

**PERTUMBUHAN KALUS KOPI LIBERIKA TUNGKAL
JAMBI (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi)
DENGAN KOMBINASI 2,4-D DAN KINETIN
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

RIANA AZIZAH



**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JAMBI
2017**

**PERTUMBUHAN KALUS KOPI LIBERIKA TUNGKAL
JAMBI (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi)
DENGAN KOMBINASI 2,4-D DAN KINETIN
SECARA *IN VITRO***

RIANA AZIZAH

D1A013038

Skripsi

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar

Sarjana Pertanian pada Program Studi Agroekoteknologi

Fakultas Pertanian Universitas Jambi

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS JAMBI

2017

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal jambi) Dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin secara *In vitro* disusun oleh Riana Azizah, NIM D1A013038, telah diuji dan dinyatakan Lulus pada tanggal 17 Mei 2017 dihadapan Tim Penguji yang terdiri atas :

Ketua : Ir. Neliyati, M.Si

Sekretaris : Dr. Ir. Hj. Rainiyati, M.Si

Penguji Utama : Prof. Dr. Ir. H. Zulkarnain, M.Hort, Sc

Anggota : 1. Dr. Lizawati, SP, M.Si

2. Ir. Jasminarni, M.Si

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

Ir. Neliyati, M. Si
NIP. 19621005 198803 2 001

Dr. Ir. Hj. Rainiyati, M. Si
NIP. 196307927 198902 2 002

Mengetahui:

Ketua Jurusan Agroekoteknologi

Dr. Ir. Wilyus. M.Si
NIP. 19640923 199103 1 00

RINGKASAN

PERTUMBUHAN KALUS KOPI LIBERIKA TUNGKAL JAMBI (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) DENGAN KOMBINASI 2,4-D DAN KINETIN SECARA *IN VITRO*

Tanaman kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di Indonesia dan di dunia serta berperan penting sebagai sumber devisa negara. Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam. Pada tahun 2013 Indonesia mampu memproduksi 675.881 ton, sedangkan pada tahun 2014 menghasilkan 685.089 ton. Kopi Liberika Tungkal Jambi sendiri merupakan jenis tanaman menyerbuk silang yang apabila diperbanyak secara generatif dapat menyebabkan segregasi yang cukup tinggi, sedangkan jika diperbanyak secara vegetatif konvensional membutuhkan bahan tanam dalam jumlah yang besar. Permasalahan yang dihadapi sekarang bahwa tanaman kopi Liberika Tungkal Jambi umurnya mencapai 40-50 tahun, sedangkan umur ekonomisnya 30 tahun, oleh karena itu perlu upaya peremajaan tanaman kopi. Dalam peremajaan tanaman kopi diperlukan bibit unggul dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat, memiliki produksi yang tinggi, serta tahan terhadap penyakit. Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah jenis eksplan, genotipe tanaman donor, kondisi fisiologis tanaman donor, jenis dan kondisi fisik medium, lingkungan kultur, dan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang dapat digunakan yakni dari golongan auksin dan juga sitokinin atau kombinasi keduanya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) dan mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang terbaik untuk pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, Desa Mendalo Indah, Kecamatan Jambi Luar Kota, Kabupaten Muaro Jambi. Pelaksanaan penelitian ini berlangsung selama 3 bulan pada bulan Desember 2016 sampai bulan Maret tahun 2017. Bahan tanam (eksplan) yang digunakan adalah kalus hasil dari kultur jaringan yang berasal dari eksplan daun kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor, faktor pertama yakni konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari tiga taraf perlakuan yakni 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm. Faktor kedua yakni konsentrasi kinetin yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yakni 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm. Kombinasi kedua faktor tersebut menghasilkan 9 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 27 satuan percobaan. Pada masing-masing satuan percobaan terdiri

dari 4 botol kultur sehingga terdapat 108 botol kultur. Tiap botol kultur masing-masing 1 eksplan dan semua populasi diamati

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D dan kinetin dengan berbagai taraf konsentrasi menyebabkan pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) yang berbeda-beda pula. Secara keseluruhan 2,4-D 3 ppm dan 4 ppm yang dikombinasikan dengan seluruh konsentrasi kinetin yang digunakan menunjukkan pertumbuhan terbaik kalus kopi Liberika baik dari segi warna kalus, struktur kalus, serta ukuran kalus. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan yakni 4 ppm yang dikombinasikan dengan seluruh konsentrasi kinetin yang digunakan menunjukkan pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi yang semakin baik, dengan dominasi warna kalus yang muncul yakni putih dan kekuningan dengan struktur yang remah serta rata-rata penambahan ukuran kalus tertinggi yakni 1,48 cm.

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Riana Azizah
Nim : D1A013038
Jurusan/Progam Studi : Agroekoteknologi/Agronomi

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini belum pernah diajukan dan tidak pernah dalam proses pengajuan dimanapun dan atau oleh siapapun juga.
2. Semua sumber kepustakaan dan bantuan dari berbagai pihak yang diterima selama penelitian dan penyusunan skripsi ini telah dicantumkan atau dinyatakan pada bagian yang relevan, dan skripsi ini bebas dari plagiatisme.
3. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini telah diajukan atau dalam proses pengajuan oleh pihak lain tau terdapat plagiatisme di dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai pasal 12 ayat (1) butir (g) Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 17 tahun 2010 tentang pencegahan dan penanggulangan plagiat di Perguruan Tinggi, yakni pembatalan ijazah.

Jambi, Juni 2017

Yang Membuat Pernyataan

Riana Azizah

NIM. D1A013038

RIWAYAT HIDUP



RIANA AZIZAH. Penulis dilahirkan di Fak-fak pada tanggal 21 Mei 1995. Penulis adalah anak kedua dari enam bersaudara dari pasangan Bapak Syawal dan Ibu Nurhayati.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 133 Talang Bakung, Kota Jambi pada tahun 2007. Pada tahun 2010 penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 6

Pasir putih Kota Jambi. Pendidikan Sekolah Menengah Atas diselesaikan pada tahun 2013 di SMKN 2 Pasir Putih dan pada tahun yang sama penulis diterima di Universitas Jambi melalui jalur SBMPTN tertulis. Penulis memilih Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi.

Pada bulan Juli tahun 2016 penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Rawa Medang Kec. Batang Asam, Kab. Tanjung Jabung Barat, dan pada bulan Desember 2016 sampai bulan Maret 2017 penulis melaksanakan penelitian dengan judul “Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) Dengan Kombinasi 2,4-D Dan Kinetin Secara *In Vitro* “. Dibawah bimbingan Ir. Neliyati, M.Si dan Dr. Ir. Hj. Rainiyati, M.Si. Pada tanggal 17 Mei 2017 penulis melaksanakan ujian skripsi, dan dinyatakan lulus sebagai Sarjana Pertanian, di Fakultas Pertanian Universitas Jambi.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim, Alhamdulillahirobbil ‘alamin, dengan mengucapkan puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. *Tungkal Jambi*) Dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin Secara *In Vitro*”**.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Ayahanda tercinta Syawal dan Ibunda tercinta Nurhayati yang banyak memberikan dukungan dan doa, serta kepada Ir. Neliyati, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi I dan Dr. Ir. Rainiyati, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi II yang telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahan dalam pembuatan skripsi ini. Selanjutnya ucapan terimakasih kepada keluarga dan orang-orang tercinta yang telah banyak memberikan dukungan moril dan materil kepada penulis dan rekan-rekan mahasiswa seperjuangan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Demi kesempurnaan skripsi ini, penulis mengharapakan kritik dan saran yang sifatnya membangun. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan pihak yang membutuhkan.

Jambi, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR LAMPIRAN.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	4
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Pendahuluan	6
2.2 Botani Tanaman Kopi	7
2.3 Penerapan Teknik Kultur Jaringan Pada Tanaman	9
2.4 Pertumbuhan Kalus	10
2.5 Peranan Zat Pengatur Tumbuh Untuk Pertumbuhan Kalus	13
2.6 Kesimpulan	17
III. METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Tempat Dan Waktu	18
3.2 Bahan Dan Alat.....	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	18
3.4 Pelaksanaan Penelitian	19
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	19
3.4.2 Pembuatan Media.....	20
3.4.3 Persiapan Dan Penanaman Eksplan	20
3.4.4 Pemeliharaan.....	21
3.5 Variabel Yang Diamati	22
3.5.1 Warna Kalus.....	22
3.5.2 Struktur Kalus	22
3.5.3 Ukuran Kalus	22
3.5.4 Pengamatan Mikroskopis.....	22
3.6 Analisis Data	22

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil	23
4.1.1. Warna Kalus.....	23
4.1.2. Tekstur Kalus	25
4.1.3. Ukuran Kalus	26
4.1.4. Pengamatan Mikroskopis.....	26
4.2. Pembahasan.....	27
4.2.1. Warna Kalus.....	27
4.2.2. Struktur Kalus	29
4.2.3. Ukuran Kalus	30
4.2.4. Pengamatan Mikroskopis.....	31
V. PENUTUP.....	32
5.1. Kesimpulan	32
5.2. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Deskripsi kopi Liberika Tungkal Komposit	38
2. Komposisi Medium MS	39
3. Perhitungan pembuatan larutan stok 2,4-D dan kinetin	40
4. Denah percobaan.....	42
5. Warna kalus dan struktur kalus	43
6. Penambahan Ukuran Kalus	46
7. Glosarium.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan 2,4-D dan kinetin	19
2. Pengaruh berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap warna Kalus 12 Minggu Setelah Kultur	23
3. Pengaruh berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap struktur Kalus 12 Minggu Setelah Kultur	25
4. Pengaruh berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap Penambahan ukuran kalus 12 Minggu Setelah Kultur	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun kimia 2,4-D.....	14
2. Rumus bangun kimia kinetin.....	15
3. Keseimbangan auksin dan sitokinin.....	16
4. Eksplan awal yang digunakan.....	21
5. Warna kalus 12 Minggu Setelah Kultur.....	24
6. Struktur kalus 12 Minggu Setelah Kultur.....	25
7. Pengamatan mikroskopis kalus 12 Minggu Setelah Kultur.....	27

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di Indonesia dan di dunia serta berperan penting sebagai sumber devisa negara. Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam. Pada tahun 2013 Indonesia mampu memproduksi 675.881 ton, sedangkan pada tahun 2014 menghasilkan 685.089 ton (Direktorat Jendral Perkebunan, 2014). Beberapa jenis tanaman kopi yang dibudidayakan di Indonesia yaitu Robusta, Arabika, dan Liberika.

Kopi Liberika merupakan salah satu kopi yang banyak dikembangkan di Kabupaten Tanjung Jabung Barat Provinsi Jambi yang lebih dikenal dengan nama kopi Liberika Tungkal Jambi. Komoditi kopi ini merupakan komoditi andalan di Tanjung Jabung Barat. Luas areal perkebunan kopi Liberika di Tanjung Jabung Barat pada tahun 2012 mencapai 2.538 ha⁻¹ dengan total produksi mencapai 1.114 ton dan produktivitas 586 kg ha⁻¹. Pada tahun 2013 mencapai 2.710 ha⁻¹ dengan total produksi mencapai 1.227 ton dan produktivitas 622 kg ha⁻¹ (Dinas Perkebunan Provinsi Jambi, 2014).

Kopi Liberika Tungkal Jambi sudah ada di Kabupaten Tanjung Jabung Barat sejak tahun 1940, memiliki ciri khas citarasa, buah dan daun berbeda dengan kopi Robusta atau Arabika, serta mampu beradaptasi baik di lahan gambut dengan tanaman penayang pohon pinang. Pertama kali kopi Liberika dibawa dari Malaysia oleh Haji Sayuti. Sekarang kopi Liberika Tungkal Jambi sudah menyebar tumbuh di beberapa desa di Kabupaten Tanjung Jabung Barat (2.538 ha) dan menjadi sumber mata pencaharian yang utama bagi penduduk setempat (Hulupi, 2014).

Tanaman kopi dapat diperbanyak secara generatif menggunakan biji maupun vegetatif menggunakan setek, okulasi, cangkok. Perbanyak dengan biji dapat mengakibatkan hasil tanaman yang tidak seragam karena banyak mengalami segregasi (Hulupi, 2014), karena kopi jenis Liberika memiliki sifat menyerbuk silang (*cross-pollinator*), selain itu proses seleksi memerlukan waktu yang relatif

lama. Perbanyak vegetatif menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya, tetapi tidak semua cabang kopi dapat dijadikan sumber bahan tanam.

Permasalahan yang dihadapi sekarang bahwa tanaman kopi Liberika Tungkal Jambi umurnya mencapai 40-50 tahun, sedangkan umur ekonomisnya 30 tahun, oleh karena itu perlu upaya peremajaan tanaman kopi. Dalam peremajaan tanaman kopi diperlukan bibit unggul dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat, memiliki produksi yang tinggi, tahan terhadap penyakit.

Menurut Zulkarnain (2009) aplikasi kultur jaringan tanaman memiliki manfaat utama yaitu perbanyak klon atau perbanyak masal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Adapun manfaat-manfaat lain dari kultur jaringan dalam beberapa hal khusus yakni lingkungan terkendali, tidak merusak pohon induk, membutuhkan bahan tanam yang sedikit, menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar dan seragam dengan waktu yang singkat, dan bebas penyakit, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun, dan dapat memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional.

Perbanyak secara *in vitro* dapat dilakukan dengan cara organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis merupakan suatu proses terbentuknya pucuk atau akar adventif yang berkembang dari dalam massa kalus. Proses pembentukan pucuk atau akar adventif berlangsung setelah suatu periode pertumbuhan kalus. Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Cara embriogenesis somatik banyak mendapat perhatian karena jumlah propagula yang dihasilkan tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat (Anggraeni *et al.*, 2012).

Perbanyak suatu tanaman secara kultur jaringan terdapat dua macam kalus yang akan terbentuk, yaitu kalus embriogenik dan kalus non-embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang mempunyai potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis atau embriogenesis. Warna kalus umumnya putih bening atau putih kekuningan dengan tekstur *friable* atau remah. Ciri fisik ini merupakan ciri umum kalus yang bersifat embriogenik, yakni kalus yang dapat berkembang menjadi embrio somatik jika disubkultur pada medium

baru yang sesuai. Kalus non-embriogenik dicirikan dengan struktur kalus lunak, berair, berwarna kecoklatan serta tidak mengalami proses perkembangan fase embryogenesis (Rusdianto dan Indrianto, 2012).

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah jenis eksplan, genotipe tanaman donor, kondisi fisiologis tanaman donor, jenis dan kondisi fisik medium, lingkungan kultur, dan zat pengatur tumbuh (Zulkarnain, 2009). Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah (<1 mg) mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan antara lain auksin (2,4 *Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), picloram, IAA, dan NAA), sitokinin (BA, kinetin, dan adenin sulfat), giberelin (*Giberelin acid*), dan inhibitor. Konsentrasi ZPT yang digunakan tergantung pada tahap perkembangan yang terjadi. Untuk menginduksi kalus embriogenik, sering digunakan auksin khususnya 2,4-D atau kombinasinya. Penggunaan auksin sendiri atau bersamaan dengan sitokinin juga memberikan hasil yang cukup baik pada beberapa jenis tanaman (Abdillah, 2013). Zat pengatur tumbuh yang digolongkan sebagai sitokinin salah satunya adalah kinetin. Kinetin merupakan sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari pada sitokinin alami (Santoso dan Nursandi, 2003).

Kalus umumnya mudah terbentuk dan berkembang dengan baik pada media dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4- *Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D). Penambahan 2,4-D dalam media tanam akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus (Rahayu *et al.*, 2003).

Hasil penelitian Rahayu *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa penambahan 3 mg L⁻¹ 2,4-D efektif untuk memacu pertumbuhan kalus *Acalypha indica*. Hertiasari *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa Pemberian 2,4-D dan glutamin berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kalus ubi jalar kultivar Ayamurasaki. Konsentrasi 0,4 mg L⁻¹ 2,4-D tanpa glutamin merupakan konsentrasi terbaik untuk rata-rata bobot segar kalus pada tanaman ubi jalar. Lizawati (2012) berhasil menginduksi kalus embriogenik eksplan tunas apikal jarak pagar dari kombinasi perlakuan 0 ppm dan 2,5 ppm 2,4-D dengan

penambahan TDZ pada konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm dan 2 ppm. Hasil penelitian Rusdianto dan Indrianto (2012) menyatakan bahwa penambahan 2 mg/l 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) pada medium Murashige and Skoog (1962), dapat menginduksi pembentukan kalus embriogenik pada hipokotil kecambah wortel (*Daucus carota* L) setelah dikultur selama lima minggu.

Hasil penelitian Hellyanto (2008) menyebutkan bahwa kombinasi perlakuan 2,4-D 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm pada media MS menunjukkan nilai yang optimal (95%) mampu menginduksi kalus serta merangsang peningkatan pertumbuhan kalus dan pengaturan pembelahan sel secara optimal. Sumaryono *et al.*, 2007 berhasil menginduksi kalus embriogenik yang berasal dari daun pupus kelapa sawit dengan kombinasi 2,4-D 1 ppm dan kinetin 0,1 ppm. Sejalan dengan hasil penelitian Ibrahim *et al.*, 2012 yang menyatakan bahwa Perlakuan dengan pemberian zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan kinetin mempunyai berat jauh lebih besar dibandingkan dengan pemberian secara tunggal. Hasil ini menunjukkan bahwa untuk menginduksi kalus embriogenik dan massa proembrio kopi Arabika selain membutuhkan auksin juga memerlukan sitokinin.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian berjudul **“Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) Dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin Secara *In Vitro*”**.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi).
2. Mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang terbaik untuk pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi).

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv.

Tungkal Jambi) dari beberapa kombinasi 2,4-D dan kinetin secara *In vitro* dan dapat dipergunakan sebagai bahan acuan untuk penelitian tanaman kopi Liberika Tungkal Jambi.

1.4 Hipotesis

1. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin akan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan eksplan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi.
2. Kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 4 ppm dan kinetin 1 ppm akan memberikan respon terbaik terhadap pertumbuhan dan pembentukan kalus embriogenik kopi Liberika Tungkal Jambi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pendahuluan

Pengembangbiakan secara *in vitro* (kultur jaringan) merupakan alternatif yang prospektif melengkapi pengembangbiakan cara alami maupun cara buatan lainnya, terutama untuk kebutuhan skala besar dan cepat. Metode kultur jaringan banyak dimanfaatkan di bidang pertanian untuk pengadaan bibit secara massal, menciptakan bibit unggul yang toleran terhadap penyakit, kadar garam dan kekeringan, untuk produksi biomassa, produksi metabolit sekunder, dan untuk mendapatkan varian baru. Keberhasilan kultur jaringan tergantung dari beberapa faktor, meliputi faktor lingkungan dan faktor endogen dari eksplan. Faktor lingkungan meliputi kondisi media, zat pengatur tumbuh (ZPT), suhu, cahaya dan proporsi sukrosa. Faktor endogen meliputi kondisi eksplan seperti umur, keadaan fisiologis dan hormon, jenis organ dan ukuran eksplan (Suyitno dan Henuhili, 2011).

Terdapat lima kelompok zat pengatur tumbuh yang terdapat di dalam tanaman yaitu terdiri dari auksin, sitokinin, giberelin, asam absisik dan etilen yang masing-masing memiliki ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi (Abidin, 1983). Menurut Gunawan (1992), dalam kultur jaringan dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ.

Umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Gunawan, 1992). Untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik seringkali auksin diperlukan dalam konsentrasi yang relative tinggi. Proses pemanjangan sel oleh auksin dimulai dari masuknya auksin ke dalam sitoplasma sehingga akan mempengaruhi protein dalam membran dan menyebabkan terpompanya ion H^+ dari sitoplasma menuju dinding sel. Masuknya ion H^+ kedalam dinding sel akan meningkatkan pH dinding sel menjadi asam sehingga mampu mengaktifkan enzim-enzim yang bergantung pada pH, seperti enzim selulase dan β -1,3 glucanase. Teraktivasinya

enzim-enzim tersebut akan memutuskan ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Akibatnya dinding sel menjadi lentur dan air disekitar sel akan masuk ke dalam sel melalui osmosis menyebabkan sel bertambah panjang. Auksin selain menginduksi pemanjangan sel juga meningkatkan aktivitas enzim selulosa sintesa yang bertugas untuk mensintesis dinding sel baru (Woodward dan Bartel, 2005).

Sitokinin adalah senyawa turunan adenine yang mampu mempengaruhi berbagai proses fisiologis didalam tubuh tanaman. Sitokinin digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Karjadi dan Buchory, 2008). Zulkarnain (2009) menambahkan mekanisme sitokinin dalam mengatur pembelahan sel yaitu dengan meningkatkan ekspresi D-type cyclin gene *CycD3* yaitu gen yang mengatur proses transisi G1 menuju fase M dalam siklus sel. Berdasarkan uraian diatas, setiap tanaman memiliki sifat yang berbeda-beda, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang tepat sebagai hormon eksogen sebagai media terbaik dalam pertumbuhan dan perkembangan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi.

2.2 Botani Tanaman Kopi Liberika

Kopi Liberika (*Coffea liberica* Bull ex Hiern) berbeda dengan kelompok kopi Arabika dan Robusta. Kopi Liberika tergolong sama dengan kopi Robusta sebagai tanaman penyerbuk silang, oleh karena itu benih yang terbentuk merupakan persarian dengan tanaman lain. Perbanyak tanaman lebih mudah dilakukan dengan biji, akan tetapi pemilihan pohon induk kopi penting dilakukan setelah pelepasan varietas dilakukan, karena belum tentu sifat induk kopi terpilih akan mewarisi sifat unggul seperti induknya disebabkan pengaruh sifat tanaman penyerbuk yang belum tentu kompatibel menghasilkan keturunan sebaik kedua tetuanya (BPTP Jambi, 2014).

Klasifikasi dari tanaman kopi Liberika adalah sebagai berikut : Kingdom *Plantae*, Divisi *Tracheophyta*, Sub-divisi *Spermatophyta*, Kelas *Magnoliopsida*, Ordo *Gentianales*, Famili *Rubiceae*, Genus *Coffea* dan Spesies *Coffea liberica*

Bull ex Hiern (Dinas Perkebunan Provinsi Jambi, 2016). Kopi Liberika Tungkal Jambi tergolong pada tipe pertumbuhan pohon dengan habitus tipe tinggi, diameter tajuk 3,5-4 m dan jika dibiarkan tumbuh tinggi tanaman dapat mencapai 5 m atau lebih. Keragaman tanaman dapat digolongkan berdasarkan pada 5 (lima) tipe daun dan buah.

1. Tipe pertama : ukuran daun sedang, pupus daun berwarna hijau muda, ujung daun runcing, buah bulat , diskus datar lebar, ruas antar dompolan buah sedang, kelebatan buah sedang.
2. Tipe kedua : ukuran daun besar, lebar daun sempit, ujung meruncing, ukuran buah besar bentuk oval, diskus besar menonjol, ruas cabang sedang, buah lebat.
3. Tipe ketiga : ukuran daun seukuran daun nangka ujung runcing, buah berbentuk oval dengan diskus kecil menonjol, buah lebat dengan ruas sangat pendek.
4. Tipe keempat : ukuran daun sedang, ujung runcing, buah bulat besar diskus menonjol, ruas antar dompolan pendek, buah sangat lebat
5. Tipe kelima : ukuran sedang, buah berukuran sedang dengan diskus menonjol tinggi, dompolan buah rapat, kelebatan buah sedang (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, 2014).

Bunga kopi tumbuh pada cabang primer dan cabang sekunder, tersusun berkelompok-kelompok. Tiap kelompok terdiri atas 4-6 kuntum bunga yang bertangkai pendek. Pada tiap-tiap ketiak daun dapat tumbuh 3-4 kelompok bunga, maka pada tiap ketiak daun dapat keluar sampai ribuan kuntum bunga, tetapi pada umumnya yang dapat menjadi buah kurang lebih hanya 40% saja. Bunga yang sudah mekar berwarna putih, sebelum mekar masih berbentuk kuncup yang panjangnya 4-5 mm. Kuntum bunga mempunyai ciri-ciri yaitu, kelopak bunga berwarna hijau, berukuran kecil dan pendek, daun mahkota bunga terdiri dari 6-8 helai, benang sari terdiri dari 5-7 helai, berukuran pendek, tangkai putik berukuran kecil panjang, didalamnya terdapat 2 butir bakal biji. Dari bunga (bakal buah) sampai menjadi buah masak akan berlangsung 7-9 bulan. Tergantung pada jenis, iklim dan letak geografis (Aksi Agraris Kanisius, 2006).

Ada beberapa macam karakter warna buah masak yaitu : masak merah, masak orange, masak kuning dan masak hijau. Beberapa macam sifat diskus buah adalah: diskus kecil menonjol, diskus menonjol lebar, diskus datar kecil, diskus datar sangat lebar. Kopi Liberika daging buahnya tebal dan pupus daunnya berwarna hijau atau hijau sedikit kecokelatan.

Sebagaimana kopi jenis lain yang tumbuh di daerah Sumatera, kopi Liberika memiliki masa panen hampir merata sepanjang tahun, dengan puncak masa panen dua kali dalam setahun. Potensi produksi kopi Liberika Tunggal Jambi jika rata-rata adalah 909 gram biji kopi/pohon atau setara dengan 950 kg biji untuk penanaman dengan populasi 900-1.000 pohon/ha.

Keunggulan lainnya adalah varietas ini memiliki kriteria tahan sampai agak tahan terhadap penyakit karat daun dan terhadap serangan penggerek buah kopi. Dari segi citarasa, hasil uji mencapai nilai kesukaan (preferensi) rata-rata 7 atau mutu citarasa bagus. Dengan pemeliharaan yang baik umur ekonomis tanaman diharapkan dapat mencapai 30 tahun. Kemampuan beradaptasi pada dataran rendah (< 700 m dpl) dan pada lahan gambut baik (Masyarakat Perlindungan Indikasi Geografis, 2014).

2.3 Penerapan Teknik Kultur Jaringan Dalam Perbanyakan Tanaman

Kultur jaringan adalah suatu upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan, dan organ), kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril di bawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Teknik kultur jaringan dilakukan berdasarkan sifat totipotensi sel. Totipotensi sel yaitu suatu konsep yang menyatakan bahwa setiap sel hidup memiliki potensi genetik untuk menghasilkan organisme lengkap. Tipe kultur dalam teknik kultur jaringan berdasarkan macam eksplan yang digunakan dikenal dengan beberapa tipe kultur, seperti kultur organ (biji, meristem, nodus tunggal, potongan daun, akar, serta tunas), kultur kalus, kultur sel, dan kultur protoplas (Zulkarnain, 2009). Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif dan menggunakan media buatan yang aseptik. Perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan memungkinkan menghasilkan benih

dalam jumlah besar yang sifat genetiknya identik, keseragaman yang tinggi, diperbanyak dalam waktu yang relatif cepat, dan dapat diproduksi sepanjang tahun (Santoso dan Nursandi 2003).

Kultur jaringan berguna untuk mempercepat perbanyak tanaman secara aseksual, menghasilkan tanaman bebas penyakit, juga dapat digunakan untuk memperbaiki tanaman secara genetik. Setiap bagian tanaman dapat dijadikan eksplan, namun pada umumnya, bagian tanaman yang bersifat meristematik dapat ditumbuhkan dengan lebih mudah, seperti biji atau kotiledon, tunas pucuk, potongan batang muda, potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi lapis dengan sebagian batang dan bagian bunga (Zulkarnain, 2009).

Penerapan teknik kultur jaringan telah banyak digunakan untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah yang banyak dan memperbanyak bahan tanam yang sulit diperbanyak secara generatif. Karjadi (2016), telah berhasil menerapkan teknik kultur jaringan untuk perbanyak tanaman kentang dengan menghasilkan materi berupa plantlet dan umbi mikro, dimana umbi mikro ini dapat membantu dalam pemecahan tingginya tingkat kegagalan aklimatisasi plantlet. Hasil penelitian Afriyani (2006), pada tanaman anggrek *Dendrobium stadia* pembesaran plantlet dapat menghasilkan plantlet paling tinggi berukuran 3,19 cm, jumlah daun terbanyak yakni 6,60 daun dan jumlah akar terbanyak yakni 9,80 akar pada 24 MST. Parmana (2015) berhasil menginduksi tunas dengan penambahan konsentrasi 0,5 ppm 2,4-D dengan waktu pembentukan tunas 19,20 HST. Rudiyanto (2014) berhasil menginduksi embrio somatik dan kemudian menumbuhkan plantlet pada media MS dengan penambahan 1 ppm BAP atau 2 ppm 2-IP serta mampu menginduksi perakaran plantlet *J. curcas* dengan mengkultur plantlet di media dasar ½ MS tanpa penambahan auksin.

2.4 Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika

Kalus merupakan sumber bahan tanam yang sangat penting dalam meregenerasi tanaman yang baru. Setiap selnya memiliki kemampuan membentuk organisme baru. Pembentukan dan pertumbuhan kalus selain dipengaruhi oleh media kultur yang digunakan juga dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh, baik auksin maupun dikombinasikan dengan sitokinin. Pemakaian kedua

jenis zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi tepat dapat mengatur arah dan kecepatan pertumbuhan jaringan. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan zat pengatur tumbuh.

Perbanyakan suatu tanaman secara kultur jaringan terdapat dua macam kalus yang akan terbentuk, yaitu kalus embriogenik dan kalus non-embriogenik. Kalus embriogenik ditandai dengan struktur kalus kering, berwarna putih susu, mengkilat, dan remah (mudah dipisahkan), sedangkan kalus non embriogenik berwarna bening kecoklatan, struktur kalus kompak sehingga sulit dipisahkan, dan basah. Kalus yang mempunyai struktur kompak diindikasikan sebagai kalus yang tidak embriogenik (non friable). Kalus embriogenik mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk organ (tunas, daun, dan akar) dari pada kalus yang non embriogenik (Sukmadjaja, 2011). Sujatmiko (2012), juga menambahkan bahwa pada umumnya kalus embriogenik ditandai dengan bentuknya yang friable, tidak berair, memiliki green spot dan berwarna kehijauan. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang sulit untuk diregenerasikan dengan tanda-tanda berair, berwarna kuning pucat, dan tidak memiliki struktur globular. Oleh karena itu, kalus yang baik untuk membentuk organ spesifik adalah kalus embriogenik.

Perkembangan dari kalus yang telah embriogenik dapat diarahkan ke organogenesis dan embriogenesis. Perbedaan dari kedua tipe generasi ini adalah organogenesis bersifat unipolar dimana ada hubungan jaringan antara eksplan pohon induk dengan organ yang terdiferensiasi. Ada tiga proses dasar dari tipe regenerasi organogenesis, yaitu pembelahan sel, pembesaran sel dan diferensiasi. Organogenesis yang telah dilakukan pada tanaman pisang melalui beberapa tahapan pertumbuhan yakni : induksi tunas, multiplikasi, perakaran dan aklimatisasi. Sementara ini embriogenesis bersifat bipolar dimana tidak ada hubungan jaringan pembuluh dengan pohon induknya (Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Kementerian Pertanian, 2015).

Embriogenesis somatik adalah proses dimana sel-sel somatik berkembang menjadi embrio melalui tahap-tahap morfologi yang khas tanpa melalui fusi gamet (Arimarsetyowati, 2011). Proses embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adalah genotip tanaman, sumber eksplan, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan keadaan fisiologi sel. Embrio somatik biasanya berasal dari

sel tunggal yang kompeten dan berkembang membentuk fase globular, hati, torpedo, dan akhirnya menjadi embrio somatik dewasa yang siap didekembangkan membentuk plantlet/tanaman utuh (Pardal *et al.*, 2001).

Eksplan pada metode ini akan membentuk embrioid (bentuk-bentuk serupa embrio), dan tidak menjadi akar atau tunas. Embrio somatik yang berasal dari kultur sel, jaringan, atau organ dapat terbentuk secara langsung atau tidak langsung. Embrio somatik secara langsung yaitu pembentukan embrio tanpa melalui pembentukan kalus. Sel somatik adalah sel tanaman yang dalam keadaan normal tidak terlibat dalam perkembangan embrio, contohnya jaringan daun tanaman. Umumnya embrio somatik berkembang dari satu sel, yang kemudian membelah dan berkembang menjadi kumpulan sel meristematis. Kumpulan sel meristematis ini lalu terus berkembang hingga menjadi embrio tanaman, yang disebut embrio somatik (Abdillah, 2013).

Cara embriogenesis somatik banyak mendapat perhatian karena jumlah propagula yang dihasilkan tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang singkat. Selain itu untuk mendukung program pemuliaan tanaman melalui rekayasa genetika, penggunaan embrio somatik dapat mempercepat keberhasilan peluang transformasi yang tinggi karena embrio somatik dapat berasal dari satu sel somatik. Untuk penyimpanan jangka pendek maupun jangka panjang, embrio somatik dianggap merupakan bahan tanaman yang ideal untuk disimpan karena bila diregenerasikan dapat membentuk bibit somatik (Pardal *et al.*, 2001).

Regenerasi melalui embriogenesis somatik memberikan banyak keuntungan, antara lain waktu perbanyakan lebih cepat, pencapaian hasil dalam mendukung program perbaikan tanaman lebih cepat dan jumlah bibit yang dihasilkan tidak terbatas jumlahnya (Zulkarnain, 2009). Menurut Lestari (2008), Pembentukan plantlet melalui embriogenesis somatik mempunyai banyak keuntungan antara lain (1) waktu perbanyakan dapat lebih cepat, (2) pencapaian hasil dalam mendukung program pemuliaan juga lebih cepat, dan (3) jumlah tanaman yang dihasilkan lebih banyak.

Perkembangan embrio somatik dimulai dari proembrio berubah fase menjadi globular berwarna putih jantung, torpedo hingga terbentuk kotiledonari. Hasil pengamatan menunjukkan proembrio mulai membentuk fase globular pada

tiga minggu setelah disubkultur. Perubahan fase globular menjadi embrio fase kotiledonari embrio pada 4-8 minggu setelah perlakuan. Perkembangan proembrio membentuk embrio somatik tidak terjadi serempak pada satu inokulum (Lubis, 2013). Menurut Hellyanto (2008), fase heart, fase terpedo, fase kotiledon mulai teramati 7 minggu setelah subkultur pada media embriogenesis. Embrio globular mulai mengalami perubahan bentuk seperti hati, kemudian embrio yang berbentuk hati mengalami pemanjangan (fase terpedo), dan membentuk seperti bakal tunas (kotiledon).

Ciri khusus dari embrio somatik adalah memiliki struktur bipolar yaitu mampu membentuk dua calon meristem yaitu meristem akar dan meristem tunas dan tanaman baru yang terbentuk membutuhkan waktu yang relatif pendek jika dibandingkan dengan perbanyakan tunas adventif yang unipolar (Lestari, 2011). Keberhasilan embriogenesis somatik terjadi apabila kalus/sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil dan mengandung butir pati (Pangesti *et al.*, 2011).

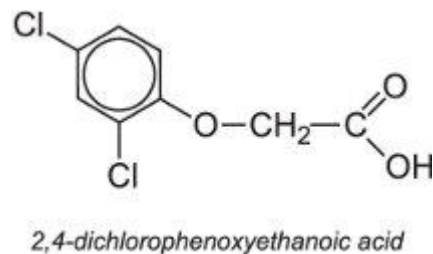
Menurut Taryono (2012), embriogenesis somatik mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan kultur mata tunas dan organogenesis. Embrio yang dihasilkan bersifat bipolar sehingga tahapan pengakaran tidak diperlukan, bibit dari biji apomiksis sangat serupa, kalus embriogenik dapat diperbanyak dan dipercepat dalam media cair, bibit dapat dibuat setiap saat tanpa mengenal musim dan masa istirahat embrio.

2.5 Peranan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Kalus

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah (<1 mg) mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Beberapa ZPT yang telah dikenal adalah auksin, giberelin, sitokinin, etilen, inhibitor. Keberhasilan embriogenesis somatik dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah jenis eksplan, genotipe tanaman donor, kondisi fisiologis tanaman donor, jenis dan kondisi fisik medium, lingkungan kultur, dan ZPT. Penggunaan ZPT dapat merangsang cepat pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada kondisi normal,

sedangkan apabila tidak menggunakan zat pengatur tumbuh pertumbuhan tanaman akan lambat utamanya tanaman yang dikembangbiakkan secara vegetatif (Trisna *et al.*, 2013).

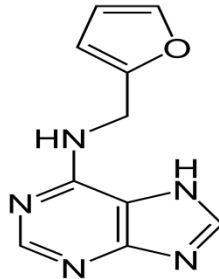
Zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Auksin merupakan salah satu ZPT yang berperan dalam perkembangan tumbuhan, antara lain untuk pemanjangan sel (Utami *et al.*, 2007), proliferasi kalus (Huan *et al.*, 2004), induksi embrio somatik (Sholeha, 2015). Salah satu ZPT yang digolongkan auksin adalah asam 2,4-D. Auksin dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi terjadinya kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar atau tunas, mendorong proses embriogenesis, dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2003). 2,4-D merupakan auksin sintesis yang sering digunakan untuk menginduksi embrio somatik. Hal ini dapat diamati dari segi aktivitas 2,4-D lebih optimal jika dibandingkan dengan IAA (Wattimena, 1988) yang disebabkan karena 2,4-D memiliki gugus karboksil yang dipisahkan oleh karbon dan oksigen sehingga akan memberikan aktivitas yang optimal (Gambar1) (Abidin, 1983).



Gambar 1. Rumus Bangun Kimia 2,4-D

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sama halnya dengan kinetin (6-furfurylaminopurine) (Zulkarnain, 2009). Sitokinin dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu sitokinin alami dan sitokinin sintetik. Sitokinin alami tersedia di dalam tubuh tanaman dalam bentuk zeatin rebotida dan zeatin rebosida sedangkan sitokinin sintesis seperti benzyl adenine (BA), 6-benzyl amino purin (BAP) dan kinetin. Sitokinin sintetik memiliki modifikasi edenin dan rantai samping yang berasal dari asam mevalonat (Gambar 2) (Wattimena, 1988).

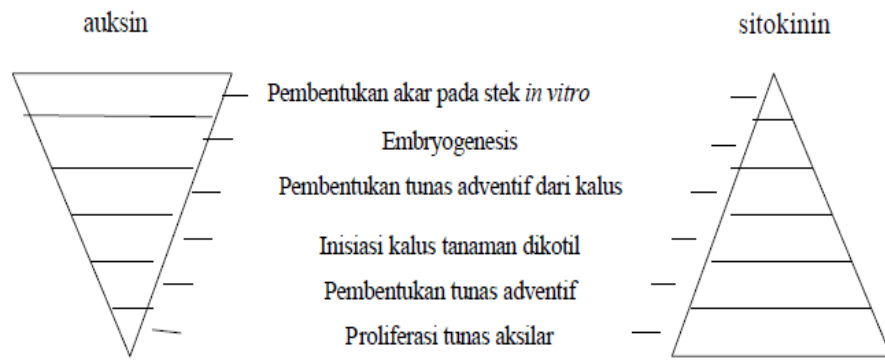
Kinetin mampu meningkatkan proliferasi kalus dan regenerasi melalui mitosis sitokinesis, sintesis total protein, biosintesis lignin, diferensiasi pembuluh vaskuler dan diferensiasi kloroplas dari protoplas (Wan dan Liang, 1988).



Gambar 2. Rumus Bangun Kimia Kinetin

Pada tahap induksi kalus embriogenik dibutuhkan media yang mengandung auksin dengan konsentrasi tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 2,4-D merupakan auksin yang efektif untuk induksi kalus embriogenik pada beberapa tanaman jarak pagar dan pada beberapa tanaman lain seperti tebu kopi Arabika dan tanaman kurma (Anggraeni *et al.*, 2012). Persentase rata-rata pembentukan kotiledonari tertinggi adalah media dengan kombinasi 1 μ M 2,4-D dan 5 μ M BA yaitu 100 % pada 21 MSP (Lubis, 2013).

Sitikonin adalah senyawa turunan adenin yang mampu mempengaruhi berbagai proses fisiologis dalam tubuh tumbuhan. Sitokinin digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Karjadi dan Buchori, 2008). Perlu adanya rasio tertentu antara auksin dan juga sitokinin, seperti yang tertera pada (Gambar 3), untuk pembentukan akar pada setek *in vitro* membutuhkan auksin dengan jumlah yang banyak dan sitokinin hanya dengan jumlah yang sangat sedikit, berbeda untuk proliferasi tunas aksilar membutuhkan sitokinin dalam jumlah yang banyak dan auksin dalam jumlah yang sangat sedikit. Konsentrasi penggunaan auksin dan sitokinin tergantung dari tujuan pengkulturan.



Gambar 3. Keseimbangan Auksin Dan Sitokinin Sumber : (George dan Sherrington, 1984).

Menurut Syafarudin *et al.*, (2012), auksin yang digunakan bersama-sama dengan sitokinin dapat menstimulasi embriogenesis, namun untuk menginduksi embrio somatik diperlukan rasio tertentu dari kombinasi auksin dan sitokinin tersebut. Hal ini telah dibuktikan dari beberapa penelitian sebelumnya diantaranya pada tahap induksi kalus embriogenik tanaman tebu (*Saccharum officinarum* .L) *in vitro* mampu tumbuh optimal dalam media MS yang dilengkapi dengan 2,4-D ($0,5-3,5 \text{ mg L}^{-1}$) + 1 mg L^{-1} kinetin (Ali dan Iqbal, 2010).

Perlakuan dengan pemberian zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan kinetin mempunyai berat jauh lebih besar dibandingkan dengan pemberian secara tunggal. Hasil ini menunjukkan bahwa untuk menginduksi kalus embriogenik dan masa proembrio kopi Arabika selain membutuhkan auksin juga memerlukan sitokinin (Syafarudin *et al.*, 2012). Untuk memproduksi embrio somatik dan bibit somatik adalah media MS + BA $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ + kinetin $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (Hutami *et al.*, 2001). Lizawati (2012) melaporkan bahwa perlakuan 2,5 ppm 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm dan 2 ppm TDZ dapat menginduksi kalus yang embriogenik dengan persentase tertinggi terbentuknya kalus yang embriogenik yakni 1,77%.

Riyadi dan Tirtoba (2004) melaporkan bahwa induksi terbaik embrio somatik kopi Arabika varietas Kartika-1 secara langsung dari kultur daun muda diperoleh pada media MS standar yang diberi 4 mg L^{-1} 2,4-D dan dikombinasikan dengan $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ kinetin yang dapat menginduksi seluruh eksplan dalam waktu empat minggu setelah kultur. Hasil Penelitian Hellyanto (2008) eksplan embrio

globular dengan media [MS + 2,4-D 1,5 ppm + BA 0,5 ppm] yang dipindah ke media [MS + kinetin 1 ppm] rata-rata hari waktu munculnya embrio tercepat yakni 21 hari. Perlakuan eksplan embrio globular dengan media [MS + 2,4-D 1,5 ppm + BA 0,5 ppm] yang dipindah ke media [MS + 2,4-D 1,5 ppm + kinetin 1 ppm] pada eksplan Bima Juna, memberikan nilai rata-rata 40% terbentuk embrio dengan tahapan yang lengkap.

2.6 Kesimpulan

Dari hasil-hasil penelitian sebagaimana diutarakan diatas dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan 2,4-D dan kinetin akan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, Desa Mendalo Indah, Kecamatan Jambi Luar Kota, Kabupaten Muaro Jambi. Pelaksanaan penelitian ini berlangsung selama 3 bulan pada bulan Desember 2016 sampai bulan Maret tahun 2017.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan tanam (eksplan) yang digunakan adalah kalus hasil dari kultur jaringan yang berasal dari eksplan daun kopi *Liberika* Tungkal Jambi (Deskripsi pada Lampiran 1) yang berasal dari bibit kopi yang diperbanyak secara sambung pucuk. Media tanam yang digunakan adalah media *Murashige dan Skoog* (MS) (Komposisi media pada Lampiran 2). Sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D dan kinetin yang konsentrasinya sesuai dengan perlakuan. Bahan pematik digunakan *pure agar*, sukrosa, aquades steril sebagai pelarut, KOH 1N, HCl 1N, sabun cair, spritus, alkohol 70% serta alkohol 96% untuk sterilisasi alat.

Alat-alat yang digunakan yaitu *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFB), lemari pendingin, autoklaf, *hot plate*, pH meter, *magnetic stirrer*, timbangan analitik, gelas ukur, tisu, batang pengaduk, botol kultur, plastik tahan panas, karet gelang, *petridish*, lampu bunsen, korek api, kertas label, *hand sprayer*, gunting, pinset, pisau skalpel, erlenmeyer, pipet tetes, tangkai skalpel, cawan petri, rak kultur, kamera dan alat-alat tulis.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola factorial (2 faktor) yaitu :

Faktor pertama merupakan berbagai taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu :

d1 : 2 ppm 2,4-D

d2 : 3 ppm 2,4-D

d3 : 4 ppm 2,4-D

Faktor kedua merupakan berbagai taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu :

k1 : 0,5 ppm kinetin

k2 : 1 ppm kinetin

k3 : 1,5 ppm kinetin

Tabel 1. Perlakuan 2,4-D dan kinetin

2,4-D	Kinetin		
	k1	k2	k3
d1	d1k1	d1k2	d1k3
d2	d2k1	d2k2	d2k3
d3	d3k1	d3k2	d3k3

Kombinasi kedua faktor tersebut menghasilkan 9 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 27 satuan percobaan. Pada masing-masing satuan percobaan terdiri dari 4 botol kultur sehingga terdapat 108 botol kultur. Tiap botol kultur masing-masing 1 eksplan dan semua populasi diamati (Denah percobaan pada Lampiran 4).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Semua alat seperti botol-botol kultur, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer dan alat lainnya dicuci bersih setelah itu direndam satu malam dengan larutan NaCl lalu dicuci bersih dengan air steril setelah itu dikeringkan dan disterilkan dengan autoklaf pada tekanan 17,5 psi dan temperatur dengan suhu 121⁰C selama 20 menit. Selanjutnya sterilisasi tempat penanaman (*laminar air flow cabinet*) dengan menyalakan lampu UV 1 jam sebelum penanaman. Selanjutnya mengatur suhu ruangan tetap berkisar 25-28°C yaitu dengan menghidupkan AC serta menjaga kelembaban antara 60-70%.

3.4.2 Pembuatan Media

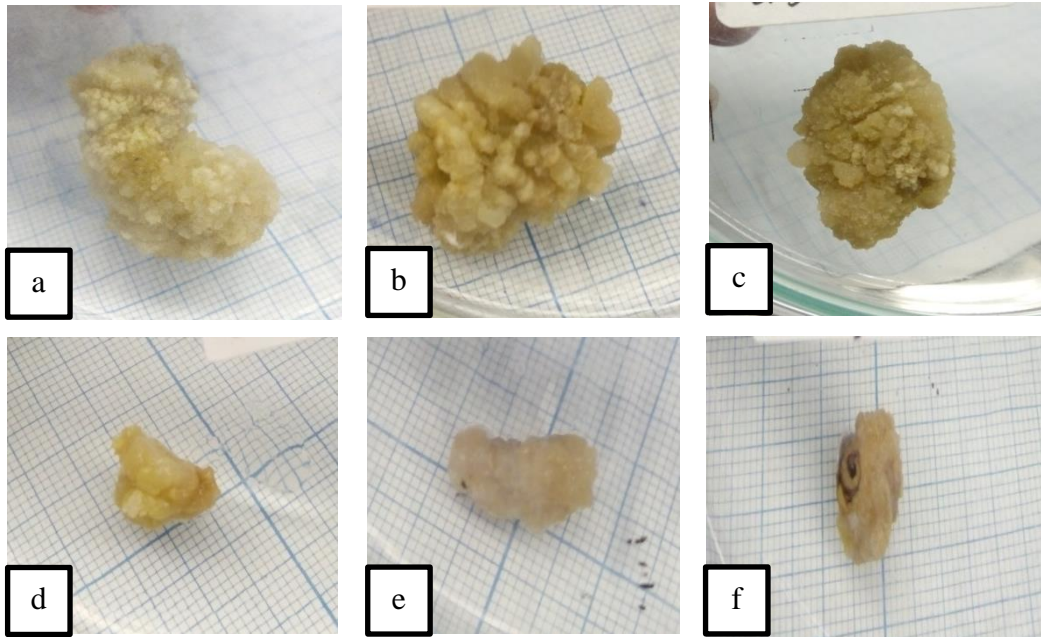
Dalam penelitian ini media tanam yang digunakan adalah media MS dengan kombinasi ZPT berupa 2,4-D dan kinetin dengan berbagai konsentrasi yang berbeda (Perhitungan pembuatan larutan stok pada Lampiran 3). Untuk pembuatan media, terlebih dahulu disiapkan larutan stok dengan cara menimbang zat kimia sesuai dengan takaran yang dibutuhkan untuk membuat larutan stok A, B, C, D, E, F, myo-inositol dan vitamin. Larutan stok tersebut dipekatkan masing-masing sesuai dengan takaran yang dibutuhkan, kemudian larutan stok di simpan di kulkas. Larutan stok zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin juga dibuat dengan konsentrasi sesuai takaran yang dibutuhkan.

Langkah pertama dalam membuat media adalah : menakar larutan stok yang sebelumnya telah dibuat sesuai dengan dosis yang dibutuhkan (A sampai F), serta myo-inositol dan vitamin sesuai kebutuhan. Setelah seluruh larutan stok dimasukkan ke dalam gelas piala, tahap selanjutnya memasukkan gula dan agar-agar ke dalamnya dan tambahkan dengan aquades hingga volume tepat 1 L, sebagai bahan pematat digunakan *pure* agar sebanyak 7g L^{-1} dan dipanaskan diatas *hot plate* sampai agar melarut dan homogen dengan komponen lainnya. Penambahan zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4-D sesuai perlakuan dengan menggunakan pipet folometrik, ukur pH media sampai 5,6-5,8 dengan menggunakan pH meter, apabila pH kurang dari 5,6 beri beberapa tetes KOH 1N dan jika pH lebih dari 5,8 diberi HCl 1N. Botol-botol yang sudah berisi media ditutup dengan plastik yang diikat dengan karet, selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 17,5 psi.

3.4.3 Persiapan dan Penanaman Eksplan

Sebelum dilakukan penanaman menggunakan 2,4-D dan kinetin dengan berbagai konsentrasi terlebih dahulu eksplan kalus di subkultur ke media MS tanpa ZPT apapun, tujuannya agar eksplan terbebas dari pengaruh perlakuan sebelumnya yaitu ZPT berupa 2,4-D dan BAP yang digunakan pada penelitian sebelumnya oleh Kudadiri (2016). Setelah di subkultur eksplan dipelihara dalam media netral selama 4 minggu. Setelah itu baru dilakukan penanaman eksplan ke media MS yang telah diberi perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D dan kinetin.

Penanaman kalus kopi Liberika Tungkal Jambi tersebut dilakukan dalam laminar air flow. Sebelum ditanam kalus dipotong dengan ukuran 1 cm (Gambar 4), pengukuran menggunakan millimeter blocks. Kalus kemudian ditanam pada medium MS dengan memakai pinset steril. Setiap botol medium hanya diisi dengan satu eksplan, kemudian botol ditutup kembali dengan plastik tahan panas steril.



Gambar 4. a), b) dan c) Beberapa kalus yang digunakan sebagai eksplan yang berasal dari media MS + 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (Sumber : Kudadiri, 2016). d), e) dan f) Gambar eksplan yang berukuran 1 cm dan siap untuk ditanam.

3.4.4 Pemeliharaan

Pemeliharaan pada penelitian ini bertujuan untuk menjaga kebersihan secara aseptis, dengan memisahkan botol-botol yang telah terkontaminasi oleh mikroorganisme (bakteri atau jamur) dari ruang inkubasi. Sebelum penelitian dimulai, penyemprotan botol-botol kultur dilakukan setiap hari dengan menggunakan alkohol 70%. Alat-alat selain botol kultur dibungkus dengan kertas sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf.

3.5 Variabel Yang Diamati

3.5.1 Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual yaitu di akhir penelitian. Warna kalus dapat bermacam-macam yaitu dapat berwarna putih bening, putih kecoklatan, putih kekuningan, kuning, kuning kecoklatan, coklat, coklat kehitaman dan hitam.

3.5.2 Struktur Kalus

Pengamatan struktur kalus dilakukan di akhir penelitian yaitu secara visual, dengan mengamati karakteristik kalus tersebut. Struktur kalus dapat dibedakan menjadi dua yaitu struktur kompak (permukaan kalus mengkilap dan seluruh permukaan rata) dan struktur remah (permukaan kalus tidak mengkilap dan bergelombang).

3.5.3 Ukuran Kalus (cm)

Pengukuran dilakukan pada akhir penelitian, yaitu dengan cara meletakkan eksplan dalam *petridisck* dan *petridisck* tersebut diletakkan diatas kertas millimeter blok kemudian ditentukan besarnya kalus berdasarkan kotak-kotak pada kertas millimeter blok. Pengukuran dilakukan di dalam Laminar Air Flow (L AFC).

3.5.4 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan ini dilakukan pada akhir penelitian dengan melihat ukuran sel, sitoplasma, ukuran inti sel, ukuran vakuola serta kandungan butir pati dari kalus menggunakan mikroskop, yaitu dengan cara kalus pada setiap botol perlakuan yang akan diamati diiris dengan tipis setipis tissue, kemudian irisan tersebut ditaruh di objek glass dan ditetaskan cairan iodin. Tahap selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop, pengamatan dilakukan didalam L AFC.

3.6 Analisis Data

Untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati, data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

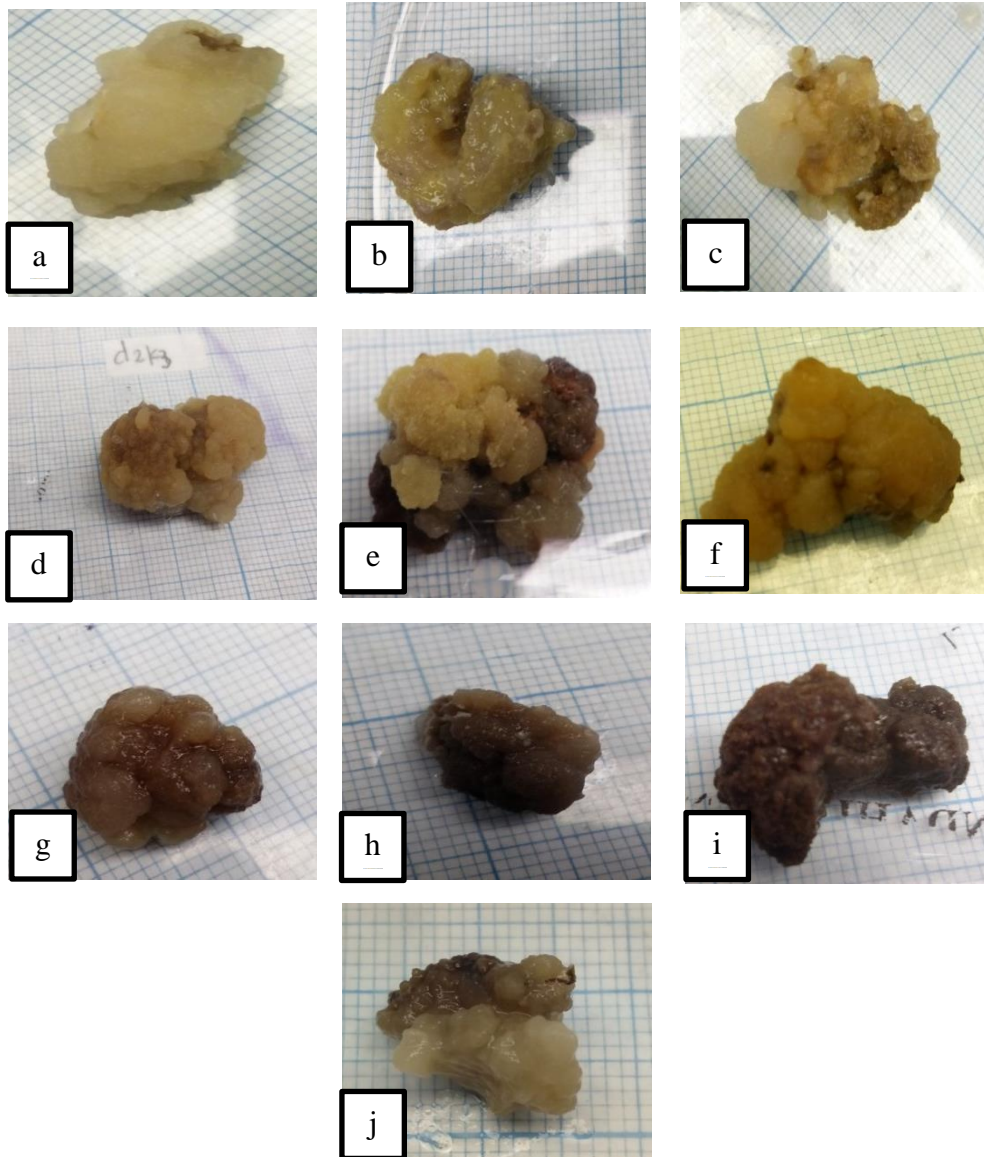
4.1.1 Warna Kalus

Hasil pengamatan terhadap parameter warna kalus kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin pada media MS secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Warna kalus pada kombinasi 2,4-D dan kinetin pada 12 MSK

2,4-D	Kinetin		
	0,5 ppm	1 ppm	1,5 ppm
2 ppm	Hitam coklat kehitaman putih kehitaman kuning kecoklatan Kuning putih kekuningan dominan kecoklatan	kuning kecoklatan coklat kehitaman putih kekuningan kuning kehitaman Putih dominan kecoklatan	Putih putih kekuningan coklat kehitaman kuning kecoklatan Hitam putih kecoklatan dominan putih
3 ppm	putih kekuningan kuning kecoklatan Putih coklat kehitaman putih kehitaman dominan kecoklatan	putih kecoklatan Coklat coklat kehitaman Kuning kuning kecoklatan Putih putih kekuningan Hitam dominan kekuningan	putih kekuningan Putih coklat kehitaman putih kecoklatan kuning kecoklatan dominan putih
4 ppm	Coklat coklat kehitaman Kuning kuning kecoklatan putih kecoklatan dominan kekuningan	Putih putih kecoklatan putih kehitaman kuning kecoklatan coklat kehitaman Hitam dominan putih	kuning kecoklatan Hitam Putih putih kecoklatan coklat kehitaman dominan kekuningan

Berdasarkan Tabel 2 diatas terlihat bahwa warna kalus yang terbentuk sangat bervariasi mulai dari kalus berwarna putih, kuning, coklat, hitam, putih kecoklatan, putih kehitaman, putih kekuningan, kuning kecoklatan, kuning kehitaman, coklat kehitaman dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Warna kalus yang berumur 12 Minggu Setelah Kultur. a) kalus warna putih (2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), b) kalus warna putih kekuningan (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), c) kalus warna putih kecoklatan (3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), d) kalus warna kuning kecoklatan (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), e) kalus warna kuning kehitaman (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), f) kalus warna kuning (4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), g) kalus warna coklat (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), h) kalus warna coklat kehitaman (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), i) kalus warna hitam (2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), j) kalus warna putih kehitaman (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin).

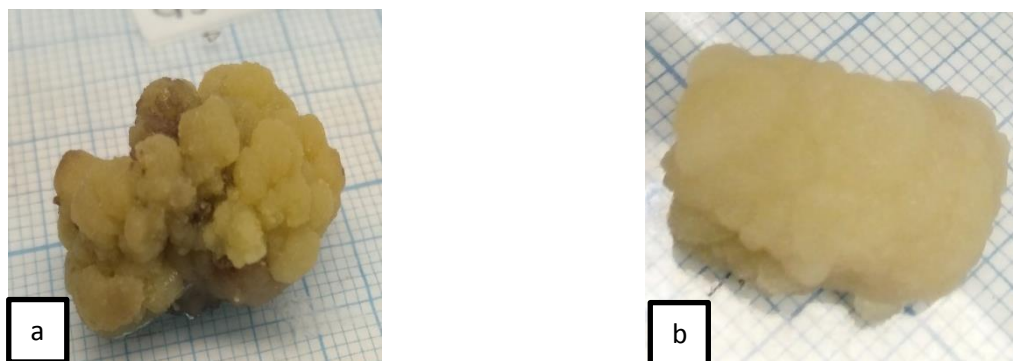
4.1.2 Struktur Kalus

Hasil pengamatan terhadap parameter struktur kalus yang terbentuk dari kombinasi 2,4-D dan kinetin pada media MS secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Struktur kalus pada kombinasi 2,4-D dan kinetin pada 12 minggu setelah kultur

Pengaruh 2,4-D	Pengaruh kinetin		
	0,5 ppm	1 ppm	1,5 ppm
2 ppm	remah, kompak tidak ada dominan	remah, kompak dominan kompak	remah, kompak dominan remah
3 ppm	remah, kompak dominan remah	remah, kompak dominan remah	remah, kompak dominan remah
4 ppm	remah, kompak dominan remah	remah, kompak dominan remah	remah, kompak dominan remah

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa struktur kalus yang terbentuk didominasi kalus berstruktur remah, dari 9 perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin kalus yang berstruktur remah terdapat pada 8 perlakuan sedangkan kalus yang berstruktur kompak hanya terdapat pada 1 perlakuan. Bentuk struktur kalus dapat dilihat pada Gambar 6. Bentuk kalus berstruktur remah berbentuk tubular yang mana struktur sel-selnya renggang, tidak teratur dan mudah rapuh sedangkan kalus yang berstruktur kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat.



Gambar 6. Struktur kalus yang berumur 12 Minggu Setelah Kultur. a) Kalus berstruktur remah (3 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin), b) Kalus berstruktur kompak (2 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin).

4.1.3 Ukuran Kalus

Hasil pengamatan terhadap pertambahan ukuran kalus kopi Liberika (*Coffea liberica*) Tungkal Jambi setelah diberi perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin pada media MS secara kultur jaringan disajikan pada Tabel 4.

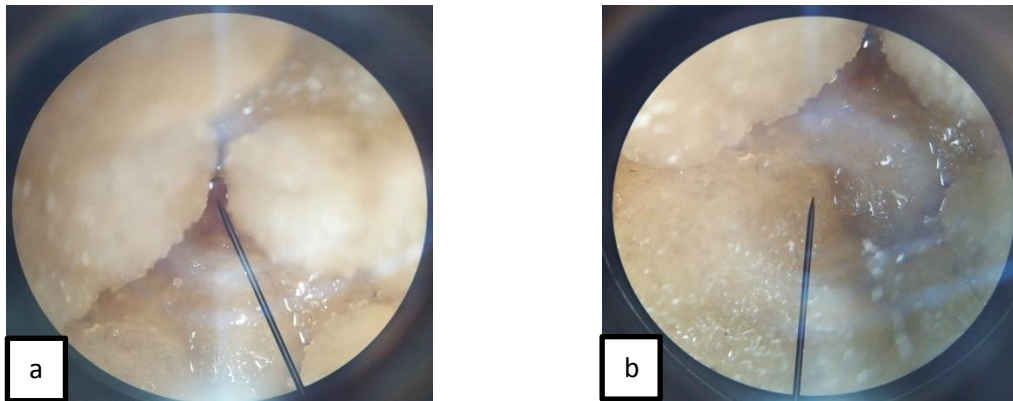
Tabel 4. Rata-rata pertambahan ukuran kalus kopi Liberika (*Coffea liberica*) c.v. Tungkal Jambi setelah diberi perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin pada 12 Minggu Setelah Kultur (cm).

2,4-D	Kinetin		
	0,5 ppm	1 ppm	1,5 ppm
2 ppm	1,94	0,43	1,49
3 ppm	0,64	1,45	1,18
4 ppm	1,40	1,46	1,59

Ukuran kalus awal yang digunakan adalah berkisar 1 cm². Pengukuran kalus yang dilakukan pada akhir penelitian yaitu 12 minggu setelah inisiasi kultur terjadi penambahan ukuran kalus pada seluruh botol yang diamati. Rata-rata pertambahan ukuran kalus paling besar terdapat pada perlakuan 2 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin yaitu 1,94 cm, kemudian yang kedua pada perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin yaitu 1,59 cm, kemudian diikuti dengan perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin yaitu 1,49 cm, sedangkan untuk rata-rata penambahan ukuran kalus terkecil terdapat pada perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin yang hanya bertambah sebanyak 0,40 cm.

4.1.4 Pengamatan Mikroskopis

Hasil dari pengamatan mikroskopis kalus kopi Liberika Tungkal Jambi umur 3 bulan setelah perlakuan. Hasil pengamatan tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Gambar kalus di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali, a) perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin, b) perlakuan 3 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Warna Kalus

Indikator pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro* berupa warna kalus, dimana warna kalus menggambarkan penampilan visual sehingga dapat diketahui apakah suatu kalus masih memiliki sel-sel yang masih aktif membelah atau telah mati. Pada penelitian ini pengamatan warna kalus menunjukkan variasi warna sesuai dengan pengkombinasian perlakuan yang diberikan. Perbedaan warna yang terjadi pada kalus menunjukkan tingkat perkembangan yang berbeda-beda, hal ini pula yang dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh.

Berdasarkan hasil pengamatan secara deskriptif warna kalus yang muncul pada eksplan daun kopi *Liberika* Tungkal Jambi memunculkan warna yang berbeda-beda. Warna kalus yang muncul dari perlakuan 2 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin yaitu putih kecoklatan, coklat kehitaman, kuning kecoklatan, kuning, putih kekuningan dan hitam dengan warna dominan kecoklatan, 2 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin warna yang terbentuk yakni coklat kehitaman, kuning kecoklatan, putih kekuningan, kuning kehitaman dan putih dengan warna dominan kecoklatan, 2 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin dengan warna kalus yang terbentuk yakni putih, putih kekuningan, coklat kehitaman, kuning kecoklatan, hitam, putih kecoklatan dengan warna dominan putih. Warna kalus yang muncul pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin yakni putih kekuningan, kuning kecoklatan, putih, coklat kehitaman, putih kehitaman dengan dominan warna kecoklatan, pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin warna yang terbentuk

yakni putih kecoklatan, coklat, coklat kehitaman, kuning, kuning kecoklatan, putih, putih kekuningan dan hitam dengan warna yang dominan yakni kekuningan.

Pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin warna kalus yang terbentuk yakni putih kekuningan, putih, coklat kehitaman, putih kecoklatan, kuning kecoklatan dengan warna dominan putih, 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin warna kalus yang terbentuk yakni coklat, coklat kehitaman, kuning, kuning kecoklatan dan putih kecoklatan dengan warna dominan yang muncul yakni kekuningan. Pada perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin dengan warna kalus putih, putih kecoklatan, putih kehitaman, kuning kecoklatan, coklat kehitaman dan hitam dengan warna yang dominan muncul yakni putih, sedangkan perlakuan 4 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin dengan warna kalus yang terbentuk yakni kuning kecoklatan, hitam, putih, putih kecoklatan dan coklat kehitaman dengan warna yang dominan muncul yakni kekuningan.

Warna kalus yang muncul pada penelitian ini sangatlah beragam, diantaranya yakni putih, kuning, coklat, hitam, putih kecoklatan, putih kehitaman, putih kekuningan, kuning kecoklatan, kuning kehitaman dan juga coklat kehitaman. Warna kalus yang berbeda-beda tiap perlakuan ini menunjukkan bahwa terdapat tingkat perkembangan yang berbeda-beda pula. Zulkarnain dan Lizawati (2011) juga melaporkan bahwa, warna kalus yang terbentuk pada eksplan hipokotil maupun kotiledon pangkal, tengah dan ujung tanaman jarak pagar didominasi oleh warna putih, kuning muda, krem dan coklat. Warna kalus yang semakin gelap (menjadi coklat) mengindikasikan pertumbuhan kalus yang semakin menurun.

Terdapat beberapa kalus yang berwarna kecoklatan dan menghitam, hal ini disebabkan karena adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik, hal ini sesuai dengan Hendaryono *et al.*, (1994) yang menyebutkan bahwa browning disebabkan oleh senyawa fenol yang dihasilkan oleh eksplan yang mengalami oksidasi. Senyawa fenol akan teroksidasi membentuk quinon yang memiliki sifat racun terhadap sel-sel tanaman dan dapat menyebabkan kematian pada sel-sel tanaman. Oksidasi fenol menyebabkan pencoklatan medium dan kematian

eksplan, pencoklatan juga dapat disebabkan karena terdapat luka akibat pemotongan pada jaringan, dimana luka tersebut menyebabkan stres.

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa kalus dengan warna putih, putih kekuningan, kuning kecoklatan memiliki struktur yang remah, serta tidak berair. Sedangkan kalus dengan warna coklat, coklat kehitaman dan juga hitam sebagian besar memiliki struktur yang kompak, berair dan juga terkesan benyek.

Sesuai dengan hasil penelitian Ibrahim *et al.*, (2013) menyatakan bahwa kalus kopi dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu kalus yang berwarna kekuningan, putih kekuningan dan juga putih. Kalus yang berwarna kekuningan dan juga putih kekuningan merupakan kalus yang embriogenik sedangkan kalus dengan warna hitam merupakan kalus yang non embriogenik dimana kalus ini tidak memiliki kemampuan untuk beregenerasi. Desriatin (2010), menyatakan bahwa kalus dengan warna putih karena jaringan parenkim yang mengandung butiran pati yang merupakan polisakarida simpanan pada tumbuhan dan belum mengandung kloroplas. kalus dengan warna hijau mengandung klorofil, sedangkan kalus yang berwarna hitam karena teroksidasinya senyawa fenolik yang di produksi oleh eksplan.

4.2.2 Struktur Kalus

Pengamatan pada struktur kalus ini dilakukan secara visual tanpa menggunakan alat bantu apapun. Struktur kalus diamati setelah kalus berumur 12 minggu setelah kultur. Struktur kalus yang terbentuk menunjukkan variasi akibat perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin yang diberikan dengan konsentrasi yang berbeda.

Struktur kalus yang terbentuk dalam penelitian ini ada dua macam yakni, struktur kalus remah dan juga struktur kalus yang kompak. Tabel 3 memperlihatkan bahwa sebagian besar semua perlakuan di dominasi dengan kalus berstruktur remah, dan hanya ada satu perlakuan yang memiliki struktur yang dominan kompak yakni pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin, serta hanya satu perlakuan yang memiliki jumlah kalus yang berstruktur remah dan kalus yang berstruktur kompak dengan jumlah yang sama.

Terbentuknya kalus dengan struktur remah dipicu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah timbul membentuk kalus tersebut (Widyawati dan Geningsih, 2010). Auksin memiliki peran terhadap pembentukan kalus remah. 2,4-D menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel menjadi longgar, sehingga air dapat masuk ke dalam dinding sel dengan cara osmosis dan sel mengalami pemanjangan, oleh karena itu kalus yang remah mengandung banyak air karena belum mengalami lignifikasi dinding sel, serta antara kumpulan sel yang satu dengan yang lain relatif mudah untuk dipisahkan (Nisak *et al.*, 2012).

Menurut Manuhara (2001), kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel yang panjang berbentuk tubular yang mana struktur sel-selnya renggang tidak teratur dan mudah rapuh, sedangkan kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular dengan struktur yang padat.

Struktur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus yang baik diasumsikan memiliki struktur remah (*friable*). Menurut Lizawati (2012), struktur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Dengan demikian, dengan struktur tersebut upaya untuk perbanyakan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah.

4.2.3 Ukuran Kalus

Hasil pengamatan ukuran kalus disajikan (Tabel 4), dapat dilihat bahwa terjadi penambahan ukuran kalus pada seluruh botol di masing-masing perlakuan. Pada perlakuan 2 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin menunjukkan rata-rata pertambahan ukuran kalus terbesar yakni 1,94 cm, kemudian diikuti 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin sebesar 1,59 cm, 2 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin sebesar 1,49 cm, 4 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin sebesar 1,46 cm, 3 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin sebesar 1,45 cm, 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin sebesar 1,40 cm, 3 ppm 2,4-D dan 1,5 ppm kinetin sebesar 1,18 cm, 3 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin sebesar 0,64 cm dan yang terakhir perlakuan 2 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin dengan rata-rata pertambahan ukuran kalus hanya sebesar 0,43 cm. Hal ini

menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D dan kinetin dengan konsentrasi yang berbeda-beda akan memberikan respon yang berbeda-beda pula, sesuai dengan pendapat Gunawan (1992), auksin digunakan secara luas untuk merangsang pertumbuhan kalus, dan kinetin berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.

Menurut Widyawati dan Geningsih (2010), ukuran kalus yang dihasilkan pada setiap media perlakuan berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh kemampuan jaringan dalam menyerap air dan unsur hara yang berbeda-beda yaitu kemampuan mengadakan proses difusi, osmosis, dan tekanan turgor. Ukuran kalus juga dapat dipengaruhi oleh faktor lamanya waktu pengamatan. Semakin lama waktu pengamatan semakin besar ukuran kalus yang dihasilkan jika ketersediaan nutrisi di dalam media tetap tersedia.

4.2.4 Pengamatan Mikroskopis

Hasil pengamatan mikroskopis yang dilakukan menunjukkan kalus tidak menunjukkan adanya ciri-ciri yang embriogenik. Indikator sel dikatakan sebagai proembrio adalah kalus menjadi remah dan berwarna kuning, kalus proembrio bersifat lunak dan mengeluarkan cairan (Lubis, 2013). Pangesti *et al.*, (2011) menyatakan kalus yang embriogenik memiliki ciri-ciri yakni sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola besar dan mengandung butir pati.

Pengamatan menggunakan mikroskop mengalami kendala yang sulit dalam mengamati gambar sel yang berukuran kecil seperti nukleous, vakuola, maupun sitoplasma karena gambar yang dihasilkan tidak jelas, hal ini disebabkan karena tidak adanya alat pemotong kalus yaitu mikroton. Pada pengamatan terlihat bahwa fase globular tidak terbentuk. Penyebab tidak terbentuknya embrio somatik diduga karena konsentrasi kombinasi antara 2,4-D dan kinetin yang diberikan kurang tepat dalam menginduksi embriogenesis somatik. Morfogenesis kalus tergantung pada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media. Interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dalam media akan menentukan arah perkembangan kalus (Rusdiyanto dan Indrianto, 2012).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa

1. Kombinasi 2,4-D dan kinetin berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi).
2. Pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) dari segi warna menunjukkan bahwa konsentrasi 3 ppm dan 4 ppm 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm, 1 ppm dan 1,5 ppm kinetin masing-masing menunjukkan dominasi warna yang mengindikasikan warna kalus yang embriogenik yakni kekuningan dan putih.
3. Pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. *liberica* cv. Tungkal Jambi) dari segi penambahan ukuran kalus menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan seluruh konsentrasi kinetin maka penambahan ukuran kalus pun akan meningkat.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh diharapkan adanya penelitian lanjutan untuk mengamati kalus secara mikroskopis atau dengan mengukur kadar prolin didalam kalus untuk mengetahui lebih jelas sampai mana tingkat pertumbuhan kalus, telah masuk ke fase kalus embriogenik atau belum, sehingga nantinya dapat di induksi ke embrio somatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, R.H. 2013. Pemanfaatan Embriogenesis Somatik Dalam Usaha Penyediaan Bibit Tanaman Obat. Makalah Seminar. Yogyakarta.
- Abidin, Z. 1983. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa. Bandung. 84 hal.
- Afriyani, A.T. 2006. Penggunaan gandsil, air kelapa dan ekstrak pisang pada perbanyakan tunas dan pembesaran planlet anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* kanayao) secara *in vitro*. Skripsi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aksi Agraris Kanisius. 2006. Budidaya Tanaman Kopi. Yayasan Kasinus. Yogyakarta.
- Ali, S., dan Iqbal J. 2010. Facile Regeneration Through Adventive or Somatic Embryogenesis from *in vitro* Cultured Immature Leaf Segments of Elite Varieties of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Biologia* (Pakistan). Vol. 56: 55-62.
- Anggraeni, T. D. A., E. Sulistyowati., dan R. D. Purwati. 2012. Pengaruh Komposisi Media dan Sumber Eksplan Terhadap Induksi Kalus, Perkecambahan, dan Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik Jarak Pagar. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. 4(2) : 76–84. ISSN 2085-6717.
- Arimarsetiowati, R. 2011. Pengaruh Auksin 2,4-D dan Sitokinin 2-ip Terhadap Pembentukan Embriogenesis Somatik Langsung Pada Eksplan Daun *Coffea arabica* L. *Jurnal Pelita Perkebunan* 27(2) 2011, 68-77.
- Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Kementerian Pertanian. 2015.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. 2014. Mengenal Kopi Liberika Tungkal Komposit (Libtukom). Badan Penelitian dan pengembangan pertanian. Jambi.
- Desriatin, N. L. 2010. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan Kinetin terhadap Morfogenesis pada Kultur In Vitro Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. var. Prancak-95). *Kultur Jaringan Tembakau*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Dinas Perkebunan Jambi. 2014. Statistik Perkebunan Provinsi Jambi. Jambi.
- Dinas Perkebunan Provinsi Jambi. 2016. Kopi Liberika (*Coffea liberica*). <http://www.disbun.jambiprov.go.id>. Diakses tanggal 23 Oktober 2016.

- Direktorat Jendral Perkebunan. 2014. Statistik Perkebunan Indonesia. Dinas Perkebunan Indonesia. Jakarta
- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture . Handbook and Directory of Commercial Laboratories . England: Exegenetic Limited.
- Gunawan L. W. 1992. Tehnik Kultur Jaringan Tumbuhan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 569 hal.
- Hellyanto, R. 2008. Pengaruh Jenis Media Terhadap Embriogenesis Somatik Dua Kultivar Bawang Merah (*Allium cepa* cv. *ascalonicum* L.) Skripsi Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hendaryono, P., S. Daisy dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Yogyakarta: Kanisius.
- Hertiasari, D, Murgayanti, Kurniawan. A. 2014. Pertumbuhan Dan Perkembangan Kalus Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas* L.) Pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D Dan Glutamin. Agric. Sci. J. – Vol. I (4) : 167-176 (2014).
- Huan, L.V.T., Takamura, T., dan Tanaka, M. 2004. Callus Formation And Plant Regeneration From Callus Through Somatic Embryo Structures In *Cymbidium* Orchid. Plant Science. Vol. 166: 1443-1449.
- Hulupi, R. 2014. Varietas Kopi Liberika Anjuran untuk Lahan Gambut. Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao Indonesia. Jember
- Hutami, S., I. Mariska, R. Purnamaningsih, M. Herman, D. Damayanti, dan I.R. Utami. 2001. Regeneration of papaya (*Carica papaya* L.) through somatic embryogenesis. In Endang G. Lestari. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Jurnal AgroBiogen 7(1): 63-68.
- Ibrahim, M, S, D., Hartati, R,S., Rubiyo, Purwito, A., Sudarsono. 2012. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pembentukan Kalus Embriogenesis Somatik Kopi Arabika (*Coffea arabica*). Department Agronomi Dan Hortikultura Fakultas Pertanian. Institute Pertanian Bogor.
- Ibrahim, M, S, D., Hartati, R,S., Rubiyo, Purwito, A., Sudarsono. 2013. Induksi kalus embriogenik dan daya regenerasi kopi Arabika menggunakan 2,4-Dichlorophenoyacetic acid dan 6-Benzyladenine. Department Agronomi Dan Hortikultura Fakultas Pertanian. Institute Pertanian Bogor.
- Karjadi, A.K. 2016. Kultur jaringan dan Mikropropagasi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L). Balai penelitian tanaman sayuran Departemen Pertanian. Bandung.

- Karjadi, A.K. dan Buchory, A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *J Hort.* Vol 18 (4): 380-384.
- Kudadiri, L.E. 2016. Pengaruh Kombinasi 2,4 D Dan BAP Terhadap Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Liberika Tungkal Jambi. Skripsi Universitas Jambi.Jambi.
- Lestari, E.G. 2008. Kultur Jaringan. Bogor (ID): Akademia.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen.* Vol.7(1):63-68.
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) dengan Penggunaan 2,4 D dan TDZ. Vol 1 No.2 : 75-87
- Lubis, D.F.A. 2013. Induksi embrio somatic kopi Robusta dengan penambahan auksin dan sitokinin secara in vitro. Skripsi Universitas Bogor. Bogor.
- Manuhara, Y. S. W. 2001. Regenerasi tanaman sawi (*Brassica juncea*L. Var Marakot) melalui tehnik kultur jaringan, *Jurnal MIPA Universitas Airlangga* 6(2):275-130.
- Masyarakat Perlindungan Indikasi Geografis. 2014. Buku Persyaratan Indikasi Geografis (MPIG) Kopi Tungkal Jambi. BPTP Jambi. Jambi.
- Nisak, K.,T. Nurhidayati, dan K.L. Purwani. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *nicotiana tabacum* var. prancak 95. *Jurnal sains dan seni pomits.* 1(1) : 1-6.
- Pangesti, Nugrahani, Sukendah, Dan Makziah. 2011. Regenerasi Eksplan Melalui Organogenesis Dan Embriogenesis Somatik. Modul Dasar Bioteknologi Tanaman, Universitas Pembangunan Negara Veteran Jawa Timur.
- Pardal, S., T. I. R. Utami, dan M. Herman. 2001. Organogenesis dan embriogenesis somatik kedelai secara in vitro p : 28-36. Prosiding Seminar Hasil Rintisan dan Bioteknologi Tanaman.
- Parmana, D. 2015. Pengaruh konsentrasi hormon 2,4-D terhadap induksi kalus daun tembakau melalui kultur *in vitro*. Skripsi Universitas Jember. Jember.
- Rahayu, B., Solichatun, dan Anggarwulan, E. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1 (1): 1-6. Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.

- Riyaldi, I, dan Tirtoba. 2004. Pengaruh 2,4 D terhadap induksi embrio somatik kopi Arabika. Buletin Plasma Nutfah 10(2):82-89.
- Rudiyanto. 2014. Optimasi Proliferasi Dan Perkecambahan Embrio Somatik Serta Pertumbuhan Planlet Jarak Pagar (*Jatropha curcas* LINN.) Kultivar Dompu. Skripsi program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rusdianto dan Ari Indrianto. 2012. Induksi kalus embriogenik pada wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) *Jurnal Bionature* 13(2):136-140.
- Santoso, U dan F. Nursandi. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: Pusbitan UMM.
- Sholeha, W. 2015. Induksi Embriogenesis Somatik Menggunakan 2,4 D dan Kinetin Pada Eksplan Gulungan Daun Muda Tanaman Tebu Var. NXI 1-3. Skripsi Universitas Jember. Jember.
- Sujatmiko, B., E. Sulistyaningsih., dan R. H. Murti. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo* L.) terhadap Layu Fusarium Secara In-Vitro dan Kaitannya dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian*. 15 (2) : 1-18.
- Sukmadjaja, D., dan A. Mulyana. 2011. Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *Jurnal AgroBiogen*. 7(2) : 106-118.
- Sumaryono, I. Riyadi, P. Kasi dan G. Ginting. 2007. Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus Embriogenik dan Embrio Somatik Kelapa Sawit (*Elaeis guinensis* Jacq.) Pada Sistem Perendaman Sesaat. *Jurnal Menara Perkebunan*. 75(1), 32-42.
- Suyitno Al. MS., dan V. Henuhili. 2011. Induksi Kalus dan Organogenesis Tanaman Ngukilo (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dengan 2,4-D dan Kombinasi NAA-Air Kelapa Secara In Vitro. Prosiding Seminar Nasional "Biology and Local Wisdom; Past Present and Future", Jurdik Biologi, MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Syafarudin, Ibrahim.M.S.D, Sudarsono, Rubiyo. 2012. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pembentukan Kalus Embriogenesis Somatik Kopi Arabika. *Bulletin RISTI Vol 3 (1)2012*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Taryono. 2012. Pengantar Bioteknologi Tanaman. Universitas Gadjad Mada. Yogyakarta.
- Trisna, N., H. Umar., dan Irmasari. 2013. Pengaruh Berbagai Jenis Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Stump Jati (*Tectona grandis* L.F). *Warta Rimba*. 1 (1).

- Utami, E.S.W, Sumardi,I. Taryono, & Semiarti, E. 2007. Pengaruh NAA Terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis Amabilis* (L) BI. Biodiversitas. Vol.8, No.4 : 295 – 299.
- Wan, Y. S. E. L. dan Liang, G. H. 1988. The Effect Of Kinetin On Callus Characters In Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) *Euphytica*. Vol. 39:249.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bogor. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Widyawati dan Geningsih. 2010. Pengaruh variasi konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus jarak pagar. *Tesis*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Woodwart, A. W., dan Bartel, B. 2005. Auxin: regulatin, action, interaction. *Ann Bot (Lond)*. Vol. 95: 707-73.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta : Bumi Aksara.
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada Pemberian 2,4-D. *Jurnal Natur Indonesia* 14 (1) : 19 – 25.

Lampiran 1. Deskripsi Kopi Liberika Tungkal Jambi

Nama	: Varietas Liberika Tungkal Jambi
Tipe pertumbuhan	: Pohon, habitus tipe tinggi, diameter tajuk 3,5-4 m, tinggi tanaman jika dibiarkan meluncur dapat mencapai 5 m atau bahkan lebih.
Keragaan tanaman :	
	1. Ukuran daun sedang, pupus daun berwarna hijau muda, ujung daun runcing, buah bulat besar, diskus datar lebar, ruas antar dompolan buah sedang, kelebatan buah sedang.
	2. Ukran daun besar bentuk oval, lebar daun sempit ujung meruncing, diskus besar menonjol, ruas cabang sedang, buah lebat
	3. Ukuran daun seukuran daun nangka ujung runcing, buah berbentuk oval dengan diskus kecil menonjol, buah lebat dengan ruas sangat pendek.
	4. Ukuran daun sedang, ujung runcing, buah bulat besar, diskus menonjol, ruas antar dompolan pendek, buah sangat lebat.
	5. Ukuran daun besar lanseolet, buah berbentuk oval dengan diskus sedang datar, kelebatan buah sedang.
Biji	: Biji berbentuk membulat oval (panjang 0,83-1,10 cm, lebar 0,1 cm), dengan rendemen rata-rata 9,03% persentase biji normal berkisar 50-80%
Potensi produksi	: Rata-rata 909 gram kopi biji/pohon atau setara dengan 950 kg kopi biji untuk penanaman dengan posisi 900-1000 pohon/ha.
Ketahanan terhadap Hama dan penyakit utama	: Penyakit karat daun : tahan-agak tahan : Penggerek buah kopi: tahan-agak tahan
Umur ekonomis	: 30 tahun
Daerah adaptasi	: Dataran rendah (<700m dpl).
Citarasa	: Nilai kesukaan (preferensi) rata-rata mencapai 7 (mutu citarasa bagus).
Sumber	: Menteri pertanian republic Indonesia
Nomor	: 4968/Kpts/SR.120/12/2013
Tanggal	: 6 Desember 2013

Lampiran 2. Komposisi Medium MS(*Murashige dan Skoog 1962*) pada (pH $5,7 \pm 0,1$).

Stok	Senyawa	per liter stok gr	Pemakaian	
			Stok (ml)	per liter medium (mg)
A	NH ₄ NO ₃	82,500	20,00	1.650,000
B	KNO ₃	95,000	20,00	1.900,000
C	KH ₂ PO ₄	34,000	5,00	170,000
	H ₃ BO ₃	1,240		6,200
	KI	0,166		0,830
	Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	0,050		0,250
	CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,005		0,025
D	CaCl ₂ . 2H ₂ O	88000	5,00	440,000
E	MgSO ₄ . 7H ₂ O	74,000	5,00	370,000
	MnSO ₄ . 4H ₂ O	4,460		22,300
	ZnSO ₄ . 4H ₂ O	1,720		8,600
	CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,005		0,025
F	Na ₂ EDTA . 2 H ₂ O	7,460	5,00	37,300
	FeSO ₄ . 7H ₂ O	5,560		27,800
	Myo-inositol	10,000	10,00	100,00
	Niasin	0,050		0,500
	Piridoksin-HCl	0,050		0,500
	Tiamin-HCl	0,010		1,000
	Glisin	0,200		2,000
	Sukrosa			30.000,000
	Agar			7.000,000

Sumber : Zulkarnain (2009)

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan Stok 2,4-D dan kinetin.

1. Pembuatan stok 2,4-D dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 200 ml dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{ppm} = (\text{g/ml}) \times 10^6$$

$$100 = (\text{g}/200\text{ml}) \times 10^6$$

$$\text{g} = 0,02 \text{ g}$$

Jadi dibutuhkan sebanyak 0,02 g 2,4-D untuk membuat 200 ml stok 2,4-D.

Konsentrasi 2,4-D yang tersedia adalah 100 ppm.

Volume 2,4-D yang dibutuhkan untuk membuat media dengan perhitungan sebagai berikut:

$$M1.V1 = M2.V2$$

Ket : V1= Volume larutan yang akan dibuat

M1= Molaritas ZPT yang dibutuhkan

V2= Volume ZPT yang akan dibuat

M2= Molaritas ZPT yang tersedia

Misalnya untuk membuat larutan media ZPT sebanyak 250 ml dengan konsentrasi 2,4-D 1 ppm maka volume larutan stok 2,4-D yang dibutuhkan adalah:

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$1\text{ppm}.250\text{ml} = 100\text{ppm}.V2$$

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$V2 = 1\text{ppm}.250/100\text{ppm}$$

$$V2 = 2,5\text{ml}$$

Jadi untuk membuat larutan media 250 ml dengan konsentrasi 2,4-D 1 ppm maka dibutuhkan 2,5 ml larutan stok 2,4-D.

2. Pembuatan stok kinetin dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 200 ml dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{ppm} = (\text{g/ml}) \times 10^6$$

$$100 = (\text{g}/200\text{ml}) \times 10^6$$

$$\text{g} = 0,02 \text{ g}$$

Jadi dibutuhkan sebanyak 0,02 g kinetin untuk membuat 200 ml stok kinetin .

Konsentrasi ZPT kinetin yang tersedia adalah 100 ppm. Volume kinetin yang dibutuhkan untuk membuat media dengan perhitungan sebagai berikut:

$$M1.V1 = M2.V2$$

Ket : V1= Volume larutan yang akan dibuat

M1= Molaritas ZPT yang dibutuhkan

V2= Volume ZPT yang akan diambil

M2= Molaritas ZPT yang tersedia

Misalnya untuk membuat larutan kinetin sebanyak 250 ml dengan konsentrasi ZPT $1 \text{ mgL}^{-1} = 1 \text{ ppm}$, maka volume larutan stok kinetin yang dibutuhkan adalah:

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$1\text{ppm}.250\text{ml} = 100\text{ppm}.V2$$

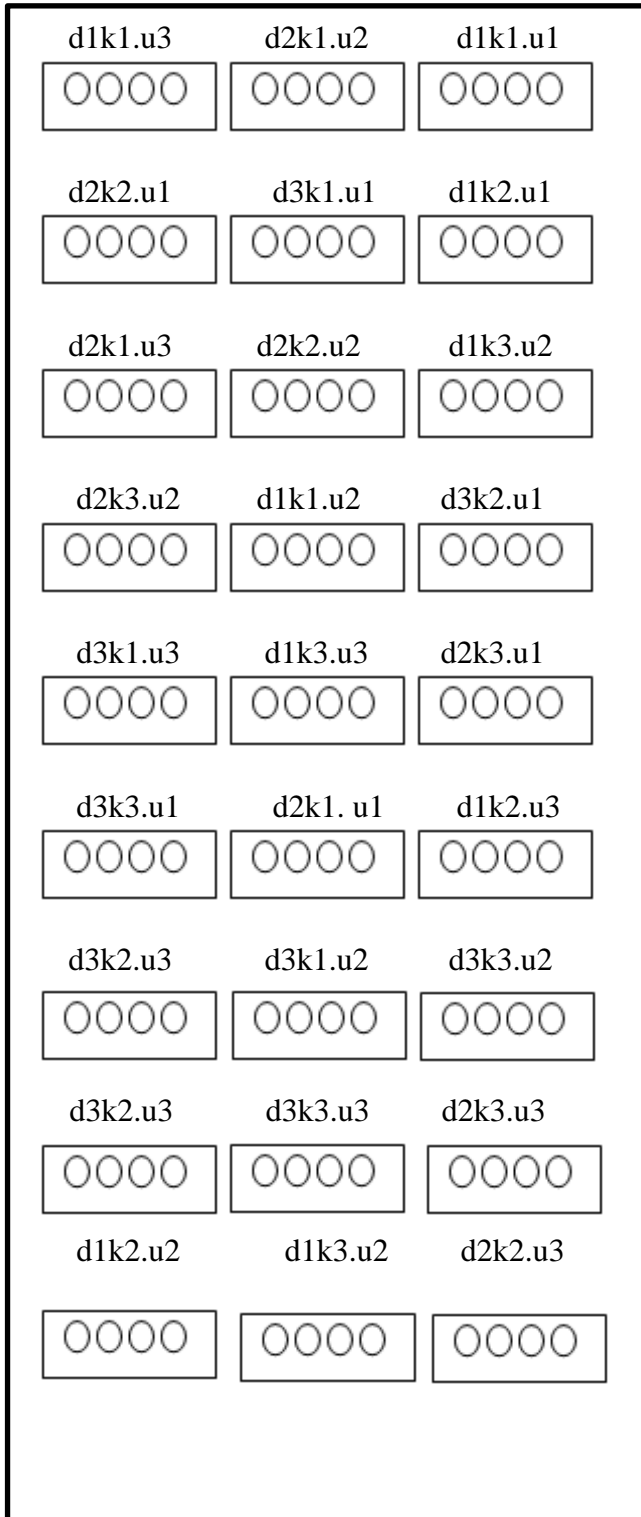
$$M1.V1 = M2.V2$$

$$V2 = 1\text{ppm}.250/100\text{ppm}$$

$$V2 = 2,5\text{ml}$$

Jadi untuk membuat larutan media ZPT 250 ml dengan konsentrasi kinetin 1 ppm maka dibutuhkan 2,5 ml larutan stok kinetin

Lampiran 4. Denah Lokasi



Keterangan :

d1-d3 : 2,4-D
k1-k3 : Kinetin

○ : Botol berisi eksplan
u1-u3 : Ulangan

Lampiran 5. Warna dan Struktur Kalus

Perlakuan		Warna Kalus	Struktur Kalus
d1k1	1.1	putih kecoklatan	K
	2.1	coklat kehitaman	R
	3.1	putih kehitaman	K
	4.1	kuning kecoklatan	K
	1.2	kuning	K
	2.2	putih kecoklatan	R
	3.2	putih kekuningan	R
	4.2	kuning kecoklatan	K
	1.3	putih kehitaman	R
	2.3	coklat kehitaman	K
	3.3	putih kecoklatan	R
	4.3	hitam	R
	d1k2	1.1	kuning kecoklatan
2.1		coklat kehitaman	K
3.1		kuning kecoklatan	K
4.1		putih kekuningan	R
1.2		putih	R
2.2		coklat kehitaman	K
3.2		kuning kecoklatan	R
4.2		kuning kehitaman	K
1.3		putih	R
2.3		putih kekuningan	K
3.3		coklat kehitaman	K
4.3		coklat kehitaman	K
d1k3		1.1	putih
	2.1	putih kekuningan	R
	3.1	coklat kehitaman	R
	4.1	kuning kecoklatan	K
	1.2	putih	K
	2.2	hitam	R
	3.2	putih	K
	4.2	putih	R
	1.3	kuning kecoklatan	R
	2.3	putih kecoklatan	R
	3.3	coklat kehitaman	K
	4.3	kuning kecoklatan	K

Keterangan Struktur Kalus : R (remah)
K (kompak)

Perlakuan		Warna Kalus	Struktur Kalus
d2k1	1.1	putih kekuningan	R
	2.1	kuning kecoklatan	K
	3.1	putih	R
	4.1	putih	R
	1.2	kuning kecoklatan	R
	2.2	coklat kehitaman	K
	3.2	putih	R
	4.2	putih kehitaman	R
	1.3	coklat kehitaman	K
	2.3	coklat kehitaman	R
	3.3	kuning kecoklatan	K
	4.3	coklat kehitaman	R
	d2k2	1.1	putih kecoklatan
2.1		kecoklatan	K
3.1		putih kecoklatan	K
4.1		coklat kehitaman	R
1.2		kekuningan	R
2.2		kuning kecoklatan	R
3.2		kehitaman	R
4.2		kuning kecoklatan	R
1.3		putih	R
2.3		putih kekuningan	K
3.3		putih	R
4.3		kuning kecoklatan	K
d2k3		1.1	putih kekuningan
	2.1	putih	R
	3.1	coklat kehitaman	K
	4.1	putih kekuningan	R
	1.2	putih kecoklatan	R
	2.2	kuning kecoklatan	R
	3.2	putih kecoklatan	R
	4.2	putih kecoklatan	R
	1.3	putih kekuningan	R
	2.3	putih kekuningan	R
	3.3	putih kecoklatan	R
	4.3	putih kecoklatan	R

Keterangan Struktur Kalus : R (remah)
K (kompak)

Perlakuan		Warna Kalus	Struktur Kalus
d3k1	1.1	kecoklatan	K
	2.1	kuning kecoklatan	R
	3.1	kekuningan	R
	4.1	putih kecoklatan	R
	1.2	coklat kehitaman	R
	2.2	kecoklatan	R
	3.2	kuning kecoklatan	K
	4.2	kuning kecoklatan	R
	1.3	kuning kecoklatan	R
	2.3	putih kecoklatan	K
	3.3	kekuningan	K
	4.3	kekuningan	R
	d3k2	1.1	putih kecoklatan
2.1		putih kehitaman	K
3.1		kuning kecoklatan	R
4.1		putih	R
1.2		hitam	K
2.2		kuning kecoklatan	K
3.2		putih	R
4.2		putih kecoklatan	R
1.3		coklat kehitaman	K
2.3		kuning kecoklatan	R
3.3		putih kecoklatan	K
4.3		putih	R
d3k3		1.1	kuning kecoklatan
	2.1	kuning kecoklatan	K
	3.1	kuning kecoklatan	R
	4.1	kehitaman	R
	1.2	putih kecoklatan	R
	2.2	putih	R
	3.2	kuning kecoklatan	R
	4.2	putih kecoklatan	K
	1.3	putih kecoklatan	R
	2.3	kuning kecoklatan	K
	3.3	kuning kecoklatan	R
	4.3	coklat kehitaman	K

Keterangan Struktur Kalus : R (remah)
K (kompak)

Lampiran 6. Penambahan Ukuran Kalus

Perlakuan		Penambahan Ukuran Kalus (cm)
d1k1	1.1	0,5
	2.1	0,125
	3.1	0,125
	4.1	0,125
	1.2	0
	2.2	0,5
	3.2	1,5
	4.2	0,125
	1.3	0,25
	2.3	0,5
	3.3	9,5
	4.3	10
	d1k2	1.1
2.1		0,125
3.1		0,25
4.1		0,5
1.2		0,5
2.2		0,5
3.2		1
4.2		0,125
1.3		0,5
2.3		1
3.3		0
4.3		0,125
d1k3		1.1
	2.1	1
	3.1	1,625
	4.1	0,125
	1.2	0,5
	2.2	0,125
	3.2	2,125
	4.2	0,5
	1.3	5,5
	2.3	1,5
	3.3	0,125
	4.3	4,625

Perlakuan		Penambahan Ukuran Kalus (cm)
d2k1	1.1	0,5
	2.1	0,5
	3.1	0,125
	4.1	0,125
	1.2	1,625
	2.2	1,5
	3.2	0,5
	4.2	1
	1.3	0,5
	2.3	0,125
	3.3	0,125
	4.3	1
	d2k2	1.1
2.1		2,5
3.1		0,125
4.1		2
1.2		1
2.2		1
3.2		2
4.2		3,5
1.3		1
2.3		2,5
3.3		0,25
4.3		0,75
d2k3		1.1
	2.1	0,125
	3.1	1,125
	4.1	0,5
	1.2	0,25
	2.2	9,5
	3.2	0,625
	4.2	1
	1.3	0,625
	2.3	1
	3.3	0,125
	4.3	0,125

Perlakuan		Penambahan Ukuran Kalus (cm)
d3k1	1.1	1
	2.1	2
	3.1	1
	4.1	1
	1.2	2,5
	2.2	0,125
	3.2	4,5
	4.2	1
	1.3	1
	2.3	1,125
	3.3	0,5
	4.3	1
	d3k2	1.1
2.1		0
3.1		1,125
4.1		4
1.2		2
2.2		1,125
3.2		0,5
4.2		1,125
1.3		1
2.3		2
3.3		2
4.3		1,5
d3k3		1.1
	2.1	0
	3.1	1
	4.1	0
	1.2	1
	2.2	1
	3.2	5,5
	4.2	2,5
	1.3	1,125
	2.3	0
	3.3	2
	4.3	4

Lampiran 7. Glosarium

Adventif	: sifat yang menunjukkan perkembangan struktur dari posisi yang tidak normal, misalnya pucuk yang keluar dari akar atau daun dari kalus
Aksilar	: berkembang dari ketiak daun, misalnya tunas
Antagonis	: hubungan yang cara kerjanya berlawanan
Auksin	: hormone yang menyebabkan pemanjangan sel, dominansi pucuk, dan inisiasi akar
Autoclave	: alat yang digunakan untuk mensterilkan medium, gelas dan lain-lain, dengan memanfaatkan uap bertekanan tinggi
Diferensiasi	: pertumbuhan sel/jaringan dengan fungsi spesifik
Eksogen	: berasal dari luar organisme
Embrio	: tanaman yang sangat muda, berkembang di dalam gametofit betina dengan atau tanpa pembuahan
Embryogenesis	: proses inisiasi dan perkembangan embrio
Embryogenesis somatik	: embrio-embrio yang muncul dari sel-sel somatik, tidak ada proses seksual yang terlibat
Endogen	: berasal dari dalam organisme
Giberelin	: suatu kelompok hormone tanaman yang berperan dalam pembelahan dan pemanjangan sel
Homogen	: karakteristiknya sama

Hormone	: senyawa organik yang dihasilkan tanaman yang dalam konsentrasi rendah dapat mengatur pertumbuhan dan proses fisiologis pada tumbuhan
In vitro	: secara harfiah berarti di dalam kaca, di dalam tabung reaksi, botol dan sebagainya.
Induksi	: inisiasi suatu proses tertentu yang menghasilkan perkembangan organ
Inhibitor	: zat yang menghambat dan menurunkan laju reaksi kimia
Inisiasi	: pembentukan struktur suatu organ, seperti primordial akar atau pucuk
Kalus	: jaringan yang tumbuh dari proliferasi sel-sel yang belum terorganisir, suatu kelompok sel yang belum terdiferensiasi
Lignifikasi	: penebalan dinding sel pada beberapa sel oleh senyawa lignin
Magnetic stirrer	: pengaduk bermagnet
Meristem	: kelompok sel yang sedang aktif membelah dan tumbuh yang dilokalisasi dari jaringan meristem, misalnya akar, pucuk, daun atau bunga
Meristematik	: memiliki karakteristik meristem
Morfogenesis	: perkembangan bentuk atau struktur
Organ	: bagian tanaman yang memiliki fungsi spesifik, misalnya akar, batang, daun, bunga, buah dan lain-lain

Planlet	: pucuk kecil yang berakar atau embrio yang berkecambah
Plastisitas	: ketidakmampuan suatu benda untuk kembali ke bentuk semula setelah gaya luar yang diberikan hilang
Proliferasi	: pertumbuhan yang luar biasa dari sel, tunas atau embrio mikropropagasi
Propagasi	: perbanyakkan secara in vitro
Sitokinin	: hormone pertumbuhan yang menyebabkan pemanjangan sel, diferensiasi sel, diferensiasi pucuk, pecahnya dominansi pucuk
Sterilisasi	: prosedur eliminasi mikroorganisme, misalnya secara kimiawi, panas, radiasi dan penyaringan
Zat pengatur tumbuh	: senyawa yang berperan mengatur pertumbuhan dan perkembangan sel dan organ