

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

ARTIKEL ILMIAH

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

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS JAMBI

2017

PENGESAHAN

Artikel ilmiah 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*, yang disusun oleh Riana Azizah, NIM D1A013038.

Menyetujui:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II,

Ir. Neliyati, M.Si

Dr. Ir. Hj. Rainiyati, M.Si

NIP. 19621005 198803 2 001

NIP. 19630927 198902 2 002

Mengetahui:

Ketua Jurusan Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Jambi

Dr. Ir. Wilyus, MSi.

NIP. 19640923 199103 1 002

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

¹Riana Azizah, ²Ir. Neliyati, M. Si ²Dr. Ir. Hj. Rainiyati, M.Si.
Fakultas Pertanian Universitas Jambi
rianaazizah21@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi serta mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin terbaik untuk pertumbuhan kalus kopi Liberika Tungkal Jambi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jambi. 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*). 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.

Kata Kunci : Kultur jaringan, Bioteknologi, Eksplan, Media MS, Pertumbuhan Kalus.

¹ Alumni Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi

² Dosen Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi diantara tanaman perkebunan lainnya dan berperan penting sebagai sumber devisa negara. Pada tahun 2013 Indonesia mampu memproduksi 675.881 ton, sedangkan pada tahun 2014 menghasilkan 685.089 ton (Direktorat Jendral Perkebunan, 2014). Jenis kopi yang dibudidayakan di Provinsi Jambi adalah kopi Liberika, Arabika dan Robusta. Kopi Liberika 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 dengan total produksi mencapai 1.114 ton dan total produktivitas 586 kg ha⁻¹. Pada tahun 2013 mencapai 2.710 ha⁻¹ dengan produksi mencapai 1.227 ton dan total produktivitas 622 kg ha⁻¹ (Dinas Perkebunan Provinsi Jambi, 2014).

Kopi Liberika memiliki keunggulan tidak hanya dari aspek harga, namun dari ukuran buah kopi yang lebih besar dan produktivitas lebih tinggi dibandingkan Robusta, bisa berbuah sepanjang tahun dengan panen sekali sebulan dan dapat beradaptasi dengan baik pada agroekosistem setempat serta tidak ada gangguan hama dan penyakit yang serius.

Melihat akan pentingnya tanaman kopi Liberika saat ini dan masa yang akan datang maka perlu ditingkatkan pembudidayaan yang lebih baik agar dapat memperoleh produktivitas yang tinggi, dengan pemeliharaan yang baik diharapkan umur ekonomis tanaman kopi di Tanjung Jabung Barat Provinsi Jambi dapat mencapai 30 tahun. Akan tetapi permasalahan yang dihadapi sekarang bahwa tanaman kopi Liberika Tungkal Jambi umurnya telah mencapai 40-50 tahun yang mengakibatkan produktivitas mulai menurun, oleh karena itu perlu upaya peremajaan tanaman kopi. Dalam peremajaan tanaman kopi diperlukan bibit unggul. Bibit unggul dapat diperoleh dengan berbagai macam metode perbanyakan (Masyarakat Perlindungan Indikasi Geografis, 2014).

Pohon induk kopi Liberika Tungkal Jambi saat ini jumlahnya terbatas sehingga upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan melakukan perbanyakan secara vegetatif salah satunya dengan teknik kultur jaringan. Keuntungan dari teknik kultur jaringan adalah 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.

Teknik kultur jaringan yang dapat dilakukan untuk perbanyakan kopi Liberika Tungkal Jambi adalah dengan organogenesis maupun embriogenesis somatik. 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).

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. Sedangkan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yang sering digunakan adalah kinetin).

Pengaruh zat pengatur tumbuh dalam pertumbuhan kalus telah banyak dilaporkan. Ali dan Iqbal (2010) melaporkan 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 mg L⁻¹) + 1 mg L⁻¹ kinetin. 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. Rusdiyanto 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.

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).

BAHAN DAN METODA

Tempat dan waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Mendalo Indah pada bulan Desember 2016 sampai dengan bulan Maret 2017.

Bahan dan alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah kalus hasil dari kultur jaringan yang berasal dari eksplan daun kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* var. liberica cv. Tungkal Jambi), nutrisi penyusunan media MS, ZPT 2,4-D dan kinetin, *pure agar*, gula, akuades steril, KOH 1 N, HCl 1 N, alkohol 70 % dan 96 %.

Alat penelitian yang digunakan untuk pembuatan media yaitu timbangan analitik (AND), pipet tetes, gelas ukur, *beaker glass*, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, spatula (sudip), *hotplate* (WiseStir), labu ukur, pH meter, dan autoklaf (Budenberg). Untuk tempat media digunakan botol kultur dengan penutup plastik kaca dilengkapi karet pengikat. Peralatan yang digunakan pada saat penanaman adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (Clyde-Apac HWS Series), *petridish*, pinset, *scalpel* dan mata pisau, lampu bunsen, spiritus, dan *handsprayer*. Ruang

pemeliharaan dilengkapi lampu neon T1d 3610/865 cahaya putih, dan rak tempat meletakkan botol kultur.

Rancangan penelitian

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor yaitu ZPT 2,4-D dan kinetin yang terdiri dari 9 kombinasi perlakuan, yaitu 2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin (d1k1), 2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin (d1k2), 2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin (d1k3), 3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin (d2k1), 3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin (d2k2), 3 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin (d2k3), 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin (d3k1), 4 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin (d3k2), 4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin (d3k3). Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga didapat 36 satuan percobaan. Pada masing-masing satuan percobaan terdiri dari 4 botol kultur sehingga terdapat 144 botol kultur. Tiap botol kultur masing-masing 1 eksplan dan setiap satuan percobaan ada 3 sampel sehingga terdapat 108 sampel.

Pelaksanaan penelitian

Sterilisasi Peralatan

Semua peralatan baik alat pembuatan media (botol kultur) dan alat penanaman eksplan (*petridish*, pinset, penjepit *scalpel*, dan air akuades) dilakukan sterilisasi. Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C tekanan 17,5 *psi* (*pounds per square inch*) selama 60 menit. Penghitungan waktu sterilisasi dimulai setelah tercapainya tekanan yang diinginkan.

Pembuatan Media Kultur

Media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) dengan pH media sekitar 5,6-5,8 yang dimasukkan ke dalam botol kultur dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121⁰ C tekanan 17,5 *psi* selama 20 menit.

Pembuatan larutan stok 2,4-D dan kinetin 100 ppm, dilakukan dengan menimbang bahan sebanyak 0,01 g kemudian ditambahkan 100 mL akuades steril ke dalam erlenmeyer berukuran 100 mL, untuk 2,4-D sebelum pemberian akuades terlebih dahulu ditetaskan sedikit KOH dan untuk kinetin ditetaskan sedikit HCl untuk melarutkannya lalu diaduk dengan hati-hati sampai larutan jernih.

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 dan tempat penanaman (LAF) di sterilisasi terlebih dahulu dengan menghidupkan lampu UV 1 jam sebelum penanaman.

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%.

Parameter Yang Diamati

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.

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).

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 (LAFB).

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 iodine. Tahap selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop, pengamatan dilakukan didalam LAFB

Analisis Data

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

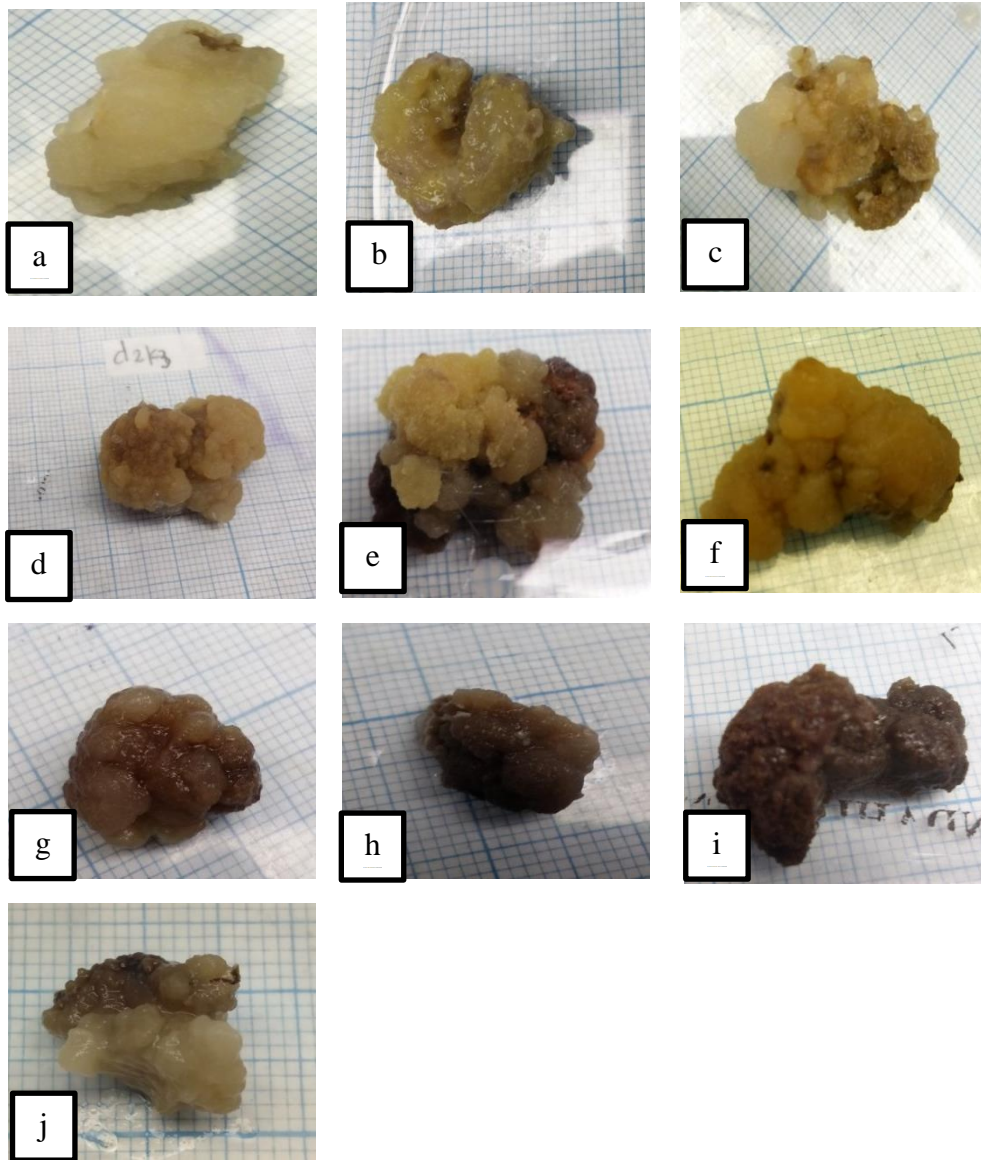
Warna Kalus

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 1.

Tabel 1. 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 1 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 1.



Gambar 1. 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).

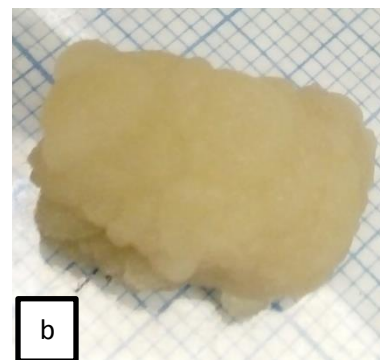
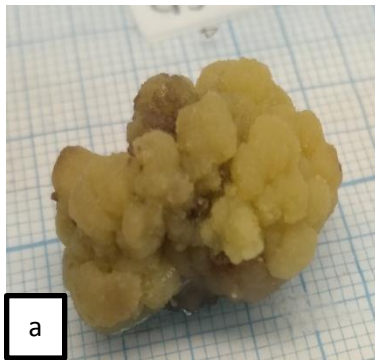
Struktur Kalus

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 2.

Tabel 2. 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 2 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 2. 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 2. 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).

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 3.

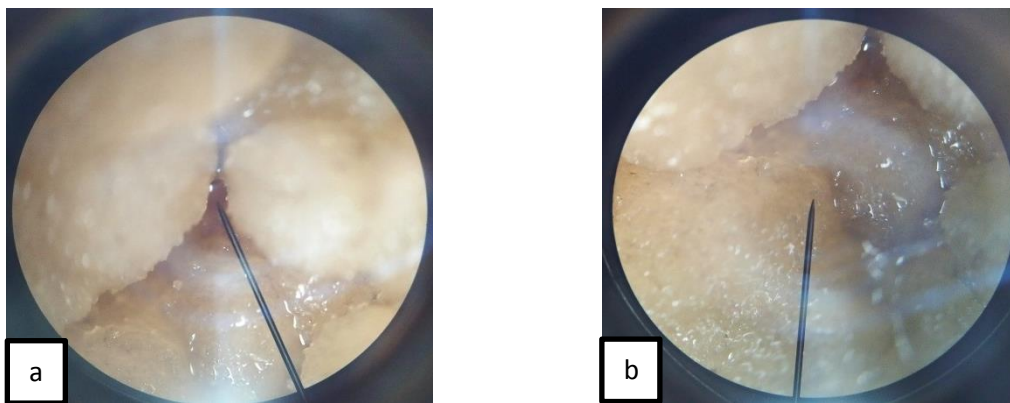
Tabel 3. Rata-rata pertambahan ukuran kalus kopi Liberika (*Coffea liberica*) c.v. Tungkal Jambi setelah diberi perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin pada 12 Minggu Setelah Kultur (cm).

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.

Pengamatan Mikroskopis

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



Gambar 3. 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.

Pembahasan

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.

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.

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.

Struktur Kalus

Struktur kalus yang terbentuk dalam penelitian ini ada dua macam yakni, struktur kalus remah dan juga struktur kalus yang kompak. 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 perbanyakkan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah.

Ukuran Kalus

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.

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).

Kesimpulan dan saran

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.

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

- 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.
- Dinas Perkebunan Jambi. 2014. Statistik Perkebunan Provinsi Jambi. Jambi.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2014. Statistik Perkebunan Indonesia. Dinas Perkebunan Indonesia. Jakarta.
- 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.
- 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 tekhnik 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.
- 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.
- Widyawati dan Geningsih. 2010. Pengaruh variasi konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus jarak pagar. *Tesis*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- 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.