.
- Corley, R.H.V., Hardon, J.J., Woods, B.J., 1976. Oil Palm Research. *Elsevier Scientific Publ.*. Amsterdam.
- Eshragi, P., Zarghami, R. dan Mitra, M., 2005. Somatic embryogenesis in two Iranian date palm cultivars. *African Journal of Biotechnology* **4** (11), 1309-1312.



- Gamborg, O.L., Miller, R.A. dan Ojima, K., 1968. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* **50**, 151-158.
- Gandonou, C., Errabii, T., Abrini, J., Idaomar, M., Chibi, F. dan Skali, S.N., 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharum sp.*). *African Journal of Biotechnology* **4** (11), 1250-1255.
- Hartley, C.W.S., 1988. *The Oil Palm (Elaeis guineensis Jacq.)*. Ed. ke-3. Longman Group UK Limited. London
- Hoque, M.D. dan Mansfield, J.W. 2004. Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root - derived callus of indica rice genotypes. *Plant, Tissue and Organ Culture* **78** (3), 217-223
- Hussain, S.S., Husnain, T. dan Riazuddin, S., 2004. Somatic embryo germination and plant development from immature zygotic embryos in cotton. *Pakistan Journal of Biological Science* **7** (11), 1946-1949.
- Jones, L.H., 1990. Endogenous cytokinins in oil palm (*Elaeis guineensis Jacq.*) regenerated from tissue culture. *J. Plant Growth Regul.* **14**, 135-142.
- Jones, L.H. dan Hughes, W.A., 1989. Oil Palm (*Elaeis Guineensis Jacq.*). Dlm: Bajaj, Y.P.S. (pnyt.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees II*. Vol. 5. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Jerman, 176-202.
- Jones, L.H., Hanke, D.E., Eeuwens, C.J., 1995. An evolution of the role of cytokinins in the development of abnormal inflorescence in oil palms (*Elaeis guineensis Jacq.*) regenerated from tissue culture. *J. Plant Growth Regul.* **14**, 135-142.
- Kanchanapoom, K. dan Domyoas, P., 1999. The origin and development of embryoids in oil palm (*Elaeis guineensis Jacq.*) embryo culture. *Science Asia* **25**, 95-202.



- Kanchanapoom, K. dan Tinnongjig, S., 2001. Histology of embryoid development in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) cell suspension culture. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **23** (Suppl.), 643-648.
- Karun, A., Siril, E.A., Radha, E. dan Partharasathy, V.A., 2004. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of arecanut (*Areca catechu* L.). *Current Science* **86** (12), 1623-1628.
- Kumar, U., 2003. *Methods in Plant Tissue Culture*. Ed. Ke-2. Updesh Purohit. Agrobios
- Kyte, L. dan Kleyn, J., 1996. *Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation*. Ed. Ke-3. Timber Press, Inc. Amerika Syarikat
- Linsmaier, E.M. dan Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* **18**, 100-127.
- Morini, S., D'Onofrio, C., Bellocchi, G. Dan Fisichella, M., 2000. Effect of 2,4-D and light quality on callus production and differentiation from *in vitro* cultured quince leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **63**, 47-55.
- Murashige, T. dan Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* **15**, 473-497.
- Pan, M.J. dan van Staden, J., 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture. *Plant Growth Regulation* **20** (3), 155-163.
- Paranjothy, K., 1993. Tissue Culture of Palms. Dlm: Prakash, J. dan Pierik, R.L.M. (pnyt.). *Plant Biotechnology. Commercial Prospect and Problems*. New York: International Science Publisher. 73-83.



- Paranjothy, K. dan Rohani, O., 1982. *In vitro* Propagation of Oil Palm. Dlm: F. Fujiwara (pnyt.). *Proc. 5th Int. Cong. Plant Tissue Culture*, The Jap. Assoc. For Plant Tissue Culture. 747-748.
- Pierik, R.L.M., 1987. *In vitro* culture of higher plants. *Department of Horticulture Agricultural University Wageningen*. Netherlands. **16**, 139-146.
- Rajanaidu, N., Rohani, O. dan Jalani, B.S., 1997. Oil palm clones: current status and prospects for commercial production. *The Planter* **73** (853), 163-184.
- Rival, A., Bertand, L. Beulé, T., Trouslot, P. dan Lashermes, P., 1998. Suitability of RAPD analysis for the detection of somaclonal variants in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Plant Breeding* **117** (1), 73-76.
- Ruslan Abdullah, Alizah Zainal, Wee, Y.H., Leaw, C.L., Yeap, C.B., Lee, M.P., Salwa Abdullah Sirajuddin, Winnie Yap, S.P., Joseph, J.L., Siti Azmah Jusoh, Muhammad Rashdan Muad, Yeun, L.H., 2005. Immature embryo: a useful tool for oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) genetic transformation studies. *Electronic Journal of Biotechnology* **8** (1), 25-35.
- Saharan, V., Yadav, R.C., Yadav, R.N. dan Chapagain, B.P., 2004. High frequency plant regeneration from desiccated calli of indica rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology* **3** (5), 256-259.
- Tarmizi, A.H. dan Marziah, M., 1995. The influence of low temperature treatment on growth and proline accumulation in polyembryogenic cultures of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Elaeis* **7** (2), 107-117.
- Teixeira, J.B., Sondahl, M.R. dan Kirby, E.G., 1994. Somatic embryogenesis from immature inflorescences of oil palm. *Plant Cell Reports* **13** (5), 247-250



- Thavarungkul, P. dan Kanchanapoom, K., 2002. Effect of applied currents to growth in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) tissue cultures. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **24** (2), 283-291.
- Tisserat, B., 1982. Factors involved in the production of plantlets from date palm callus cultures. *Euphytica* **31**, 201-214.
- Valverde, R., Arias, O. dan Thorpe, T.A., 1987. Picloram-induced somatic embryogenesis in Pejibaye palm (*Bactris gasipies* H.B.K.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **10**, 149-156.
- Venkatachalam, P., Geetha, N., Khandewal, A., Shaila, M.S. dan Sita, Lakshmi G., 1999. Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration from mature cotyledon explants of *Arachis hypogaea* L.. *Current Science* **77** (2), 269-273
- Wang, C.T., Wei, Z.M., 2004. Embryogenesis and regeneration of green plantlets from wheat (*Triticum aestivum*) leaf base. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **77**, 149-156.
- Wooi, K.C., 1993. Oil Palm Tissue Culture – Current Practice and Constraints. Dlm: Rao, V., Henson, I.E., dan Rajanaidu, N. (pnyt.) *Proceedings of ISOPB Symposium*, 1993, PORIM Ministry of Primary Industry, Kuala Lumpur, 21-32.
- Wong, G., Tan, C.C., Soh, S.C., Chong, S.P., 1999. Clonal propagation of oil palm through tissue culture. *The Planter* **75** (878), 221-230.
- Zamzuri, I., Mohd. Arif, S., Rajanaidu, N. dan Rohani, O., 1999. Commercial feasibility of clonal oil palm planting material production. *PORIM Occasional Paper* **40**, 52.

