

BAB II

TIJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi dan Peran Kelapa dalam Kehidupan Manusia

2.1.1 Deskripsi Kelapa

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan tanaman tropis dengan kromosom $2n = 32$ dan termasuk tumbuhan monokotil dalam family *Arecaceae* dan satu satunya spesies dari genus *cocos*. Berdasarkan hasil penemuan fosil dan data molekuler, banyak pendapat mengatakan bahwa kelapa berasal dari kawasan Asia tenggara (Chan & Elevitch, 2006 ; Young S. *et al* ., 2010) dan selanjutnya menyebar ke Amerika latin , Karibia hingga ke Afrika tropis. Saat ini, tanaman kelapa telah tersebar di 200 negara di dunia (Gomes- Copeland *et al.*, 2015). Tanaman kelapa dapat tumbuh pada daerah tropis dataran rendah (≤ 700 mdpl) dengan kelembaban yang relatif tinggi, temperatur untuk pertumbuhan optimum yang tinggi (28°C), curah hujan tinggi (1000 – 2000 mm), serta lama pencahayaan matahari yang tinggi pula (2000 jam per tahun, Ohler & Magat, 2016). Kelapa dapat tumbuh dengan baik pada pH tanah sekitar 4,5 – 8,6, dengan berbagai tekstur tanah mulai dari tanah berpasir hingga tanah liat (Foale & Harries., 2009).

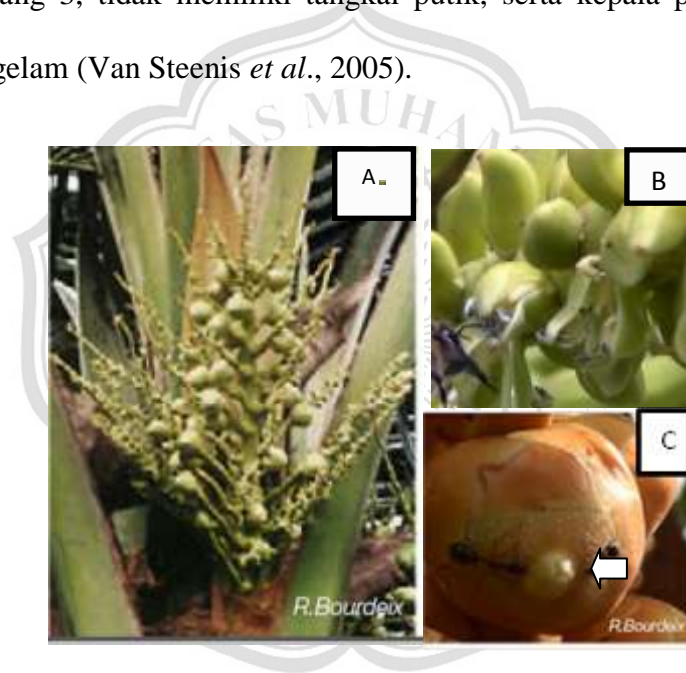
Kelapa memiliki sistem perakaran serabut dengan panjang akar dapat mencapai sekitar 6 m dan diameter rata rata 1 cm serta mampu menembus tanah sampai kedalaman sekitar 1,5 m. Jumlah akar yang dapat ditemui pada setiap batang kelapa dapat mencapai sekitar 2000 – 4000 akar (Chan & Elevitch, 2006 ; Ohler & Magat, 2016).

Batang kelapa bersifat monopodial karena memiliki satu buah meristem apikal yang tumbuh terus menerus tanpa memiliki cabang. Tinggi batang dapat mencapai lebih dari 30 m. Kelapa memiliki batang berbentuk silinder berwarna abu-abu yang berukuran besar, berdiri tegak, atau seringkali melengkung karena pengaruh angin atau sinar matahari. Pada struktur luar batang terdapat columnar halus sebagai bekas daun yang rontok (Van Steenis *et al.*, 2005 ; Ohler & Magat, 2016) Pertumbuhan tanaman kelapa paling cepat terjadi pada 5 tahun pertama, penambahan panjang batang dapat mencapai 30 – 50 cm per tahun dan pertumbuhan akan melambat setelah kelapa berusia tua (Chan & Elevitch, 2006).

Daun kelapa tersusun rapat berjejal dengan ruas batang amat pendek dan terletak pada bagian ujung batang (roset batang; Tjitrosoepomo, 2000). Panjang daun kelapa dapat mencapai 5 m, dengan panjang tangkai sekitar 75 – 150 cm. Dalam satu tangkai daun terdapat 200 sampai 250 anak daun berbentuk lanset berukuran panjang 50 – 150 cm dan lebar 1- 1,5 cm dengan ujung lancip dan keras. Daun kelapa bersifat semi-xerofit yang mampu meminimalisir masalah kekeringan selama beberapa bulan (maksimal 3 bulan; Ohler & Magat, 2016).

Kelapa termasuk tanaman berbunga majemuk (**Gambar 2.1 A**) serta mampu menghasilkan bunga jantan dan betina dalam satu tongkol (*spadix*) (Chan & Elevitch, 2006). Bunga kelapa terletak aksiler dan termasuk golongan bunga tongkol majemuk yang biasanya diselubungi oleh seludang (*spathe*) besar, tebal dan kuat sebelum mekar (Tjitrosoepomo, 2000). Setelah bunga dewasa, panjang sumbu utama tongkol (*racis*) dapat mencapai 2 m yang memiliki 40 cabang lateral (*rachillae*). Pada setiap cabang terdapat 200 – 300 bunga jantan dibagian atas dan

hanya ada beberapa (1-3) bunga betina di bagian dasar (Ohler & Magat, 2016). Bunga jantan (**Gambar 2.1 B**) berwarna kuning pucat berukuran 0,9 cm dengan daun kelopak yang kecil dan mahkota bunga yang berbentuk lanset. Setiap bunga jantan memiliki 6 benang sari serta 3 buah putik yang rudimentair. Bunga betina (**Gambar 2.1 C**) berbentuk bulat telur dengan diameter 2 – 3 cm (lebih besar dari bunga jantan). Perhiasan bunga berdaging dan menempel pada bakal buah. Bakal buah beruang 3, tidak memiliki tangkai putik, serta kepala putik berupa celah yang tenggelam (Van Steenis *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Tongkol majemuk bunga kelapa terletak aksiler, satu tongkol terdiri dari bunga jantan dan bunga betina (A) bunga jantan berwarna kuning pucat (B) Bunga betina berdaging dengan bakal buah belcelah 3 (C)

Pada tahap pertama pemekaran bunga jantan terjadi selama 16 – 22 hari, diawali dengan mekarnya bunga jantan dimulai dari bagian pangkal. Bunga betina akan mekar 22 hari setelah seludang (*spathe*) membuka dan siap menerima serbuk sari untuk menempel selama 5 – 7 hari jika tidak dibuahi maka bunga akan rontok. Bunga jantan akan merontokkan serbuk sari (*pollen*) dan akan diterima

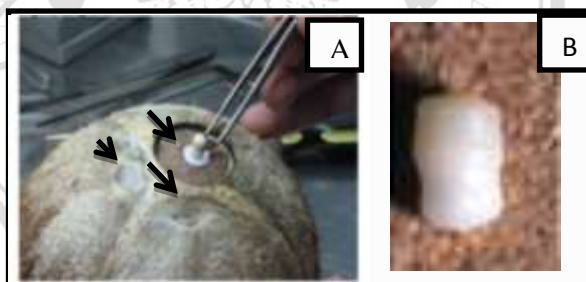
oleh bunga betina dengan bantuan angin atau hewan polinator (Thomas & Josephraj Kumar, 2013; Ohler & Magat, 2016).

Buah kelapa memiliki ukuran, warna, bentuk dan komposisi buah yang berbeda beda tergantung kultivar dan kondisi lingkungan tanaman. Buah kelapa membutuhkan waktu selama 12 bulan setelah penyerbukan untuk menjadi buah kelapa dewasa. Buah kelapa memiliki ukuran panjang 20 – 30 cm dengan berat sekitar 850 - 3700 gram (Chan & Elevitch, 2006). Buah kelapa termasuk dalam golongan buah batu karena memiliki 3 lapisan kulit yaitu kulit bagian luar (*eksokarp*) yang tipis (0,1 mm) yang mengkilap berwarna hijau saat masih muda , akan berubah warna menjadi coklat setelah dewasa dan akan berwarna abu abu saat buah kering. Daging buah (*mesokarp*) berserat tebal (4 – 8 cm), berwarna coklat muda. Dan pada kulit bagian dalam (*endokarp*) cukup tebal (3 – 6 mm), keras dan berkayu berwarna coklat tua memiliki 3 cekungan pada bagian basal (Tjitrosoepomo, 2000; Ohler & Magat, 2016).

Kelapa memiliki satu biji pada setiap buahnya. Biji berbentuk bulat dengan diameter biji kelapa sekitar 12 cm. Biji kelapa dilapisi kulit tipis berwarna coklat yang disebut testa. Di dalam testa terdapat lapisan endosperm padat yang berwarna putih dengan ketebalan sekitar 1- 2 cm dan banyak mengandung lipid (Ohler & Magat, 2016). Selain itu, pada bagian dalam biji terdapat rongga dengan diameter sekitar 120 mm. Pada awalnya, endosperm biji masih berupa cairan yang selanjutnya membentuk lapisan endosperm mulai dari bagian pinggir dan menuju ke pusat (Young *et al.*, 2009). Volume cairan sekitar 700 ml dan akan berkurang hingga 270 ml setelah endosperm terbentuk penuh (Foale & Harries, 2009).

Endosperm yang terbentuk awalnya bersifat lunak (*jelly*) dan akan semakin mengeras pada waktu tertentu (Young *et al.*, 2009)

Di dalam biji kelapa terdapat embryo yang terletak pada endosperm. Keberadaan embryo pada endosperm ditandai dengan posisi endosperm yang melipat ke dalam, pada sisi yang terdapat tiga buah mata, apabila biji dibelah. Posisi embryo juga ditandai terletak pada mata yang lunak, sedangkan dua mata yang lain telah mengeras akibat adanya lignifikasi serta tidak terdapat embryo di dalamnya (**Gambar 2.2 A**). Embryo kelapa berukuran panjang 0,5 – 1 cm dengan berat sekitar 0,1 g tergantung umur embryo dan kultivar (**Gambar 2.2 B**). Pada umumnya, di dalam satu biji kelapa hanya terdapat satu embryo kelapa. (Ohler & Magat, 2016).



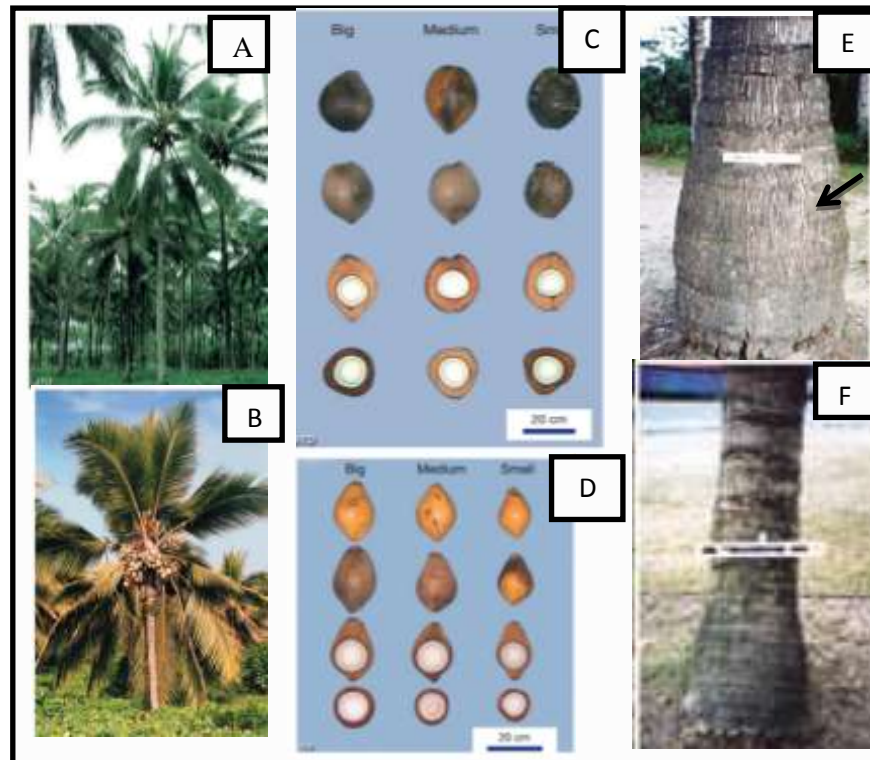
Gambar 2.2 Letak embryo kelapa ditandai oleh satu mata yang tidak terlignifikasi dari ketiga mata pada tempurung kelapa (A) (Adkins, 2008) setiap buah kelapa memiliki 1 embryo kelapa yang berukuran panjang 0,5-1 cm (B) (Foale, 2003)

Pada saat terjadi perkecambahan, embryo kelapa akan membesar dengan bagian tunas akan muncul dari tempurung kelapa, sedangkan bagian kotiledon akan membentuk haustorium. Pada sisi yang berlawanan akar primer akan muncul diikuti dengan munculnya bulu halus sebagai bakal akar adventif. Tunas kelapa

akan muncul 8 minggu setelah perkecambahan, dan 5 minggu berikutnya, daun muda baru saja muncul (Ohler & Magat, 2016).

2.1.2 Kultivar

Berdasarkan morfologinya, kelapa digolongkan menjadi 2 tipe yaitu kelapa tipe dalam (*tall*) dan kelapa tipe genjah (*dwarf*). Kelapa dalam memiliki usia yang panjang bahkan dapat mencapai 100 tahun dengan tinggi pohon dapat mencapai lebih dari 30 m (**Gambar 2.3 A**). Kelapa genjah memiliki usia yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan kelapa dalam, yaitu sekitar 60 tahun dengan tinggi pohon maksimal sekitar 20 m (**Gambar 2.3 B**; Foale & Harries, 2009). Perbedaan kedua tipe kelapa juga dapat diamati dengan mudah seperti pada kelapa dalam memiliki buah yang lebih besar (1- 2 kg ; **Gambar 2.3 C**) dengan jumlah buah yang dihasilkan setiap pohonnya dapat mencapai sekitar 60 – 80 buah. Pada kelapa genjah, buah yang dihasilkannya lebih kecil (0,4 – 1 kg; **Gambar 2.3 D**) dengan jumlah buah yang dihasilkan per pohon relatif lebih banyak (150 – 200 buah) setiap tahunnya (M Freitas Neto *et al.*, 2016). Kelapa dalam juga memiliki batang dengan pangkal yang membesar (*bole*; **Gambar 2.3 E**) sedangkan kelapa genjah memiliki batang dengan pangkal tanpa *bole* (**Gambar 2.3 F**; Foale, 2003).



Gambar 2.3 Pohon kelapa dalam (Mapanget Tall) dengan ketinggian mencapai lebih dari 30 m (A) Pohon kelapa genjah (Cameroon Red Dwarf) dengan ketinggian tidak lebih dari 20 m (B) buah kelapa dalam berukuran lebih besar (C) dibandingkan ukuran buah kelapa genjah (D)(www.cogentnetwork.com) batang kelapa dalam memiliki bole (E) sedangkan kelapa genjah tidak memiliki bole (F) (Foale, 2003).

Dalam hal perbungaan, kelapa dalam mulai menghasilkan bunga relatif lebih lama (sekitar 8 – 10 tahun) dibandingkan dengan kelapa genjah yang mampu menghasilkan bunga sekitar 4 – 5 tahun (Foale, 2003). Sistem perbungaan pada kelapa dalam juga bersifat protandrous, yaitu bunga jantan masak terlebih dahulu dibandingkan dengan bunga betina. Akibatnya, mayoritas kelapa dalam melakukan penyerbukan silang. Pada kelapa genjah, bunga betina mulai masak tidak terlalu lama setelah bunga jantan sehingga mayoritas kelapa genjah melakukan penyerbukan sendiri (Foale, 2003).

Nama kultivar kelapa diberikan mengikuti aturan standar internasional yaitu dengan menggunakan dua kata atau kelompok kata, menggunakan bahasa Inggris dan tidak lebih dari 30 huruf. Kata pertama dapat menggunakan kata tradisional yang telah dikenal, nama daerah, kota ataupun negara tempat kultivar tersebut ditemukan, ciri morfologi yang menonjol, ataupun untuk kelapa genjah dapat ditambahkan warna buah karena bersifat homozigot. Kata kedua menunjukkan kelapa dalam atau kelapa genjah. Misalnya Mapanget Tall (kelapa dalam Mapanget), termasuk kelapa tipe tinggi yang berasal dari daerah Mapanget, Sulawesi Utara. Tebu-Sweet-Husk Tall, menunjukkan kelapa dalam yang memiliki sabut manis tebu dan banyak ditemukan di Papua. Pada kelapa genjah digunakan nama seperti Nias Yellow Dwarf untuk kelapa genjah yang berasal dari Pulau Nias, Sumatera dengan buah berwarna kuning.

Pada tahun 2012, sebanyak 419 kultivar kelapa dikenal di seluruh dunia yang terdiri atas kelapa dalam sebanyak 319 kultivar dan kelapa genjah sebanyak 100 kultivar. Di antara jumlah tersebut, sekitar 25 % dari seluruh kultivar yang dikenal tersebut terdapat di Indonesia. Indonesia memiliki 105 kultivar yang terdiri atas 82 kultivar kelapa dalam dan 23 kultivar kelapa genjah (Bourdeix *et al.*, 2012). Pada saat ini diperkirakan Indonesia masih memiliki sekitar 400 kultivar baru yang belum teridentifikasi.

Salah satu daerah yang memiliki potensi tinggi tentang keanekaragaman hayati kelapa adalah daerah Kabupaten Banyumas. Kabupaten Banyumas memiliki luas areal perkebunan kelapa sekitar 18 ribu Ha dengan jumlah tegakan pohon kelapa mencapai lebih dari 1,7 juta pohon (Husein, 2014). Beberapa

kultivar kelapa tumbuh dengan baik di Banyumas termasuk dua kultivar unggulan, yaitu kelapa dalam Banyumas (Banyumas Tall) dan kelapa genjah entog (Entog green Dwarf). Meskipun kedua kultivar tersebut belum dilepas secara resmi oleh pemerintah RI, namun Kabupaten Banyumas khususnya kecamatan Cilongok dan kecamatan Ajibarang ditunjuk sebagai kebun blok penghasil tinggi sumber benih kelapa genjah entog serta Desa Keranggedang, Kecamatan Sumpiuh ditetapkan sebagai blok penghasil tinggi sumber bibit kelapa dalam Banyumas (SK dari direktorat jendral perkebunan nomor S3/ KB. 820/SK/DJ.BUN/05-1996). Adanya kultivar-kultivar kelapa tertentu yang ditemukan di Kabupaten Banyumas tersebut membutuhkan program konservasi yang intensif untuk penyelamat kultivar-kultivar di wilayah tersebut.

2.1.3 Nilai Sosio Ekonomi Kelapa

Kelapa merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat. Semua bagian dari pohon kelapa mulai dari bagian yang paling bawah yaitu akar, batang, daun, bunga hingga buah. Akar kelapa merupakan bagian tanaman kelapa yang sering dimanfaatkan di bidang farmasi sebagai anti bakteri karena memiliki berbagai macam metabolit sekunder seperti flavonoid, glikosida, tannin dan saponin (Sivakumar, 2011). Selain itu akar kelapa juga dapat dijadikan sebagai bahan obat kumur, obat cacing, obat pelancar urin (diuretik), obat penyakit rahim dan sebagai campuran dalam pembuatan pasta gigi (Sivakumar, 2011). Batang kelapa yang sudah berumur tua memiliki tekstur yang sangat keras sehingga dapat digunakan untuk bahan bangunan, maupun sebagai bahan berbagai furnitur,

hiasan atau perlatan rumah tangga yang lain karena memiliki serat yang unik (Ohler & Magat, 2016). Daun kelapa yang tua seringkali dijadikan sebagai atap rumah, tangkai pada helaian anak daun banyak digunakan untuk pembuatan sapu lidi, serta tangkai daun dapat dijadikan sebagai kayu bakar. Daun yang masih muda sering digunakan untuk berbagai keperluan adat, seperti untuk hiasan pernikahan, maupun untuk keperluan acara keagamaan seperti pada saat perayaan hari raya umat muslim ataupun umat agama hindu. Daun yang masih kuncup dan berwarna putih sering diolah menjadi masakan (Adiputra *et al.*, 2015; Ohler & Magat, 2016).

Bagian tanaman kelapa yang memiliki nilai ekonomi tinggi adalah nira. Bunga kelapa yang masih kuncup disadap untuk menghasilkan nira. Kandungan gula pada nira kelapa cukup tinggi, yaitu sekitar 15 % (Ohler & Magat, 2016), sehingga nira dapat diolah menjadi gula merah atau gula kristal (gula semut) yang bernilai tinggi. Nira dapat pula diminum langsung sebagai minuman segar dengan kandungan vitamin C dan beberapa vitamin B yang sangat baik untuk kesehatan atau dapat dibuat menjadi produk minuman fermentasi (Foale, 2003; Ohler & Magat, 2016).

Bagian kelapa yang memiliki nilai ekonomi paling tinggi adalah buahnya. Sabut kelapa merupakan bagian buah yang sering diolah sebagai bahan baku pembuatan matras maupun pengisi jok. Selain itu, serbuk kelapa sebagai hasil samping pengolahan sabut kelapa juga dapat diolah menjadi *cocopeat* yang digunakan sebagai campuran medium tanam untuk tanaman hortikultura sebagai penyimpan air (Foale & Harries., 2009).Tempurung kelapa dapat dibuat menjadi

arang aktif yang sangat penting digunakan di bidang industri sebagai pemisah biji emas dengan mineral lain dan juga dijadikan sebagai bahan pembuatan obat nyamuk bakar (Foale, 2003). Tempurung kelapa juga dapat dijadikan sebagai alternatif bahan bakar yang ramah lingkungan, dengan kadar emisi CO₂ yang rendah dan juga dapat menghemat biaya (Lechtenberg, 2012). Dengan kandungan lignoselulosa yang tinggi, tempurung kelapa bisa dijadikan sebagai bahan pembuatan plastik yang mudah terurai dan aman untuk lingkungan (Norain *et al.*, 2016). Selain itu, tempurung kelapa juga dapat dimanfaatkan sebagai hiasan rumah seperti untuk dijadikan sebagai pot tanaman (Ohler & Magat, 2016).

Air kelapa dapat dikonsumsi secara langsung sebagai minuman segar, minuman isotonik ataupun sebagai obat tradisional karena memiliki kadar gula, asam amino, vitamin dan mineral yang tinggi (Prades *et al.*, 2011). Air kelapa juga dapat diolah menjadi *nata de coco*, *wine*, ataupun *vinegar* (Foale & Harries., 2009).

Bagian buah kelapa yang paling penting adalah pada bagian daging buah (*kernel*) yang merupakan lapisan berwarna putih yang banyak mengandung lipid. Berbagai produk dihasilkan dari daging buah kelapa seperti santan kelapa yang banyak digunakan untuk penyedap berbagai masakan, kopra yang dapat diolah lebih lanjut menjadi minyak kelapa, kelapa yang dikeringkan (*desiccated coconut*), maupun diolah menjadi minyak berkualitas tinggi (*virgin coconut oil / VCO*). VCO mengandung asam laurat yang dapat berperan sebagai antimikroba dan antivirus, maupun mudah dicerna oleh tubuh dan baik dikonsumsi bagi penderita obesitas karena mengandung asam lemak rantai menengah yang tinggi (Mansor *et al.*, 2012).

2.1.4 Budidaya Kelapa dan Permasalahannya

Kelapa merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia. Perannya, sebagai salah satu sumber utama minyak nabati dalam negeri dan sebagai komoditas ekspor penyumbang devisa negara (Salim, 2014). Pada tahun 2014, Indonesia mampu menjadi produsen kelapa terbesar di dunia yaitu mencapai 19,1 juta tons (FAO, 2016). Namun, salah satu kendala dalam budidaya kelapa diantaranya yaitu luas areal perkebunan kelapa yang terus mengalami penurunan dari tahun ke tahun. Penurunan luas areal perkebunan mencapai 0,68 % setiap tahunnya (Billah, 2014). Beberapa faktor diduga menjadi penyebab menurunnya luas areal perkebunan kelapa di Indonesia seperti banyaknya serangan hama dan penyakit, adanya alih fungsi lahan dan adanya bencana alam.

Beberapa hama utama yang sering menyerang perkebunan kelapa diantaranya yaitu hama *Oryctes rhinoceros*, *sexava sp.* Hama kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*) merupakan hama yang menyerang sebagian pelepah daun yang masih muda, akibatnya tanaman yang diserang akan mengalami penurunan produksi atau bahkan mati (Hosang & Salim, 2014). Pada tahun 2014, hama ini mengakibatkan penurunan jumlah populasi kelapa hingga 60 % di Kabupaten Blitar (Kustantini, 2014). Selain itu, Hama lainnya yaitu *sexava sp.*, hama ini menyerang bagian pelepah daun tua dan juga pelepah daun muda pohon kelapa sehingga menyebabkan daun meranggas dan buah kelapa rontok (Lobalohin, 2014). Serangan yang lebih parah akan mengakibatkan kematian pohon (Darwis, 2006). Pada tahun 2004, hama *Sexava nubila* menyebabkan 13 ribu Ha perkebunan kelapa di daerah Kabupaten Sangihe dan Kabupaten Talaud mengalami rusak berat (Darwis, 2006).

Selain hama penyerang tanaman kelapa, terdapat juga beberapa penyakit yang mengancam perkebunan kelapa di Indonesia di antaranya adalah penyakit layu Kalimantan (PLK) yang disebabkan oleh *Phytoplasma*. Penyakit ini menyebabkan pelepah daun tua yang paling bawah akan layu dan mengering kemudian diikuti dengan layunya daun daun muda hingga seluruh bagian daun dan buah akan kering sehingga tanaman kelapa mati (Lolong & Matulo, 2014). Pada tahun 1997, di daerah Kalimantan Timur tercatat hampir 100 ribu pohon kelapa terserang penyakit ini, 50 ribu diantaranya mengalami kematian (Lolong & Matulo, 2014). Selain itu, penyakit layu kelapa juga menyerang perkebunan kelapa di Kotawaringin Timur sehingga lebih dari 10.000 ha perkebunan kelapa mengalami kerusakan (Novianti *et al.*, 2014). Penyakit lainnya yaitu penyakit busuk pucuk (PBP) yang disebabkan oleh cendawan *Phytopora palmivora*. Penyakit ini menyerang pucuk pohon kelapa yaitu daun daun muda pada bagian tombak akan terkulai dan berwarna kecoklatan dengan diikuti daun daun dibawahnya akibatnya pohon akan mengalami kematian (Anonim, 2009). Pada tahun 2008, tercatat lebih dari 300 ribu pohon yang tersebar di 16 kecamatan di Kabupaten Minahasa mati karena serangan penyakit busuk pucuk (Lolong, 2009).

Selain adanya ancaman hama dan penyakit, ancaman lainnya yaitu adanya alihfungsi lahan. Alihfungsi lahan perkebunan kelapa banyak terjadi seiring dengan meningkatnya jumlah populasi manusia sehingga lahan perkebunan kelapa diubah menjadi pabrik, jalan, pemukiman atau digantikan dengan tanaman lain yang memiliki nilai ekonomi yang lebih tinggi. sebagai contoh yaitu sebagian besar (62,4 %) perkebunan kelapa di Aceh telah diganti menjadi lahan pertanian

untuk tanaman yang memiliki nilai produk lebih tinggi (Ramano, 2013). Selain itu, kebun plasma nutfah kelapa di Paniki, Mapanget, Sulawesi Utara yang ditunjuk sebagai kebun plasma nutfah internasional kini dialihfungsikan menjadi sarana olahraga pacuan kuda (Novarianto, 2008).

Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan lahan perkebunan kelapa adalah adanya bencana alam. Sebagai contoh adanya bencana tsunami yang melanda kawasan Aceh mengakibatkan banyaknya perkebunan kelapa mengalami kerusakan (Prabowo, 2005). Adanya abrasi di kawasan pantai yang terjadi terus menerus menjadi ancaman berkurangnya perkebunan kelapa di Kabupaten Tegal (Safuan, 2010) selain itu badai El nino yang terjadi pada tahun 1997 di daerah batu licin Kalimantan Selatan menyebabkan kekeringan dalam jangka waktu yang cukup lama, akibatnya banyak pohon kelapa yang mati (Abdurrahman & Anny, 2003).

Masalah perkebunan kelapa lain yang harus dihadapi adalah banyaknya pohon kelapa yang tua atau rusak. Pada tahun 2010, sekitar 40 % perkebunan kelapa di Indonesia berusia tua atau rusak (Anonim, 2010). Kulon progo merupakan salah satu daerah yang memiliki pohon berumur tua cukup banyak yaitu sekitar 2 juta pohon memerlukan tidakan peremajaan (Sekarini, 2016)

2.2 Konservasi Kelapa dan Permasalahannya

Sebagai dampak dari penurunan luas areal perkebunan kelapa dan mayoritas perkebunan kelapa yang ada telah berusia tua atau bahkan rusak adalah hilangnya plasma nutfah kelapa. Menurut Novarianto (2008), Indonesia masih memiliki sekitar 400 kultivar kelapa yang belum diinventarisasi dan

didokumentasi dengan baik dan menghadapi ancaman kepunahan akibat area perkebunan yang menurun maupun perkebunan kelapa yang rusak. Pada saat ini, Indonesia terdaftar memiliki 105 kultivar kelapa yang terdiri atas 82 kelapa dalam dan 23 kelapa genjah (Bourdeix, 2012). Angka tersebut merupakan lebih dari seperempat keanekaragaman kelapa di dunia yang mencapai 419 kultivar (Bourdeix, 2012). Oleh karena itu, perlu dilakukan tindakan konservasi untuk menjaga kelestarian plasma nutfah kelapa di Indonesia baik secara *in situ* maupun secara *ex situ*.

2.2.1 Konservasi Kelapa Secara *in situ*

Konservasi *in situ* dilakukan dengan cara melakukan konservasi kelapa pada habitat asli seperti pada pekarangan rumah, perkebunan milik petani atau di pulau terpencil (Batugal *et al.*, 2005). Salah satu contoh konservasi kelapa secara *in situ* yang berhasil dilakukan adalah konservasi kelapa kopyor di Kabupaten Pati, Jawa Tengah. Pada tahun 2006, tercatat Kabupaten Pati memiliki lebih dari 47 ribu pohon kelapa kopyor yang dimiliki oleh lebih dari 1.500 petani (Novariant, 2007).

Penyimpanan plasma nutfah secara *in situ* memiliki beberapa keuntungan di antaranya adalah tidak membutuhkan biaya tinggi, keragaman genetik yang disimpan dapat lebih beragam maupun dapat mempertahankan keseimbangan ekosistem (Dullo *et al.*, 2005). Namun demikian, teknik tersebut sangat rentan terjadi alih fungsi lahan karena lahan perkebunan tidak dimiliki oleh pemerintah (Nasir, 2014), rentan terhadap perubahan lingkungan khususnya bencana alam,

hama dan penyakit, maupun memiliki pendataan keragaman genetika yang kurang baik (Dullo *et al.*, 2005)

2.2.2 Konservasi Kelapa Secara *Ex Situ*

Upaya lain yang dapat dilakukan untuk mengkonservasikan plasma nutfah kelapa dengan cara yang lebih aman terhadap alih fungsi lahan maupun dengan pendataan yang lebih baik dibandingkan dengan konservasi secara *in situ* adalah melalui teknik konservasi secara *ex situ*. Konservasi secara *ex situ* adalah penyimpanan plasma nutfah di luar habitat aslinya dengan cara menanam kelapa pada kebun plasma nutfah, ataupun penyimpanan bagian tumbuhan seperti penyimpanan pollen, ataupun penyimpanan embryo zigotik (Dullo *et al.*, 2005).

2.2.2.1 Kebun Plasma Nutfah Kelapa

Salah satu teknik konservasi kelapa secara *ex situ* adalah melalui pembangunan kebun plasma nutfah. Di Indonesia, pembangunan kebun plasma nutfah kelapa telah dimulai sejak 1926 – 1927, dengan dibangunnya kebun plasma nutfah kelapa di daerah Mapanget, Sulawesi Utara oleh Dr Tammes, seorang ilmuwan kelapa dari Belanda (Novarianto *et al* , 2005). Pada saat ini, Indonesia memiliki 7 buah kebun plasma nutfah (**Tabel 2.1**) yaitu kebun plasma nutfah Mapanget, kebun Paniki, kebun Pandu, kebun Kima Atas (Sulawesi Utara), kebun Bone Bone (Sulawesi selatan), kebun Sikijang Mati (Riau) dan kebun Pakuwon (Jawa Barat) yang dapat menyimpan 97 aksesi kelapa dalam dan 40 aksesi kelapa genjah (Novarianto *et al.*, 2005; Novarianto, 2008).

Bahkan, sejak tahun 1993 Indonesia ditunjuk oleh International Coconut Genetic Resource Network (COGENT) sebagai lokasi kebun plasma nutfah internasional untuk kawasan Asia Tenggara dan Asia Timur (International Coconut Genbank for Southeast and East Asia / ICG - SEA) yang bertanggung jawab mengkoleksi plasma nutfah kelapa yang berasal dari Indonesia, Malaysia, Cina, Philipin, Thailand, Vietnam (Novarianto *et al* , 2005). Semula, lokasi ICG-SEA ditetapkan di Sikijang Mati, Riau , namun karena adanya penjarahan lahan oleh masyarakat, maka pada tahun 2003 diputuskan untuk di pindahkan Paniki dan Pandu Sulawesi Utara (Talulo *et al.*, 2007; Novarianto *et al.*, 2005).

Tabel 2.1 Lokasi Kebun plasma nutfah kelapa di Indonesia beserta jumlah aksesori (Novarianto *et al.*, 2005; Novarianto, 2008).

NO	Kebun Plasma Nutfah	Aksesori		Sumber
		Dalam (tall)	Genjah (dwarf)	
1	Mapengat (Manado)	40	13	Novarianto <i>et al.</i> , 2005
2	Pakuwon (Jawa Barat)	12	8	Novarianto <i>et al.</i> , 2005
3	Sikijang Mati (Riau)	24	9	Novarianto <i>et al.</i> , 2005
4	Paniki (Sulut)	21	10	Novarianto, 2008
5	Bone-Bone (Sulsel)	na	na	
6	Pandu (Sulut)	na	na	
7	Kima Atas (Sulsel)	na	na	
Jumlah Total		97	40	

Keterangan : na = data tidak tersedia

Kegiatan konservasi kelapa melalui kebun plasma nutfah memberikan kemudahan dalam hal pendataan dan akses data tanaman kelapa sebagai sumber genetik, mudah dilakukan karena tidak membutuhkan ketrampilan tinggi, maupun perawatan tanaman dapat dilakukan secara intensif sehingga lebih aman terhadap serangan hama dan penyakit (Engelman, 2011). Oleh karena itu teknik konservasi tersebut merupakan metode konservasi yang paling banyak dilakukan untuk

pelestarian kelapa di dunia. Namun demikian, teknik pelestarian kelapa tersebut memiliki banyak kekurangan seperti membutuhkan biaya yang besar serta masih rentan terhadap ancaman bencana alam (Engelman, 1990). Oleh karena itu, teknik konservasi alternatif yang bebas dari ancaman bencana alam, hama dan penyakit serta mudah dilakukan sangat perlu dikembangkan untuk digunakan sebagai cadangan plasma nutfah kelapa.

2.2.2.2 Konservasi Pollen Kelapa

Salah satu alternative konservasi yang mudah dilakukan dan tidak membutuhkan biaya yang mahal (Engelman *et al.*, 2007) serta terbebas dari ancaman hama dan penyakit dan bencana alam adalah dengan menggunakan teknik penyimpanan pollen. Teknik penyimpanan pollen dapat dilakukan secara mudah dengan cara pollen dikeringkan sampai kadar air sekitar 7,5 % dan disimpan pada suhu beku (-196°C) mampu disimpan selama 6 tahun tanpa ada perubahan persentase perkecambah yang signifikan (Karun *et al.*, 2014). Teknik penyimpanan pollen yang telah dikeringkan, pada suhu -4°C , -20°C , ataupun -80°C juga terbukti dapat digunakan untuk menyimpan pollen karena pollen masih tetap dapat berkecambah meskipun telah disimpan selama 60 hari (Machado *et al.*, 2014).

Meskipun penyimpanan pollen tidak membutuhkan ruangan yang luas, memudahkan untuk ditransfer ke berbagai tempat untuk pertukaran plasma nutfah kelapa, serta dapat dilakukan dengan mudah, murah dan dalam jumlah yang besar (Batugal & Rao, 2005), namun teknik penyimpanan tersebut hanya mampu

menyimpan setengah informasi genetik kelapa karena pollen bersifat haploid (Engelmann *et al.* , 2007). Oleh karena itu, alternatif teknik konservasi lainnya yang dapat menyimpan informasi genetik tanaman secara utuh, dapat dilakukan secara mudah, murah serta tidak membutuhkan ruangan yang besar sangat dibutuhkan di masa mendatang.

2.2.2.3 Konservasi Embryo Zigotik Kelapa

Teknik konservasi *ex situ* yang banyak dijadikan alternatif untuk penyimpanan plasma nutfah adalah dengan teknik penyimpanan biji (*seed bank*). Namun demikian, penyimpanan biji kelapa tidak mungkin untuk dilakukan karena biji kelapa memiliki ukuran biji yang relatif besar yaitu ukuran berkisar 600 gram – 3 kg per biji (Foale, 2003), tidak memiliki waktu dormansi sehingga tidak dapat disimpan, serta biji kelapa tidak tahan terhadap pengeringan sehingga tidak dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Dullo *et al.* , 2005). Oleh karena itu, satu-satunya alternatif yang dapat digunakan untuk menyimpan plasma nutfah kelapa secara utuh adalah dengan menyimpan embryo zigotik. Setiap biji kelapa memiliki satu embryo yang berukuran relatif kecil (0,1 gr ; Sisunandar *et al.* , 2014), mampu berkembang menjadi tanaman utuh seperti halnya pada biji setelah ditanam melalui teknik kultur embryo (Karun *et al.*, 2005) serta bibit yang dihasilkan tidak memiliki perbedaan morfologi, fisiologi, biokimia maupun genetik dengan bibit yang dihasilkan dari pembibitan alami (Sisunandar *et al.*, 2010). Oleh karena itu, penyimpanan embryo kelapa dapat digunakan sebagai alternatif penyimpanan plasma nutfah secara utuh.

Beberapa teknik telah dikembangkan untuk penyimpanan embryo zigotik di antaranya adalah penyimpanan dalam jangka waktu pendek – sedang (*short-medium term conservation*) dan penyimpanan jangka panjang (*long-term conservation*; Engelmann., 1990). Teknik penyimpanan embryo kelapa dalam jangka waktu yang pendek – sedang (2 – 12 bulan) dapat dilakukan secara *in vitro* ataupun embryo dikeringkan dan disimpan pada suhu rendah.

Teknik penyimpanan embryo secara *in vitro* dapat dilakukan dengan cara memodifikasi lingkungan kultur seperti penggunaan ruang kultur dengan temperatur rendah (Karunarante , 1988), menurunkan konsentrasi medium tanam (Karunarante , 1988) ataupun menambahkan zat penghambat pertumbuhan seperti manitol (Sukendah & Cedo, 2005; Ledo *et al.*, 2014). Dengan menggunakan perlakuan-perlakuan di atas maka periode sub kultur yang seharusnya dilakukan setiap empat minggu sekali dapat diperpanjang menjadi 16 Minggu sekali (Shibli *et al.*, 2006) sehingga biaya perawatan yang dibutuhkan dapat dikurangi.

Teknik penyimpanan tersebut mampu menghindarkan plasma nutfah dari ancaman hama, penyakit, serta material yang disimpan dalam keadaan hidup sehingga terjamin keberlangsungannya. Namun demikian, teknik penyimpanan tersebut memiliki resiko kontaminasi yang tinggi serta membutuhkan waktu, tenaga dan biaya yang besar guna subkultur dan pemeliharaan. Di samping itu, subkultur yang berulang-ulang juga dipercaya dapat meningkatkan resiko terjadinya perubahan genetik pada bahan yang disimpan (Engelmann, 1991).

Teknik penyimpanan embryo kelapa yang lebih mudah adalah dengan cara embryo dikeringkan sampai kadar air sekitar 30 % kemudian embryo disimpan pada suhu rendah (-20 °C sampai -80 °C; Sisunandar *et al.*, 2012). Teknik

penyimpanan yang praktis tersebut tidak membutuhkan peralatan yang mahal serta memerlukan biaya operasional yang murah. Namun demikian, jangka waktu penyimpanan embryo pada suhu rendah tersebut masih terbatas (26 minggu) serta memiliki tingkat keberhasilan yang masih rendah yaitu hanya sekitar 12 % (Sisunandar *et al.*, 2012). Oleh karena itu, alternatif penyimpanan embryo kelapa dalam jangka waktu yang lama (*long term conservation*) masih diperlukan untuk dikembangkan.

2.3 Kriopreservasi Kelapa dan Permasalahannya

Alternatif penyimpanan embryo zigotik kelapa dalam jangka waktu yang panjang (*long-term storage*) dapat dilakukan dengan cara embryo dikeringkan dan disimpan pada suhu beku (-196°C) atau biasa dikenal dengan istilah kriopreservasi (Engelman, 2004). Teknik kriopreservasi mampu menyimpan plasma nutfah dalam jangka waktu yang tak terbatas karena pada suhu tersebut laju metabolisme dan pembelahan sel menurun secara signifikan atau bahkan terhenti (Engelman, 2004; Kaviani, 2011). Selain itu, penyimpanan plasma nutfah dengan menggunakan teknik kriopreservasi juga tidak membutuhkan ruang yang besar serta mampu melindungi eksplan dari resiko kontaminasi (Engelman, 2004). Hingga kini kriopreservasi telah digunakan untuk menyimpan sekitar 200 plasma nutfah berbagai spesies tanaman di dunia (Engelmann, 2004). Beberapa tanaman yang berhasil disimpan dengan menggunakan teknik tersebut di antaranya adalah pisang (*Musa sp*; Panis *et al.*, 2005), kentang (*Solanum tuberosum*; Wang *et al.*, 2008), dan singkong (Danso & Ford L-loyd, 2011).

Secara umum terdapat 4 tahapan dalam kriopreservasi yang sering digunakan untuk menyimpan plasma nutfah tumbuhan yaitu dehidrasi (*dehydration*), pembekuan (*Freezing*), pelelehan (*thawing*) dan pemulihan (*recovery*).

2.3.1 Pengeringan (*Dehydration*)

Pengeringan (*dehydration*) merupakan teknik yang dilakukan untuk mengurangi kadar air pada sampel guna menghindari pembentukan kristal es di dalam sel pada saat pembekuan. Pembentukan kristal es di dalam sel pada saat pembekuan dapat mengakibatkan kerusakan pada organel di dalam sel dan tidak dapat dipulihkan (*irreversible*; Panis & Lambardi, 2005). Oleh karena itu, salah satu faktor yang paling penting dalam menentukan keberhasilan kriopresevasi adalah kadar air pada jaringan sebelum dilakukan proses pembekuan (Sisunandar *et al.*, 2010). Semakin rendah kadar air yang tersisa pada jaringan maka akan semakin banyak sampel yang mampu bertahan setelah dilakukan pembekuan. Untuk spesies-spesies yang bersifat ortodoks seperti pada tanaman jagung (*Zea-mays*; Usman, 2010), tanaman anggur (*Vitis vinivera* L.; Markovic *et al.*, 2013), *Alnus glutinosa* (Chmielarz; 2010), jaringan dapat dikeringkan hingga memiliki kadar air sangat rendah (3-5 % dari berat basah) tanpa mengalami kerusakan sehingga dapat dibekukan dengan mudah (Sisunandar *et al.*, 2010). Namun demikian, pada spesies-spesies yang bersifat rekalsitran seperti kakao (*Theobroma cacao* L.; Florin *et al.*, 2000), teh (*Camellia sinensis*; Kim *et al.*, 2002) maupun kelapa (*Cocos nucifera* L.; Sisunandar *et al.*, 2010) jaringan tidak dapat bertahan hidup jika dikeringkan sampai dengan kadar air di bawah 20 % (Umarani *et al.*,

2015). Akibatnya spesies-spesies yang tergolong rekalsitan tidak dapat dibekukan dengan mudah dan memiliki tingkat keberhasilan yang rendah selama proses penyimpanan.

Hingga saat ini, beberapa teknik dehidrasi masih terus dikembangkan untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi tumbuhan rekalsitran. Secara umum, teknik dehidrasi dapat digolongkan menjadi dua yaitu dehidrasi secara fisik dan dehidrasi secara kimia atau mengkombinasikan kedua teknik tersebut. Dehidrasi secara fisik dapat dilakukan dengan menggunakan *laminar air flow* (LAF) ang silica gel (Panis & Lambardi, 2005). Teknik dehidrasi menggunakan LAF selama 0,5 jam dilaporkan pernah digunakan untuk mengeringkan embryo zigotik tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) sebelum disimpan di dalam nitrogen cair dengan tingkat keberhasilan mencapai sekitar 42 % dan embryo zigotik kopi arabika (*Coffea Arabica*) dengan tingkat keberhasilan mencapai 96 % (Esquivel *et al.*,1992). Dehidrasi dengan menggunakan silika gel selama 4 jam juga berhasil digunakan untuk mengeringkan embryo somatik tanaman coklat (*Theobroma cacao*) sebelum disimpan di dalam nitrogen cair dengan dengan tingkat keberhasilan sekitar 33 % (Fang *et al.*, 2003).

Teknik dehidrasi lainnya yang banyak digunakan adalah dehidrasi kimia. Pada teknik dehidrasi tersebut digunakan beberapa larutan dengan konsentrasi tinggi yang mampu mengikat air dari dalam sel sehingga jumlah air di dalam sel dapat menurun (Engelmann, 1990). Senyawa kimia yang umum digunakan adalah sukrosa ataupun glukosa karena tidak bersifat toksik terhadap sel (Gomes-Copeland *et al.*, 2015).

Sebagai contoh embryo somatik tanaman coklat (*Theobroma cacao*) berhasil didehidrasi menggunakan larutan 0,5 M sukrosa selama 4 jam sebelum disimpan di dalam nitrogen cair. Tingkat keberhasilan perlakuan tersebut mencapai 40 % (Fang *et al.*, 2004). Dehidrasi dengan menggunakan larutan glukosa selama 1 jam juga berhasil digunakan untuk mengeringkan embryo sebelum disimpan di dalam nitrogen cair dengan tingkat keberhasilan mencapai sekitar 28 % (Chabrillange *et al.*, 2000).

2.3.2 Pembekuan (freezing)

Salah satu faktor penentu keberhasilan penyimpanan plasma nutfah pada temperatur rendah adalah tingkat kerendahan temperatur penyimpanan. Semakin rendah temperatur penyimpanan yang digunakan, maka waktu penyimpanan sampel bisa lebih lama (Walter *et al.*, 2004). Biji tanaman *Lactuca sativa* yang disimpan pada suhu 5 °C hanya mampu disimpan selama 13 tahun, sedangkan penyimpanan biji pada suhu yang lebih rendah (-18°C) biji dapat disimpan selama 150 tahun bahkan pada suhu yang sangat rendah (-196°C) biji *Lactuca sativa* mampu disimpan hingga lebih dari 3000 tahun (Walter, 2004).

Berdasarkan kecepatannya teknik pembekuan digolongkan menjadi 2 yaitu pembekuan lambat (*slow freezing*) dan cepat (*rapid freezing*; Engelmann, 1990). Teknik pembekuan lambat merupakan teknik pembekuan yang dilakukan secara bertahap dan terkontrol dimulai dari suhu 0,5 – 2 °C per menit hingga suhu sekitar – 40 °C atau – 80 °C dan dilanjutkan pembekuan suhu ultra rendah (-196 °C; Engelmann, 2004). Teknik tersebut berhasil diaplikasikan pada tanaman karet

(*Havea brasiliensis*) dengan tingkat keberhasilan 63 % (Engelmann *et al.*, 1997). Teknik pembekuan cepat merupakan teknik pembekuan yang lebih mudah dan tidak membutuhkan peralatan yang mahal. Pada teknik tersebut, sampel dimasukkan secara langsung ke dalam nitrogen cair (-196°C) setelah proses dehidrasi (Engelmann, 2004). Teknik tersebut pernah diaplikasikan pada tanaman apel (*Malus domestica*) dengan tingkat keberhasilan 68 % (Halmagy *et al.*, 2010)

2.3.3 Pelelehan (*Thawing*)

Thawing adalah teknik yang digunakan untuk mengembalikan sampel dari kondisi lingkungan dengan temperatur beku keluar kembali ke kondisi suhu ruangan. Terdapat dua macam teknik thawing yang umum digunakan, yaitu teknik *slow thawing* dan teknik *rapid thawing*. Teknik *slow thawing* dilakukan dengan cara dengan cara sampel dilelehkan pada suhu ruang, teknik ini pernah diaplikasikan pada tanaman *Ekebergia capensis* dengan tingkat keberhasilan 80 % (Peran *et al.*, 2006).

Teknik pelelehan cepat (*rapid thawing*) dapat dilakukan dengan cara memasukkan cryotube (tabung kriopreservasi) pada water bath dengan suhu 40°C selama kurang lebih 3 menit (Engelmann, 1990). Teknik *rapid thawing* dinilai lebih efektif untuk melelehkan kristal es dalam waktu yang singkat sehingga kerusakan akibat terbentuknya kristal es semakin dapat dihindari (Neymar, 2014). Teknik ini pernah diaplikasikan pada beberapa tanaman dengan tingkat keberhasilan tinggi seperti pada tanaman palem merah (*Bactris gasipaes*) dengan tingkat keberhasilan mencapai 29 % (Steinmacher *et al.*, 2007) sedangkan pada

embrio tanaman teh (*Camellia sinensis* L) dengan tingkat keberhasilan mencapai 80 % (Kim *et al.*, 2002).

2.3.4 Pemulihan (*Recovery*)

Pemulihan kembali sampel merupakan tujuan akhir dari setiap kriopreservasi. Teknik dan medium yang tepat sangat penting diperhatikan untuk keberhasilan kriopreservasi (Reed, 2007). Pada tahap pemulihan, sampel yang telah dilelehkan ditanam kembali pada medium pertumbuhan dengan kondisi lingkungan yang optimal. Terdapat beberapa jenis medium dasar yang sering digunakan untuk pemulihan tanaman kriopreservasi diantaranya adalah medium MS (Murasige & Skoog) seperti yang dilakukan pada kriopreversasi biji teh (*Camellia sinensis*; Kim *et al.*, 2002), *Ekebergia capensis* (Peran *et al.*, 2006), tunas tanaman mint (*Mentha* sp; Uchendu & Reed, 2008), embryo zigotik tanaman palem merah (Steinmacher *et al.*, 2007). Medium yang lain juga pernah digunakan untuk pemulihan kembali eksplan yang telah disimpan di dalam nitrogen cair, seperti medium Y3 untuk kriopreservasi kelapa (N'nan *et al.*, 2012) ataupun medium HEC (*hibrid embryo culture medium*) juga untuk kriopreservasi kelapa (Rillo, 2004)

Penambahan zat pengatur tumbuh juga banyak digunakan pada medium pemulihan seperti pada tanaman papaya (*Carica papaya*) menggunakan medium dasar MS yang ditambah dengan 0,1 mg/l 6- benzylaminopurine (BA) dan 0,05 mg/l indole-3- butyric acid (IBA) dan 30 g/l sukrosa mampu meningkatkan keberhasilan hingga 93 % (Wang *et al.*, 2005). Penambahan kinetin pada medium

pemulihan juga telah dilakukan dengan menambahkan $0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ pada medim MS. Perlakuan tersebut berhasil dilakukan dengan tingkat keberhasilan mencapai 40 % (Zalewska & Kulus, 2013).

2.4 Perkembangan Kriopreservasi Kelapa

Hingga kini, kriopreservasi tanaman kelapa masih terus dikembangkan. Berbagai eksplan tanaman kelapa telah dicobakan diantaranya yaitu pada plumula kelapa (Bandupriya *et al.*, 2010; Alla-N'Nan *et al.*, 2014), embryo muda (Bajaj *et al.*, 1984), embryo matang (**Tabel 2.2**) Namun demikian, penyimpanan embryo matang melalui teknik kriopreservasi lebih banyak digunakan karena memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi dibandingkan eksplan yang lain (Sisunandar *et al.*, 2014).

Tabel 2.2 Perkembangan penelitian kriopreservasi embrio matang kelapa

Pra-perlakuan dan waktu (jam)	Dehidrasi dan waktu (jam)	Pembekuan	Pelelehan ($^{\circ}\text{C}$) dan waktu (menit)	kelulus hidupan (%)	Bekecambah (%)	Berkecam bah normal (%)	Aklimatisasi (%)	Sumber
Glukosa + Gliserol (11-20)	LAF (4)	Cepat	40 (2)	33-93	na	na	na	Assy-bah & Engelmann, 1992
	Silika gel (18)	Cepat	40 (2)	na	90	70	60	Karun <i>et al.</i> , 2005
	LAF (24)	Cepat	40 (2)	na	80	70	60	
Sukrosa 2 M 24	Silika gel (7)	Cepat	40 (2)	na	68,8	na	20,8	Sajini <i>et al.</i> , 2006
Sukrosa 3 M 24	Silika gel (7)	Cepat	40 (2)	na	47,9	na	29	
	Silika gel (8)	Cepat	40 (3)	70	61	43	20 - 40	Sisunandar <i>et al.</i> , 2010b
Glukosa	Silika gel 80 g (48)	Cepat	40 (2)	na	74,7	na	na	Alla-N'nan <i>et al.</i> , 2012
	LAF (34)	Cepat	40 (2)	na	82,75	na	na	

n.a. = data tidak dilaporkan

Penelitian kriopreservasi embryo matang kelapa dimulai pada tahun 1992 oleh Assy-Bah & Engelmann dengan menggunakan embryo berumur 10 – 12 bulan setelah penyerbukan yang di isolasi dari 4 kultivar kelapa (PB 121 ; Indian Tall ; Cameroon Red Dwarf; dan Renel Tall). Embryo dikeringkan menggunakan LAF selama 4 jam dan selanjutnya didehidrasi menggunakan medium yang mengandung 15 % glycerol dan 600 g/l glukosa selama 20 jam sebelum embryo di simpan pada suhu -196°C selama 24 jam dan dilanjutkan dengan *rapid thawing*. Hasilnya 93 % embryo yang mampu memperthankan kelulushidupnya setelah ditrasnfer ke medium pemulihan. Namun demikian jumlah embryo yang berhasil menjadi bibit dan jumlah bibit yang siap tanam tidak dilaporkan.

Penelitian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan embryo matang dari kultivar West Coast Tall yang dikeringkan menggunakan silika gel (50 g) selama 18 jam sebelum disimpan pada suhu -196°C . hasil yang diperoleh setelah dilakukan *rapid thawing* adalah pengeringan menggunakan silika gel selama 18 jam yakni 90 % embryo berkecambah dengan 70 % embryo berkecambah normal namun hanya sekitar 60 % embryo yang berhasil di aklimatisasi sedangkan bibit yang siap tanam tidak dilaporkan (Karun *et al.*, 2005).

Penelitian lanjutan dilakukan oleh Sajini *et al* (2006) dengan teknik dehidrasi yang hampir sama yakni dengan mendehidrasi embryo menggunakan medium yang mengandung sukrosa 3 M dan selanjutnya embryo dikeringkan menggunakan silika gel selama 24 jam. Setelah dilakukan penyimpanan di dalam nitrogen cair dan dilakukan *rapid thawing*, sekitar 50 % embryo yang mampu bertahan hidup pada medium pemulihan namun hanya sekitar 30 % embryo yang dapat tumbuh menjadi bibit yang siap tanam.

Teknik dehidrasi yang lebih sederhana dicobakan pada 20 kultivar kelapa dengan 19 kultivar asli dari Indonesia. Dehidrasi dilakukan dengan menggunakan silika gel (680 g) selama 8 jam sebelum di simpan pada suhu -196°C . Hasilnya sekitar 70 % embryo mampu bertahan hidup dan hanya 61 % embryo yang mampu berkecambah. 43 % dari embryo berkecambah normal dan sekitar 40 % tanaman berhasil diaklimatisasi. Dari hasil penelitian terhadap 20 kultivar kelapa dapat diketahui terdapat 3 kelompok kulultivar berdasarkan tingkat keberhasilan perkecambahan dan aklimatisasi setelah kriopreservasi. Terdapat 5 kultivar dengan tingkat keberhasilan tinggi (30-40 %), 11 kultivar dengan tingkat keberhasilan sedang (10 – 30 %) dan 4 kultivar dengan tingkat keberhasilan rendah (kurang dari 10 % ; Sisunandar *et al.*, 2010).

Penelitian selanjutnya yakni dilakukan dengan cara embryo didehidrasi pada medium yang mengandung 3,2 M glukosa pada *laminar air flow* (LAF) selama 34 jam sebelum embryo disimpan pada nitrogen cair. Setelah dilakukan rapid thawing dan recovery sekitar 80 % embryo berkecambah, namun jumlah embryo yang berkecambah normal dan embryo yang berhasil diaklimatisasi tidak dilaporkan (N'nan *et al.*, 2012).

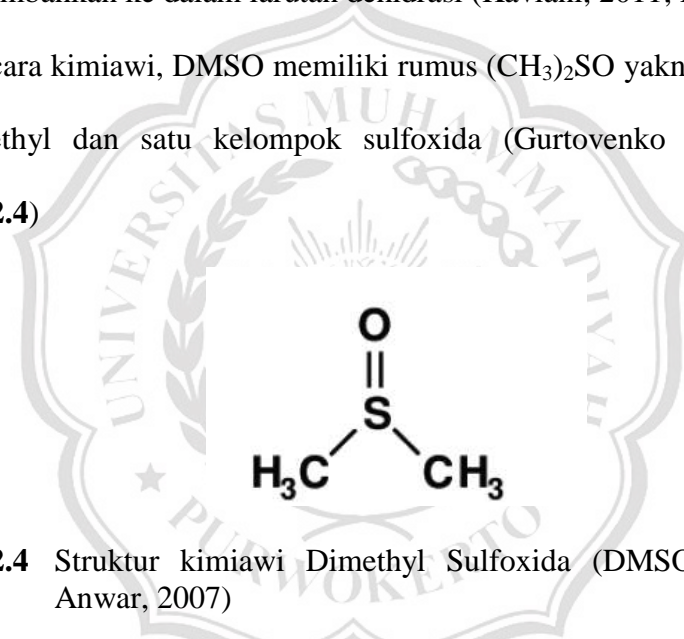
Dari hasil penelitian yang telah dilaporkan, tingkat keberhasilan kriopreservasi kelapa sampai saat ini masih relatif rendah. Salah satu kendala yang dihadapi dalam kriopreservasi kelapa adalah belum ditemukannya teknik dehidrasi yang tepat guna meningkatkan keberhasilan kriopreservasi. Salah satu cara yang diduga dapat meningkatkan keberhasilan kriopreservasi embryo kelapa adalah dengan menambahkan senyawa krioprotektan ke dalam medium dehidrasi.

Beberapa senyawa krioprotektan yang sering digunakan untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi adalah gliserol, sorbitol, manitol, prolin, polyetilen glikol maupun dimethyl sulfoxida (Engelmann, 1990).

2.5 Dimethyl Sulfoxida (DMSO)

Dimethyl Sulfoxida (DMSO) merupakan salah satu senyawa yang paling sering ditambahkan ke dalam larutan dehidrasi (Kaviani, 2011; Panis & Lambardi, 2005). Secara kimiawi, DMSO memiliki rumus $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ yakni tersusun atas dua gugus methyl dan satu kelompok sulfoxida (Gurtovenko & Anwar, 2007;

Gambar 2.4)



Gambar 2.4 Struktur kimiawi Dimethyl Sulfoxida (DMSO; Gurtovenko & Anwar, 2007)

Secara kimiawi, DMSO bersifat amphipatik karena memiliki 2 sifat yakni bersifat hidrofilik pada bagian sulfoxida dan bersifat hidrofobik pada kedua gugus methylnya (Gurtovenko & Anwar, 2007). DMSO memiliki ukuran yang kecil dengan berat molekul sebesar 78 (Gurtovenko & Anwar, 2007) sehingga dapat masuk ke dalam sel dengan mudah melalui membran lipida (Panis & Lambardi, 2005). Masuknya DMSO ke dalam sel diduga dapat meningkatkan konsentrasi zat terlarut di dalam sitoplasma sehingga viskositas sitoplasma meningkat (Antony *et al.*, 2013). Salah satu dampak yang muncul dengan

meningkatnya viskositas sitoplasma adalah dapat mencegah pembentukan kristal es didalam sel selama proses penyimpanan sel pada suhu beku (Notman *et al.*, 2006).

Salah satu penyebab kegagalan teknik kriopreservasi untuk digunakan dalam penyimpanan plasma nutfah adalah rusaknya sel-sel yang disimpan pada suhu beku tersebut. Salah satu kerusakan yang terjadi adalah rusaknya membran plasma sebagai akibat dari terbentuknya kristal es selama proses penyimpanan (Engelmann, 1990).

DMSO juga dipercaya dapat meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga dapat mengakomodasi tekanan osmotik selama kriopreservasi (Notman *et al.*, 2006; Gurtovenko & Anwar, 2007). Seperti diketahui salah satu penyebab kerusakan sel selama proses kriopreservasi adalah terjadinya ketidakseimbangan tekanan osmotik antara sitoplasma dengan matriks ekstraselluler. Selama proses thawing, cairan ekstraselluler telah mencair terlebih dahulu sehingga bersifat hipotonik dibandingkan cairan di dalam sitoplasma. Perbedaan tekanan yang berlebihan tersebut dapat menyebabkan sel menjadi lisis (Notman *et al.*, 2006).

DMSO dapat terintegrasi di antara lipida membran dengan mudah karena bersifat amfipatik. Proses tersebut dapat mengakibatkan terbentuknya pori-pori membran yang baru sehingga dapat dilewati air maupun senyawa terlarut yang lain dengan mudah (Notman *et al.*, 2006). Dengan demikian DMSO dapat menyebabkan berlalunya senyawa dengan mudah baik dari dalam sitoplasma ke matriks ekstraselluler maupun sebaliknya. Dengan demikian terjadinya lisis pada sel yang disimpan dapat dicegah.

Namun demikian, DMSO juga bersifat racun bagi sel karena dapat meningkatkan calcium didalam sel sehingga dapat menghambat respirasi sel (Glalvao et al., 2013). Oleh karena itu, konsentrasi DMSO yang terlalu tinggi juga dapat membunuh sel yang disimpan.

Upaya peningkatan keberhasilan kriopreservasi dengan menambahkan DMSO ke dalam medium dehidrasi telah banyak dilakukan. Pada beberapa penelitian, penambahan DMSO ke dalam medium dehidrasi berhasil meningkatkan keberhasilan kriopreservasi seperti pada kriopreservasi kalus karet (*Havea brasiliensis*). Penambahan DMSO sebesar 10 % ke dalam medium dehidrasi dan digunakan untuk mengeringkan kalus karet selama 1 jam mampu menghasilkan kalus yang dapat bertahan hidup selama proses kriopreservasi hampir mencapai 50 %, sedangkan pada dehidrasi dengan menggunakan medium tanpa DMSO hanya dihasilkan kalus sekitar 20 % yang mampu bertahan hidup selama proses kriopreservasi (Engelmann *et al.*, 1997).

Penyimpanan kalus embryogenik kelapa sawit (*Ellais guineensis*) menggunakan teknik kriopreservasi juga memerlukan DMSO selama proses dehidrasi (Chabrillange *et al.*, 2000). Pada percobaan tersebut, medium dehidrasi dengan penambahan 10 % DMSO mampu menghasilkan kalus yang tetap bertahan hidup selama proses kriopreservasi sebesar 50 %, sedangkan pada medium dehidrasi tanpa penambahan DMSO hanya mampu menghasilkan kalus yang tetap bertahan hidup setelah kriopreservasi sebesar 30 % (Chabrillange *et al.*, 2000).

Penambahan DMSO ke dalam medium dehidrasi juga terbukti meningkatkan keberhasilan kriopreservasi pada kultur suspensi kurma (*Phoenix dactylifera* L.). Penambahan 10 % DMSO ke dalam medium dehidrasi berhasil meningkatkan jumlah kalus yang berhasil tumbuh setelah proses kriopreservasi sebanyak lebih dari 20 kalus per botol dibandingkan dengan perlakuan dehidrasi tanpa menggunakan DMSO yang hanya mampu menghasilkan sekitar 5 kalus per botol (Al-Bharany & Al-Khayari, 2012).

Penambahan DMSO ke dalam medium dehidrasi juga telah digunakan untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi embryo kelapa kultivar West Coast Tall dengan cara embryo zigotik didehidrasi dengan menggunakan larutan yang menandung 7 % DMSO dan 7 % sukrosa sebelum pembekuan. setelah dilakukan *thawing* dan *recovery* maka hasil yang diperoleh yakni sekitar 18 % embryo mampu bertahan hidup dan jumlah embryo yang bertahan hidup meningkat hingga 25 % pada saat menggunakan bagian melintang embryo (Bajaj, 1984).